



NOTA INFORMATIVA

NI-LCV-01 Rev. 01

MEDIO DE TRANSPORTE PARA TOMA DE MUESTRAS POR SOSPECHA DE FIEBRE AFTOSA

OBJETO

El documento recoge las directrices para la elaboración de medios de transporte de muestras tomadas en los casos de sospecha de Fiebre Aftosa que se recogen en [Manual práctico de operaciones en la lucha contra la Fiebre aftosa](#).

DESCRIPCIÓN

El VFA es extremadamente sensible a las variaciones de pH, por lo que las muestras deben enviarse al laboratorio en un medio de transporte que tenga capacidad tampón y garantice la estabilidad del pH entre 7,2 y 7,6.

Se elaboran dos tipos de medio de transporte, según la muestra a tomar:

- **Medio de transporte A** para tejidos, principalmente epitelios. Compuesto por tampón fosfato y glicerol a partes iguales.
- **Medio de transporte B** para frotis nasales y orales tomados con hisopos y muestras faringoesofágicas con contenido celular. No lleva glicerol, compuesto por tampón fosfato y seroalbúmina bovina.
- Las muestras líquidas (líquido de vesículas, leche) se recogerán en frascos de toma de muestras estériles sin medio de transporte.
- Las muestras de suero/sangre se recogerán en tubos de vacío sin anticoagulante/con EDTA, respectivamente.

Los medios llevarán además un indicador de pH, como el rojo fenol, y antibiótico. El pH final del medio deberá estar comprendido entre 7,2–7,6.

El VFA es extremadamente lábil en pH bajo y el tampón del medio de transporte es esencial para una toma de muestras satisfactoria.

Las muestras deben mantenerse refrigeradas hasta su llegada al laboratorio.

1. Preparación de los medios de transporte

Se dan indicaciones para preparar un *volumen final de 200 mL* de medio de transporte, si se necesita preparar un volumen mayor se aumentarán las cantidades siguiendo las proporciones indicadas en las tablas 1 y 2.



NOTA INFORMATIVA

NI-LCV-01 Rev. 01

Medio de transporte A (50% tampón fosfato 0,04M y 50% de glicerol):

Para preparar 200 mL, procederemos de la siguiente manera:

1. 100 mL de Tampón fosfato 0,04M

- ✓ **Disolver 2 tabletas de PBS** en 100mL de agua destilada (*PBS: p.e. Sigma P4414, 1 tableta en 200 mL 0,01M*).
- ✓ **Autoclavar** la solución tampón.
- ✓ Añadir 0,2 ml de **rojo fenol** al 1% (concentración final 0,002%) (*Rojo fenol: p.e. en polvo Sigma P3532, 0,2g diluido en 2 ml de agua destilada estéril*).
- ✓ Añadir 1 mL de **antibiótico** (*Antibiótico-antimicótico: p.e. Sigma 5955 (10,000 units penicillin (base), 10,000 units streptomycin (base), and 25 µg amphotericin B/ml, utilizing penicillin G (sodium salt), streptomycin sulfate, and amphotericin B as Fungizone™ Antimycotic in 0.85% saline)*)

- ✓ **Ajustar el pH** a 7,2-7,6 con una solución de HCl 1M

2. 100 mL de glicerol

Añadir 100mL de glicerol a la solución tampón 0,04M preparada (*Glicerol: p.e. Sigma G2025*).

El pH final de la mezcla glicerol/tampón deberá estar comprendido entre 7,2–7,6

El medio de Transporte A preparado se etiquetará y se conservará en refrigeración hasta su utilización.

Si no se dispone de tampón fosfato 0,04 M, para las muestras de tejido, se pueden utilizar medios de cultivos de tejidos o solución salina tamponada con fosfato (PBS), pero es importante que el pH final de la mezcla glicerol/tampón esté comprendido entre 7,2–7,6.

Medio de transporte B (Tampón fosfato 0,08M con 0,01% seroalbúmina):

Para preparar 200 mL, procederemos de la siguiente manera:

1. 200 mL de Tampón fosfato 0,08M

- ✓ **Disolver 8 tabletas de PBS** en 200mL de agua destilada.
- ✓ **Autoclavar** la solución tampón.
- ✓ Añadir 0,2 mL de **rojo fenol**.
- ✓ Añadir 1mL de **antibióticos**.
- ✓ **Ajustar el pH** a 7,2-7,6 con una solución de HCl 1M

2. Añadir 267 µl **seroalbúmina bovina** (7,5%) (*Seroalbúmina bovina: p.e. Sigma A8412*).



NOTA INFORMATIVA

NI-LCV-01 Rev. 01

El medio de Transporte B preparado se etiquetará y se conservará en refrigeración hasta su utilización.

2. Alicuotado y etiquetado.

Cuando se necesite utilizar el medio de transporte elaborado, se alicuotará de la siguiente manera:

- El medio de transporte A se alicuotará en botes de toma de muestras estériles de 20 mL, dentro de cabina de seguridad biológica para mantener su esterilidad, en volúmenes de 10mL/bote de 20mL. Los botes se etiquetarán individualmente.
- El medio de transporte B se alicuotará en tubos de toma de muestras estériles de 3-5 mL de tapón a rosca, dentro de cabina de seguridad biológica para mantener su esterilidad, en volúmenes de 2mL/tubo de 3-5mL. Los botes se etiquetarán individualmente.
- Las muestras líquidas se recogerán en tubos de toma de muestras estériles de 3-5 mL de tapón a rosca, sin medio de transporte y se etiquetarán individualmente.

3. Conservación y caducidad

Conservación:

- Todos los envases con medio de transporte se conservarán en refrigeración (5°C ±3).

Caducidad:

- La caducidad será de un año, siempre y cuando el pH se mantenga entre 7,2 y 7,6. El medio de transporte lleva como indicador de pH el rojo fenol, en cuanto el color del medio vire a amarillo o a fucsia se eliminará y se elaborará de nuevo.



NOTA INFORMATIVA

NI-LCV-01 Rev. 01

TABLA 1: PREPARACIÓN MEDIO DE TRANSPORTE A (50% tampón fosfato 0,04M y 50% de glicerol)

Volumen final	Glicerol mL	Agua destilada mL	Tabletas PBS	Rojo fenol mL	Antibióticos mL
200 mL	100	100	2	0,2	1
300 mL	150	150	3	0,3	1,5
400 mL	200	200	4	0,4	2
600 mL	300	300	6	0,6	3

TABLA 2: PREPARACIÓN MEDIO DE TRANSPORTE B (Tampón fosfato 0,08M y 0.01 % seroalbúmina 0,01%)

Volumen final	Agua destilada mL	Tabletas PBS	Rojo fenol mL	Antibióticos mL	Seroalbúmina Bovina µl
200 mL	200	8	0,2	1	267
300 mL	300	12	0,3	1,5	400
400 mL	400	16	0,4	2	534
800 mL	800	32	0,8	4	1068

Ejemplo de envases ya preparados con Medio de transporte A, Medio de transporte B y tubos de muestras estériles con tapón de rosca.

