

**INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL DIAGNÓSTICO  
DE ENFERMEDADES PECUARIAS, MEDIANTE  
TÉCNICA ELISA, PARA LA CERTIFICACIÓN DE  
EXPORTACIÓN DE BOVINOS EN PIE**

Código: D-ATR-AAT-038  
Versión: 02

**INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL DIAGNÓSTICO  
DE ENFERMEDADES PECUARIAS, MEDIANTE  
TÉCNICA ELISA, PARA LA CERTIFICACIÓN DE  
EXPORTACIÓN DE BOVINOS EN PIE**

## Contenido

1.	OBJETIVOS Y ALCANCE.....	3
2.	REFERENCIAS Y DOCUMENTOS RELACIONADOS .....	3
3.	DEFINICIONES Y ABREVIATURAS .....	4
4.	REQUISITOS.....	4
4.1.	REQUISITOS DE PERSONAL.....	4
4.1.1.	RESPONSABLE TÉCNICO.....	4
4.1.2.	Analista.....	5
4.2.	Requisitos de infraestructura equipos, materiales y reactivos .....	5
4.2.1.	Infraestructura.....	5
4.2.2.	Equipos, instrumentos y materiales.....	5
4.2.3.	Reactivos.....	7
4.4.	Medios de verificación de requisitos.....	9
4.4.1.	Dossier Legal y Antecedentes Generales .....	9
4.4.2.	Dossier Técnico (obligatorio):.....	9
4.4.3.	Dossier Específico (obligatorio): .....	10
5.	Análisis /Ensayo .....	10
5.1.	Captación y Envío de la muestra .....	10
5.2.	Recepción y manejo de la muestra .....	10
5.3.	Metodología.....	11
5.4.	Cálculo y expresión de los resultados .....	12
6.	Registro y envío de resultados.....	12
7.	Supervisión a los laboratorios autorizados.....	13
8.	Obligaciones .....	14
9.	Formularios y Anexos.....	14

## **INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES PECUARIAS, MEDIANTE TÉCNICA ELISA, PARA LA CERTIFICACIÓN DE EXPORTACIÓN DE BOVINOS EN PIE**

Código: D-ATR-AAT-038  
Versión: 02

### **1. OBJETIVOS Y ALCANCE**

El presente documento, entrega las directrices técnicas y administrativas para los laboratorios de análisis/ensayos que voluntariamente postulen a la autorización que otorga el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG), para la detección de antígenos o anticuerpos, para el diagnóstico de enfermedades animales mediante la técnica ELISA en muestras de suero, en el marco de la certificación oficial de exportación de bovinos en pie.

Asimismo, en el presente instructivo técnico, se estipulan las condiciones, deberes y obligaciones de funcionamiento que deben seguir los laboratorios que obtengan la autorización.

El alcance de la autorización será de carácter nacional y se otorgará por enfermedad a detectar por técnica ELISA, entre las cuales se encuentran:

- Diarrea Viral Bovina (DVB).
- Leucosis Enzoótica Bovina (LEB).
- Paratuberculosis (PTBC).
- Brucelosis bovina.
- Otras que determine el servicio.

Junto a lo anterior, en el presente instructivo técnico, se indicarán los kits de diagnóstico que deberán utilizar los laboratorios autorizados para cada una de las enfermedades anteriormente señaladas.

### **2. REFERENCIAS Y DOCUMENTOS RELACIONADOS**

- Resolución 3571 de 2020, que aprueba el Reglamento General del Sistema Nacional de Autorización de Terceros.
- Resolución Exenta N° 8291 de 2020, que aprueba el documento general que establece requisitos para la incorporación de un kit de diagnóstico, para su uso oficial en el diagnóstico de enfermedades pecuarias.
- Resolución Exenta N° 90 de 2014, que aprueba el Reglamento específico para la autorización de laboratorios análisis/ensayo, versión vigente.
- Manual de Bioseguridad en el Laboratorio, Organización Mundial de la Salud, OMS \*(2015).
- Norma Chilena-ISO 17025, versión vigente, sobre requisitos generales para la competencia de laboratorios de ensayo y calibración.
- Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres. OIE. Versión vigente.

## INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES PECUARIAS, MEDIANTE TÉCNICA ELISA, PARA LA CERTIFICACIÓN DE EXPORTACIÓN DE BOVINOS EN PIE

Código: D-ATR-AAT-038  
Versión: 02

### 3. DEFINICIONES Y ABREVIATURAS

Junto con las definiciones establecidas tanto en el Reglamento General como en el Reglamento Específico de laboratorios de análisis/ensayo, los postulantes deben tener claras las siguientes definiciones y abreviaturas:

<b>AL</b>	Analista de Laboratorio, corresponde al Médico Veterinario de Laboratorio (MVL) y/o Técnico de Laboratorio (TL)
<b>Anticuerpo</b>	Respuesta específica mediante el desarrollo de una Inmunoglobulina en respuesta a la introducción de un antígeno a un organismo superior
<b>Antígeno</b>	Toda sustancia que, introducida en un organismo animal, determina en él una reacción inmune
<b>ELISA</b>	Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
<b>MVA</b>	Médico Veterinario Autorizado
<b>MVO</b>	Médico Veterinario Oficial
<b>NBS 2</b>	Laboratorio Nivel de Bioseguridad 2
<b>SSA</b>	Sistema de Sanidad Animal
<b>Servicio/SAG</b>	Servicio Agrícola y Ganadero

### 4. REQUISITOS

#### 4.1. REQUISITOS DE PERSONAL

##### 4.1.1. RESPONSABLE TÉCNICO

Según lo dispuesto en el numeral 4.2 del Reglamento específico para la autorización de laboratorios análisis/ensayo, el laboratorio debe contar con un responsable técnico, quien será la contraparte del SAG, en temas técnicos asociados a su actividad como laboratorio autorizado por el SAG.

Los requisitos a cumplir por el responsable técnico son los siguientes:

- Poseer título profesional otorgado por una entidad reconocida por el Estado, correspondiente a una carrera del área Biológica o Química. En caso de título obtenido en el extranjero, éste debe estar revalidado según procedimiento establecido por el Ministerio de Educación.
- Experiencia laboral en el área de laboratorio de al menos dos (2) años, con al menos 6 meses comprobable, en técnicas de ELISA.
- Conocer la información contenida en procedimientos, instructivos, manuales y otros documentos relacionados con el análisis.
- Haber recibido capacitación formal en la técnica a la que postula, la cual deberá ser validada mediante el certificado correspondiente.

	<b>INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES PECUARIAS, MEDIANTE TÉCNICA ELISA, PARA LA CERTIFICACIÓN DE EXPORTACIÓN DE BOVINOS EN PIE</b>	Código: D-ATR-AAT-038 Versión: 02
-----------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------

El responsable técnico debe tener un subrogante, el que debe cumplir con los mismos requisitos indicados anteriormente.

#### **4.1.2. Analista**

El laboratorio deberá contar con analistas en número adecuado de acuerdo con la cantidad de análisis a realizar, quienes deben cumplir el siguiente perfil (Formulario código F-ATR-AAT-113):

- Poseer un título profesional o técnico, de una carrera correspondiente al área biológica, química, agropecuaria o de los alimentos, impartida por una entidad de enseñanza superior reconocida por el Estado o, en caso de título extranjero, revalidado según procedimiento establecido por el Ministerio de Educación.
- Experiencia laboral, de al menos seis (6) meses comprobables, en técnicas serológicas.
- Haber recibido capacitación formal o interna en la técnica a la que postula, la cual deberá ser validada mediante el certificado correspondiente, emitido por la entidad que impartió la capacitación.

El laboratorio postulante, ante una eventual ausencia del responsable técnico o del analista, deberá presentar un plan de contingencia, identificando previamente al personal que actuará en calidad de subrogante.

El subrogante, ya sea del responsable técnico o analista, deberá cumplir con el mismo perfil solicitado a los titulares y haber sido evaluado favorablemente por el Servicio.

### **4.2. Requisitos de infraestructura equipos, materiales y reactivos**

#### **4.2.1. Infraestructura**

El laboratorio postulante debe poseer una infraestructura correspondiente a un nivel de Bioseguridad Tipo 2 (NBS-2), detallado en el Anexo N°1 de este instructivo técnico, de acuerdo al Manual de Bioseguridad en el Laboratorio, recomendado por la Organización Mundial de Salud (OMS, 2015), y utilizar en todo momento Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL).

La infraestructura del laboratorio debe garantizar el correcto desarrollo de la técnica a realizar, disponiendo de áreas con suficiente espacio para su óptimo funcionamiento, evitando la contaminación cruzada a través de la separación efectiva entre áreas vecinas. Igualmente se debe contar con una distribución clara de flujos entre áreas limpias y sucias. La superficie de muros, cielos, pisos y mesones deben ser lisas, de fácil limpieza e impermeables.

#### **4.2.2. Equipos, instrumentos y materiales**

El laboratorio postulante, debe contar con los equipos e instrumentos necesarios que se deben consignar en el formulario Identificación de equipos e instrumentos, código F-ATR-AAT-258, del presente documento, acordes al volumen de muestras a analizar, que garanticen el correcto desarrollo del análisis a realizar. Asimismo, para los equipos y/o instrumentos de medición, debe contar con un programa de mantenciones preventivas,

**INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL DIAGNÓSTICO  
DE ENFERMEDADES PECUARIAS, MEDIANTE  
TÉCNICA ELISA, PARA LA CERTIFICACIÓN DE  
EXPORTACIÓN DE BOVINOS EN PIE**

Código: D-ATR-AAT-038  
Versión: 02

verificaciones y calibraciones, las cuales deben ser evidenciadas mediante su certificado de mantención y/o calibración al día, efectuada por una empresa competente y reconocida en el área. El cumplimiento de este programa será de responsabilidad del laboratorio autorizado.

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

- Refrigerador 2° a 8°C.
- congelador -15° a -25°C.
- Sistema de calefacción o enfriamiento para mantener temperatura ambiental entre 18° y 26 °C.
- Estufa de incubación de 18° a 37°C.
- Lector ELISA, con filtro de lectura según corresponda y el cual debe tener una verificación anual con placa calibrada.
- Lavador de microplacas manual o automático.
- Micropipetas mono y multicanales, las cuales deben tener al menos una verificación anual. Si alguno de los instrumentos no cumple, debe enviarse a mantención/calibración a una empresa especializada la que debe entregar un certificado que indique el servicio realizado.
- Agitador de microplacas.
- Centrifuga de tubos (1500-2000 rpm).
- Sistema de destrucción (autoclave o incinerador) y eliminación de residuos tóxicos y microbiológicos o contrato con empresa externa. En este último caso o en ocasiones donde el incinerador o autoclave quede fuera del laboratorio, los elementos a descontaminar o destruir, deberán mantenerse y ser transportados en envases que otorguen garantía de hermetismo, asegurando así, que no escurran fluidos desde ellos al exterior. Estos contenedores deberán indicar claramente el tipo de residuos que contienen.
- Termómetros de trabajo para: refrigerador, congelador, estufas de incubación y ambiente (contrastado en las temperaturas de uso, con un termómetro patrón).
- Probetas de diferentes volúmenes.
- Tubos y/o Placas de dilución de 96 pocillos.
- Puntas para micropipetas, de primer uso, desechables, compatibles con instrumentos del laboratorio.
- Recipiente para dispensar soluciones.
- Recipientes para eliminar puntas y placas de dilución.
- Agua bidestilada y desionizada.
- Solución desinfectante (alcohol 70%, cloro 2%, otro).
- Reloj control.

**INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL DIAGNÓSTICO  
DE ENFERMEDADES PECUARIAS, MEDIANTE  
TÉCNICA ELISA, PARA LA CERTIFICACIÓN DE  
EXPORTACIÓN DE BOVINOS EN PIE**

Código: D-ATR-AAT-038  
Versión: 02

#### 4.2.3. Reactivos

Los laboratorios autorizados deben registrarse por lo indicado en la Resolución Exenta N° 8291 de 2020, que aprueba el documento general que establece requisitos para la incorporación de un kit de diagnóstico para su uso oficial.

Los Kits ELISA autorizados para realizar el diagnóstico de las enfermedades a certificar, son los descritos en la tabla N° 1.

Cabe señalar, que los kits señalados en la tabla ya cuentan con la aprobación del Servicio Agrícola y Ganadero (SAG), sin perjuicio de ello, el laboratorio postulante podrá presentar otros kits equivalentes, para la aprobación del SAG.

En el caso que el laboratorio postulante quiera utilizar kits diagnósticos distintos **a los aprobados por el SAG**, deberá adjuntar a la solicitud de autorización, evidencia del cumplimiento de al menos uno de los siguientes requisitos:

- Haber sido verificados y/o recomendados por los laboratorios de referencia de la OIE (de cada enfermedad). Contar con estudios de validación publicados en revistas científicas reconocidas (ISSN) y que cuenten con el Visto Bueno del SAG.
- Contar con validaciones, verificaciones y/o estudios de comparación realizados por el Servicio Agrícola y Ganadero.

Tabla N°1. Kits diagnósticos aprobados por el SAG según enfermedad a detectar.

<b>Enfermedades a diagnosticar</b>	<b>Kits Diagnósticos autorizados (marca, nombre del kit)</b>
1. Brucelosis bovina	SVANOVA, SVANOVIR® Brucella-Ab C-ELISA
2. Diarrea Viral Bovina (DVB)	IDEXX, BVDV Ag/Serum Plus
	IDVet, ID Screen® BVD P80 Antigen Capture
3. Leucosis Enzoótica Bovina (LEB)	*
	IDEXX, Leukosis Blocking Ab
	IDVet, ID Screen® BLV Competition
	Ingenasa, INgezim BLV Compac 2.0
4. Paratuberculosis (PTBC)	IDEXX, Paratuberculosis Screening Ab ®
	IDVet, ID Screen® Paratuberculosis Indirect
	VMRD, Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis (MAP)Antibody Test Kit

## **INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES PECUARIAS, MEDIANTE TÉCNICA ELISA, PARA LA CERTIFICACIÓN DE EXPORTACIÓN DE BOVINOS EN PIE**

Código: D-ATR-AAT-038  
Versión: 02

### **4.3. Requisitos específicos**

El laboratorio postulante debe contar con un sistema de gestión de calidad o aseguramiento de calidad implementado, basado en al menos, buenas prácticas de laboratorio (BPL), pudiendo también basarse en la NCh-ISO 17025.

Para respaldar el sistema de gestión de calidad, el laboratorio debe contar con un sistema documental que incluya, al menos, los siguientes documentos y/o registros:

- Manual de calidad: que describa la interacción en forma detallada de sus procesos.
- Instructivo recepción y manejo de muestras involucrados en el alcance de la autorización.
- Lista maestra de documentos relacionados con el alcance de la autorización.
- Instructivo eliminación y descontaminación de residuos y materiales.
- Instructivo aseo y limpieza de laboratorios.
- Instructivo de verificación de equipos (mantención, verificación/contrastación y calibración de equipos, según corresponda).
- Instructivo de aseguramiento metrológico (Todos los equipos e instrumentos deben tener sus respectivos registros asociados de verificación/contrastación y calibración, según corresponda).
- Instructivo control de calidad interno (rondas interlaboratorios, rondas interanalistas, controles de referencia, etc.).
- Lista maestra de equipos e instrumentos de medición (críticos) involucrados en el alcance de la autorización, indicando: codificación, nombre, marca, modelo, fecha de puesta en servicio y capacidad, cuando corresponda.
- Manuales e Instructivos de uso de los equipos involucrados en el alcance de la autorización.
- Programa de mantención/verificación/calibración de los equipos involucrados en el alcance de la autorización.
- Registro de ingreso de muestras, ya sea un sistema informático o "libro de ingreso de muestras", donde se expliciten los siguientes datos de cada muestra recibida, dicho registro debe contener a lo menos la siguiente información:
  - Tipo de muestra.
  - Calidad de la muestra recibida (B: Bueno/R: Regular/M: Malo).
  - Nombre de propietario.
  - Región.
  - Nº de protocolo.
  - Fecha de toma de muestra.
  - Fecha de recepción de la muestra.
  - Fecha de entrega de resultados.
  - Nombre de persona que envía la muestra.
  - Resultados obtenidos.
- Croquis del laboratorio (identificar los equipos del laboratorio en el croquis y los flujos de las áreas limpias y sucias).



## **INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES PECUARIAS, MEDIANTE TÉCNICA ELISA, PARA LA CERTIFICACIÓN DE EXPORTACIÓN DE BOVINOS EN PIE**

Código: D-ATR-AAT-038  
Versión: 02

- Instructivos técnicos de las metodologías utilizadas, según el numeral 5.3 del presente documento.

Junto con lo anterior, el laboratorio deberá contar con condiciones de infraestructura y funcionamiento de un laboratorio de nivel de Bioseguridad 2 (NBS 2) y cumplir con lo indicado en el anexo N° 1 de este instructivo.

### **4.4. Medios de verificación de requisitos**

#### **4.4.1. Dossier Legal y Antecedentes Generales**

Los formularios citados se encuentran en el Reglamento específico para la autorización de laboratorios de análisis/ensayo. Se debe presentar solo en el caso de que sea la primera autorización para laboratorio de análisis/ensayo:

- Fotocopia por ambos lados de la cédula de identidad del postulante.
- Fotocopia del rol único tributario de la persona jurídica y de la cédula de identidad por ambos lados, del respectivo representante legal o documento de identificación oficial para el caso de extranjeros.
- Declaración jurada simple, según formatos establecidos en los formularios F-GF-CGP-PT70 y F-GF-CGP-PT-71, para personas naturales y personas jurídicas respectivamente.
- Copia del comprobante de del pago realizado por concepto de postulación a la autorización ante el SAG, de acuerdo al sistema tarifario vigente.
- Autorización de publicación de datos de terceros autorizados ante el SAG, para fines institucionales, firmada por el/la postulante o su representante legal en el caso de tratarse de persona jurídica (F-GF-CGP-PT-72).
- Fotocopia de la escritura social de constitución, con sus respectivas modificaciones si las hubiere, fotocopia de la publicación de extracto respectivo cuando corresponda, y certificado de vigencia de la persona jurídica emitido por la autoridad competente. Al momento de la postulación este certificado deberá tener una antigüedad no superior a 30 días corridos.
- Documento que acredite la personería del representante legal para actuar en nombre del postulante, y certificado de vigencia del mandato con una antigüedad no superior a 30 días corridos.

#### **4.4.2. Dossier Técnico (obligatorio):**

- Formulario de identificación del responsable técnico, indicando nombre completo, cédula de identidad y firma (F-GF-CGP-PT-69), perteneciente al Reglamento específico para la autorización de laboratorios de análisis/ensayo.
- Certificado de título del responsable técnico, o fotocopia legalizada ante notario. En el caso que sea necesario verificar el cumplimiento de los requisitos, el SAG solicitará documentación complementaria.

## INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES PECUARIAS, MEDIANTE TÉCNICA ELISA, PARA LA CERTIFICACIÓN DE EXPORTACIÓN DE BOVINOS EN PIE

Código: D-ATR-AAT-038  
Versión: 02

- iii) Documentación que demuestre experiencia laboral del responsable técnico, según perfil descrito en el punto 4.2 del Reglamento específico para la autorización de laboratorios de análisis/ensayo.
- iv) Copia del manual de calidad del laboratorio

### 4.4.3. Dossier Específico (obligatorio):

- i) Croquis del laboratorio, identificando uso de áreas y ubicación de equipos.
- ii) Formulario de identificación del personal que se desempeña como analista (F-ART-AAT-113), del presente instructivo.
- iii) Formulario anexo detección de antígenos o anticuerpos para enfermedades pecuarias mediante técnica ELISA (F-ART-AAT-163), del presente instructivo.
- iv) Certificado de título de los analistas identificados, en original o fotocopia legalizada.
- v) Documentos que acrediten la capacitación tanto del responsable técnico como de los/las analistas en los análisis a autorizar.
- vi) Documentos específicos, señalados en el numeral 4.3 de este instructivo.
- vii) Plan de contingencia, identificando al personal que actuará en calidad de subrogante.
- viii) Formulario de identificación de Equipos e Instrumentos (F-ATR-AAT-258), del presente instructivo.

Sin perjuicio de lo anterior, el cumplimiento de los requisitos descritos tanto en el Reglamento específico para la autorización de laboratorios de análisis/ensayo como en este instructivo, serán confirmados por el Servicio en la visita de verificación de requisitos, a través de los medios que considere idóneos para tal efecto.

Con este fin, el SAG podrá someter al responsable técnico y a uno o más analistas identificados por el postulante, a una evaluación teórica y/o práctica.

## 5. Análisis /Ensayo

### 5.1. Captación y Envío de la muestra

La muestra para este método es sangre, sin anticoagulante, en cantidad suficiente para los análisis y con refrigeración permanente ( $6^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ). Las muestras enviadas a un laboratorio autorizado serán responsabilidad de un MVA. La muestra siempre debe ir acompañada del protocolo digital de toma de muestras oficial del SAG, correspondiente al Registro de Protocolo Oficial Animal (RPOA), a través del Sistema Informático de Sanidad Animal (SSA), conteniendo toda la información que se solicita.  
<http://sanidadanimal.sag.gob.cl>

### 5.2. Recepción y manejo de la muestra

El laboratorio autorizado debe tener acceso al SSA con sus roles de análisis y jefatura para la recepción, registro de resultados y eventual derivación de muestras a

**INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL DIAGNÓSTICO  
DE ENFERMEDADES PECUARIAS, MEDIANTE  
TÉCNICA ELISA, PARA LA CERTIFICACIÓN DE  
EXPORTACIÓN DE BOVINOS EN PIE**

Código: D-ATR-AAT-038  
Versión: 02

laboratorios oficial. Los resultados de las muestras deben ser entregados en un plazo máximo de 7 días hábiles, desde la fecha de su recepción.

El analista deberá verificar si la muestra es apta o no según el siguiente criterio de aceptación (apta) o rechazo (no apta):

<b>Parámetro</b>	<b>Muestra Apta (aceptación)</b>	<b>Muestra no apta (rechazo)</b>
*	*	*
Tipo de muestra	Suero y/o sangre sin anticoagulante	Sangre hemolizada, órganos, tejidos u otros
Característica de la muestra	Traslúcida	Turbia o hemolizada
Volumen de muestra	Presente (mínimo 1 ml de suero)	Ausente (sin muestra) o Insuficiente
Identificación inequívoca en RPOA del SSA y en tubos	Presente	Ausente

En caso de considerarse no apta una muestra, el Responsable Técnico lo consignará en el SSA. Posteriormente, se procederá según Instructivo de eliminación y descontaminación de residuos, muestras y materiales.

El laboratorio autorizado debe registrar toda muestra recibida en el sistema informático o "libro de ingreso de muestras".

Desde la llegada de las muestras al laboratorio hasta su análisis, las muestras de sangre entera pueden permanecer a temperatura ambiente un máximo de 16-20 horas; sino las muestras deberán permanecer refrigeradas (2°C a 8°C) hasta 5 días, siempre y cuando no se evidencien signos de hemólisis. Si se requiere más tiempo previo a su análisis, las muestras deberán ser desueradas.

En caso de que se requiera que las muestras sean guardadas para fines de supervisión o verificación en el laboratorio oficial SAG, los sueros deberán ser congelados (-15 a -25°C).

### **5.3. Metodología**

El análisis se realiza siguiendo la metodología establecida en los instructivos y también aquella incluida en los respectivos kits comerciales ELISA utilizados.

## **INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES PECUARIAS, MEDIANTE TÉCNICA ELISA, PARA LA CERTIFICACIÓN DE EXPORTACIÓN DE BOVINOS EN PIE**

Código: D-ATR-AAT-038  
Versión: 02

Para todos los análisis de las muestras, el laboratorio deberá utilizar una hoja de trabajo por placa y diagnóstico realizado, registrando N° de protocolo, N° de tubo o muestra, tiempos de incubación, Lote y fecha de expiración del kit, identificar muestras positivas, etc., según formulario Hoja de Trabajo ELISA, código F-ATR-AAT-194 del presente documento.

### **5.4. Cálculo y expresión de los resultados**

Se debe aplicar el sistema de cálculo y expresión de resultados, descrito en el instructivo del kit comercial ELISA utilizado.

Si una muestra resulta reaccionante/positiva, ésta deberá volver a testearse en duplicado. En caso de que esta muestra vuelva a resultar reaccionante/positiva en la repetición del ensayo, la muestra se responderá como positiva. El suero de las muestras positivas se deberá guardar congelado a -20°C, junto con todos los otros posibles sueros reaccionantes/positivos a las enfermedades pecuarias analizadas. El laboratorio autorizado deberá informar mediante algún medio escrito, a el/la Jefe/a del Subdepartamento de Laboratorios Pecuarios, Jefe/a de Subdepartamento Sanidad Animal y MVA sobre las muestras positivas/reaccionantes detectadas y derivarlas al Laboratorio SAG que corresponda, para su confirmación.

De las muestras positivas se deberá conservar una contramuestra de suero, por un período de treinta (30) días, para ser verificada en el Laboratorio SAG, en caso de que el Servicio lo estime pertinente.

La copia de los resultados, deberán ser archivados en el laboratorio autorizado y registrados en el "libro de ingreso de muestras" o en el sistema informático correspondiente. Junto con ello, se deberán guardar en el software del lector ELISA, los registros originales entregados por el equipo o por el programa correspondiente al kit diagnóstico utilizado.

### **6. Registro y envío de resultados**

Los resultados deben ser registrados en la plataforma del SSA, los cuales deben ser visados por el Director Técnico del Laboratorio Autorizado. Luego de dar el VB, los resultados del protocolo estarán disponibles para el sector oficial y, cuando el Director/a Técnico "libere" el protocolo, estará disponible para el MVA. [http://www.sag.gob.cl/sites/default/files/manual\\_usuario\\_laboratorios\\_privados\\_my2\\_018.pdf](http://www.sag.gob.cl/sites/default/files/manual_usuario_laboratorios_privados_my2_018.pdf)

El Laboratorio Autorizado debe verificar que los resultados estén disponibles en la plataforma SSA, luego de lo cual no será necesario enviar copias de protocolos, ya estarán disponibles para los usuarios.

El laboratorio debe enviar un informe mensual de los análisis realizados, según el Formulario para informe mensual o por cuarentena realizada, código F-ART-AAT-164, del presente instructivo, el cual debe ser enviado al jefe del laboratorio Oficial SAG, de Osorno o Santiago, según corresponda, quien realiza la supervisión anual del laboratorio autorizado.

## **INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES PECUARIAS, MEDIANTE TÉCNICA ELISA, PARA LA CERTIFICACIÓN DE EXPORTACIÓN DE BOVINOS EN PIE**

Código: D-ATR-AAT-038  
Versión: 02

### **7. Supervisión a los laboratorios autorizados**

De conformidad con lo señalado en el Reglamento General del Sistema Nacional de Autorización de Terceros, el Reglamento específico para la autorización de laboratorios de análisis/ensayo, Convenio de autorización y el presente instructivo técnico; todo laboratorio autorizado será supervisado por el SAG, a través de al menos una visita de supervisión al año a las dependencias del laboratorio y mediante pruebas de capacidad (pruebas de aptitud u otras) en cualquier momento, para verificar que continúan cumpliendo con las normas de rendimiento, y en general con todas las condiciones que permitieron su autorización.

Una vez realizada la visita de supervisión, se generará un informe, el que indicará las no conformidades y observaciones encontradas, las que deben ser respondidas por el laboratorio autorizado en los plazos estipulados en dicho informe. En el caso que se necesite verificar la implementación de una acción correctiva, se podrá programar una nueva visita de supervisión.

Junto con lo anterior, se realizarán supervisiones en forma indirecta, para lo cual se solicitará el envío de contramuestras para el estudio de concordancia respectivo, con una frecuencia anual, o cuando el Servicio lo estime conveniente. Asimismo, el laboratorio oficial SAG podrá coordinar con los laboratorios autorizados, pruebas de capacidad o rondas interlaboratorios, para evaluar el desempeño de los analistas.

En ambos casos, de no obtenerse una buena concordancia en los resultados, se programará una visita de supervisión para verificar la conducción del test.

Estas acciones de supervisión, se efectuarán sin perjuicio de las facultades de fiscalización que tiene el Servicio.

En caso de detectarse no conformidades en el desempeño del tercero, el Servicio indicará en el informe de supervisión los puntos a subsanar y el plazo para ello. Posteriormente, el Servicio realizará una segunda supervisión, la cual podrá ser presencial o documental, que tendrá como objeto verificar que fueron subsanadas. De mantenerse las no conformidades, otorgará un último plazo para subsanarlas y el Servicio efectuará una tercera supervisión, con el objeto antes señalado, y en caso de no haber corregido la totalidad de no conformidades detectadas, pasarán a considerarse un incumplimiento.

Lo anterior es sin perjuicio de la aplicación de una medida por incumplimiento, según las causales establecidas en el Reglamento General, Convenio de Autorización, Reglamentos Específicos y el presente Instructivo Técnico.

Por cada una de las supervisiones adicionales a la establecida en el Reglamento específico para la autorización de laboratorios de análisis/ensayo, para verificar el cumplimiento de las no conformidades, el tercero deberá pagar la tarifa respectiva por cada una de ellas. A excepción de que la supervisión adicional sea por un objetivo distinto determinado por el Servicio.

En caso que los supervisores SAG detecten que las no conformidades reiteradas, e incluso los incumplimientos, se deben al actuar del responsable técnico, el Servicio podrá sugerir al tercero autorizado, en el informe de supervisión, que postule a un nuevo responsable técnico.

**INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL DIAGNÓSTICO  
DE ENFERMEDADES PECUARIAS, MEDIANTE  
TÉCNICA ELISA, PARA LA CERTIFICACIÓN DE  
EXPORTACIÓN DE BOVINOS EN PIE**

Código: D-ATR-AAT-038  
Versión: 02

## 8. Obligaciones

El tercero Autorizado deberá cumplir con lo establecido en el Reglamento General, Convenio de Autorización, Reglamento Específico para la autorización de laboratorios de análisis/ensayos y las siguientes obligaciones específicas del presente Instructivo Técnico:

- i) Utilizar solo los Kits diagnósticos autorizados por el servicio
- ii) En el caso que el laboratorio autorizado requiera utilizar kits diagnósticos distintos a los indicados en el presente Instructivo técnico, deberá solicitar la aprobación del SAG antes de ser utilizados mediante carta dirigida al Departamento de Transacciones Comerciales y Autorización de Terceros cumpliendo a cabalidad los requisitos descritos en el punto 4.2.3 del presente Instructivo.

## 9. Formularios y Anexos

<b>Código</b>	<b>Nombre</b>
F-ATR-AAT-163	Formulario anexo detección de antígenos o anticuerpos para enfermedades pecuarias mediante técnica ELISA
F-ATR-AAT-113	Formulario de identificación de analistas vinculados al análisis de laboratorios de análisis/ensayo
F-ATR-AAT-258	Formulario de identificación para equipos e instrumentos
F-ATR-AAT-164	Formulario para informe mensual o por cuarentena realizada
F-ATR-AAT-194	Formulario Hoja de trabajo ELISA
ANEXO N°1	Laboratorio de nivel de bioseguridad 2
ANEXO N°2	Manual de usuario SSA Laboratorio Privados <a href="http://www.sag.cl/sites/default/files/ssa_manual_usuario_lab_privados_oct-2019.pdf">http://www.sag.cl/sites/default/files/ssa_manual_usuario_lab_privados_oct-2019.pdf</a> <sup>(1)</sup>
ANEXO N°3	Elaboración de Registro de Protocolo Oficial Animal (RPOA) <a href="http://www2.sag.gob.cl/sag_al_dia/SSA_creaprotocolo.wmv">http://www2.sag.gob.cl/sag_al_dia/SSA_creaprotocolo.wmv</a> <sup>(1)</sup>

(1) Para descargar, debe copiar y pegar el enlace en su navegador

**Formulario anexo detección de antígenos o anticuerpos para enfermedades pecuarias mediante técnica ELISA**

Código: F-ATR-ATT-163  
Versión: 02

Identificación del Laboratorio:

Nombre/Razón Social:.....

Cédula de Identidad N°/RUT: .....

Marcar con una x la o las enfermedades a detectar:

<b>Análisis de Enfermedades a los que postula</b>	
1. Brucelosis bovina.	
2. Diarrea Viral Bovina (DVB).	
3. Leucosis Enzoótica Bovina (LEB).	
4. Paratuberculosis (PTBC).	

En caso de postular a la autorización mediante el uso de kits que ya cuentan con la aprobación del Servicio, marcar con una X el o los kits comerciales a utilizar:

<b>Kits aprobados</b>	
1.Brucelosis bovina	SVANOVA, SVANOVIR® Brucella-Ab C-ELISA *
2.Diarrea Viral Bovina (DVB)	IDEXX, BVDV Ag/Serum Plus *
	IDVet, ID Screen® BVD P80 Antigen Capture
3.Leucosis Enzoótica Bovina (LEB)	*
	IDEXX, Leukosis Blocking Ab
	IDVet, ID Screen® BLV Competition
	Ingenasa, INgezim BLV Compac 2.0
4. Paratuberculosis (PTBC)	IDEXX, Paratuberculosis Screening Ab ® *
	IDVet, ID Screen® Paratuberculosis Indirect
	VMRD, Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis (MAP)Antibody Test Kit

**Formulario anexo detección de antígenos o anticuerpos para enfermedades pecuarias mediante técnica ELISA**

Código: F-ATR-ATT-163  
Versión: 02

En caso de postular a la autorización mediante el uso de kits distintos a los señalados en la tabla anterior, completar la siguiente tabla:

<b>Kits para los cuales solicita autorización</b>	
1. Brucelosis bovina	
2. Diarrea Viral Bovina (DVB)	
3. Leucosis Enzootica Bovina (LEB)	
4. Paratuberculosis (PTBC)	

Nota:

1. Indicar la marca de/los kits diagnósticos a utilizar, con letra legible
2. Debe adjuntar evidencias del cumplimiento (de al menos uno) de los siguientes requisitos:
  - Haber sido verificados y/o recomendados por los laboratorios de referencia de la OIE (de cada enfermedad).
  - Contar con estudios de validación publicados en revistas científicas reconocidas (ISSN) y que cuenten con el Visto Bueno del SAG.
  - Contar con validaciones, verificaciones y/o estudios de comparación realizados por el SAG.

\_\_\_\_\_  
Firma del postulante o del representante legal

Fecha: \_\_\_\_\_





**IDENTIFICACIÓN DE ANALISTAS VINCULADOS AL  
ANÁLISIS DE LABORATORIOS DE  
ANÁLISIS/ENSAYO**

Código: F-ATR-AAT-113  
Versión: 02

Identificación del Laboratorio:

Nombre/Razón Social: .....

Cédula de Identidad N°/RUT: .....

<b>Nombre completo</b>	<b>N° Cédula de Identidad</b>	<b>Firma</b>

\_\_\_\_\_  
Firma del postulante o del representante legal

Fecha: \_\_\_\_\_



## IDENTIFICACIÓN DE EQUIPOS E INSTRUMENTOS

Código: F-ATR-AAT-258  
Versión: 02

Identificación del Laboratorio:

Nombre/Razón Social: .....

Cédula de Identidad N°/RUT: .....

<b>Equipo/Instrumento</b>	<b>Característica</b>	<b>Personal o empresa a cargo de su mantención/calibración</b>

\_\_\_\_\_  
Firma del postulante o del representante legal

Fecha: \_\_\_\_\_



**INFORME MENSUAL O POR CUARENTENA  
REALIZADA**

Código: F-ATR-AAT-164  
Versión: 02

LABORATORIO \_\_\_\_\_ ANALISTA \_\_\_\_\_

DIRECCIÓN \_\_\_\_\_ SERIE/LOTE UTILIZADO \_\_\_\_\_

REGION \_\_\_\_\_ ENFERMEDAD \_\_\_\_\_

FECHA \_\_\_\_\_

<b>PROTOCOLO</b>	<b>Nº ANIMALES MUESTREADOS</b>	<b>Nº ANIMALES POSITIVOS</b>	<b>FECHA DEL DIAGNÓSTICO</b>

\_\_\_\_\_  
Firma Responsable Técnico

## HOJA DE TRABAJO ELISA

Código: F-ATR-AAT-194  
Versión: 02

HOJA DE TRABAJO ELISA									
								hora	ok
<b>ANALISIS</b>									
<b>N° PROTOCOLOS</b>									
<b>N° MUESTRAS</b>									
<b>N° Serie Kit:</b>									
<b>Fecha exp. kit</b>									
<b>Pto. Corte</b>									
<b>Disposición muestras y Resultados</b>									
<b>Fecha:</b>								<b>Analista:</b>	
<b>Observación:</b>									

## LABORATORIO DE NIVEL DE BIOSEGURIDAD TIPO 2

### RECOMENDACIONES GENERALES

Todos los materiales usados en el laboratorio deberán ser adecuadamente descontaminados previo a su eliminación. \*Los materiales reutilizables, deberán ser descontaminados, posteriormente lavados, secados y esterilizados, según los requisitos que deban reunir para su reutilización.

### 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 ser mantenido 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. Esta ropa protectora deberá ser quitada inmediatamente antes de abandonar el área de trabajo, para circular en otras dependencias del laboratorio. La ropa de trabajo deberá ser descontaminada antes de ser enviada a lavado en caso de que sea fuera del laboratorio. Idealmente se debiera contar con una lavadora y secadora dentro del laboratorio.
5. Antes de iniciar la tarea diaria asegúrese que la piel de sus manos no presente cortes, raspones y otras lastimaduras, en caso que así sea cubrir la herida de manera conveniente antes de colocarse los guantes.
6. Usar guantes de látex de buena calidad para todo manejo de material biológico o donde exista aunque sea de manera potencial el riesgo de exposición a sangre o fluidos corporales.
7. Cambiar los guantes de látex toda vez que hayan sido contaminados, lavarse las manos y ponerse guantes limpios.
8. No tocar los ojos, nariz o piel con las manos enguantadas.
9. En caso de que el laboratorio no exija una ducha del personal al salir del laboratorio, se deberá utilizar gorros para cubrirse el cabello.
10. No abandonar el laboratorio o caminar fuera del lugar de trabajo con los guantes puestos.
11. El uso de agujas, jeringas y cualquier otro instrumento similar deberá ser restringido a su uso indispensable. Las agujas y otros elementos punzantes deberán ser descartados en un recipiente resistente. 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. No usar tijeras con puntas muy agudas. **Por ningún concepto las agujas serán retapadas. El conjunto aguja-jeringa deberá ser descartado en el recipiente destinado a tal fin.**
12. Todos los procedimientos deberán ser realizados de manera tal que sea nula la creación de aerosoles, gotas, salpicaduras, etc.
13. Bajo ninguna circunstancia se pipeteará sustancia alguna con la boca, para ello se usarán pipeteadores automáticos.

## ANEXO N°1:

### LABORATORIO DE NIVEL DE BIOSEGURIDAD TIPO 2

14. 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 en concentración adecuada, alcohol al 70% u otro desinfectante cuya efectividad sea comprobable
15. El recipiente para descontaminar materiales deberá contar con tapa de seguridad para todo traslado fuera del lugar de trabajo. En ese caso el exterior del recipiente deberá ser mantenido libre de toda contaminación con sangre usando solución descontaminante.
16. \*Los fluidos orgánicos de preferencia deberán ser eliminados a través de una empresa externa especialista en este tipo de desechos. En caso contrario, puede efectuarse por el Laboratorio Autorizado, de acuerdo a la Normativa vigente del Ministerio de Salud y del Ministerio del Medio Ambiente.
17. Una vez usados los guantes de látex deberán ser eliminados en el contenedor de material contaminado, para luego ser autoclavados.
18. Lavar las manos con jabón líquido y agua inmediatamente después que el trabajo haya sido terminado. Si los guantes de látex están deteriorados, lavar las manos con agua y jabón después de quitarlos.
19. Informe inmediatamente a su superior de cualquier accidente ocasionado con elementos del laboratorio.

#### 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 hermética (tapa a rosca o de goma).

Preferiblemente la centrifugación deberá hacerse bajo campana, en caso contrario se colocará sobre la misma una tela embebida en solución descontaminante. Luego de transcurridos 10 min., de la detención se procederá a abrirla. Al terminar el trabajo limpiar con solución descontaminante por dentro y por fuera del aparato.

**Otros aparatos (microscopios, lectores de ELISA, etc.)** Una vez utilizados deberán descontaminarse las perillas y superficies con solución descontaminante.

#### MANEJO Y ELIMINACIÓN DEL MATERIAL CONTAMINADO Y DESECHOS

1. Todo tipo de material no reutilizable (por ej. puntas de micropipetas, jeringas, cánulas, agujas, tubos para recolección de muestras, etc.) deberá ser ubicado en un recipiente metálico o de plástico resistente a punciones o cortaduras. Se recomienda el uso de bidones y botellas de plástico o cualquier recipiente similar acondicionado para tal fin. El recipiente contendrá líquido descontaminante y deberá estar ubicado en el mismo lugar de trabajo. Este material deberá ser autoclavado antes de ser

## ANEXO N°1:

### LABORATORIO DE NIVEL DE BIOSEGURIDAD TIPO 2

- eliminado. Si el material contaminado será autoclavado no requiere ser sumergido en solución desinfectante previamente.
2. Los delantales, chaquetas **u** 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.
  3. Todo elemento desechable (ej. agujas, jeringas, etc.) deberá ser colocado en un recipiente de material resistente a punciones y/o cortaduras, similar al descrito en 1, el que será colocado dentro de un recipiente a prueba de pérdidas para ser eliminado de acuerdo a la Normativa vigente del Ministerio de Salud y Ministerio del Medio Ambiente.
  4. Para la eliminación de todo material contaminado, el método de elección es la incineración de los mismos. En caso contrario, este material será autoclavado y luego destruido, de acuerdo a normativa vigente.

### ACCIDENTES

**Derrames:** Cuando se produzca derrame de material infectado o potencialmente infectado, el operador deberá ponerse guantes y luego cubrir el fluido derramado con el papel absorbente, derramar alrededor de este material, solución descontaminante y finalmente verter solución descontaminante sobre el papel y dejar actuar por lo menos 20 minutos. Usando materia absorbente, seco y limpio, levantar el material y arrojarlo al recipiente de desechos contaminados para su posterior eliminación. La superficie deberá ser enjuagada nuevamente con solución descontaminante. Los guantes serán descartados después del procedimiento. No se recomienda el uso del alcohol ya que evapora rápidamente y además coagula los residuos orgánicos superficiales sin penetrar en ellos.

**Pinchazos o lastimaduras:** Los pinchazos, heridas punzantes, lastimaduras y piel contaminada por salpicadura de materiales infectados deberán ser lavados con abundante agua y jabón amarillo. Se deberá favorecer el sangrado de la herida.

**Aerosoles:** En el caso que el accidente genere aerosol (por la rotura de centrífuga y homogeneizador), el trabajador deberá contener la respiración y abandonar inmediatamente el cuarto cerrando la puerta y avisar de inmediato a su supervisor.