

 <p>SAG Ministerio de Agricultura</p> <p>Gobierno de Chile</p>	<p>INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL DIAGNÓSTICO DE PRRS MEDIANTE ELISA</p>	<p>Código: D-GF-CGP-PT-017 Versión:02</p>
--	--	---

INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL DIAGNÓSTICO DE PRRS MEDIANTE ELISA

Tabla de Contenidos

Contenido	Página
1 OBJETIVOS Y ALCANCE	3
2 REFERENCIAS Y DOCUMENTOS RELACIONADOS.....	3
3 DEFINICIONES Y ABREVIATURAS.....	3
4 REQUISITOS.....	4
4.1 Requisitos de infraestructura, equipos, materiales y reactivos.	4
4.1.1 Requisitos de infraestructura.....	4
4.1.2 Requisitos de equipamiento	4
4.1.3 Requisitos de materiales y reactivos	4
4.2 Requisitos de personal	5
4.3 Requisitos específicos.	6
4.4 Medios de verificación de requisitos.....	6
5 ANÁLISIS/ENSAYO	8
5.1 Captación y envío de la muestra.....	8
5.2 Recepción y manejo de la muestra/contramuestra	8
5.3 Metodología.	9
6 REGISTRO Y ENVÍO DE LOS RESULTADOS	10
7 SISTEMA DE SUPERVISIÓN Y RONDAS INTERLABORATORIOS	10
8 OBLIGACIONES	11
9 ANEXOS Y FORMULARIOS	12

1 OBJETIVOS Y ALCANCE

El objetivo de este documento es establecer los requisitos que deberán cumplir los/as interesados/as que voluntariamente postulen al SAG, para operar como laboratorio autorizado en la ejecución del diagnóstico de PRRS mediante técnica ELISA, en el marco de programas oficiales o ante eventos en los cuales el Servicio considere pertinente la participación de laboratorios autorizados en el diagnóstico de esta enfermedad.

Asimismo, este documento entrega las directrices para que estos laboratorios, una vez autorizados, realicen el diagnóstico de PRRS mediante ELISA en sueros o fluidos orales de porcinos utilizando los kit comerciales de IDEXX, INGENASA u otro kit comercial autorizado por el SAG.

2 REFERENCIAS Y DOCUMENTOS RELACIONADOS

- Norma Chilena Oficial N Ch-ISO 17025, versión vigente.
- Laboratory Biosafety Guidelines, Medical Research, versión vigente.
- Reglamento específico para la autorización de laboratorios análisis/ensayo, SAG, versión vigente.
- el Decreto N° 191 de 2000 del Ministerio de Agricultura, que declara enfermedad infectocontagiosa de denuncia obligatoria, la enfermedad de los porcinos, denominada Síndrome Disgénésico y Respiratorio del Cerdo o PRRS.
- Decreto N° 235 PRRS 2001, aprueba reglamento para la erradicación de la enfermedad infecto contagiosa denominada síndrome singenésico y respiratorio del cerdo o PRRS.
- Manual de estándares para pruebas diagnósticas y vacunas de la O.I.E., versión vigente.
- Instructivo interno del kit comercial.

3 DEFINICIONES Y ABREVIATURAS

PRRS	Síndrome Disgénésico y Respiratorio del Cerdo.
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay, Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a Enzimas.
Servicio	Servicio Agrícola y Ganadero (SAG).
MVA	Médico Veterinario Autorizado.
MVO	Médico Veterinario Oficial del SAG.
NCh	Norma Chilena.
ISO	Internacional Organization for Standardization, Organización Internacional para la estandarización.
Laboratorio Oficial	Laboratorio Perteneiente al Servicio Agrícola y Ganadero.
RUP	Rol Único Pecuario.

	INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL DIAGNÓSTICO DE PRRS MEDIANTE ELISA	Código: D-GF-CGP-PT-017 Versión:02
--	---	---------------------------------------

PTM	Protocolo de Toma de Muestra.
PTMVSP	Protocolo de Toma de Muestras para Vigilancia Sanitaria Porcina.
B	Buena.
R	Regular.
M	Mala.

4 REQUISITOS

4.1 Requisitos de Infraestructura, Equipos, Materiales y Reactivos

4.1.1 Requisitos de infraestructura

El laboratorio debe contar con todos los requisitos estructurales establecidos por el Servicio en el anexo N° 1 del presente instructivo, para un laboratorio autorizado para la realización del ensayo de ELISA para la detección de anticuerpos frente a PRRS en sueros o fluidos orales de porcinos.

4.1.2 Requisitos de equipamiento

El laboratorio debe contar, al menos, con el siguiente equipamiento:

- Refrigerador (rango de temperatura de 2 a 8°C)
- Congelador (-15 a -25°C)
- Estufa de cultivo de 18 – 37°C
- Termómetros contrastados o calibrados a temperatura de trabajo, para control de temperatura de todos los equipos con temperatura controlada.
- Lector ELISA (debidamente verificado y calibrado una vez al año)
- Sistema de destrucción y eliminación de residuos tóxicos y microbiológicos por medio de autoclavado y posterior incineración con sus registros correspondientes. Si no se cuenta con incinerador, se deben conservar los certificados que acrediten el retiro del material autoclavado por parte de una empresa externa dedicada a la incineración de material biológico contaminado.
- Micropipetas (debidamente verificadas y calibradas una vez al año)
- Propipetas
- Autoclave (con registros de mantención anual y de capacitación del personal que lo maneje)

4.1.3 Requisitos de materiales y reactivos

El laboratorio debe contar con:

- Probetas de diferentes volúmenes.
- Placas de dilución de 96 pocillos o tubos de dilución con sus respectivos racks para 96 tubos.
- Puntas desechables para micropipetas (para el volumen adecuado a las micropipetas).

	INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL DIAGNÓSTICO DE PRRS MEDIANTE ELISA	Código: D-GF-CGP-PT-017 Versión:02
--	---	---------------------------------------

- Cronómetros de control.
- Baños para dispensar soluciones.
- Recipientes para eliminar puntas y placas o tubos de dilución.
- Lavador de placas manual o automático/semiautomático.
- Kit comercial ELISA para la detección de anticuerpos contra el virus PRRS (con fecha de vencimiento vigente).
- Agua destilada.
- Solución desinfectante adecuada (alcohol yodado: para manos; solución clorada, amonio cuaternario + glutaraldehído, monopersulfato de potasio (Virkon) o clorhexidina: para superficies)

4.2 Requisitos del Personal

a) Responsable técnico

El laboratorio deberá designar un/a responsable técnico, quien será la contraparte ante el SAG en temas técnicos asociados a su actividad como laboratorio autorizado y tendrá responsabilidad directa en el correcto desempeño de las actividades que el laboratorio autorizado realice en el ámbito de su autorización. Asimismo, deberá cumplir con los siguientes requerimientos:

- Poseer título profesional otorgado por una entidad reconocida por el Estado, correspondiente a una carrera del área agropecuaria, biológica o química, tales como médico veterinario, biólogo, bioquímico, tecnólogo médico, técnico veterinario, técnico agropecuario o ingeniero agrónomo. En caso de título obtenido en el extranjero, éste deberá estar revalidado según procedimiento establecido por el Ministerio de Educación de Chile.
- Experiencia laboral en el área de laboratorios de al menos dos (2) años.
- Tener competencia técnica o experiencia laboral, de al menos 6 meses, comprobable en técnicas de ELISA.

b) Analistas

El laboratorio deberá contar con analistas en número adecuado de acuerdo a la cantidad de análisis a realizar, quienes deben cumplir el siguiente perfil:

- Contar con título profesional o técnico, de una carrera correspondiente al área biológica, microbiológica o afín, impartida por una entidad de enseñanza superior reconocida por el Estado. En caso de título extranjero, revalidado según procedimiento establecido por el Ministerio de Educación.
- Tener competencia técnica o experiencia laboral, de al menos 6 meses comprobable en técnicas de ELISA.
- Además, esta persona debe tener conocimiento sobre el virus PRRS, especialmente en cuanto a su supervivencia y vías de transmisión. Para esto, el analista deberá haber asistido a una charla dictada por profesionales del Subdepartamento de Laboratorio y Estación Cuarentenaria Pecuaria del SAG sobre este tema y conservar su certificado de capacitación.

	INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL DIAGNÓSTICO DE PRRS MEDIANTE ELISA	Código: D-GF-CGP-PT-017 Versión:02
--	---	---------------------------------------

4.3 Requisitos Específicos

El laboratorio debe tener las condiciones de infraestructura y funcionamiento establecidos por el Servicio en el anexo N° 1 del presente instructivo, para ser autorizado para la realización de esta prueba.

Además, el laboratorio deberá contar con una base de datos computacional o un registro de ingreso de muestras, donde se registren los siguientes datos de cada muestra recepcionada:

- N° de protocolo SAG (Protocolo de toma de muestra PTM o bien el Protocolo de toma de muestras para vigilancia sanitaria porcina PTMVSP, formularios F-PP-SA-002 y F-PP-SA-003 respectivamente).
- N° de protocolo interno del laboratorio autorizado.
- Tipo de muestra (suero, sangre entera o fluidos orales, etc.).
- Calidad de la muestra recibida (B-R-M).
- Nombre de propietario.
- Región.
- Nombre de la persona que envía la muestra.
- Fecha de toma de muestra.
- Fecha de recepción de la muestra.
- Fecha de entrega de resultados.
- Resultados obtenidos.

Por otra parte, el laboratorio deberá elaborar y contar con los siguientes instructivos internos:

- Instructivo de ingreso de muestras.
- Instructivo de preparación y esterilización de material.
- Instructivo de eliminación y descontaminación de residuos, muestras y materiales.
- Instructivo de aseo y limpieza de laboratorio.
- Instructivo de verificación y calibración de equipos.
- Instructivo de control de temperatura ambiental y de refrigeradores, congeladores y estufas.

4.4 Medios de Verificación de Requisitos

De acuerdo a lo dispuesto en el Reglamento específico para la autorización de laboratorios de análisis/ensayos, los interesados en autorizarse para realizar el diagnóstico PRRS mediante técnica ELISA, deben presentar junto a la solicitud de autorización los documentos que a continuación se detallan y que dan cuenta del cumplimiento de los requisitos establecidos por el SAG:

1. Los antecedentes generales del laboratorio que se establecen en el numeral 6.1 del Reglamento específico para la autorización de laboratorios de análisis/ensayos.

	INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL DIAGNÓSTICO DE PRRS MEDIANTE ELISA	Código: D-GF-CGP-PT-017 Versión:02
--	---	---------------------------------------

2. Formulario anexo para el diagnóstico de PRRS mediante, según formato establecido en el formulario F-GF-CGP-PT-092 de este instructivo.
3. Croquis del laboratorio, identificando uso de áreas y ubicación de equipos.
4. Lista de equipos, indicando nombre, marca, modelo, fecha de puesta en servicio y capacidad cuando corresponda, y que incluya la mantención, verificación y calibración de éstos.
5. Lista de materiales, reactivos y material de referencia.
6. Formulario de identificación del responsable técnico, según formato establecido en el formulario F-GF-DCG-PT-069 del Reglamento específico para la autorización de laboratorios de análisis/ensayos.
7. Certificado de título del responsable técnico identificado en el formulario respectivo, en original o fotocopia legalizada.
8. Formulario de identificación del personal que se desempeña como analista, según formato establecido en el formulario F-GF-CGP-PT-089 de este instructivo.
9. Certificado de título o de egreso de los/las analistas identificados en el formulario respectivo, en original o fotocopia legalizada.
10. Currículo del/la responsable técnico y del personal que se desempeña como analista.
11. Documentos que acrediten la competencia técnica y/o experiencia laboral del/la responsable técnico en las áreas de virología y serológicas, técnicas moleculares y/o pruebas biológicas, según corresponda.
12. Documentos que acrediten la competencia técnica y/o experiencia laboral de los/las analistas en las áreas de virología y serológicas, técnicas moleculares y/o pruebas biológicas, según corresponda.
13. Instructivos de acuerdo a lo señalado en el numeral 4.3 de este instructivo.
14. Registro de eliminación de residuos y material contaminante, junto con el contrato de prestación de servicios de eliminación en caso que corresponda.
15. Declaración jurada simple para persona jurídica o persona natural, que da cuenta del compromiso de dar cumplimiento a las obligaciones establecidas en el numeral 8 de este instructivo, según formatos establecidos en los formularios F-GF-CGP-PT-090 y F-GF-CGP-PT-091 de este instructivo.

Sin perjuicio de lo anterior, el cumplimiento de los requisitos descritos tanto en el Reglamento específico como en este instructivo, serán confirmados por el Servicio en la visita de verificación o por los medios que considere idóneos para tal efecto. Asimismo, el SAG podrá solicitar al postulante la ejecución de la técnica por parte del responsable técnico o de uno o más analistas del laboratorio o someter al responsable técnico y analistas identificados por el postulante, a una evaluación teórica y/o práctica.

5 ANÁLISIS/ENSAYO

5.1 Captación y Envío de la Muestra

La captación y el envío de muestras a un laboratorio autorizado será responsabilidad de un médico veterinario oficial del SAG (MVO) o de un médico veterinario autorizado (MVA), por lo tanto, no es una actividad incluida en la competencia del laboratorio autorizado para este análisis. En todo caso siempre la muestra deberá venir acompañada del Protocolo de toma de muestra (F-PP-SA-002) o bien el Protocolo de toma de muestras para vigilancia sanitaria porcina (F-PP-SA-003).

La muestra adecuada para la realización de este análisis es suero o fluidos orales de porcino, por lo tanto se puede recibir:

- Sangre sin anticoagulante: en caso de que la sangre venga muy fresca, se debe esperar que esta coagule a temperatura ambiente para obtener el suero.
- Suero.
- Fluidos orales.

La muestra debe venir en cantidad suficiente (mínimo 200 µl de suero, mínimo 600 µl de sangre, o mínimo 2,5 ml de fluidos orales) con refrigeración permanente (2 a 8°C).

5.2 Recepción y Manejo de la Muestra/Contramuestra

El laboratorio debe consignar toda muestra recepcionada en una base de datos computacional o en un registro de ingreso de muestras. Toda muestra debe ingresar al laboratorio autorizado con su correspondiente protocolo oficial de toma y envío de muestras del SAG (F-PP-SA-002 o F-PP-SA-003), el cual debe tener todos los datos completos.

La muestra debe ser recepcionada por una persona capacitada por parte del responsable técnico del laboratorio para esa función.

Posteriormente, el analista deberá evaluar la aptitud de las muestras para análisis, considerándose como muestra apta, aquella correspondiente a sangre de porcinos, sin anticoagulante, en cantidad suficiente y mantenida en refrigeración permanente hasta la llegada al laboratorio.

Sin perjuicio de lo anterior, el analista deberá utilizar el siguiente cuadro que determina la aptitud de la muestra:

Parámetro	Muestra apta (Aceptación)	Muestra no apta (Rechazo)
PTM o PTMVSP	Datos completos	Datos incompletos o erróneos
Tipo de muestra	Suero, sangre o fluidos orales	Órganos, tejidos u otros
Característica de la muestra	Sangre y suero: Translúcida Fluidos Orales: Translúcida o Turbia	Turbia

	INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL DIAGNÓSTICO DE PRRS MEDIANTE ELISA	Código: D-GF-CGP-PT-017 Versión:02
--	---	---------------------------------------

Parámetro	Muestra apta (Aceptación)	Muestra no apta (Rechazo)
Volumen de muestra	Presente (mínimo 200 µl de suero, 600 µl de sangre o 2,5 ml de fluidos orales)	Ausente (sin muestra o menos del mínimo requerido)
Identificación inequívoca en el PTM o PTMVSP y en los tubos	Presente	Ausente o errónea

En caso de considerarse no apta, el analista lo consignará en el PTM o PTMVSP y en el registro de ingreso de muestras y dará aviso en forma escrita de tal situación (vía correo electrónico u otro) al Encargado/a de Supervisión SAG de ese laboratorio, posteriormente deberá solicitar una nueva muestra y comunicar al cliente que su muestra fue rechazada. Por último, el analista deberá proceder a la eliminación de la muestra no apta, según el Instructivo de eliminación y descontaminación de residuos, muestras y materiales del laboratorio autorizado.

Las muestras de sueros y fluidos orales se pueden almacenar refrigeradas, entre 4 y 8°C, por períodos de hasta 48 horas. En el caso de lapsos mayores el suero (sólo suero, sin el coágulo) debe ser congelado a -20°C y los fluidos orales a -70 °C.

En el caso de existir muestras que resulten reaccionantes a ELISA, el laboratorio autorizado deberá conservar una contramuestra de suero o fluidos orales por un plazo de dos años (a -20°C y -70°C, respectivamente).

5.3 Metodología

La metodología a seguir debe ceñirse estrictamente al instructivo del kit comercial ELISA, el cual detectará anticuerpos frente al virus del Síndrome Disgénico y Respiratorio del Cerdo.

En caso que la muestra resulte reaccionante a ELISA, se deberá volver a testear por duplicado, y si el resultado es positivo, el laboratorio autorizado deberá informar de inmediato, mediante algún medio escrito, a el/la Jefe/a del Subdepartamento de Laboratorios Pecuarios, Jefe/a de Subdepartamento Sanidad Animal y MVO o MVA que envió la muestra. Posteriormente, se deberá enviar la muestra reaccionante antes de 24 horas al Laboratorio SAG para su confirmación.

Las densidades ópticas (DO) obtenidas para los controles positivos y negativos de cada placa deben compararse con las indicadas en el certificado de análisis de ese lote del kit comercial. Si existen desviaciones mayores a un 10%, respecto a las que se deberían obtener según el certificado de análisis del lote, se deben revisar los procedimientos, en especial la temperatura y el agua destilada. Si existen desviaciones mayores al 15%, se deben comunicar de inmediato a el/la Jefe/a del Subdepartamento de Laboratorio y Estación Cuarentenaria Pecuaria, a través de algún medio escrito.

	INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL DIAGNÓSTICO DE PRRS MEDIANTE ELISA	Código: D-GF-CGP-PT-017 Versión:02
--	---	---------------------------------------

6 REGISTRO Y ENVÍO DE LOS RESULTADOS

El laboratorio autorizado deberá llevar y mantener registros de los sueros o fluidos orales analizados en una planilla de trabajo, donde conste su identificación, lecturas de absorbancias de cada muestra y el análisis y cálculo de resultados.

El analista debe anotar los resultados obtenidos en el mismo PTM o PTMVSP con el cual la muestra fue recepcionada. Cada protocolo será devuelto al MVO o MVA que solicitó el servicio de diagnóstico con copia a el/la Jefe/a del Subdepartamento de Laboratorio y Estación Cuarentenaria Pecuaria, adjuntando el protocolo de resultados de laboratorio (F-GF-CGP-PT-087). Una copia de éste protocolo será archivada en el laboratorio autorizado y registrado en el registro de ingreso de muestras.

El **protocolo de resultados de laboratorio** (formulario F-GF-CGP-PT-087), deberá estar completo e incluir la siguiente información:

- N° de protocolo SAG, ya sea PTM (F-PP-SA-002) o PTMVSP (F-PP-SA-003).
- Fecha ingreso de muestras al laboratorio autorizado y fecha de despacho de los resultados
- Antecedentes del establecimiento: región, comuna, RUP, empresa o propietario, plantel y estrato.
- Antecedentes de la muestra: fecha de muestreo, número de muestras recibidas, tipo de muestra, kit comercial utilizado (por ejemplo: ELISA IDEXX PRRS X3®, de IDEXX), número de lote o de serie del kit (por ejemplo: BC966) y fecha de vencimiento kit.
- Resumen del análisis: número de muestras analizadas, número de muestras negativas, número de muestras positivas, número de sospechosas (si el kit no arroja este tipo de muestras, poner: No aplica en este casillero)
- Detalle del análisis: número de identificación de la muestra, categoría del animal (por ejemplo: reproductor), relación S/P obtenida y resultado.
- Observaciones: detallar si existiese alguna observación u otra información respecto a las muestras o a la prueba.
- Nombre y firma del analista responsable del diagnóstico y del responsable técnico del laboratorio autorizado.

Por otra parte, el laboratorio autorizado deberá enviar a el/la Jefe/a del Subdepartamento de Laboratorio y Estación Cuarentenaria Pecuaria del SAG el informe trimestral de la actividad realizada como laboratorio autorizado, de acuerdo al formato F-GF-CGP-PT-088 del presente instructivo.

La mantención de los registros debe hacerse según lo establecido en el Reglamento específico para la autorización de laboratorios de análisis/ensayos.

7 SISTEMA DE SUPERVISIÓN Y RONDAS INTERLABORATORIOS

Todo laboratorio autorizado será supervisado mediante visitas al menos 4 veces al año. Sin embargo, deberá estar dispuesto a recibir supervisiones adicionales, en cualquier momento.

 <p>SAG Ministerio de Agricultura Gobierno de Chile</p>	INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL DIAGNÓSTICO DE PRRS MEDIANTE ELISA	Código: D-GF-CGP-PT-017 Versión:02
--	---	---------------------------------------

Durante la visita de supervisión se chequeará infraestructura, ambiente, presencia de personal calificado, correcto procesamiento de las muestras, correcto manejo de los sistemas de bioseguridad y análisis, y registro de los resultados.

Junto con lo anterior, una vez al año el Encargado/a de Supervisión SAG enviará al laboratorio autorizado muestras ciegas para su análisis, una vez procesadas las muestras el laboratorio autorizado deberá enviar en un plazo no mayor a 15 días corridos los resultados obtenidos, para que el SAG pueda confrontar y validar los resultados obtenidos en ellos. Cabe hacer presente que el laboratorio SAG decidirá de acuerdo a su disponibilidad, el tipo de kit o técnica a utilizar para estos fines.

8 OBLIGACIONES

Junto con las obligaciones establecidas en el numeral 7 del Reglamento específico para la autorización de laboratorios de análisis/ensayo, el laboratorio autorizado debe cumplir con las siguientes obligaciones:

- Toda persona que trabaje en el laboratorio autorizado tiene prohibido acercarse a cerdos, al menos dentro de los 7 días siguientes de haber estado dentro del laboratorio.

La misma obligación es extensiva a cualquier persona que tenga acceso al laboratorio, incluyendo personal de aseo, visitas, proveedores de insumos y/o servicios, etc.

- El personal del laboratorio, por ningún motivo, podrá tener cerdos en su casa ni criarlos.

El no dar cumplimiento a estas obligaciones es causal de revocación de la autorización del laboratorio.

El postulante o su representante deberá firmar una declaración jurada simple según formato de los formularios F-GF-CGP-PT-090 (para persona jurídica) y F-GF-CGP-PT-091 (para persona natural) del presente instructivo, mediante la cual se compromete a dar cumplimiento a las obligaciones antes señaladas.

	INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL DIAGNÓSTICO DE PRRS MEDIANTE ELISA	Código: D-GF-CGP-PT-017 Versión:02
--	---	---------------------------------------

9 ANEXO Y FORMULARIOS

ANEXO Nº 1: REQUISITOS DE LOS LABORATORIOS AUTORIZADOS PARA EL DIAGNÓSTICO DE PRRS MEDIANTE ELISA: LABORATORIO DE NIVEL DE BIOSEGURIDAD 2¹

Recomendaciones generales

Estos requisitos aplican a laboratorios autorizados por el SAG para la manipulación de muestras y la realización del ensayo de ELISA para PRRS. Estos laboratorios requieren de un diseño especial, necesario para un laboratorio funcional y adecuado. No son necesarias cámaras de flujo laminar, ya que el trabajo puede ser realizado sobre un mesón de superficie lavable y la contaminación puede ser evitada con las buenas prácticas normalmente empleadas en un laboratorio de microbiología.

Requerimientos físicos:

Se requiere un recinto separado de áreas públicas. No debe ubicarse cerca de otras oficinas ni de corredores o sitios con alto flujo de personas.

Las paredes, cielos, muebles y pisos deben ser lavables y las esquinas idealmente redondeadas.

Las puertas deben permanecer cerradas. No deben existir ventanas que se puedan abrir.

Debe haber un lavamanos cerca de la salida.

Se debe mantener la ropa de calle, los delantales y zapatos de trabajo, en áreas separadas.

El acceso al laboratorio será restringido, especialmente cuando se esté realizando algún trabajo.

Precauciones de trabajo

1. Las puertas del laboratorio deberán estar cerradas y el acceso al mismo deberá estar restringido mientras se lleven a cabo trabajos con materiales biológicos. La puerta deberá portar emblemas que digan: "Prohibido pasar – Peligro biológico".
2. El laboratorio deberá mantenerse limpio, ordenado y libre de materiales extraños.
3. No se permitirá comer, beber, fumar y/o almacenar comidas así como el uso de cualquier otro ítem personal (ej. cosméticos, cigarrillos) dentro del área de trabajo.
4. Usar delantal, chaqueta o uniforme dentro del laboratorio, el cual se debe cambiar y/o lavar periódicamente. Además se deberá utilizar y calzado de trabajo exclusivo para estar dentro del laboratorio, los zapatos de calle se deben dejar fuera del laboratorio (área limpia). Al egresar del laboratorio se debe dejar el delantal y el calzado de trabajo en la zona sucia (dentro del laboratorio) y se deberá quitar justo antes de abandonar el área de trabajo.
5. Al estar trabajando con las muestras, utilizar mascarillas. En caso que el laboratorio no

¹ Basado en: Jonathan Y. Richmond, Ph.D. Director, Office of Health and Safety Centers for Disease Control and Prevention Atlanta, GA 30333. Adaptado de la 3ª edición de Bioseguridad en Laboratorios Microbiológicos y Biomédicos (Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories [1]) del Centro de Control y Prevención de Enfermedades/ Institutos Nacionales de Salud (CDC/NIH).

 <p>SAG Ministerio de Agricultura Gobierno de Chile</p>	<p>INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL DIAGNÓSTICO DE PRRS MEDIANTE ELISA</p>	<p>Código: D-GF-CGP-PT-017 Versión:02</p>
--	--	---

exija una ducha del personal al salir del laboratorio, se deberá utilizar gorros para cubrirse el cabello. Puede utilizarse equipo adicional para protección de ojos cuando sea necesario.

6. Se deben utilizar guantes desechables de látex en todo momento, especialmente para manipular material o muestras. Cambiar los guantes de látex toda vez que hayan sido contaminados, lavarse las manos y ponerse guantes limpios. No tocar los ojos, nariz o piel con las manos enguantadas.
7. Antes de iniciar la tarea diaria asegúrese que la piel de sus manos no presente cortes ni otras lesiones, en caso que así sea, cubrir la herida de manera conveniente antes de colocarse los guantes.
8. No abandonar el laboratorio o caminar fuera del lugar de trabajo con los guantes, el gorro, el delantal ni los zapatos de trabajo puestos.
9. Se deberán tomar precauciones extremas con instrumentos cortopunzantes contaminados: uso de contenedor de elementos cortopunzantes, desinfección y eliminación adecuada. Se deberán evitar los intentos de reintroducir las agujas descartadas en capuchones o de romperlas o doblarlas ya que esta conducta produce aumento de la posibilidad de accidentes por pinchazos o salpicaduras. Por ningún concepto las agujas serán retapadas.
10. Todos los procedimientos deberán ser realizados de manera tal que sea nula la generación de aerosoles, gotas, salpicaduras, etc.
11. Bajo ninguna circunstancia se pipeteará sustancia alguna con la boca, para ello se usarán pipeteadores automáticos.
12. Todos los materiales usados en el laboratorio deberán ser adecuadamente descontaminados. Dichos elementos serán posteriormente desechados o lavados, secados y/o esterilizados, según los requisitos que deban reunir para su utilización. Todos los medios y todos los desechos deben descontaminarse antes de la eliminación con un método aprobado, como por ejemplo autoclave, cloro, etc. Se debe segregar el material de basura de acuerdo al peligro y debe haber material apropiado para recolectar el material contaminado. El material contaminado se deberá autoclavar y/o ser retirado por una empresa calificada para esto, guardando los comprobantes en cada caso.
13. Las superficies de trabajo deben ser descontaminadas al finalizar las jornadas o después de cualquier uso con material viable. Además, las superficies del área de trabajo deberán ser descontaminadas cuando se termine la tarea diaria, usando para tal efecto una solución de hipoclorito de sodio, amonio cuaternario + glutaraldehído, monopersulfato de potasio (Virkon) o clorhexidina, en concentración adecuada.
14. Una vez usados los guantes de látex deberán ser colocados dentro del recipiente con solución descontaminante.
15. Lavar las manos con jabón líquido y agua inmediatamente después que el trabajo haya sido terminado. El lavado de manos es obligatorio para toda persona que abandone el laboratorio. Se debe utilizar jabón líquido, 20 segundos de lavado riguroso puede remover efectivamente el material contaminante. Después, secar las manos con toalla de papel. Se puede usar toallas para cerrar las llaves o grifos, para prevenir la recontaminación de las manos.

	INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL DIAGNÓSTICO DE PRRS MEDIANTE ELISA	Código: D-GF-CGP-PT-017 Versión:02
--	---	---------------------------------------

16. Se debe informar inmediatamente al superior de cualquier accidente ocasionado con elementos del laboratorio.

17. Llevar programa de control de roedores e insectos cuando sea necesario.

Requerimientos operacionales:

El responsable técnico del laboratorio y el analista necesitan tener un entrenamiento específico en cuanto al virus PRRS. El supervisor es responsable de establecer los procedimientos de medidas de seguridad y asegurarse de que cada trabajador tenga la capacitación adecuada.

El personal de laboratorio necesita entrenamiento específico para seguir los protocolos descritos.

Se debe llevar el control diario de temperaturas de todos los equipos con temperatura controlada.

Uso de aparatos y otros elementos:

Congeladores y refrigeradores: Cada vez que se deba guardar o retirar material alguno, el operador deberá tener puestos los guantes. Todo el material almacenado deberá estar rotulado, limpio por fuera y cerrado adecuadamente (no con tapón de algodón o gasa).

Centrífuga

- No detenerla manualmente.
- No destaparla antes de que cese de girar.
- Emplear tubos con tapa (tapa rosca o de goma).

Preferiblemente la centrifugación deberá hacerse bajo campana, en caso contrario se colocará sobre ella una tela embebida en solución descontaminante. Luego de transcurridos 10 min. de la detención, se procederá a abrirla (esto es muy importante, si se quiebra un tubo y se abre de inmediato la centrífuga, hay peligro de diseminar aerosoles). Al terminar el trabajo limpiar con solución descontaminante por dentro y por fuera del aparato.

Otros aparatos (microscopios, lectores de ELISA, etc.): luego de ser utilizados deberán limpiarse las perillas y superficies con solución descontaminante.

Autoclave

Este aparato sólo puede ser manejado por una persona capacitada debidamente, que haya obtenido una licencia para operar autoclaves. Se exigirá este certificado de capacitación.

Manejo y eliminación del material contaminado y desechos:

1. Todo el material usado (por ej. puntas de micropipetas, jeringas, cánulas, agujas, tubos para recolección de especímenes, guantes, etc.) deberá ser ubicado en un recipiente resistente a punciones o cortaduras. El recipiente debe contener líquido descontaminante y deberá estar ubicado en el mismo lugar de trabajo. El material contaminado deberá permanecer en el recipiente con material desinfectante por al menos media hora, para luego ser autoclavado.
2. Para la eliminación de todo material contaminado, el método de elección es el autoclavado y la posterior incineración. Todo laboratorio autorizado deberá contar con un autoclave dentro del laboratorio. Se deberá autoclavar todo el material

 <p>SAG Ministerio de Agricultura Gobierno de Chile</p>	<p style="text-align: center;">INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL DIAGNÓSTICO DE PRRS MEDIANTE ELISA</p>	<p>Código: D-GF-CGP-PT-017 Versión:02</p>
--	--	---

contaminado. Posteriormente se debe proceder a incinerar el material que fue autoclavado. De no contar con incinerador, se deberá llamar a una empresa especializada dedicada a la incineración de material biológico contaminado, conservando siempre los comprobantes de retiro de residuos. Se deben guardar y mantener ordenados todos los registros de autoclavado e incineración, los cuales serán requeridos por personal del SAG en las supervisiones.

3. Los delantales, chaquetas y otra prenda protectora que se use en el laboratorio, deberá ser colocada, al finalizar la tarea, dentro de un recipiente a prueba de pérdidas, en el que será transportado de manera segura al lugar adecuado para proceder a la descontaminación y posterior preparación de las prendas para su reutilización.

Accidentes:

Derrames: Cuando se produzca derrame de material infectado o potencialmente infectado, el operador (siempre usando guantes) deberá cubrir el fluido derramado con papel absorbente y verter alrededor y sobre él solución descontaminante, dejando actuar por lo menos 20 minutos. Posteriormente con un nuevo papel absorbente, seco y limpio, levantar el material y arrojarlo al recipiente de desechos contaminados para su posterior eliminación de acuerdo al punto anterior que describe el manejo del material contaminado. La superficie afectada deberá ser enjuagada nuevamente con solución descontaminante. Los guantes serán descartados después del procedimiento. No se recomienda el uso de alcohol, ya que se evapora rápidamente y además coagula los residuos orgánicos superficiales sin penetrar en ellos.

 SAG Ministerio de Agricultura Gobierno de Chile	<h1>PROTOCOLO DE TOMA DE MUESTRAS</h1>	Código: F-PP-SA-002 Versión: 01
---	--	------------------------------------



REPUBLICA DE CHILE
 MINISTERIO DE AGRICULTURA
 SERVICIO AGRICOLA Y GANADERO
 Departamento Laboratorios y Estaciones
 Cuarentenarias Agricola y Pecuaria
 Subdepto. Laboratorios y
 Estación Cuarentenaria Pecuaria
 Ruta 68 Km. 12 - Lo Aguirre.
 Fono: 3451901 Fax: 3451903
 SANTIAGO

N°

USO EXCLUSIVO DEL LABORATORIO			
Protocolo N°	Fecha Ing.		

PROTOCOLO DE TOMA DE MUESTRAS

SAG DE ORIGEN			DATOS DE ENVIO				ORIGEN MUESTRA			
REGION	COMUNA	SECTOR SAG	ORD	H/E	ID.SECTOR	RAD	PRE	MAT	CPC	FER

OBJETIVO DE MUESTREO						
DENUNCIA	SEG.DENUNCIA	PLAN.VIG.ANUAL	PROG.OFICIAL	CUAR.IMP	CUAR.EXP	VIG.EXTERNA

ANTECEDENTES DEL ESTABLECIMIENTO			
RUP	PROPIETARIO O EMPRESA		PREDIO, PLANTEL O LUGAR DE ORIGEN
ESTRATO EPIDEMIOLOGICO	E-MAIL	FONO/CELULAR	COORDENADAS UTM/WGS84
			X: Y:

NUMERO DE MUESTRAS POR ESPECIE (MARCAR SOLO UNA ESPECIE POR PROTOCOLO)									
API	AVES	BOV	CAM	CAP	OVI	EQU	JAB	POR	OTRA (CUAL)

ANTECEDENTES DE LAS MUESTRAS			MEDICO VETERINARIO			
FECHA DE LA TOMA DE LA MUESTRA:			SAG	ACREDITADO	PARTICULAR	
TIPO		CANTIDAD	NOMBRE:			
SANGRE ENTERA			E-MAIL:			
SANGRE CON ANTICOAGULANTE			FONO:			
SUERO						
TORULA	ORAL					
	CLOACAL					
	AMBIENTAL					
ORGANO/TEJIDO (CUAL):	OTRA:					
	CONGELADO					
HECES			FIRMA/TIMBRE			
OTRA (CUAL):						

EXAMENES SOLICITADOS Y TECNICA	VACUNACIONES		
	VACUNA	PATOLOGIA	FECHA

OBSERVACIONES



PROTOCOLO DE TOMA DE MUESTRAS

Código: F-PP-SA-002
Versión: 01



REPUBLICA DE CHILE
 MINISTERIO DE AGRICULTURA
 SERVICIO AGRICOLA Y GANADERO
 Departamento Laboratorios y Estaciones
 Cuarentenarias Agricola y Pecuaria
 Subdepto. Laboratorios y
 Estacion Cuarentenaria Pecuaria
 Ruta 68 Km. 12 - Lo Aguirre.
 Fono: 3451901 Fax: 3451903
 SANTIAGO

N°

USO EXCLUSIVO DEL LABORATORIO			
Protocolo N°	Fecha Ing.		

IDENTIFICACION DE LA MUESTRAS

N°	IDENTIFICACION	RAZA	CAT.	EDAD	N°	IDENTIFICACION	RAZA	CAT.	EDAD
1					54				
2					55				
3					56				
4					57				
5					58				
6					59				
7					60				
8					61				
9					62				
10					63				
11					64				
12					65				
13					66				
14					67				
15					68				
16					69				
17					70				
18					71				
19					72				
20					73				
21					74				
22					75				
23					76				
24					77				
25					78				
26					79				
27					80				
28					81				
29					82				
30					83				
31					84				
32					85				
33					86				
34					87				
35					88				
36					89				
37					90				
38					91				
39					92				
40					93				
41					94				
42					95				
43					96				
44					97				
45					98				
46					99				
47					100				
48					101				
49					102				
50					103				
51					104				
52					105				
53					106				



PROTOCOLO DE TOMA DE MUESTRAS PROYECTO NACIONAL DE VIGILANCIA SANITARIA PORCINA

Código: F-PP-SA-003
Versión: 01



REPUBLICA DE CHILE
MINISTERIO DE AGRICULTURA
SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO
Departamento Laboratorios y Estaciones
Cuarentenarias Agrícola y Pecuaria
Sub-Depto. Laboratorios Pecuarios
Ruta 68 Km 22 – Lo Aguirre
Fono: 23451900 – 23451901
Fax: 23451903 Anexo 268
SANTIAGO

8966

USO EXCLUSIVO DEL LABORATORIO					
PROTOCOLO N°	FECHA ING.	FECHA DESP.			

PROTOCOLO DE TOMA DE MUESTRAS PROYECTO NACIONAL DE VIGILANCIA SANITARIA PORCINA

REGIÓN	SECTOR SAG	ORD.	H/E	PROT	ORIGEN		OBJETIVO			
					Predio	Matadero	Vigilancia			
NOMBRE PROPIETARIO O EMPRESA				PREDIO O PLANTEL		SECTOR DEL PREDIO O PLANTEL				
DIRECCIÓN PLANTEL				Veterinario que toma la muestra			SAG		Acreditado	
TIPO DE PRODUCCIÓN		INDUSTRIAL		Nombre, Firma y Timbre						
		NO INDUSTRIAL								
		JABALIES		FECHA DE MUESTREO			D	M	A	
N° DE MUESTRAS TOMADAS										
VERRACOS	CERDAS REPROD. ABUELAS	CERDAS REPROD. COMERCIAL	LECHONES DESTETE	CERDOS RECRIA 65 - 70 DIAS	CERDOS ENGORDA	JABALIES	OTROS	TOTAL		
EXÁMENES SOLICITADOS PARA:										
FIEBRE AFTOSA	PESTE PORCINA CLÁSICA	PESTE PORCINA AFRICANA	ENFERMEDAD AUJESZKY	PRRS	BRUCELOSIS	T.G.E.	CORONA VIRUS RESP.	MICOBACTERIOSIS		
OBSERVACIONES:										
TIPO DE MUESTRA:				SUERO						
				TEJIDO						
				TIPO DE NODULO LINFATICO						
N° DEL PABELLON	N° DE MUESTRAS POR PABELLON	EDAD			COMENTARIOS					
IDENTIFICACIÓN DEL MATADERO	N° DE MUESTRAS	EDAD		COMENTARIOS						

Imp. Jumbo S.A. - R.U.T.: 96.986.655-2 - F. 27361909 - Sgto.

ORIGINAL: DESPACHAR A LABORATORIO SAG LO AGUIRRE

**PROTOCOLO DE RESULTADOS DE LABORATORIO
AUTORIZADO PARA DIAGNÓSTICO DE PRRS
MEDIANTE ELISA**

Código: F-GF-CGP-PT-087
Versión: 02

N° Protocolo	F. Ingreso Muestras			F. Desp. Resultados		

PROTOCOLO DE RESULTADOS DE LABORATORIO

Antecedentes del Establecimiento:

Región	Comuna	RUP	Empresa o Propietario	Plantel	Estrato

Antecedentes de la Muestra:

Fecha Muestreo	N° Muestras	Tipo de Muestra	Diagnostico	Técnica	Kit Utilizado	N° de Lote del Kit	Fecha de Vencimiento Kit
			PRRSV	ELISA			

Resumen Análisis:

N° Muestras Analizadas	N° Muestras Negativas	N° Muestras Positivas	N° Sospechosas

Detalle Análisis:

N°	Identificación Muestra	Categoría	S/P	Resultado	N°	Identificación Muestra	Categoría	S/P	Resultado
1					21				
2					22				
3					23				
4					24				
5					25				
6					26				
7					27				
8					28				
9					29				
10					30				
11					31				
12					32				
13					33				
14					34				
15					35				
16					36				
17					37				
18					38				
19					39				
20					40				

Observaciones:

Analista responsable del diagnóstico
(nombre y firma)

Responsable técnico del laboratorio
(nombre y firma)

**PROCOLO DE RESULTADOS DE LABORATORIO
AUTORIZADO PARA DIAGNÓSTICO DE PRRS
MEDIANTE ELISA**

Código: F-GF-CGP-PT-087
Versión: 02

ANEXO DETALLE DE ANALISIS

N° Protocolo	F. Ingreso Muestras			F. Desp. Resultados		

N°	Identificación Muestra	Categoría	S/P	Resultado	N°	Identificación Muestra	Categoría	S/P	Resultado
41					91				
42					92				
43					93				
44					94				
45					95				
46					96				
47					97				
48					98				
49					99				
50					100				
51					101				
52					102				
53					103				
54					104				
55					105				
56					106				
57					107				
58					108				
59					109				
60					110				
61					111				
62					112				
63					113				
64					114				
65					115				
66					116				
67					117				
68					118				
69					119				
70					120				
71					121				
72					122				
73					123				
74					124				
75					125				
76					126				
77					127				
78					128				
79					129				
80					130				
81					131				
82					132				
83					133				
84					134				
85					135				
86					136				
87					137				
88					138				
89					139				
90					140				

**FORMULARIO DE IDENTIFICACIÓN DE ANALISTAS
VINCULADOS AL ANÁLISIS DE DIAGNÓSTICO DE PRRS**

Código: F-GF-CGP-PT-089
Versión: 02

Nombre Completo	Nº Cédula de Identidad	Firma

.....
Firma del Postulante o su Representante Legal

Fecha recepción SAG:.....

Por el presente instrumento, don(a).....
, cédula de identidad N°..... de
 nacionalidad..... con domicilio en
 Comuna de Región
, en representación de ,
 RUT N° con domicilio en
, Comuna
 de..... Región, declaro bajo juramento:

1-. La persona postulante a la que represento cumple con todos los requisitos y condiciones solicitados por el Servicio Agrícola y Ganadero a las personas jurídicas, para ser laboratorio autorizado para el diagnóstico de PRRS mediante ELISA, de acuerdo a lo establecido en el Reglamento específico para la autorización de laboratorios y en el Instructivo técnico para el diagnóstico de PRRS mediante ELISA.

2-. La persona postulante a la que represento se compromete a cumplir con las obligaciones establecidas en el Reglamento específico para la autorización de laboratorios de análisis/ensayo y con las siguientes obligaciones establecidas en el Instructivo técnico para el diagnóstico de PRRS mediante ELISA:

- a. Toda persona que trabaja en el laboratorio autorizado no se acercará a cerdos, al menos dentro de los 7 días siguientes de haber estado dentro del laboratorio.
 La misma obligación se hará extensiva a cualquier persona que tenga acceso al laboratorio, incluyendo personal de aseo, visitas, proveedores de insumos y/o servicios, etc.
- b. El personal del laboratorio, por ningún motivo, tendrá cerdos en su casa ni podrá criarlos.

Formulo la presente declaración para solicitar la autorización ante el SAG.

 Firma del Representante Legal del postulante

Fecha,.....

Por el presente instrumento, don(a).....
, cédula de identidad N° de
 nacionalidad..... con domicilio en
 Comuna de Región
, declaro bajo juramento:

3-. Yo cumpro con todos los requisitos y condiciones solicitados por el Servicio Agrícola y Ganadero a las personas naturales, para ser laboratorio autorizado para el diagnóstico de PRRS mediante ELISA, de acuerdo a lo establecido en el Reglamento específico para la autorización de laboratorios y en el Instructivo técnico para el diagnóstico de PRRS mediante ELISA.

4-. Yo me comprometo a cumplir con las obligaciones establecidas en el Reglamento específico para la autorización de laboratorios de análisis/ensayo y con las siguientes obligaciones establecidas en el Instructivo técnico para el diagnóstico de PRRS mediante ELISA:

- c. Toda persona que trabaja en el laboratorio autorizado no se acercará a cerdos, al menos dentro de los 7 días siguientes de haber estado dentro del laboratorio.
 La misma obligación se hará extensiva a cualquier persona que tenga acceso al laboratorio, incluyendo personal de aseo, visitas, proveedores de insumos y/o servicios, etc.
- d. El personal del laboratorio, por ningún motivo, tendrá cerdos en su casa ni podrá criarlos.

Formulo la presente declaración para solicitar la autorización ante el SAG.

 Firma del postulante

Fecha,.....

Identificación del Laboratorio:

Nombre/Razón Social:

Cédula de Identidad N°/RUT:

Marcar con una x el o los tipos de muestra a analizar:

Tipo de muestra	
1. Suero y/o sangre	
2. Fluidos orales	

Marcar con una X el o los kits comerciales para los cuales solicita la autorización:

Kits comerciales para efectuar el diagnóstico de PRRS	
3. ELISA IDEXX PRRS X3 de IDEXX	
4. ELISA Ingezim PRRS 2.0 de INGENASA	
5. ELISA IDEXX PRRS Oral Fluids Ab Test	
6. Otro	

En caso de haber marcado la opción 3 en el cuadro anterior, completar la siguiente tabla:

Kits comerciales para los cuales solicita autorización para efectuar el diagnóstico de PRRS mediante ELISA
1.
2.
3.

Firma del postulante o del representante legal

Fecha: