



USAID
FROM THE AMERICAN PEOPLE

PREDICT

PROTOCOLO

Métodos de muestreo de primates

15 de Junio, 2012

(versión traducida por: Micaela De la Puente)

Objetivo: Colectar de manera segura muestras biológicas de primates no humanos, vivos y muertos (en lo sucesivo denominados PNH).

Declaración de USAID

El presente documento fue realizado gracias al generoso aporte del Pueblo de los Estados Unidos de América, a través del Programa PREDICT-Amenazas Pandémicas Emergentes de la Agencia Estadounidense para el Desarrollo Internacional (USAID). Los contenidos son responsabilidad de los autores, y no reflejan necesariamente la opinión de USAID o del Gobierno de los Estados Unidos.

Forma sugerida para citar el presente material: Consorcio PREDICT Una Salud 2010. Protocolo: Métodos de Muestreo de Primates. <http://www.vetmed.ucdavis.edu/ohi/predict/publications.cfm>.

Prepared by
Chris Whittier, Smithsonian Institution

Contributions by
Trish Reed and Ken Smith, Wildlife Conservation Society,
Kristine Smith and Tom Hughes, EcoHealth Alliance
Kirsten Gilardi and Mike Cranfield, UC Davis

CONTENIDOS:

Sección 1. Políticas y Ética en el muestreo de vida silvestre

Sección 2. Autorizaciones, permisos y protocolos

Sección 3. Seguridad y equipo de protección personal

Sección 4. Consideraciones especiales en la sujeción de PNH

Sección 5. Instalación de la estación de campo para la toma de muestras

Sección 6. Procesamiento de primates

- Recolección de datos
- Colección de muestras biológicas

Sección 7. Análisis y procesamiento de muestras

Sección 8. Eliminación segura de carcasas y residuos infecciosos

Sección 9. Referencias

Apéndice I. Guía OMS-CDC para la construcción de un incinerador de desperdicios

Apéndice II. B Protocolo de emergencia de exposición al virus B

Apéndice III. Protocolo de emergencia de exposición al Virus del Ébola

Apéndice IV. Materiales Glosario

SECCIÓN 1. POLÍTICAS Y ÉTICA EN EL MUESTREO DE VIDA SILVESTRE

Todas las muestras de vida silvestre se llevarán a cabo de una manera humana y ética, minimizando los impactos sobre las poblaciones silvestres. Las "Tres Rs" de la investigación de vida silvestre que serán observadas son:

- **Reemplazo** - Los animales podrán ser usados solamente si, a pesar de los mejores esfuerzos del investigador, no fue posible encontrar un reemplazo que permita obtener la información requerida.
- **Reducción**– Se debe usar el menor número de animales apropiado para proporcionar información válida y estadísticamente significativa.
- **Refinamiento**– Se deben emplear las técnicas más humanas y menos invasivas con el objetivo de minimizar el estrés y el dolor.

En cuanto a las Tres-Rs puede revisar:

(http://www.ccac.ca/en/alternatives/wildlife_faune.html).

Aunque en algunas situaciones el muestreo letal pueda ser percibido como más rápido, fácil y menos costoso, se deberán seguir métodos humanos y no letales para los muestreos.

En determinadas circunstancias, es posible que durante las actividades de muestreo se capturen especies desconocidas o no descritas. En tal caso, el equipo PREDICT puede estimar necesario coleccionar un espécimen muestra (“voucher”) para identificar la especie animal. La captura de un espécimen muestra requiere la eutanasia y preservación de un animal entero, con el propósito de realizar una caracterización genética y morfológica minuciosa. Si resulta necesario coleccionar un espécimen muestra para su identificación, entonces dicho animal deberá ser eutanasiado de acuerdo con las prácticas humanas definidas en los correspondientes protocolos IACUC. Se deberá notificar al Consejo Ejecutivo de PREDICT cada vez que se colecciona un espécimen muestra.

Finalmente, no se debe dar ningún incentivo financiero o de otro tipo a los cazadores locales, vendedores u otros que conduzcan a la captura de animales adicionales o especies que de otra manera nos serían capturadas en la naturaleza, al momento del muestreo o en el futuro. Esto incluye no comprar animales para la toma de muestras en mercados ya que comprar animales en establecimientos de mercado, ya sea a través de intercambio de dinero o un equivalente financiero, podría exacerbar la demanda. Los investigadores del PREDICT y el personal de campo estarán atentos respecto a la posibilidad de que su presencia altere la dinámica del comercio de mercado local, y en caso de que sea necesario, el personal de PREDICT modificará su comportamiento y metodologías si los vendedores o coleccionistas parecen adaptar sus actividades para que coincida con los intereses de PREDICT.

SECCIÓN 2. AUTORIZACIONES, PERMISOS Y PROTOCOLOS

Obtener todos los permisos requeridos y cualquier otra autorización formal/informal mucho antes de comenzar el muestreo de campo.

Es esencial que todos los permisos y autorizaciones requeridos para la captura y manipulación de animales, y la adquisición y movimiento de muestras sean recibidos de los organismos gubernamentales/ministerios pertinentes, así como de los líderes comunitarios locales (cuando sea apropiado) antes del inicio de las capturas de campo. Como este proceso a menudo toma tiempo, se recomienda que se contacte a los organismos y ministerios pertinentes con suficiente antelación a la fecha prevista para el inicio del muestreo.

Cada equipo en el país debe asegurar que todas las actividades sean coherentes con los protocolos y procedimientos de PREDICT, IACUC e IRB.

Todas las autorizaciones y permisos necesitan ser documentados y mantenidos apropiadamente y todos los protocolos y lineamientos PREDICT necesitan ser seguidos. Los lineamientos de empaque y envío de muestras, incluyendo protocolos de exportación e importación, se cubren a fondo en la GUÍA PREDICT: Empaque y Envío de Muestras Biológicas. Recuerde, que en adición a todos los demás permisos, las muestras de primates requieren de permisos especiales del Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC).

SECCIÓN 3. SEGURIDAD Y EQUIPO DE PROTECCIÓN PERSONAL

Todo el personal es responsable de conocer los lineamientos y procedimientos de seguridad que son relevantes para sus tareas. El personal involucrado en la captura, manipulación o muestreo de animales, debe comprender y ser capaz de aplicar las normas de seguridad proporcionadas en las Guías y Protocolos PREDICT.

Antes de manipular cualquier PNH, todo el personal debe comprender y seguir este Protocolo de toma de muestras de primates y las versiones más actualizada de los siguientes protocolos de PREDICT:

GUÍA DE SEGURIDAD Uso del Equipo de Protección Personal y Bioseguridad.

GUÍA SOBRE SEGURIDAD Operaciones de Laboratorio.

GUÍA Para la Captura Segura de Animales para la Toma de Muestras.

Responsabilidades de seguridad:

- El investigador principal y/o el líder del equipo de muestreo son responsables de que todos los miembros del equipo de campo hayan tenido la capacitación en seguridad adecuada para las tareas a realizar.
- Cada equipo en el país debe asegurar que todas las actividades estén en conformidad con los protocolos IACUC, SOPs, y el Informe PREDICT de Mitigación Ambiental y Monitoreo.
- El personal de campo deberá reportar a su supervisor y seguir las normas de post-exposición ante cualquier lesión por manipulación de NHP, que puede constituir una exposición a herpesvirus del simio (virus B), virus de Ébola, o virus de la rabia (Véase detalles en la Sección 4). Incluso en los casos donde hay poca preocupación por la exposición a agentes patógenos específicos, cualquier incumplimiento de PPE (ej.,

mordeduras, pinchazo de agujas, salpicadura a los ojos) inmediatamente debe ser reportado al supervisor de muestreo.

- Cada equipo en el país debe asegurar que se usa el EPP apropiado de como se describe a continuación.

Con la finalidad de proteger tanto al personal de muestreo y PNH muestreados, todo el personal de muestreo debe hacerse la prueba de tuberculina y además dar negativo a esta, como se describe en el siguiente punto.

Breve resumen del Equipo de protección personal (EPP)

La **GUÍA PREDICT DE SEGURIDAD: Bioseguridad y uso del EPP** debería ser usada como referencia primaria y toda información y recomendaciones en la guía sustituir lo que está brevemente indicado aquí.

El propósito del Equipo de Protección Personal (EPP) es:

1. Proteger al personal de la contaminación o exposición a posibles agentes infecciosos.
2. Prevenir la contaminación de las personas en un sitio dado, y de esta manera prevenir la transmisión de potenciales agentes infecciosos a otros lugares de muestreo, animales y personas.
3. Aunque no sea su propósito específico, hay que señalar que PPE también ayuda a proteger la salud de los animales de los posibles agentes infecciosos que el personal de muestreo pueda tener. Esto es particularmente cierto debido a que los PNH tienen una estrecha relación genética con los humanos.



Preparación para el uso del Equipo de Protección Personal (EPP) en el campo:

Usar las recomendaciones de bioseguridad más recientes para decidir que nivel de protección personal es necesaria para prevenir la contaminación del personal y equipo de muestreo de campo, tomando en cuenta patógenos potencial en la población animal (Véase 'Mínimo EPP requerido la manipulación de PNH vivos, muertos o de sus muestras en la sección 3 de la **Guía-PREDICT de Seguridad: Uso de Equipo de Protección Personal y Bioseguridad**). La planificación y preparación de los kits de campo para la toma de muestras debe incluir estimaciones minuciosas de la cantidad de juegos de EPP que será requerido por todo el personal. Suministros extra deben ser llevados siempre en caso el muestreador necesite cambiar inesperadamente. Los equipos de campo para la toma de muestras deben incluir también provisiones para la desinfección del personal en el sitio y contenedores para la eliminación del Equipo de Protección Personal contaminados (Véase Checklist en Sección 5).

Mínimo PPE requerido para manipular PNH vivos, muertos o de sus muestras:

Para la toma de muestras de PNH, el PPE debe contar como mínimo con gafas para los ojos, un respirador N95, ropa larga y guantes de látex o nitrilo. En raras ocasiones es aceptable (ver abajo), que cualquiera utilice la sujeción física a PHN, en este caso se debe utilizar guantes de cuero desinfectados¹, que sean de alta resistencia contra todo tipo de mordeduras.

Remoción y descontaminación del Equipo de Protección Personal:

Todo el equipo usado debería ser limpiado a fondo y desinfectado apropiadamente inmediatamente después de usarse y el personal de campo debería tener presente que todo aquello en contacto con equipo contaminado o EPP debe también ser considerado contaminado. El personal debería notar que muchas omisiones o fallas podrían ocurrir durante la remoción del EPP. Además, la remoción apropiada es uno de los puntos críticos en el uso del EPP.

Descontaminación = limpieza + desinfección

1. Limpieza - eliminar el material orgánico, la suciedad y la grasa
2. Desinfectar - usar un desinfectante adecuado para el trabajo

La limpieza y desinfección completa de los equipos es esencial para la protección del personal a la exposición a agentes patógenos y para evitar la propagación de los patógenos a otras poblaciones de animales silvestres o domésticos. El Equipo de Protección Personal usado debe ser removido de manera que se evite la contaminación del usuario o del medio ambiente, y debe ser eliminado adecuadamente de manera de evitar futuras contaminaciones de otros seres humanos, animales o el medio ambiente.

Preparación para Primeros Auxilios

Se recomienda que al menos dos miembros del personal de campo cuenten con capacitación en primeros auxilios y en resucitación cardio-pulmonar (RCP), y estén familiarizados con los procedimientos de primeros auxilios para lesiones con las que pueden encontrarse durante las tareas en una específica estación de campo. (Consulte manuales de campo para primeros auxilios).

Sujeción del Macaco

Debido al riesgo de infección con el herpes virus del simio ("virus B "), que pueden ser mortal en los seres humanos, el manejo de macacos (u otros posibles portadores de virus B, tales como otros PHN que estén en estrecho contacto con macacos) requiere una preparación especial. Se debe tener en cuenta antes de trabajar con macacos, se tomen todas las precauciones del caso para así minimizar el riesgo de infección o exposición accidental al virus B. Estas medidas incluyen:

- El uso de una máscara de protección completa (no sólo de gafas), junto con un respirador N95.

- Tener una solución estéril en cantidad suficiente (podría ser un litro de solución salina) e inmediatamente disponible para el lavado de ojos por 15 minutos de manera continua en cualquiera de las membranas mucosas expuestas.
- Tener agua y jabón (clorhexidina o yodo povidona) disponible y en cantidad suficiente para permitir un lavado de 15 minutos de toda la piel expuesta.
- Se debe tener una solución de hipoclorito al 0.25% o solución de Dakin 's (1:20 dilución de lejía de uso doméstico) para el lavado inicial de la piel - pero NO membranas mucosas.
- Llevar tarjetas de alerta médica o tener números de emergencia anotados y a la mano.
- Considere tener una jaula preparada para un mantenimiento en cautiverio de corto plazo (2-3 semanas) para un macaco sospechoso posterior al muestreo en caso de exposición accidental.

(Para más detalles, véase Sección 4 y Apéndice II o consulte el Protocolo de emergencia antes exposiciones.)

Protocolo de primeros auxilios por mordedura, rasguño o pinchazo de aguja

La persona lesionada debe notificar al resto del personal y el trabajo debe detenerse inmediatamente (con la excepción posible de otros trabajadores que aseguran la seguridad y contención de algún animal vivo)

Todos los PNH – Toda mordedura, arañazo o pinchazo de aguja debería ser lavado inmediatamente con jabón y agua por 5 minutos y luego con yodo, o cloruro de benzalconio (Dodigen) si está disponible y se sospecha del virus de la rabia.

Macacos y otros posibles portadores del virus B* – Toda exposición al virus B es potencialmente amenazadora a la vida y debe inmediatamente activar el **Protocolo de emergencia a la exposición de virus B** detallado en el Apéndice II. **Casos sospechosos de Ébola* (ej. Carcasas de simios)** – Toda posible exposición al virus Ébola es una potencial amenaza a la vida y debería inmediatamente activar el **Protocolo de emergencia a la exposición de virus Ébola** detallado en el Apéndice II.

*Estos virus no ocurren naturalmente en América del Sur y dichos apéndices no están incluidos en este protocolo, pero pueden ser proporcionados por personal de PREDICT o WCS a solicitud de los interesados.

SECCIÓN 4. CONSIDERACIONES ESPECIALES EN LA SUJECIÓN DE PNH

Esta sección suplementa la **GUÍA PREDICT para la Captura Segura de Animales para la Toma de Muestras**, y se espera que cualquier persona que maneje PNH esté

familiarizada con ella. Además note que la toma de muestras de PNH muertos, destinados a carne de monte o no, es también cubierto en el **PROTOCOLO PREDICT: Métodos de toma de muestra en carne de monte**. No obstante, mucho de ambos protocolos se repite aquí.

La manipulación de PNH involucra un número de consideraciones especiales.

1. Independientemente de su status específico (ej., en peligro, amenazado, protegido o no), los PNH son a menudo especies que requieren atención especial. Cualquiera que maneje PNH debe adherirse cuidadosa y estrictamente a todas las regulaciones y seguir todos los protocolos y lineamientos.

2. Todas las especies de primates, independientemente de su tamaño, son capaces de ocasionar lesiones graves a sus manejadores; particularmente heridas por mordeduras. A diferencia de la mayoría de taxones, muchos PNH tienen manos y pies que pueden sujetar y tienden a agarrar (y luego morder) en lugar de rasguñar o empujar a sus manejadores durante los procedimientos.

Guantes de cuero reforzados deben ser usados por cualquier persona al manejar PNH conscientes (no anestesiados o no sedados). La sujeción física es desalentada para cualquier PNH que no haya sido contenido químicamente. Se puede considerar en casos excepcionales cuando puede realizarse con seguridad y sin significativos estrés añadido o riesgo para el animal, como cuando se maneja crías, individuos severamente debilitados, o durante el proceso durante el proceso de inmovilización química de PNH muy pequeños con inyecciones manuales.

3. Los PNH son animales muy sociales típicamente y tienden a proteger y a defender otros individuos de su grupo.

Se debe tener cuidado, particularmente durante la captura e inmovilización, para protegerse frente a los ataques, lesiones o interrupciones por parte de individuos que no están siendo muestreados, especialmente de machos adultos con actitud defensiva. Usar barreras visuales para ocultar las actividades y/o emplear personal dedicado totalmente a observar animales agresivos o que se acerquen puede ayudar a minimizar esos riesgos.

4. Debido a su tamaño, fuerza considerable y, en algunos casos familiaridad con humanos, los grandes simios o primates neotropicales de gran tamaño, grandes deberían ser considerados muy peligrosos, especialmente en regiones donde son usualmente cazados y desarrollan comportamientos defensivos y durante los procedimientos de inmovilización. Aún sin intenciones agresivas, el personal de campo debería ser consciente de que los grandes simios a menudo agarran, patean, golpean y arrastran humanos por juego o manifestando su comportamiento.

5. Si los PNH necesitan ser seguidos para su captura, o son muestreados de manera oportunista como individuos o en bajos números, podría no ser factible o práctico instalar estaciones de toma de muestras apropiadas como se describe debajo. En aquellas situaciones, los lineamientos para estaciones de toma de muestra deberían seguirse en

cuanto sea sea posible tanto para los sitios de colección en campo como para sitios de procesamiento o manejo de muestras posterior al muestreo.

6. El personal de PREDICT deberían entender que debido a su cercana relación genética con los humanos, los PNH son considerados más propensos a compartir agentes infecciosos (zoonóticos) con humanos. Esto significa no sólo que son más propensos a transmitir infecciones a sus manejadores humanos, si no que también son más susceptibles a adquirir infecciones de sus manejadores.

a. El uso apropiado del EPP y medidas de bioseguridad relacionas como las descritas en la siguiente sección ayudará a proteger tanto a los manejadores como a los PNH muestreados.

b. Para proteger tanto al personal como a cualquier PNH, todas las personas que trabajen estrechamente con PNH deberían ser evaluados para tuberculosis (TB) cada 6 meses y debe confirmarse los resultados negativos antes de manipular a los PNH. Las pruebas de TB son típicamente hechas a través de la prueba intradérmica de de tuberculina (PPD). Los trabajadores que hayan sido vacunados con BCG (Bacillus Calmette-Guerin, vacuna estándar para muchos europeos y sudamericanos) deberían todavía evaluados y la posibilidad de resultado falso positivo por la vacunación necesitan ser discutidos con sus proveedores de atención médica (vea fichas relevantes en: www.cdc.gov/tb/publications/factsheets/default.htm). Todo personal sospechoso de estar infectado con TB no debe trabajar con PNH.

c. Para proteger a los PNH de infecciones humanas, ninguna persona con alguna actual o reciente (unos pocos días) signos clínicos de enfermedad (tos, estornudo, fiebre, diarrea, erupciones, herpes labial, etc.) debería manejar o tener contacto estrecho (<5 m) con ningún PNH. Debe recordarse, sin embargo, que muchos agentes son infecciosos a otros animales antes de que los individuos se conviertan en clínicamente enfermos (o posterior a la recuperación), por lo que esta medida de precaución sólo es parcialmente efectiva. Idealmente, el personal trabajando regularmente con PNH debe formar parte de un programa de salud ocupacional y estar al día con todas las vacunas disponibles (especialmente sarampión, polio, hepatitis A, influenza (s), y meningitis meningocócica). Esto ayuda no sólo a asegurar su salud, si no que secundariamente ayuda a proteger a sus co-trabajadores y a cualquier animal manipulado (véase información adicional en: www.brookfieldzoo.org/pagegen/inc/ACNutter.pdf).

7. Los PNH no son fuentes comunes de transmisión del virus de la rabia a humanos pero como cualquier mamífero debe considerarse un riesgo, especialmente en áreas donde ellos pueden estar expuestos a reservorios de rabia comunes y de alto riesgo (ej., perros domésticos, murciélagos). Si hay alguna sospecha de exposición a rabia (ej., el manejador ha sido mordido o expuesto a tejidos nerviosos de un primate que exhibe signos neurológicos), se debe aplicar la vacunación post-exposición a rabia lo antes posible. Tener en cuenta que los síntomas de rabia en primates pueden ser muy variables (irritabilidad, auto-mutilación, parálisis) y/o muy generalizados (malestar e incomodidad).

8. Los PNH tampoco son fuentes comunes de exposición de ántrax en humanos, pero se conoce que padecen e incluso mueren de ántrax, incluso en ambientes de bosques atípicos. El uso apropiado del EPP y la eliminación de carcasas sospechosas son las medidas más efectivas de prevenir la exposición y diseminación de ántrax. Véase: <http://www.bt.cdc.gov/agent/anthrax/> para información adicional incluyendo protocolos profilácticos post exposición.

9. Dos patógenos particularmente importantes y peligrosos a los que pueden estar expuestos los trabajadores que manejen PNH son el virus Ébola y virus herpes-1 de Cercopitecos (virus B). **LA EXPOSICIÓN A ALGUNO DE ESTOS PATÓGENOS AMENAZA A LA VIDA Y REQUIERE DE ACCIÓN INMEDIATA.**

(Estos virus no ocurren naturalmente en América del Sur)

Virus B – El personal de PREDICT tiene mayor probabilidad de estar expuesto por la sujeción de macacos vivos, que siempre deben asumirse como infectados con virus B virus con o sin algún signo clínico. Los macacos con lesiones orales deberían ser manejados con extrema precaución y únicamente por personal altamente capacitado, si son manipulados. Los macacos eliminan el virus en su mucosa oral, gingival, y genital y su transmisión puede ocurrir a través de mordeduras arañazos, inoculación percutánea con materiales infecciosos (ej., pinchazos accidentales), exposición de mucosa por salpicaduras. Hay riesgo de exposición a virus B por tejidos del SNC (Sistema Nervioso Central) y CSF (fluidos cerebro espinal) de macacos pero no se conoce que la exposición a sangre periférica de macacos sea causa de infección en humanos. Para prevenir la exposición al virus B, los trabajadores deben siempre seguir todos los procedimientos del EPP y las precauciones indicadas abajo. En el caso de una exposición accidental (ej., mordedura, salpicaduras faciales, pinchazos de agujas) trabajadores deben detenerse INMEDIATAMENTE y seguir el **Protocolo de emergencia por exposición al Virus B detallado en el Apéndice III. La programación del tiempo es crítica** y la acción inmediata puede constituir la diferencia entre la vida y la muerte. Información adicional on-line sobre virus B puede encontrarse en los siguientes sitios web:



<http://www.cdc.gov/herpesvirus/index.html>

<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00015936.htm>

<http://www2.gsu.edu/~wwwvir/index.html>

Virus Ébola (y Filovirus relacionados)- El personal de PREDICT tiene mayor probabilidad de estar expuestos al manipular carcasas de simios africanos muertos, incluyendo carne de monte. La transmisión puede ocurrir mediante el contacto con tejidos infectados secreciones y fluidos corporales y puede prevenirse a través del uso apropiado del EPP y técnicas de prevención relacionadas (Para información más detallada véase www.cdc.gov/ncidod/dvrd/spb/mnpages/dispages/ebola.htm o
<http://emedicine.medscape.com/article/216288-treatment>).

Se debe tomar extrema precaución en cualquier caso de toma de muestra dónde se sospeche infección con Ébola. En caso de exposición accidental al Virus Ébola (ej., herida por pinchazos de agujas, contacto directo de ojos, piel o membranas mucosas con fluidos infectados), los trabajadores deben detenerse inmediatamente y seguir el **Protocolo de emergencia por exposición al Virus Ébola detallado en el Apéndice III**. Tratamientos potenciales post-exposición están actualmente bajo investigación y podrían estar disponibles en un futuro cercano o a través de disposiciones especiales por socios PREDICT (contacte WCS en caso de una posible emergencia de exposición).

SECCIÓN 5. INSTALACIÓN DE LA ESTACIÓN DE CAMPO PARA LA TOMA DE MUESTRAS

Una adecuada selección, preparación e instalación de la estación de muestreo permitirá:

- Reducir el tiempo y el estrés en los animales causada por la manipulación.
- Evitar la contaminación de materiales limpios con los usados
- Evitar la contaminación y potencial exposición a agentes infecciosos de las muestras, animales y personas.
- Realizar el muestreo de forma cuidadosa y sin interferencias.
- Facilitar la desinfección del área de trabajo después del muestreo
- Minimizar el impacto negativo sobre el medio ambiente.

Se deberá establecer de antemano un protocolo detallado de muestreo para los grupos/especies taxonómicas, y asimismo una planilla para el registro de datos (véase la sección 6.1). Es beneficioso que se asigne una responsabilidad a cada miembro del equipo (como el registro de datos o el etiquetado de tubos de muestras, para minimizar la confusión y evitar la repetición u omisión de cualquier paso del muestreo. Un miembro del equipo (usualmente el investigador principal) debe ser considerado oficialmente a cargo del sitio de muestreo, para asegurar el procesamiento adecuado del(los) animal(es) y evitar desacuerdos sobre las decisiones que puedan surgir, las que podrían retrasar el procesamiento del/los animal(es).

Organización del área de muestreo:

Los materiales para el muestreo deberán estar ubicados en la estación de campo designada, donde los investigadores están de acuerdo que se lleve a cabo la toma de muestras. Una buena estación de muestreo de campo debe ser:

1. Un área fácil de desinfectar,
2. Estar localizada fuera de la vista del público en general y lejos de interferencias, y
3. Un lugar donde, si los esfuerzos de desinfección fallan, no es probable que se ponga en riesgo a seres humanos u otros animales (por ejemplo, un área de picnic).

Los materiales deben estar organizados de forma tal que permitan un fácil acceso y el procesamiento rápido del animal (por ejemplo, en orden cronológico), para minimizar el estrés en los animales y el tiempo de su manipulación. Los materiales de muestreo también deben estar organizados para un fácil acceso por el individuo que realiza el muestreo (es decir, extracción de sangre, hisopado), con espacio suficiente entre ellos como para evitar la contaminación de los materiales no utilizados (por materiales contaminados u otros animales).

LISTA DE CHEQUEO SUGERIDA PARA ESTACIÓN DE MUESTREO DE PRIMATES VIVOS*:

Materiales para estación de trabajo:

- Cortinas, sábanas, mantas, lonas, toallas, sábanas de plástico, etc.
- Balanzas y sacos, arneses, sogas para pesar
- Desinfectantes y artículos de limpieza
- Bolsas biohazard (o bolsas simples con stickers biohazard) y cinta de sellado.
- Contenedores duros y que puedan ser cubiertos para transportar las bolsas biohazard (si fuese necesario)
- Fármacos anestésicos o sedativos, medicamentos, vacunas, etc.
- Equipo para monitoreo (pulsoxímetro, estetoscopios, etc.)
- Contenedores de material punzocortante.

EPP y equipo de emergencia

- Respiradores N95 (suficientes para todos los miembros del equipo más extras).
- Protección ocular, anteojos de protección (mascaras faciales si el manejo es de un PNH sospechoso de positivo a virus B o Ebolavirus).
- Guantes de nitrilo desechables
- Guantes gruesos o de cuero desinfectables y reusables.
- Trajes de protección, mandiles, Protective suits, gowns, coveralls, or full length dedicated field garments
- Trajes de protección, batas, overoles, prendas de campo enteras.
- Kit de primeros auxilios
- Kits de emergencia de exposición a virus B ó Ebola (si es aplicable)
- Equipo de comunicaciones para trabajo (celulares, teléfonos satelitales, etc.)
- Plan de respuesta a emergencias (Véase la Guía PREDICT Preparación para emergencias)

Materiales para recolección de datos

- Fichas de colección de datos en campo (suficiente # para animales a ser muestreados más extras)
- Material de escritura (lápices, lapiceros y marcadores permanentes)

- Soporte para documentos resistente al clima
- Cámara digital y batería cargadas extra
- Unidad GPS
- Cinta métrica, regla, pinzas para el tamaño apropiado de los animales
- Materiales de toma de muestra
- Tubos de colecta
- Medios de colecta
- Hisopos
- Láminas
- Agujas
- Jeringas y/o capuchones para vacutainer
- Bolsas Zip-loc
- Contenedor de almacenamiento en frío (cooler, ice packs, hielo seco, etc.)

* Una lista separada para los procedimientos de necropsia de campo será prevista en otros protocolos en desarrollo.

SECCIÓN 6. PROCESAMIENTO DE PRIMATES

La caza, captura, el dardeo e inmovilización de primates no humanos debe ser realizada solo por personal con habilidades y experiencia. Esto no se encuentra incluido en este documento.

Este protocolo de toma de muestra asume como punto de partida una inmovilización segura o un primate muerto. Los principales objetivos durante el procesamiento son:

1. Proteger la salud de todos los manejadores y los animales vivos que están siendo procesados.
2. Colectar los datos requeridos de nuestro.
3. Colectar las muestras biológicas requeridas.
4. Colectar datos y muestras suplementarias.
5. Recuperar a los animales o disponer de las carcasas.
6. Luego de la recuperación, liberar a los animales tan cerca a su sitio de captura como sea posible siguiendo los lineamientos de liberación apropiados.

En algunos casos, las limitaciones de tiempo, el riesgo anestésico, la incapacidad de prolongar la inmovilización, u otros factores pueden necesitar priorizar la colección de muestras biológicas a la expensa de coleccionar cualquier medición física. Como mínimo:

1. Medir y registrar el peso y masa del animal inicialmente puede ser importante para el uso correcto de dosificaciones e intervenciones de emergencia.

2. Realizar un examen físico antes del maestro para notar lesiones o anomalías y proteger la salud del manejador y del animal.

Como se discute en la **Guía PREDICT *Captura segura de animales para la toma de muestras***, si durante la captura, manejo y procesamiento de primates se sufre de alguna lesión potencialmente mortal o una que incapacite al animal para sobrevivir en vida libre, la eutanasia humanitaria debería ser considerado y únicamente realizado por individuos con experiencia usando inyecciones letales.

Colecta de datos

La colección consistente y exitosa de los datos es un componente esencial para la vigilancia de enfermedades. Una hoja de datos (electrónica y/o impresa) debería ser creada con anticipación con todos los datos de campo incluidos. Los datos de campo requeridos están listados en la versión más actualizada de la Guía PREDICT Colección de Datos de Vigilancia. La ficha de recolección de datos de campo y los materiales de etiquetado de muestras deben estar presentes durante el muestreo, y una actualización debe ser hecha luego de tomarse cada muestra (ej. Etiquete cada muestra y registre la data correspondiente inmediatamente después de coleccionar cada muestra). Es ideal que se asigne la tarea de registro e datos a un miembro del quipo para asegurar que esta actividad fundamental sea completada con precisión, consistencia y responsabilidad.

Consideraciones importantes para la colecta de datos:

- El etiquetado de las muestras deben tener una identificación única para cada muestra y cada animal. Si se usa un sistema de código de barras, estas etiquetas deben se impresas con anticipación al trabajo de muestreo.
- Si los datos de campo no pueden ser ingresados directamente en una computadora, las fichas de recolección de datos deberían ser diseñadas para adaptarse al proyecto de vigilancia PREDICT. Los datos PREDICT necesarios y opcionales están listados en la guía de colecta de datos. Las fichas de colección de datos de muestras en campo para taxas específicos están bajo evaluación recientemente y cuando estén completas estarán disponibles para los socios de PREDICT.
- El equipo de muestreo completo deberían compartir las mismas interpretaciones y definiciones de términos usados en las fichas (ej., criterio para marcar “pobre condición”) y como describir información contextual sobre la colección de muestras, incluyendo el nivel de detalle de los términos descriptivos comunes. El entrenamiento específicos debería ser brindado y un “diccionario de datos” para definir términos claramente deberían compilarse y ser aprobados con antemano.

Independientemente del entrenamiento previo, el líder del equipo de muestreo es responsable para asegurar que el equipo colecciona datos correctos y consistentes.

- Asignar un miembro del equipo al registro de datos.

Datos mínimos a coleccionar con las muestras

El mínimo grupo de datos que debería ser registrado para todos los especímenes se encuentran listados en la Tabla 1.

Tabla 1. Campos de datos actualmente requeridos en todos los sitios

Nombre del campo	Explicación
Fecha	Fecha de realización de la observación
Nombre del registrador	Nombre de la persona que colecciona los datos
Afiliación del registrador	Afiliación de la persona que colecciona los datos
ID del animal	Véase el apéndice, individual tab
Descripción taxonómica	Si la especie exacta no se conoce, la taxonomía al nivel más preciso posible (ej. género, subfamilia, familia, etc.)
Nombre científico de la especie	Nombre científico del animal (género y especie)
Certeza de la identificación	Nivel de certeza de la identificación del animal silvestre
Identificado por?	Quien identifica el animal silvestre
Nombre del sitio	Nombre único del sitio donde fueron coleccionados los datos
País	País del sitio de colecciona
Estado/Provincia	Estado o provincia del sitio de colecciona. Ej. "California" o "Kampot".
Longitud del sitio	Grados decimales
Latitud del sitio	Grados decimales
Tipo de fuente	Tipo de persona o institución, o medio por la cual el animal silvestre llegó a estar en posesión
Razón de colección	Descripción de la razón para coleccionar (Ej. oportunista, vigilancia activa, etc.)

Datos adicionales, recomendables a coleccionar de PNH

Idealmente, los siguientes datos adicionales deberían ser coleccionados a partir de PNH:

- masa corporal/peso
- grupo etario (ver a continuación)
- sexo (y posible estado reproductivo si es hembra adulta)
- fotografía(s) de cuerpo entero
- fotografías de características de identificación
- medidas morfométricas

Peso corporal: Como se menciona previamente, el peso corporal debe ser una de las primeras medidas tomadas (antes de data requerida) con el propósito de asegurar las dosis apropiadas, etc. Siendo cuidadosos al manipular la respiración, y dependiendo del tamaño, los PNH deberían ser pesados (Kg.) en bolsas, arneses o un contenedor apropiado usando una balanza con resorte o, si son suficientemente pequeños, una balanza de mesa con o sin balde u otro contenedor. (Nota: Si PNH grandes exceden el límite de las balanzas, una o más balanzas pueden ser unidas (una colgando de la otra) para distribuir el peso. El peso total es la medida de las dos balanzas juntas). Las escalas deben estar calibradas (chequear que marquen '0.0' unidades cuando estén sin peso) y todos los contenedores (bolsas, arneses, baldes, cajas) deberían estar pesados de antemano y el primate y el contenedor deberían ser pesados juntos. Una vez que el primate sea retirado del contenedor para el muestreo, el contenedor debería ser nuevamente pesado y restar el peso total. (Alternativamente, el peso del contenedor puede ser tarado, y así la balanza lee '0.0' unidades con el contenedor, y luego verificar si todavía mide exactamente cero luego de que el primate es retirado). Si no son disponibles las balanzas o pesos exactos no pueden ser medidos para ninguna otra razón, el peso debería ser estimado pero la hoja de registro se DEBE anotar que es un estimado y no una medida real.

Grupo etario	Descripción
Neonato	Animal que muestra signos de haber nacido hace unos pocos días.
Cría	Animal aún no destetado que se aferra a la madre y a la lactancia.
Juvenil	Animal es en su mayoría independiente de la madre, aún no de tamaño adulto e sexualmente inmaduro.
Inmaduro	Individuo evidentemente sexualmente inmaduro
Subadulto	Animal completamente independiente, parece ser maduro sexualmente pero no físicamente (ej., menor tamaño al de un adulto).
Adulto	Animal que tiene características sexuales secundarias, tamaño adulto, maduros sexualmente.
Adulto mayor	Animal que muestra signos de degeneración por edad.

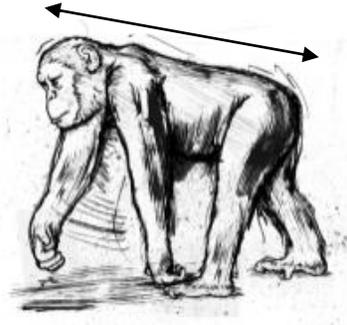
Determinación del sexo (Identificación/Revisión de especies): Basado en la morfología y características únicas, identificar PNH en género, y especies (si es posible) y sexo. La determinación del sexo para individuos jóvenes de varias especies de primates no siempre es simple y fotografías de los genitales deberían ser siempre tomadas, especialmente si hay duda. Para PNHs hembras registre si hay evidencia de familia (ej., presencia de crías, evidencia de lactación previa) y también determinar el estado de preñez tratando suavemente de extraer leche de los pezones (para PNH de gran porte, muestras de leche pueden ser colectadas y almacenadas en congelación). Si crías dependientes son capturadas juntos con sus madres, no deberían ser removidas de sus madres a menos que sea absolutamente necesario (ej., para prevenir lesiones o si son cercanamente independientes/destetados) y, sólo por el mínimo tiempo requerido para completar el muestreo con seguridad.

Fotografías: Como mínimo, las siguientes fotografías digitales deben ser tomadas a casa primate:

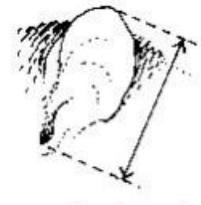
- a. Vista anterior/ventral de cuerpo completo con brazos a los costados, preferiblemente con ficha de identificación o ficha mostrando un número de identificación único.
- b. Vista facial anterior completa.
- c. Vista facial/craneal completa.
- d. Vista de dentición superior o inferior completa (que puede ayudar a determinar/verificar la edad y sexo).
- e. Vista frontal/ventral de genitales totalmente expuestos.
- f. Vista de alguna lesión (ej., cortes, arañazos), anomalías físicas (ej., dedos de los pies faltantes), o marcas de identificación individual (ej., cicatrices cerradas, coloraciones anormales, manchas faciales o arrugas, etc.)

Medidas corporales: Si el tiempo lo permite, la biometría debe registrarse (en cm/mm) con las medidas estándar mínimas (largo lineal) como sigue:

- a. Longitud de cabeza y cuerpo (medidas dorsales y lineales desde la punta de la nariz a la base de la cola cuando la cabeza es estirada y alineada con la espalda. Nota: Para muchos PNH (ej., simios) esta medida se ajusta a lo que es llamado longitud "cráneo-caudal" que comienza en la parte superior de la cabeza con el propósito de producir la medida lineal más larga (sin involucrar la cabeza).



- b. Longitud de la cola (de la base a la punta).
- c. Longitud del pie (del talón a la punta del dedo más largo, excluyendo la uña y apuntar que pie).
- d. Longitud de la tibia ('de rodilla a tobillo').
- e. Longitud de la oreja: base del corte debajo de la abertura de la oreja (borde inferior del conducto auditivo= meato) al punto más distante del margen del pabellón auricular.



Medidas adicionales opcionales.

- a. Longitud de la cabeza, altura del tronco, amplitud de la cadera, longitud y ancho de la mano y amplitud y ancho del pie, segmentos de extremidades (muslo, pierna inferior, brazo superior, antebrazo).
- b. Circunferencia del pecho (a la altura de los pezones), circunferencia abdominal (a la altura del ombligo), y circunferencia craneal (o por encima del frente).

Colecta de Muestras Biológicas

RESUMEN

Adicional a la toma de muestras y análisis estándar de PREDICT, los socios de PREDICT son alentados a coleccionar muestras adicionales y a seguir diagnósticos de rutina (ej., recuento sanguíneo y bioquímica sanguínea, urianalisis, etc.) cuando los recursos lo permitan. Las oportunidades para coleccionar muestras biológicas y datos de salud relacionados de PNH de vida libre son poco comunes y maximizar dichas oportunidades puede avanzar más el monitoreo de la salud de animales silvestres

PNH vivos

Los PNH vivos deberían ser restringidos químicamente para cualquier muestreo invasivo (ej., colecta de sangre). Dos o, de preferencia tres personas se requieren para esas manipulaciones: una persona para contener o colocar al primate de forma segura, uno para tomar las muestras, y un tercero para manejar los tubos (ej., desenroscar las tapas, sostenerlos para el muestreador, asegurarse de que las tapas cierren bien y mantenerlas en orden) y registrar las muestras.

Como se describe abajo en detalle, el juego básico de muestras PREDICT coleccionadas de cada animal vivo incluye **sangre, saliva** y **heces**. La colección opcional de orina, piel/pelo, ectoparásitos, y leche (de acuerdo a disponibilidad) se aconseja cuando es posible.

PNH muertos

Cuando las carcasas no están enteras o están bastantes descompuestas el protocolo PREDICT para Toma de muestra de carne de monte podría ser más aplicable. Si los cuerpos están relativamente enteros y bastante fresco, sangre, tejidos y (opcionalmente) parásitos externos y orina deberían ser coleccionadas como se detalla abajo.

Etiquetado de muestras

Los tubos deben ser etiquetados con un número de identificación único. PREDICT está evaluando el uso de un sistema de etiquetado con código de barras. Mientras tanto, las etiquetas impresas deberían ser usadas. Una opción son las impresoras y etiquetas hechas por Electronic Imaging Materials (<http://www.eiminc.com/>)

COLECCIÓN DE MUESTRAS DE PNH MUERTOS O EUTANAZIADOS

Como se discute a lo largo de este protocolo, PNH se deberían considerar potencialmente infecciosos para una gran variedad de patógenos peligrosos y los PNH muertos en particular, deberían ser muestreados únicamente siguiendo todas las medidas de seguridad incluyendo el uso apropiado del EPP, descontaminación de la estación de trabajo apropiada y disposición de carcasas apropiadas como se indica aquí y en otros documentos PREDICT.

Aunque no se requiere para los muestreos PREDICT, en general los procedimientos de necropsia pueden ser muy beneficiosos y pueden ser pertinentes en algunos casos (ej., individuos valiosos o conocidos, muertes sospechosas, etc.) y se registran en formatos separados. Si el tiempo y la habilidad lo permiten, cuando se realizan necropsias completas, se recomienda seguir el protocolo de necropsia de grandes simios de la Asociación de Zoológicos y Acuarios/AZA (o similar) y puede ajustarse para su aplicación a todas las especies de primates. (Notar que seguir apropiadamente este procedimiento de necropsia general y la colecta y medición de todas las muestras puede requerir de 4-6 horas para un solo animal).

Colecta de sangre post-mortem

En animales muertos recientemente puede ser posible colectar sangre entera (a menudo coagulada) del lado derecho del corazón donde mayor volumen de sangre está disponible. Colectar toda la sangre disponible en un contenedor de tamaño apropiado (típicamente uno más tubos de sangre) y dejarlos reposar por al menos 30 minutos. Luego centrifugar a alta velocidad (2000 x G por 20 minutos), luego remover el suero (fluido claro, amarillo o teñido de rojo en la parte superior), luego transferir coágulos a los crioviales, y luego refrigerar o congelar. Si no hay disponible una centrifuga, permita que los coágulos y las células se asienten lo máximo posible y luego colectar el suero y los coágulos. Si el animal murió recientemente y la sangre aún no ha coagulado y no está disponible una centrifuga, invierta los tubos de sangre luego de la colección y permita que coagule. Luego regrese a su posición original y remueva el tapón cuidadosamente, lo cual también debería remover el coágulo y dejar una muestra limpia de suero.

Como mínimo, las siguientes muestras de sangre deberían ser colectadas tantas como sean posibles:

- 2 frotises delgados de sangre entera, secos, fijados y almacenados a temperatura ambiente.
- 2 o más alicuotas (60 ul – 1.0 ml) de suero separado, congelado
- 1/2 de coágulo de sangre: 2 volúmenes VTM (aliquotado), luego congelado
- 1/2 de coágulo de sangre: 3 volúmenes buffer lisis (aliquotado), luego congelado

Colecta de tejidos

Tres muestras separadas por cada uno de los siguientes tejidos deberían ser colectadas como mínimo:

- intestino delgado
- intestino grueso
- hígado
- pulmón
- riñón
- bazo
- cerebro (si es posible)
- algún tejido aparentemente anormal

Las tres piezas deben colectarse como sigue:

- ~ Pieza de 200 mg (tamaño de una arveja) colocada en un criovial vacío y luego congelado
- ~ Pieza de 200 mg colocada en un vial VTM y luego congelado.
- ~ Muestra de 1 g. (con ningún lado más grueso de 1 cm) para cada tejidos debería ser colocado juntos en un frasco con 10% de formalina tamponada/buferada en 10 partes de formalina por cada parte de tejido y mantenidos a temperatura ambiente para histopatología.

*Usualmente requiere de experiencia identificar tejidos aparentemente anormales pero lesiones macroscópicas potencialmente reconocibles incluyen masas, áreas descoloradas, ulceraciones, etc. Ejemplos de patología (ej. en formalina) deberían ser colectadas en los márgenes anormales para incluir tanto secciones normales como anormales en la misma pieza de tejido. También está recomendado coleccionar todo parásito interno en etanol.

Parásitos externos (Opcional)

Se debe tener cuidado para NO coleccionar infecciones post-mortem (moscas, gusanos, escarabajos, hormigas, etc.) y sólo coleccionar parásitos externos evidentes (garrapatas, piojos, pulgas, etc.). Se deben coleccionar en varios tubos o viales de etanol al 90% o mayor concentración

Orina (Opcional)

Si la carcasa/vejiga urinaria está intacta, y contiene orina no contaminada, una muestra debería coleccionarse. Coloque ½ de la muestra de orina en un criovial con buffer lisis en un ratio óptimo de 1 parte de orina: 3-partes de buffer lisis. Note que para volúmenes muy pequeños de orina, se necesita un mínimo de 300 ul de buffer lisis. Coloque la otra mitad en un criovial con 1 parte de orina: 2 partes de VTM. Almacenar en hielo seco o en nitrógeno líquido y transferir a una congeladora -80C cuando sea posible.

COLECTA DE MUESTRAS DE PNH VIVOS:

Colecta de sangre

Precauciones

- Al menos una persona presente debería tener experiencia previa en extracción de sangre e primates para evitar lesiones en el animal.
- Los PNH deberían ser inmovilizados empleando anestesia inyectable o gas, de acuerdo a los lineamientos apropiados.
- La persona conteniendo al primate es responsable del monitoreo de la respiración y otros signos vitales y de comunicar el estado del animal apropiadamente.
- No más de 1 ml de sangre por 100 g (= 10 ml/kg o 1%) de peso corporal del primate debería ser coleccionado en todo momento.
- La sangre del primate debería ser siempre considerada altamente infecciosa y peligrosa.

Procedimiento de colecta

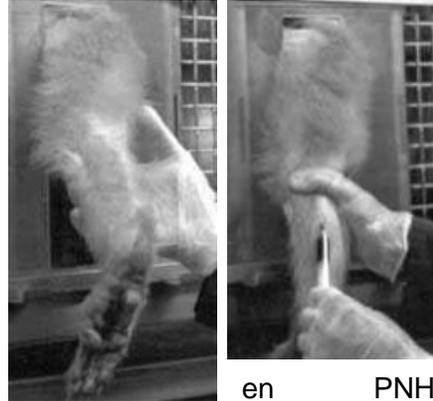
1. Seleccione el sitio apropiado para la venopunción:

- **Vena femoral** – Mejor para PNH pequeños y para mayores volúmenes de muestras. Si la arteria femoral (justo lateral/anterior a la vena) es pinchada involuntariamente, el muestreo puede continuar se debe hacer pero un esfuerzo adicional para aplicar presión por al menos un minuto completo luego de la colecta, para minimizar la formación de un hematoma.

- **Vena safena caudal** (Figura en la derecha de macacos de laboratorio)– Presionando la parte superior del muslo o la rodilla, esta vena puede ser prominente y superficial, pero a menudo colapsa durante la colecta.

- **Venas del antebrazo** – En especies más grandes (ej., simios), las venas cefálica, radial, mediana y ulnar podrían ser lo suficientemente grande para colectar sangre de forma segura.

- **Vena yugular** –Esta podría ser la única opción pequeños y se debe acceder a ella con cuidado.



en PNH

2. Seleccione el tamaño apropiado de aguja y jeringa (o vacutainer) para el tamaño del primate.

3. Desinfecte el sitio con solución de yodo o alcohol.

4. Colecte la muestra.

5. **No vuelva a tapar la aguja.**

6. Aplique presión en el sitio de sangría usando una bola de algodón o gaza hasta que el sangrado cese (aproximadamente 1 minuto).

7. Procese la sangre (Véase abajo).

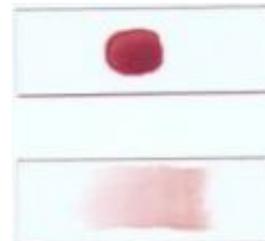
8. Disponga apropiadamente de todos los materiales afilados o demás materiales de riesgo biológico luego de transferir la muestra a viales y láminas.

Procesamiento de sangre

1. Dos frotises sanguíneos delgados: Use gotas inicialmente para realizar dos (2) frotises sanguíneos delgados en láminas de vidrio. Permitir que las láminas se sequen y fijen en metanol o etanol y almacenar y *temperatura ambiente*.



The steps in preparing a blood film. A small drop of blood is placed near the end of a slide (left). A spreader slide is drawn back into the blood drop at a 30-degree angle (middle). Then the spreader slide is pushed away from the blood drop, creating a uniform film across the slide (right).



2. Alicuote el suero en crioviales: Coloque la sangre colectada en tubos para suero (tapa roja o separador de suero, si se colecta >1 ml de sangre, o en 1.5 ml de tubos Eppendorf cónicos). Coloque los tubos de sangre etiquetados en un rack en hielo (óptimo) por dos horas antes de centrifugar. Centrifugar las muestras de sangre. Si no está disponible una centrífuga, los tubos de tapa roja con sangre puede dejarse parados en hielo por toda la noche para permitir que el suero se separe. Use una pipeta para retirar el suero, alicuotar 60 ul a 1.0 ml de volumen por criovial, y almacenarlos en hielo seco o tanque de nitrógeno. Tan pronto como sea posible retirar los crioviales, colocarlos en un criobox y almacenarlas a congelación a -80 °C.

3. Coágulos en UTM y BL: Los coágulos deberían dividirse y la mitad colocarse en un criovial con al menos 3X de volumen o 0.5 ml de VTM, y la otra mitad en al menos 2X de volumen o 0.5 ml de buffer lisis. Colocar los tubos en nitrógeno líquido en hielo seco o tanque de nitrógeno y transferir a congelación a -80°C cuando sea posible.

4. Gotas de sangre en papel filtro (opcional): Usar el resto de la sangre de la jeringa, llenar todos los círculos o hacer machas más pequeñas (<1 cm) en las tarjetas/papel filtro Whatman 903 (o similar). Una vez secos (~2 hrs), o ponerlas en un sobre y almacenarlos a temperatura ambiente (o, para almacenamiento de largo plazo, colocarlas en una bolsa plástica sellable con desecantes y refrigerar).



5. (Opcional) Sangre entera en EDTA: Si las instalaciones están disponibles para realizar un recuento sanguíneo completo (CBCs) dentro de 5 días, se puede colectar sangre entera en EDTA y refrigerarse (no congelar) para análisis.

Hisopados orales

Hisopados en UTM y BL: Usar hisopos con punta de poliéster estériles, con mango de plástico o aluminio, roce la punta del hisopo suavemente pero a fondo contra la parte posterior de la garganta del primate, saturando el hisopo con saliva. Coloque un hisopo en un criovial lleno con 0.5-1 ml de buffer lisis y uso Tijeras esterilizadas para cortar el mango del hisopo por encima de la punta. Coloque otro hisopo en un criovial con 1 ml de VTM y corte el mango como el anterior. Almacene ambos crioviales en nitrógeno líquido y transfiera a congelación a -80°C cuando sea posible.

Heces

200 mg en UTM y criovial vacío: Colectar heces excretadas o si el primate es suficientemente grande (> 1 kg) o usar el dedo con guante y lubricado (solución salina o lubricante medico) para colectar directamente del recto. Coloque una muestra fresca de

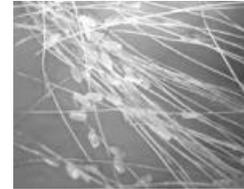
~200 mg (tamaño de arveja) de heces en un criovial con 1.0 ml de VTM y homogenizar moviendo. Congelar en un contenedor de hielo o tanque de con nitrógeno líquido y transferir a congelación de -80°C cuando sea posible.

Si las heces no están disponibles, colecte 2 hisopados rectales- 1 en UTM y 1 hisopo en buffer lisis: [Nota: UTM puede ser usado como lubricante para reducir el riesgo de trauma en el recto. NO USE BUFFER LISIS COMO LUBRICANTE – ES MUY IRRITANTE AL TEJIDO]. Sumerja las puntas de los hisopos estériles brevemente dentro del UTM antes de insertarlo suavemente en el recto del animal.

Coloque un hisopo en un criovial lleno con 1.0 ml de UTM, usando tijeras estériles para cortar el mando del hisopo por encima de la punta. Coloque el otro hisopo en un tubo con buffer lisis. Congelar en un contenedor de hielo o tanque de nitrógeno con nitrógeno líquido y transferir a congelación de -80°C cuando sea posible.

Ectoparásitos (ej., ácaros, piojos, liendres y pulgas)

Colecte ectoparásitos evidentes (y pelos si es necesario) usando pinzas y colóquelas en una contener con 95% de etanol de tamaño apropiado y almacénelo a temperatura ambiente.

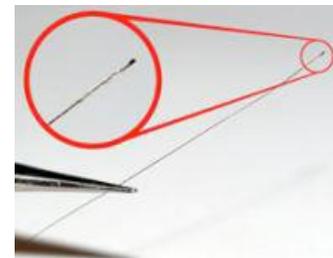


Orina (Opcional)

La mayoría de PNH orinarán como reacción al miedo antes del manejo pero la orina se puede colectar a veces por colecta libre o por extracción de la vejiga por personal capacitado. Coloque ½ de la muestra de orina colectada en un criovial con buffer lisis en un ratio óptimo de 1 parte de orina: 3-partes de buffer lisis. Apunte que para volumen muy pequeños de orina, se necesita como mínimo 300 ul de buffer lisis. Coloque la otra mitad en un criovial con 1 parte de orina: 2 partes de UTM. Almacene en un contenedor de hielo tanque de nitrógeno líquido y transferir a congelación de -80°C cuando sea posible.

Muestras de pelo ó biopsias de piel (Opcional)

Es fácil colectar retirando pelo (con raíz) y usualmente es suficiente para análisis de ADN si se necesita para la identificación de especie para PNH individuales. Para análisis de AND los pelos deben colectarse (arrancando con pinzas) al principio del procedimiento para minimizar contaminación potencial inclusive con células humanas. El pelo arrancado puede almacenarse en sobres limpios o crioviales vacíos.



Las biopsias de piel en primates no se necesitan en el muestreo PREDICT, pero si se colecta (ej., para otros protocolos) deberían ser colectadas únicamente a partir de PNH

correctamente anestesiados. La biopsia por punción estéril debe realizarse en una zona de piel sobre el omóplato preparada quirúrgicamente evadiendo los vasos sanguíneos evidentes. En algunos PNH pequeños o de piel delgada podría ser necesario pegar quirúrgicamente (lo mejor) o suturar los sitios de la biopsia luego de colectar la muestra (recomendado un solo punto simple continuo o cruzado únicamente con sutura absorbible, asumiendo que el animal será liberado). Si se colecta para ADN, coloque cada biopsia en un criovial con 0.5 ml 95% de etanol y almacene a temperatura ambiente.

Leche (Opcional)

La colecta de leche en primates no se necesitan en el muestreo PREDICT, pero si se colecta (ej., para otros protocolos) debería ser colectada por personal capacitado y sólo a partir de animales correctamente anestesiados. Si hembras lactantes son manejadas, colectar la leche en crioviales y almacenar en congelación. Para análisis básicos es adecuado 0.5-2.0 ml y aún los PNH pequeños (menos de 500 g.) pueden ser ordeñadas una vez y proveer ~1 ml de leche sin arriesgar su salud o la de los infantes. Es mejor si las crías dependientes se dejan con las madres nodrizas (Véase arriba) y la separación esas crías antes de la toma de muestras nunca debería hacerse sólo por el propósito de colectar leche.

Resumen de muestras a colectar de PNH vivos:

Muestras PREDICT requeridas

Sangre: 2 frotises sanguíneos delgados, secos, fijados y almacenados a temperatura ambiente.

2 o más alicuotas (60 ul – 1.0 ml) de suero separado, congelado

½ coágulo sanguíneo: en 2 partes de UTM (aliquotado), luego congelado

1/2 coágulo sanguíneo: en 3 partes de buffer lisis (aliquotado), luego congelado

Saliva: 1 hisopado orofaríngeo/garganta en UTM, luego congelado

1 hisopado orofaríngeo/garganta en buffer lisis, luego congelado

Heces: ~200mg de muestra de heces frescas en un criovial vacío, congelado

~200mg de muestras de heces frescas en 1.0 ml de UTM, congelado

Or

1 hisopado rectal en UTM, luego congelado

1 hisopado rectal en buffer lisis, luego congelado

Muestras opcionales

Orina: 1 volumen de orina: 2 volúmenes de UTM, congelar

1 volumen de orina: 3 volúmenes de buffer lisis, congelar

Pelo/piel: ~5-10 pelos arrancados con raíces, secos en un sobre limpio o criovial

ó 2 mm de biopsias de piel por punción en etanol al 95% (para ADN)

Ectoparásitos: parásitos enteros en etanol al 95% a temperatura ambiente.

Leche: hasta 2.0 ml en crioviales vacíos, congelar.

SECCIÓN 7. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE MUESTRA

Las muestras recogidas para PREDICT puede ser utilizado para una serie de actividades incluyendo vigilancia permanente, el descubrimiento de patógenos, los proyectos específicos de investigación, Bancos de muestras biológicas a largo plazo, para muestras que van hacer procesados o actividades que aún están por definirse. Los protocolos de muestreo PREDICT han sido diseñados y destinados a garantizar que las muestras recogidas son adecuadas para el diagnóstico esperado y/o almacenamiento a largo plazo o el archivo con la intención de completar el diagnóstico en el curso del proyecto.

El procesamiento y análisis exacto de las muestras colectadas es probable que varíen según la especie, la geografía, los laboratorios disponibles, el tiempo de colecta y los factores epidemiológicos relacionados. Además, cada integrante de PREDICT puede tener diferentes objetivos e intenciones de sus muestras colectadas.

SECCIÓN 08. ELIMINACIÓN SEGURA DE CADÁVERES Y RESIDUOS INFECCIOSOS

La eliminación inapropiada de desechos provenientes de muestreos, cuerpos de animales o desechos de necropsias, podría dañar la salud de seres humanos, la vida silvestre y el medio ambiente.

Antes de desarrollar actividades de muestreo en campo, se debe planificar la manera más segura para manejar y eliminar todos los desperdicios del muestreo, necropsias y cuerpos encontrados. Un manejo adecuado de materiales infecciosos incluye la contención, desinfección, eliminación por incineración y enterramiento o transporte de materiales a una institución sanitaria (que tenga un incinerador de residuos patogénicos o un sitio para enterramiento). El procedimiento preferido para la eliminación de los desperdicios generados por muestreos de campo es contener de manera segura y transportar el material hacia una institución sanitaria o veterinaria que tenga la capacidad de autoclavar o incinerar los desechos, o posea un sitio de eliminación segura. Hay algunas circunstancias excepcionales donde la mejor opción es disponer de los desechos infecciosos en el campo (Ver procedimientos recomendados para la eliminación en campo más abajo).

La eliminación de cadáveres es un procedimiento con varias dificultades técnicas. La incineración— si es realizada adecuadamente (es decir, reduciendo el cadáver animal a cenizas) se realiza usualmente con diesel (gasoil) o madera como combustible. Este proceso requiere bastante tiempo para incinerar y usa mucho combustible. Además, las esporas de ántrax pueden llegar a ser transmitidas por el aire si el fuego no es manejado

adecuadamente. El enterramiento de cadáveres tiene algunas ventajas, porque no consume mucho tiempo y es económicamente viable. Sin embargo, no garantiza la destrucción de todos los organismos infecciosos (por ejemplo, las esporas de ántrax pueden persistir en el suelo por décadas). El enterramiento de cadáveres también deja abierta la posibilidad de que alguien pueda desenterrar y recuperar la carne y otras partes para consumo u otros propósitos. Finalmente, el supervisor de campo debe determinar el mejor método para la eliminación de residuos según la guía provista más abajo, su criterio y los recursos disponibles.

Colectando y conteniendo materiales infecciosos para su transporte

Lineamientos para coleccionar y transportar residuos infecciosos:

- Usar EPP apropiado para manejar y mover los desechos infecciosos – Como mínimo guantes, mascarillas/respiradores (N95, N100 o P100), anteojos de protección, y un delantal deberían ser usados cuando se empaqueten manejen o muevan bolsas o contenedores de residuos infecciosos. (Véase la Guía de seguridad PREDICT: Uso del EPP y Bioseguridad para más detalles sobre el EPP).
- Colectar desechos infecciosos en bolsas plásticas Fuertes (de preferencia de color rojo o anaranjado). Las bolsas no debería ser llenadas más de $\frac{3}{4}$ para que puedan ser atadas fácilmente o selladas sin derrames o sobre estiramiento de las mismas. Una vez selladas, el exterior de la bolsa debe ser desinfectado.
- Usar contenedores con tapas herméticas y asegurarlas en el vehículo – La mejor manera de contener bolsas de desechos infecciosos es en baldes plástico, barriles o cajas con tapas que puedan ser aseguradas herméticamente. Estos contenedores deberían ser forrados/ocupados con bolsas plásticas que son atadas o selladas. Los contenedores de residuos infecciosos deben estar amarrados con seguridad en el rack de carga o en el compartimento de carga de un vehículo. Los envases sueltos son más propensos a dañarse o a ser arrojados del vehículo.
- Desinfectar bolsas y contenedores de residuos — Antes de mover los contenedores y bolsas de residuos infecciosos al exterior se deberían rociar con desinfectantes. Luego de transportar los contenedores de residuos infecciosos, todos los contenedores que vayan a ser reusados deben ser desinfectados.
- Desinfectar todas las superficies de los vehículos donde los residuos infecciosos fueron guardados.
- Usar un desinfectante que se conozca que mate patógenos que suelen ser encontrados en residuos.

Mejores opciones para la eliminación de materiales infecciosos y carcasas de animales

Se debe evaluar cuidadosamente la determinación de la mejor opción para eliminar material infeccioso, incluyendo consultas con autoridades ambientales y de salud. A continuación se describen diferentes opciones de eliminación de residuos o carcasas de animales, así como los criterios para toma de decisiones.

Opción 1. Envío de desechos a un establecimiento sanitario para su eliminación adecuada.

Criterios que se deben considerar para el envío de residuos infecciosos a un establecimiento sanitario para su eliminación

Usualmente esta es la mejor opción cuando:

- a. El volumen de desechos es limitado al número de bolsas plásticas o recipientes que pueden ser adecuadamente asegurados en el vehículo de transporte. El volumen de residuos asociado con las actividades de nuestro cotidiano entran generalmente en esta categoría (los desperdicios de necropsias de animales medianos a grandes animales podrían no entrar en esta categoría).
- b. Los desechos pueden ser enviados a los establecimientos sanitarios para su eliminación en un par de días. Cuanto más tiempo se almacenan los residuos, más grande es el riesgo de que las bolsas o contenedores se rompan, ocurriendo la exposición de humanos y animales.
- c. El establecimiento sanitario local está de acuerdo en eliminar los desechos y está a la espera del envío.
- d. Un vehículo de transporte está disponible con un portaequipaje, ya sea en el techo o en la parte posterior, para el transporte de contenedores de residuos infecciosos. (Nunca transporte bolsas o contenedores de desperdicios en sitios destinados a pasajeros). Todos los materiales transportados deben estar asegurados adecuadamente de tal manera que los contenedores no se rompan o derramen fuera del vehículo.

Enviando desperdicios infecciosos a un establecimiento sanitario para su eliminación

La opción preferida para la eliminación de materiales infecciosos usados en el muestreo de campo y desechos de necropsia de cadáveres infectados es almacenar y enviar los desechos a un establecimiento sanitario que tenga disponible un sistema seguro para la eliminación de residuos.

Esta opción requiere las siguientes tareas:

- a. Haga un acuerdo con la institución que aceptará los desechos. Ese acuerdo deberá incluir los costos, tiempos de envío y los requerimientos para contener adecuadamente los desechos.
- b. Prepare el equipo de muestreo para que incluya el Equipo de Protección Personal requerido, materiales de desinfección y contenedores para manejar y transportar adecuadamente los desechos. Este equipo deberá incluir máscaras, guantes, batas, contenedores de materiales punzo-cortantes, bolsa de plástico resistente y material para atarlas, spray desinfectante, cubetas con tapas que cierren bien, y/o contenedores de desechos líquidos.

- c. Revise el vehículo y el espacio requerido para la carga de las bolsas de desechos y contenedores anticipados. Las bolsas o contenedores sellados deberán ser transportados en portaequipajes externos o en el área de carga y no dentro los vehículos en la sección de pasajeros. Todos los materiales deberán estar asegurados de tal manera que la ruptura o caída de vehículo sea improbable.
- d. Notifique a las autoridades del establecimiento al que serán enviados los residuos con antelación, de tal manera que puedan anticipar la llegada del material infeccioso.
- e. Acondicione y envíe los desechos siguiendo el reglamento de la institución de destino. Se recomienda que los desechos de alto riesgo sean contenidos en triple bolsa, y el exterior rociado con una solución al 10% de hipoclorito de sodio. Los desechos contaminados pueden incluir guantes, máscaras protectores faciales, trajes Tyvek, y otros materiales contaminados o descartables. Los desechos contenidos en bolsas triples deberán ser enviados a la institución sanitaria para su entierro o incineración.
- f. Desinfecte el vehículo de transporte inmediatamente después de cada envío.

Opción 2: Eliminación en el campo – Incineración y entierro de desechos infecciosos cerca de donde se originaron los mismos

Bajo ciertas circunstancias, la eliminación en campo podría ser la mejor opción (opción más segura y práctica) para la eliminación de carcasas,, desechos de necropsia y otros materiales infecciosos. Por ejemplo, mover los desperdicios infecciosos siempre incrementa el riesgo de diseminar la enfermedad a otras áreas.

Para la eliminación de desperdicios infecciosos PREDICT recomienda la combinación de incineración y entierro. Enterrar los desperdicios contenidos en bolsas plásticas sin incinerar, permitiría a los patógenos sobrevivir más tiempo, incrementando el riesgo de exposición a la gente y a los animales. La mejor opción para la eliminación de cadáveres puede ser la incineración y entierro, entierro, o simplemente dejar el cadáver donde se lo encontró.

Criterios para escoger el método de eliminación en el campo (incineración y entierro)

La eliminación en el campo puede ser la mejor opción cuando:

- El volumen de desperdicios infecciosos excede la cantidad que puede ser acondicionada y transportada en forma segura hacia un centro de salud para su eliminación. Esto puede incluir grandes cantidades de desperdicios líquidos o de necropsias, o cadáveres de animales. Mover el material infeccioso representa un gran riesgo de propagación de la infección a otras áreas.
- No es posible transportar los residuos a una instalación para su eliminación dentro de un par de días.
- No existe un vehículo con espacio de carga adecuada para las bolsas de desperdicios o contenedores.

- Existen lugares cercanos donde los desperdicios pueden ser enterrados con seguridad.

Consideraciones para determinar el mejor sitio para quemar y enterrar los materiales infecciosos:

- Naturaleza y cantidad de material de desecho (tamaño y cantidades de desperdicios).
- Disponibilidad de áreas cercanas adecuadas para cavar una fosa de desperdicios e incinerarlos, que estén alejadas de casas y otras estructuras.
- Accesibilidad del sitio para que el vehículo utilizado pueda mover los desperdicios.
- Características del suelo (fácil de excavar), poca pendiente.
- Profundidad de las aguas subterráneas - las aguas subterráneas deberán estar al menos 1.5 metros por debajo del fondo del hoyo.
- Por lo menos 50 metros de distancia de vertientes, pozos y fuentes de agua.
- Proximidad de ganado, aves de corral y perros.
- Presencia de animales de vida silvestre que puedan excavar el material.
- Probabilidad de que algún humano puedan desenterrar el material.
- Los planes para el uso posterior de la zona.
- Si se requiere una cerca para excluir a los animales.

Procedimientos para quemar y enterrar desperdicios infecciosos y de necropsias:

1. La ubicación de las fosas no deben estar en áreas mojadas (como un pantano) y deben estar localizadas al menos a 50 metros de cualquier fuente de agua o vivienda humana.
2. Utilice el Equipo de Protección Personal (guantes, mascarillas, gafas y delantal protector) al manejar o mover un cadáver para su entierro, y al quemar y enterrar los residuos.
3. Contenga los desperdicios infecciosos de necropsias y otros materiales infecciosos en bolsas de plástico selladas. Rocíe el exterior de las bolsas con desinfectante antes de manipularlas o moverlas hacia la fosa de quemaentierro.
4. Cave una fosa, generalmente de por lo menos 1.5 a 2 m de profundidad – lo suficiente para permitir que los desperdicios sean cubiertos con al menos 1 metro de tierra. Coloque leña en la fosa antes de colocar las bolsas de desperdicios (Consulte la ilustración de abajo para ver las dimensiones de una fosa de quema-entierro).
5. Vierta una taza de combustible diesel (gasoil) sobre el material de desecho y madera, y cuidadosamente prenda el fuego usando una antorcha, mientras se mantiene alejado de la fogata. (Si la quema de desperdicios es frecuente, considere la construcción de un tambor incinerador de acero para desperdicios, de 220 litros (55 galones) de capacidad según lo especificado por la OMS y el CDC. Véase el Apéndice.)
6. El fuego debe ser vigilado, moviendo el contenido de la quema con un palo largo, para asegurar que todo se queme. Más combustible puede ser necesario para quemar por completo todos los desperdicios.

7. Desinfectar las palas y todo el equipo reutilizable, u otros contenedores utilizados para mover y enterrar los desperdicios. Desinfectar con etanol al 70% (artículos de metal, como la pala) o con hipoclorito de sodio al 10% (artículos de plástico o caucho como botas).

Procedimientos para la incineración y entierro de cadáveres:

- Coloque el material de origen animal en un lugar seguro, al menos a 100 metros de asentamientos humanos, y por lo menos a 50 m de cualquier fuente de agua (arroyo, pozo, etc.).
- Si se está usando combustible diesel (gasoil), ponga los cadáveres/partes en una fosa poco profunda (10 cm) que ayude a contener la incineración.
- Si utiliza leña como combustible, asegúrese de que esté lo suficientemente seca para quemarse fácilmente.
- Por lo general se construye una “pira”, en las que los cadáveres/partes se colocan encima de una gran cantidad de combustible.
- En cualquier caso, los cadáveres/partes deben ser reducidas a cenizas.
- Con la ayuda de una pala y tierra, cubra por completo las cenizas.
- Desinfectar palas y todo el equipo reutilizable, u otros contenedores utilizados para mover y enterrar los desperdicios. Desinfectar con etanol al 70% (artículos de metal, como la pala) o con hipoclorito de sodio al 10% (Lejía, agua lavandina)(artículos de plástico o goma como botas).

Procedimientos para enterrar cadáveres:

- Use el Equipo de Protección Personal (guantes, máscaras, anteojos y delantal de protección) cuando maneje o mueva un cadáver para enterrarlo.
- La fosa no deberá estar localizada en un área mojada (como un pantano) y deberá estar por lo menos a 50 m de distancia de cualquier cuerpo de agua.
- Cave una fosa, de por lo menos 1 m (idealmente 2 m) de profundidad, lo suficientemente grande para que el cadáver sea cubierto con al menos 60 cm de tierra (vea la ilustración abajo sobre las dimensiones de la fosa para enterrar cadáveres).
- Los cadáveres/partes deberán ser cubiertos con 1.5 a 2.5 cm (1/2 a 1 pulgada) de hidróxido de sodio (soda cáustica) antes de ser cubiertos con tierra compacta. Advertencia: el hidróxido de sodio es cáustico. Usar guantes de goma y gafas/protectores oculares durante la manipulación de la soda cáustica.
- Desinfectar palas y todo el equipo reutilizable, u otros contenedores utilizados para mover y enterrar los desperdicios. Desinfectar con etanol al 70% (artículos de metal, como la pala) o con hipoclorito de sodio al 10% (lejía, lavandina)(artículos de plástico o goma como botas).

Opción 3: Dejar los cadáveres donde se los encontró

Dejar los cadáveres donde se los encontró podría ser la mejor cuando:

- a. Los cadáveres no están cerca de personas o animales domésticos.
- b. Los cadáveres son demasiado grandes o numerosos, siendo poco práctico o inseguro moverlos o enterrarlos. Por ejemplo, podría haber numerosos cuerpos de animales grandes durante una epidemia de una enfermedad. En este caso, las autoridades locales decidirán como lidiar con los cuerpos.

Consideraciones para dejar los cadáveres donde se los encontró:

La opción más segura y práctica para manejar cadáveres de animales con alguna enfermedad, o numerosos cadáveres, es dejarlos donde fueron encontrados. Si se decide no mover a los cadáveres que podrían estar infectados con, por ejemplo, Ébola, ántrax o algún otro patógeno peligroso, se deberá dar notificación a las autoridades locales de salud pública y sanidad animal sobre el lugar y la sospecha de riesgo de infección.

SECCIÓN 9. REFERENCIAS

- AAZV. 2004. Occupational primate disease safety guidelines for zoological institutions. 47 pp.
- Cohen JI, Davenport DS, Stewart JA, Deitchman S, Hilliard JK, Chapman LE, and the B Virus Working Group. Recommendations for Prevention of and Therapy for Exposure to B Virus (Cercopithecine Herpesvirus 1). *Clinical Infectious Diseases*, 35:1191–203.
- Geisbert T & Jahrling PB. 2004. Exotic emerging viral diseases: progress and challenges. *Nature Medicine Supplement*, 10: S110-S121.
- Huff JL & Barry PA. 2003. B-Virus (Cercopithecine herpesvirus 1) Infection in Humans and Macaques: Potential for Zoonotic Disease. *Emerging Infectious Diseases*, 9: 246-250.
- Hughes, T. 2010. Protocol for trapping, anesthetizing, sampling and euthanizing NHP. Wildlife Trust. 8 pp.
- Kilbourn AM & WCS Field Veterinary Program, 2000. Recommendations for Health Observations, and the Collection, Preservation, and Analysis of Great Ape Biological Samples. 93 pp.
- Macfie EJ & Williamson EA. 2010. Best Practice Guidelines for Great Ape Tourism. Gland, Switzerland. IUCN/SSC Primate Specialist Group (PSG). 78 pp.
- Mansfield K & Weston-Murphy H. 2009. Zoo Med 2008: Primate Medicine (2009). Available at: <http://ocw.tufts.edu/Content/60/lecturenotes/896102> (accessed 11/1/2010).
- McManamon R. 2008. Diagnostic Testing in NHP NHP. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 17(1): 31–38.
- Nutter FB & Whittier CA. 2000. Occupational health programs for primate field researchers: improving human health care benefits NHP NHP. *Proceedings of The Apes: Challenges for the 21st Century*, Brookfield Zoo, 244-249.
- Setchell JM and Curtis DJ (eds). 2003. *Field and Laboratory Methods in Primatology: A Practical Guide*. Cambridge University Press, Cambridge. 343 pp.

APÉNDICE I. CDC-FAO Guía para la Construcción de un Incinerador de residuos usando un barril de 220-Litros

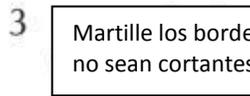
Steps for Building an Incinerator



1 Encuentre un barril de 220-litros (55 galones).



2 Corte la parte superior del barril. Remueva la pieza.



3 Martille los bordes del barril para que no sean cortantes



4 Corte 3 media lunas justo cerca de la parte superior del barril

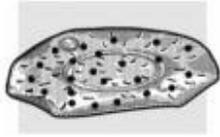


5 Voltee el barril. Ahora el fondo estará arriba.

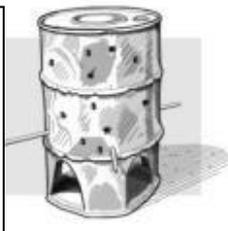
6 Corte 4 orificios en los lados del barril. Ensarte 2 varillas metálicas a través de esos agujeros de manera que puedan cruzarse dentro del barril.



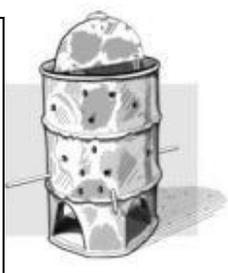
7 Realice agujeros en el tapa cortada para hacer una plataforma



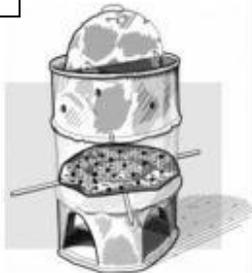
8 Haga una serie de agujeros a un lado del barril y por encima de las varillas cruzados para incrementar el fuego



9 Corte la mitad de la tapa. Adhiera los alambres a la mitad cortada para hacer una puerta trampa. Adjunte otro alambre como manija para abrir la puerta trampa.



10 Sitúe la plataforma dentro del barril sobre los rodillos



APÉNDICES IV. MATERIALES GLOSARIO

Los protocolos de toma de muestra de PREDICT usan diferentes tipos de tubos y viales de colecta y medios de almacenamiento o de transporte. Todo el personal necesita estar familiarizado con estos suministros y materiales con el propósito de coleccionar las muestras apropiadamente y de forma segura.

- **Medio de transporte viral (VTM)** - es un material diseñado para preservar virus para su posterior recuperación viable. El medio es usualmente un gel o líquido que viene en un tubo de colecta (algunas veces con un hisopo) y contiene un número de ingredientes para el mantenimiento de virus, previniendo la contaminación bacteriana y, asegurando la viabilidad a través del congelamiento y la descongelación. VTM tiene un tiempo de vida limitado y verificarse su fecha de expiración y necesidades para ser almacenado de acuerdo a las instrucciones específicas, típicamente refrigerados antes y después de usarlos y pueden ser congelados para almacenamiento a largo plazo a -70°C o menor. Las muestras colectadas en VTM deberían ser siempre consideradas como infecciosas y como biohazards.

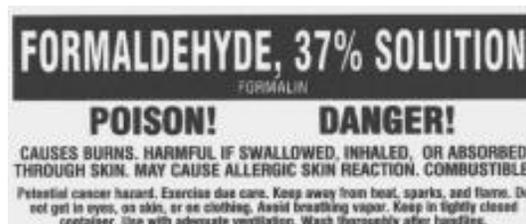


- **Buffer lysis** - es un término genérico de una solución que es usada para preservar ácidos nucleicos (ADN y ARN). El nombre 'lysis' está basado en los ingredientes que lisan las paredes células bacterianas, virales otras, con el propósito de exponer los ácidos nucleicos (ANs). Hay una amplia gama de productos buffer lysis y cada uno tiene propiedades diferentes, handling hazards, y requerimientos de almacenamiento que todo el personal debería conocer antes de manejar productos específicos. Algunos de estos productos pueden ser muy costosos.

- **Etanol**- El etil-alcohol o etanol tiene muchos usos, incluyendo el almacenamiento de especímenes biológicos. El etanol fuerte ($>65\%$ volumen/volumen solución en agua) es un desinfectante económico y efectivo porque desnaturaliza las proteínas y disuelve lípidos, por tanto mata a la mayoría de bacterias, virus y hongos. A concentraciones más altas ($>90\%v/v$) el etanol puede además ser un buen preservante de ácidos nucleicos, aunque no se recomienda el almacenamiento a largo plazo de ácidos nucleicos no purificados.

- **Formalina**- El formaldehído es un gas llamado formalina cuando se disuelve en una solución. Como el etanol, la formalina tiene muchos usos y es un desinfectante efectivo pero también puede ser tóxico, alergénico y carcinogénico y su uso está restringido en muchos países. Es comúnmente usado como solución buferada al 10% para almacenamiento de tejido porque sus propiedades de fijación o preservación de tejidos para varios análisis.

Una solución de formalina totalmente saturada, es cerca de 37 g. de formaldehído//



100 ml. de agua, típicamente expresados como 37% w/v (ó 40% v/v). Para la preparación de tejidos típicamente se usa lo que se refiere a “10% formalina” (ej., a 1:9 dilución), el cual es actualmente sólo a 4% solución de formaldehído y es además buferada con fosfato de sodio. Si tiene que mezclar o diluir, recuerde que lo que es a menudo etiquetado como “formalina al 40%” es actualmente formaldehído 40% y es por lo tanto, formalina al 100% que necesita ser diluida 1:9 y no 1:3.

Punto clave: 1 parte formalina saturada (40% formaldehído) / 9 partes de agua = formalina 10% para tejidos (y debería ser buferada o cambiada a 10% formalina buferada lo antes posible)

Una receta para preparar formalina buferada al 10% (hay otras)

Formaldehído, 37-40%, 100 ml

Agua destilada, 900 ml

*Fosfato de sodio, monobásico, 4 g

*Fosfato de sodio, dibásico, 6.5 g

Total 1.0 litro

*Si no se encuentran disponibles puede sustituirse con 4.0 g. de cloruro de sodio (sal pura).

Crioviales- Este nombre se refiere a viales de plástico, con rosca interna y O-ring de silicona para prevenir derrames. Son usualmente pequeños (1-10 ml) y hechos de ciertos plásticos que pueden ser almacenados de manera segura en condiciones de ultrafrío (-80C). NUNC o Corning son marcas recomendadas.



Tubos para sangre o Vacutainer- Son tubos diseñados para la colecta de sangre (pero también usados para otras muestras), sellados internamente estériles y con presión negativa (ej., al vacío). Pueden estar hechos de ciertos plásticos pero usualmente son de vidrio con caucho o plástico, tapas de colores que indican qué preservantes u otro medio contienen. Para la toma de muestras, el personal debería estar familiarizado con los siguientes tubos:

O Tapa roja: vacíos o que contienen gel separador y activador de coágulo. Aunque los viales con tapa rosca son mejores, los tubos de tapa roja vacíos pueden ser usados para orina, parásitos, biopsias, etc., pero tubos que contienen gel no deberían ser usados para nada más que sangre entera que necesita el separador de suero.

O Tapa jaspeada rojo y negro o tapa dorada: contiene gel y activador de coágulo; usado para separar suero.



O Tapa morada: contiene EDTA para prevenir la coagulación; usado para recuentos sanguíneos y puede ser usado para frotises sanguíneos. Nota: al girarlo, el sobrenadante claro contiene plaquetas y por lo tanto es plasma y no suero, lo cual debe tenerse en cuenta.

Muestras de sangre seca- Una variedad de papeles filtro están disponibles para coleccionar gotas de sangre seca además de las tarjetas Whatman 903 específicamente mencionadas. Muchos otros productos son suficientes para preservar gotas de sangre seca principalmente para la recuperación de RNA y DNA de patógenos. Ya que algunos productos han sido diseñados para toxicología, farmacología, análisis de proteínas y preservación de moléculas diferentes a ácidos nucleicos, los socios de PREDICT aconsejan que se aseguren que los productos usados sean apropiados para preservación de ADN y ARN.



Respiradores- Las máscaras quirúrgicas desechables y los respiradores mecánicos/de partículas no son los mismos dispositivos. Las máscaras quirúrgicas son típicamente hechas de papel y están diseñadas en su mayoría para prevenir que el usuario de contamine a sus pacientes. Los respiradores mecánicos (RMs) son usualmente hechos de materiales filtrantes más complejos que el papel y están diseñados en su mayoría para prevenir al usuario de inhalar partículas en suspensión (químicos, gases, toxinas, agentes infecciosos, etc.). El Instituto Nacional de Seguridad y Salud Ocupacional de US (NIOSH) certifica a los RMs como a prueba de aerosoles de aceite (P), resistentes (R), o no resistentes (N) y capaces de filtrar al menos 95, 99, o 99.97 (refiriéndose al "100") por ciento de partículas aéreas más grande que 0.3 micrones. Las mascarillas 'N95' son por lo tanto, el mínimo estándar para certificaciones NIOSH (ej., R95 o P95 son al menos tan efectivas como las N95 y son también usualmente más costosas) pero está certificado a diferencia de las mascarillas quirúrgicas estándar. Ahora hay varios dispositivos comercializadas como mascarillas quirúrgicas que son en realidad respiradores N95.

Mascarillas quirúrgicas estándar



Respiradores N95

