

R02 (2024/05/27)

1. OBJETO

Describir las instrucciones mínimas para que el cliente tenga conocimiento de la adecuada forma de recolección, embalaje y transporte de los ítems de ensayo, y que no sean rechazadas por el laboratorio.

2. REFERENCIAS

Como referencia para la elaboración de este instructivo, se ha tomado en consideración los criterios establecidos en el siguiente documento:

- ❖ PG-14 Elaboración de Documentos
- ❖ Manual Acuático. Manual de las pruebas de diagnóstico para los animales acuáticos, décima edición. 2023.

3. DESCRIPCIÓN

Toma de muestras

La toma, colección de las muestras que serán enviadas al laboratorio es responsabilidad del cliente. Onelabt S.A. se responsabiliza de los resultados de las muestras recibidas para análisis. Las condiciones de las muestras a ser recibidas en el laboratorio se describen en este documento

Información relativa a las muestras

Se describen en este instructivo Tabla 1. Los lineamientos de información relativa a la muestra responden a los requerimientos de la autoridad competente en el caso de que el informe de análisis constituya un documento requerido para procesos administrativos posteriores, el cliente se compromete al envío de la información asociada a la muestra que crea pertinente.

Todos los ítems de ensayo serán analizados una vez recibida la solicitud de análisis por escrito o vía correo electrónico. Las cartas de solicitud de análisis serán recibidas en formatos digitales editables para su procesamiento en el sistema de recepción de ítems de ensayo de ONELABT S.A. En cada carta debe constar la fecha, el nombre del responsable del envío, cargo y la razón social o denominación de la empresa a la que pertenece si aplica.

Tabla 1. Datos asociados a ítem de ensayo solicitados por la autoridad competente en caso de uso posterior del informe de análisis en procesos administrativos.

TIPO DE PRODUCTO	TIPO DE ENVASE SI APLICA	MARCA SI APLICA	REFERENCIA SI APLICA	PESO (GR)	CÓDIGO Ó LOTE	FECHA DE PRODUCCIÓN SI APLICA	PARÁMETROS	NÚMERO DE ANÁLISIS

R02 (2024/05/27)

i. Muestras recibidas de tanques o piscinas

Cada análisis de detección de agentes infecciosos en ONELABT S.A se realiza con la toma de más de 30 individuos por frasco/tanque. Este sistema indica la presencia del virus (en tres niveles: bajo, medio y alto) y la cuantificación en porcentaje de la infección en el tanque. El sistema tradicional, toma una muestra de 150 a 200 larvas, las maceran o muelen juntas y corren un solo PCR a partir de ese extracto, por lo tanto, no pueden cuantificar el porcentaje de infección para las muestras y son solo indicativas de la presencia o no del virus. Cuando el porcentaje de individuos infectados es bajo en el tanque, los resultados de esos análisis ejecutados tradicionalmente son inconsistentes.

ii. Análisis de muestras individuales, individuos o partes de ellos en distintas fases de crecimiento

Bajo solicitud del cliente el laboratorio procesa el análisis molecular para detectar agentes infecciosos en muestras de cada individuo entregado al laboratorio

iii. Análisis en pools

Bajo solicitud del cliente el laboratorio puede procesar análisis moleculares para la detección de agentes infecciosos como por ejemplo el virus de mancha blanca en matriz de camarón en pools o macerados de entre 2 y 10 individuos adultos o de acuerdo a los requerimientos del cliente. El macerado preparado y homogenizado será procesado para el análisis. Se preferirá sin embargo procesar cinco casos individuales del lote tomados al azar para mejorar la sensibilidad del análisis.

- Tomando como referencia la información verbal provista por el cliente, la(s) muestra(s) no deberán presentar signos de haber sido alteradas durante su transporte hasta el laboratorio. En casos de que se identifique factores que pudieran alterar las muestras su procesamiento se realizará bajo estricta responsabilidad del solicitante.
- No se receptorán muestras que presenten signos evidentes de descomposición.
- Si los criterios arriba enunciados no son satisfechos, la muestra no deberá ser ingresada al laboratorio y se comunicará al cliente para la devolución y/o coordinación del envío de otra muestra. Una muestra sin las condiciones preanalíticas descritas se procesará únicamente bajo responsabilidad del solicitante

Condiciones preanalíticas de las muestras

Se recibe camarón entero fresco (< 18°C) o congelado (menor a 0°C), en cualquier etapa de desarrollo, las muestras recibidas en horario matutino son almacenadas en temperatura de congelación >10°C inmediatamente para garantizar su integridad hasta el momento del análisis.

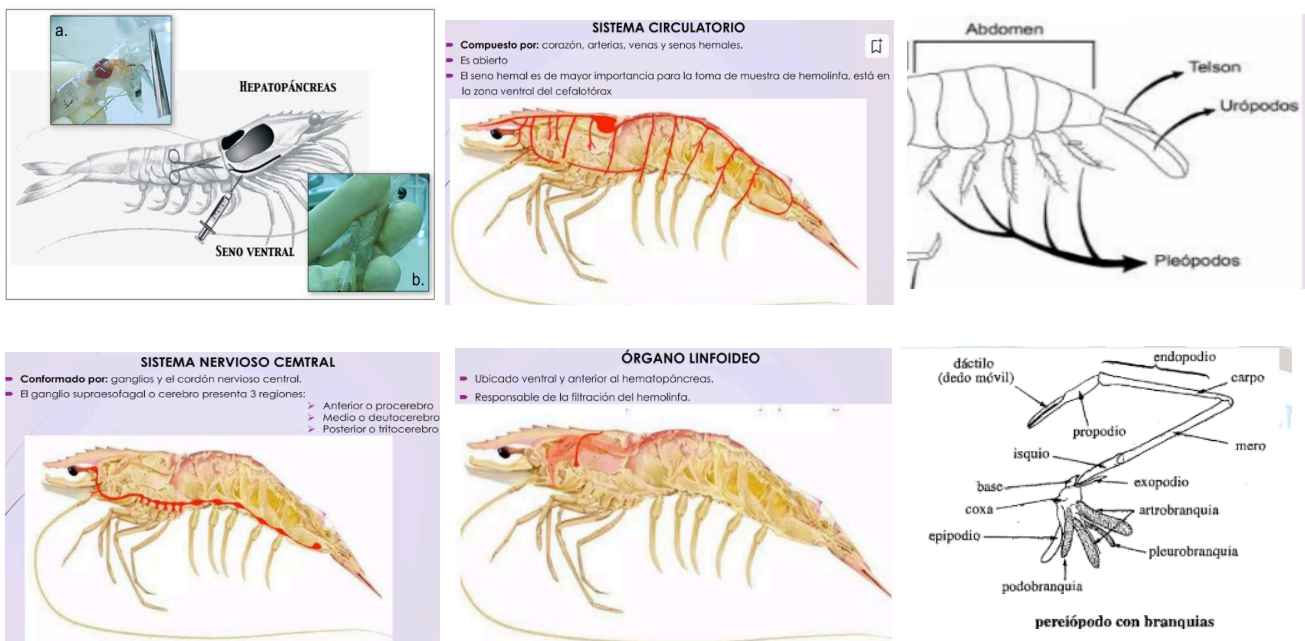
Adicionalmente se reciben muestras de tejido de camarón o camarón en cualquier fase de crecimiento fijadas en etanol absoluto grado molecular a temperatura ambiente.

Los pasos a seguir son los siguientes:

R02 (2024/05/27)

- ✓ Las muestras de camarón fresco o congelado se reciben y acomodan en hieleras para ser transportadas al laboratorio. El camarón fresco debería estar a una temperatura de 18°C y se almacenará en las hieleras destinadas al propósito de transporte.
- ✓ En caso de que el cliente decida fijar las muestras en alcohol grado molecular para la preservación del ítem de ensayo se deberá guardar una relación 1/10 con el preservante. Considerar las secciones aptas para cada estudio de acuerdo a la Tabla 2.

Figura 1. Porciones de tejido aptas para análisis de detección de patógenos en camarón por Biología molecular



Fuente: Cabrera Mónica, Efecto de alimentos funcionales para camarón blanco (*Penaeus vannamei*) sobre la expresión de genes asociados a la resistencia al virus de la mancha blanca y a una cepa toxigénica de *Vibrio parahaemolyticus* (AHPND) Centro de investigaciones biológicas del noroeste S.C. 2018

Gomez-Gil, Bruno & Roque, Ana & Soto-Rodriguez, Sonia. Vibriosis en camarones y su diagnóstico (vibriosis in shrimp and its diagnosis).

Montoya Karla. Anatomía y Fisiología del camarón. Universidad Técnica de Ambato. Medicina Veterinaria y Zootecnia.

R02 (2024/05/27)

Tabla 1. Tejido objeto de análisis para detección de patógenos de camarón

Patógeno (Siglas)	Tejido apto para análisis	Tipo de análisis	Observaciones	Condición de rechazo
WSSV	Pleópodos, las branquias, la hemolinfa, el estómago o el músculo abdominal	PCR en tiempo real	Tomar dos pleópodos por individuo desde la base e incluirlos en un tubo de 1,5mL con 1mL de etanol grado molecular	Tejido no apropiado, individuos procesados sin tejido asociado para el análisis
IHHNV	Células del tejido conjuntivo, las branquias, ganglios hematopoyéticos y hemocitos, el cordón nervioso central y sus ganglios, las células epiteliales del túbulo de la glándula antenal y las células parenquimatosas del órgano linfoide.	PCR en tiempo real	Para pruebas no letales: hemolinfa o pleópodos extirpados	Tejidos no apropiados: El hepatopáncreas, el intestino medio o sus ciegos
DIV/SHIV	Hemolinfa, tejido hemático (seno ventral)	PCR en tiempo real	Con una jeringa para insulina de 0.5 o 1.0 ml, dependiendo del tamaño del camarón, extraer un poco de hemolinfa directamente del seno ventral (Fig.1). Este seno se puede acceder pinchando justo en la base (coxa) de los pereiópodos	
AHPND /EMS (<i>Vibrio spp</i>)	Hepatopáncreas, órganos asociados al intestino	PCR en tiempo real	Se detecta genes asociados con las toxinas de la bacteria asociadas con la fisiopatología	
NHP	Hepatopáncreas	PCR en tiempo real	El diagnóstico diferencial de la hepatopancreatitis necrotizante incluye bacteriosis sistémicas en fase aguda, así como otras posibles condiciones patológicas en las que se produzca anorexia y coloración oscura por causas químicas o biológicas	
EHP	Hepatopáncreas	PCR en tiempo real		
YHV	Tejido hematopoyético, laminillas branquiales y tejido conectivo esponjoso del tejido subcutáneo, intestino, glándula antenal, gónadas, tractos nerviosos y ganglios	RT-PCR en tiempo real	No se recomienda utilizar etanol de grado inferior (de laboratorio o de grado industrial) para la conservación	

R02 (2024/05/27)

IMNV	Músculo estriado esquelético (principalmente), músculo cardíaco (con menor frecuencia), tejido conectivo, hemocitos y células parenquimatosas del órgano linfoide	RT-PCR en tiempo real		
TSV	epitelio cuticular, el órgano linfoide es el principal tejido diana, hemolinfa o extirparse pleópodos	RT-PCR en tiempo real		no son aptas las muestras de hepatopáncreas, el intestino medio o sus ciegos)
PvNv	músculo esquelético, tejido conectivo, hemocitos y células parenquimales del órgano linfoide	RT-PCR en tiempo real		
MrNv	Branquias, el músculo de la cabeza, el corazón, el músculo abdominal, los ovarios, los pleópodos y el músculo de la cola	RT-PCR en tiempo real		no es apta la muestra de hepatopáncreas ni al pedúnculo ocular

Las muestras deben ser entregadas en la recepción de muestras del laboratorio debidamente identificadas o rotuladas “origen de la muestra, código / lote, tipo de muestra, cantidad, lugar y fecha de toma de muestra y análisis que requiere”

Nota: Las muestras que demuestran tener signos de descomposición no serán recibidas para el análisis, salvo consentimiento por escrito del cliente

Toma de contramuestra

El laboratorio gestionará la separación de una porción de análisis suficiente de la muestra entregada por el cliente para el almacenamiento de la contramuestra cuyo objetivo será el reproceso analítico en casos de evaluaciones intralaboratorio, control de muestra retenida procesos de reclamos o quejas, confirmación de resultados. Se almacenará en condiciones apropiadas de conservación en congelación (producto fresco o congelado) o en condiciones ambientales (muestras fijadas en etanol) con su respectiva etiqueta que refleje el número de identificación (orden) y fecha de recepción de la muestra originalmente recibida. Una vez tomadas la sub muestra y contramuestra, la muestra podrá ser procesada de acuerdo con el contrato establecido con el cliente. Una vez cumplido el período de retención el laboratorio gestionará el descarte del material.

R02 (2024/05/27)

4. REGISTROS

REGISTRO	RESPONSABLE	UBICACIÓN
Recepción de muestras de camarón	An/AT	DT IG-01

5. ACTUALIZACIONES

REVISIÓN N°	FECHA	DETALLE DE LAS MODIFICACIONES
01	2023-01-16	Reingeniería del sistema de gestión de calidad
02	2024-05-27	Actualización de información de requerimientos de análisis para POE - ONLEABT- 08 Se incluye requerimiento de carta de solicitud de análisis, se elimina anexo obsoleto.

REVISION Y APROBACION		
Nombre	Cargo	Firma
Fernanda Loayza	Gerente técnico	<i>Fernanda Loayza</i>