

# **INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL DIAGNÓSTICO DE PRRS MEDIANTE RT-PCR EN TIEMPO REAL**

**Tabla de Contenidos**

<b>Contenido</b>	<b>Página</b>
<b>1 OBJETIVOS Y ALCANCE .....</b>	<b>3</b>
<b>2 REFERENCIAS Y DOCUMENTOS RELACIONADOS.....</b>	<b>3</b>
<b>3 DEFINICIONES Y ABREVIATURAS.....</b>	<b>3</b>
<b>4 REQUISITOS.....</b>	<b>4</b>
<b>4.1 Requisitos de infraestructura, equipos, materiales y reactivos. ....</b>	<b>4</b>
4.1.1 Requisitos de infraestructura.....	4
4.1.2 Requisitos de equipamiento y materiales .....	4
4.1.3 Requisitos de reactivos.....	5
<b>4.2 Requisitos de personal .....</b>	<b>6</b>
<b>4.3 Requisitos específicos. ....</b>	<b>7</b>
<b>4.4 Medios de verificación de requisitos.....</b>	<b>7</b>
<b>5 ANÁLISIS/ENSAYO .....</b>	<b>8</b>
<b>5.1 Captación y envío de la muestra.....</b>	<b>8</b>
<b>5.2 Recepción y manejo de la muestra/contramuestra .....</b>	<b>9</b>
<b>5.3 Metodología. ....</b>	<b>10</b>
<b>6 REGISTRO Y ENVÍO DE LOS RESULTADOS .....</b>	<b>11</b>
<b>7 SISTEMA DE SUPERVISIÓN Y RONDAS INTERLABORATORIOS.....</b>	<b>13</b>
<b>8 OBLIGACIONES.....</b>	<b>13</b>
<b>9 ANEXO Y FORMULARIOS.....</b>	<b>15</b>

## **1 OBJETIVOS Y ALCANCE**

El objetivo de este documento es establecer los requisitos que deberán cumplir los/as interesados/as que voluntariamente postulan al SAG, para operar como laboratorio autorizado en la ejecución del diagnóstico del Síndrome Reproductivo Respiratorio Porcino (PRRS) mediante la técnica Reacción en Cadena de la Polimerasa con Transcriptasa Reversa en tiempo real (rRT-PCR) a partir de sueros porcinos, 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 rRT-PCR a partir de sueros de porcinos, utilizando tanto kits comerciales aprobados por el Servicio Agrícola y Ganadero, como métodos validados por la OIE y aprobados por el SAG.

## **2 REFERENCIAS Y DOCUMENTOS RELACIONADOS**

- a) Norma Chilena Oficial N Ch-ISO 17025, versión vigente.
- b) Laboratory Biosafety Guidelines, Medical Research, versión vigente.
- c) Decreto N° 235 PRRS 2002.
- d) Manual de Estándares para Pruebas Diagnósticas y Vacunas de la O.I.E., versión vigente.
- e) Instructivo interno del kit comercial aprobado por el Servicio, tanto de Extracción de ARN como de Realización de la rRT-PCR, en caso de utilizarlo.
- f) Resolución Exenta N° 90 de 2014, de la Dirección Nacional del SAG, que aprueba el Reglamento Específico para la Autorización de Laboratorios Análisis/Ensayo, versión vigente.
- g) Resolución Exenta N° 6.600 de 2014, de la Dirección Nacional del SAG, que aprueba Instructivo Técnico para el Diagnóstico de PRRS mediante ELISA, versión vigente.

## **3 DEFINICIONES Y ABREVIATURAS**

PRRS:	Síndrome Reproductivo Respiratorio Porcino.
RT-PCR:	Reacción en Cadena de la Polimerasa con Transcriptasa Reversa.
rRT-PCR:	Reacción en Cadena de la Polimerasa con Transcriptasa Reversa en tiempo real.
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 Perteneciente al Servicio Agrícola y Ganadero.
RUP:	Rol Único Pecuario.
PTM:	Protocolo de Toma de Muestra.
PTMVSP:	Protocolo de Toma de Muestras para Vigilancia Sanitaria Porcina.
B:	Buena.
R:	Regular.
M:	Mala.
Pool:	Conjunto de muestras de suero, agrupadas en igual proporción, para ser analizadas como una sola unidad.
CI:	Control Interno de ARN

#### **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 rRT-PCR con el fin de lograr la detección de genoma del virus PRRS a partir de sueros porcinos.

###### **4.1.2 Requisitos de equipamiento y materiales**

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

- Refrigerador (rango de temperatura de 2 a 8°C)
- Congelador (-15 a -25°C), también es deseable contar con un congelador de -70 a -80°C
- Gabinete de Bioseguridad Clase II (certificado anualmente)
- Termociclador Tiempo Real
- Estación de trabajo para la preparación del Mix PCR
- Es deseable contar con una centrífuga de microplacas para PCR
- Autoclave (con registros de mantención anual y de capacitación del personal que lo maneje)
- Termómetros contrastados o calibrados a temperatura de trabajo, para control de temperatura de todos los equipos con temperatura controlada y control de Temperatura ambiental
- Micropipetas (debidamente verificadas/calibradas una vez al año)

- Tubos Eppendorf
- Puntas desechables con filtro para micropipetas (para el volumen adecuado a las micropipetas)
- Cronómetros de control
- Propipeta
- Vórtex
- Recipientes para eliminar puntas y placas.
- Solución desinfectante adecuada (alcohol yodado: para manos y solución clorada, amonio cuaternario + glutaraldehído, monopersulfato de potasio (por ejemplo: Virkon®) o clorhexidina: para superficies y recipientes de eliminación)
- Sistema de destrucción y eliminación de residuos tóxicos y microbiológicos por medio de autoclavado y posterior incineración. Se deben conservar los registros internos de autoclavado e incineración. 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.

#### **4.1.3 Requisitos de Reactivos**

En cuanto a los reactivos requeridos para la realización de este método diagnóstico, se requieren los reactivos necesarios para la extracción del ARN viral desde el suero y los reactivos para la realización de la rRT-PCR misma.

##### 4.1.3.1 Extracción:

- Kits comerciales de extracción de ARN viral a partir de suero porcino (con fecha de vencimiento vigente) aprobados para su uso por el SAG, como: Ambion MagMAX® de Life Technologies; QIAamp Viral RNA Mini Kit® de Qiagen; High Pure Viral RNA Kit ® de Roche, o similar aprobado por el Servicio.

Dependiendo del kit de extracción que utilice el laboratorio autorizado, éste debe contar con todos los equipos, materiales y reactivos indicados en el instructivo del kit. Asimismo, la conservación del kit debe ceñirse a las instrucciones del fabricante.

##### 4.1.3.2 rRT-PCR:

a) rRT-PCR realizada mediante kits comerciales para detectar material genético del virus PRRS americano y europeo:

- Kit comercial para la realización de la RT-PCR en tiempo real (con fecha de vencimiento vigente) aprobado para su uso por el SAG, como: PrioCHECK® PRRSV RT-PCR de Prionics; VetMAX® PRRSV EU/NA Real-Time PCR Kit de Life Technologies, o similar aprobado por el Servicio.

Dependiendo del kit de rRT-PCR que utilice el laboratorio, éste debe contar con todos los equipos, materiales y reactivos indicados en el instructivo del kit. Asimismo, la conservación del kit debe ceñirse a las instrucciones del fabricante.

b) rRT-PCR basada en protocolos publicados aprobados por la OIE y por el Servicio para detectar genoma del virus PRRS americano y europeo, como por ejemplo el Protocolo de Kleiboeker *et al.*, 2005.

Dependiendo del protocolo de rRT-PCR para PRRS que utilice el laboratorio autorizado, éste debe contar con todos los equipos, materiales y reactivos indicados en el protocolo. Asimismo, la conservación de los reactivos utilizados debe ceñirse a las instrucciones del fabricante.

c) Reactivos Mix PCR para la realización de la rRT-PCR. Los de kits comerciales generalmente traen estos reactivos, en cambio si se trabaja con protocolos publicados aprobados por la OIE (Kleiboeker *et al.*, 2005) y por el Servicio, se deben adquirir estos reactivos. En ambos casos, se requiere la preparación del Mix PCR en una estación de trabajo especialmente destinada a esto.

## **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, biotecnólogo o ingeniero agrónomo. En caso de título obtenido en el extranjero, éste deberá estar revalidado según procedimiento establecido por el Ministerio de Educación.
- 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 PCR.

### **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 PCR.
- 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 y a las actualizaciones, en caso de que se realicen, dictadas por profesionales del Subdepartamento de Laboratorio y Estación Cuarentenaria Pecuaria del SAG sobre este tema y conservar su certificado de capacitación.

#### **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).
- Calidad de la muestra recibida (B-R-M).
- Nombre de propietario.
- Región.
- Nombre del MVO o MVA 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 rRT-PCR, 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.
2. Formulario anexo para el diagnóstico de PRRS mediante rRT-PCR, según formato establecido en el formulario F-GF-CGP-PT-098 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-CGP-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-099 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 internos de acuerdo a lo señalado en el numeral 4.3 de este instructivo.
14. Registro de eliminación de residuos y material contaminante, tanto de autoclavado como de incineración, 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-100 y F-GF-CGP-PT-101 de este instructivo.
16. Certificado de competencia para uso de autoclave del operador.
17. Registros de derivación de todas las muestras y contramuestras positivas al Departamento de Laboratorios y Estaciones Cuarentenarias SAG, Lo Aguirre.

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 porcino, por lo tanto se puede recibir:

- Sangre sin anticoagulante.
- Suero, obtenido evitando su contaminación.

La muestra debe venir en cantidad suficiente (mínimo 0,5 ml de suero o mínimo 3 ml de sangre) y con refrigeración permanente (2 a 8°C) por períodos de hasta 48 horas, si se requiere más tiempo de traslado o de almacenamiento previo al envío, se debe obtener el suero y congelarlo a -20°C o idealmente entre -70 y -80°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 suero o 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:

<b>Parámetro</b>	<b>Muestra apta (Aceptación)</b>	<b>Muestra no apta (Rechazo)</b>
Tiempo de refrigeración entre 2 y 8°C	Hasta 48 horas	Más de 48 horas
PTM o PTMVSP	Datos completos	Datos incompletos o erróneos
Tipo de Muestra	Suero y/o sangre sin anticoagulante	Sangre con anticoagulante, órganos, tejidos u otros
Característica de la Muestra	Suero traslúcido	Suero turbio o hemolizado
Volumen de Muestra	Presente (mínimo 0,5 ml de suero)	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 se pueden almacenar refrigeradas, entre 2 y 8°C, por períodos de hasta 48 horas. Para conservar suero por períodos de más de 48 horas se debe congelar a -20°C o idealmente entre -70 y -80°C.

En el caso de existir muestras que resulten positivas a rRT-PCR, el laboratorio autorizado deberá enviarlas con cadena de frío antes de 24 horas al Laboratorio SAG de Lo Aguirre. El laboratorio autorizado no deberá conservar contramuestra de las muestras positivas, debiendo derivar toda la cantidad de muestras positivas al Servicio. Se auditarán los registros de derivación al laboratorio SAG de Lo Aguirre de todas las muestras y contramuestras positivas en las visitas que realice el Servicio al laboratorio autorizado.

### **5.3 Metodología**

La metodología a seguir debe estar aprobada por el SAG, tanto para extracción de ARN como para la realización de la rRT-PCR.

#### 5.3.1 Extracción

La extracción corresponde al paso en el cual se obtiene desde la muestra de suero el ARN del virus, si es que la muestra lo tuviera. La metodología de extracción debe ceñirse estrictamente al instructivo del kit comercial.

Al realizar la extracción se podrá realizar pool de muestras de suero, con un máximo de 5 sueros por cada pool.

Luego de realizar las extracciones, se deberá proceder a realizar la rRT-PCR de forma inmediata. De no ser posible, las extracciones se deben almacenar de acuerdo a las indicaciones del kit comercial de extracción.

Con el fin de garantizar la correcta realización del proceso de extracción de ARN, se debe incorporar en cada proceso de extracción al menos un control positivo y un control negativo de extracción. Además, si se utiliza un kit que cuente con Control Interno de ARN (CI), éste se debe incorporar durante la extracción de todas las muestras, incluyendo el control positivo y el negativo. Por ejemplo, si se utiliza el kit PrioCHECK® PRRSV RT-PCR de Prionics, se deben agregar 5 µl de CI a la solución de lisis, antes de agregar la muestra a extraer, si es que en el kit de extracción se utilizan 50 µl de Buffer de Elusión en el paso final de la extracción.

Si alguno de los controles de extracción (positivo, negativo, CI) no resultan como deben en la rRT-PCR, la prueba y sus resultados no serán válidos. Por otra parte, esta falla indicaría que existen problemas con el método de extracción, debiendo revisarse acuciosamente cada paso y reactivo utilizado. Si en una próxima extracción se vuelve a tener problemas, se deberá dar aviso en forma escrita de tal situación (vía correo electrónico u otro) al Encargado/a de Supervisión SAG de ese laboratorio.

### 5.3.2 Realización de la rRT-PCR:

La rRT-PCR corresponde al paso en el cual se amplifica y cuantifica un segmento específico del material genético del virus PRRS obtenido a partir de la muestra de suero, si es que la muestra lo tuviera. La metodología de la rRT-PCR debe ceñirse estrictamente al instructivo del kit comercial o del protocolo validado por la OIE y aprobado por el SAG.

Al realizar la rRT-PCR siempre se deberá incluir un control positivo y un control negativo. Si los controles no arrojan los resultados esperados, la prueba y sus resultados no serán válidos. Esto indicaría que existen problemas con el método de rRt-PCR, debiendo revisarse acuciosamente cada paso y reactivo utilizado. Si en una próxima prueba se vuelve a tener problemas, se deberá dar aviso en forma escrita de tal situación (vía correo electrónico u otro) al Encargado/a de Supervisión SAG de ese laboratorio.

### 5.3.3 Resultados:

El resultado será válido siempre y cuando los controles negativos y positivos, tanto de extracción como de la rRT-PCR y el CI arrojen resultados esperados, es decir, que los controles negativos resulten negativos y los controles positivos resulten positivos (con un CT dentro de un rango esperado) y que el control interno de extracción sea detectado en cada muestra y en los controles (con un CT dentro de un rango esperado), en el caso de que se utilice un kit que contenga control interno. Sólo si la reacción es válida se podrán emitir resultados.

Una muestra se considerará como positiva, si el resultado del CT obtenido en la rRT-PCR es menor o igual al punto de corte definido por el kit comercial o en el protocolo, por ejemplo  $CT \leq 37$  son considerados como positivos si se utiliza el kit PrioCHECK® PRRSV RT-PCR de Prionics.

Si un pool (de máximo 5 muestras) arroja resultados "dudosos" o "no concluyentes" a rRT-PCR, se deberá volver a analizar cada muestra del pool de forma individual obligatoriamente.

En caso que una muestra resulte positiva a rRT-PCR para la detección de genoma del virus PRRS, 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 y al/la Encargado/a de Supervisión SAG de ese laboratorio. Posteriormente, se deberá enviar la muestra positiva con cadena de frío antes de 24 horas al Laboratorio SAG de Lo Aguirre, para su confirmación.

## **6. REGISTRO Y ENVÍO DE LOS RESULTADOS**

El laboratorio autorizado deberá llevar y mantener registros de los sueros analizados en una planilla de trabajo, donde conste su identificación y resultado obtenido mediante rRT-PCR.

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 y al/la Encargado/a de Supervisión SAG de ese laboratorio, adjuntando el protocolo de resultados de laboratorio (F-GF-CGP-PT-102). Una copia de este 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-102), 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; diagnóstico: PRRS Americano o PRRS Americano y Europeo; técnica: rRT-PCR.
- Antecedentes de la técnica:
  - ✓ se debe indicar el kit comercial que se utilizó para realizar la extracción (por ejemplo: Ambion MagMAX®), indicando N° de lote o serie del kit y su fecha de vencimiento.
  - ✓ en caso de que se utilice un kit comercial para la realización de la rRT-PCR se debe indicar su nombre y marca (por ejemplo: PrioCHECK® PRRSV RT-PCR), incluyendo el número de lote o serie del kit y su fecha de vencimiento.
  - ✓ en caso de utilizar un método a partir de un protocolo validado por la OIE y aprobado por el SAG para la realización de la rRT-PCR, se debe indicar el autor y el año del Protocolo en el cual se basa (por ejemplo: Kleiboeker *et al.*, 2005) y lo que detecta (por ejemplo: PRRS Americano ORF 7), utilizando los casilleros de lote o serie del kit y de fecha de vencimiento.
- Resumen del análisis: número de muestras analizadas, número de pools realizados, número de muestras negativas, número de muestras positivas, número de sospechosas.
- Límite de detección: se debe indicar el punto de corte de CT para considerar muestras como positivas (por ejemplo: CT ≤ 37 son considerados Positivos).
- Controles: se debe anotar el resultado de los controles negativos y positivos, tanto de extracción como de la rRT-PCR. Para los resultados negativos se deben anotar: Negativo, resultados positivos anotar: Positivo y el CT obtenido.
- Observaciones: detallar si existiese alguna observación u otra información respecto a las muestras o a la prueba, indicar por ejemplo si se observaron reacciones inespecíficas.
- Detalle del análisis:
  - ✓ Pool N°: en esta columna se debe indicar en qué pool se ubicó dicha muestra.
  - ✓ Muestra N°
  - ✓ Identificación de la muestra, ya sea el número de crotal u otro tipo de identificación del animal, en caso de que aplique.
  - ✓ Categoría del animal (por ejemplo: reproductor).
  - ✓ Resultado PRRS Americano: indicar si es Negativo o Positivo y CT obtenido: en caso de que la muestra sea positiva.

- ✓ Resultado PRRS Europeo: indicar si es Negativo o Positivo y CT obtenido: en caso de que la muestra sea positiva.
- ✓ CT obtenido en el control interno, en caso de que el kit cuente con control interno.
- 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 y al/la Encargado/a de Supervisión SAG de ese laboratorio el informe trimestral de la actividad realizada como laboratorio autorizado, de acuerdo al formato F-GF-CGP-PT-103 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, podrá recibir supervisiones adicionales, en cualquier momento.

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, al menos 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 laboratorio autorizado tiene la obligación de derivar toda muestra que resulte positiva a rRT-PCR, con cadena de frío, antes de 24 horas al Laboratorio SAG de Lo Aguirre. El laboratorio autorizado no deberá conservar contramuestra de las muestras positivas, debiendo derivar toda la cantidad de muestras positivas al Servicio.

## **INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL DIAGNÓSTICO DE PRRS MEDIANTE RT-PCR EN TIEMPO REAL**

Código: D-GF-CGP-PT-019  
Versión: 01

- El laboratorio autorizado no debe mezclar reactivos de diferentes kits comerciales.

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

El postulante o su representante deben firmar una declaración jurada simple según formato de los formularios F-GF-CGP-PT-100 (para persona jurídica) y F-GF-CGP-PT-101 (para persona natural) del presente instructivo, mediante la cual se compromete a dar cumplimiento a las obligaciones antes señaladas.

## **9. ANEXO Y FORMULARIOS**

### **ANEXO N° 1: REQUISITOS PARA UN LABORATORIO AUTORIZADO PARA EL DIAGNÓSTICO DE PRRS MEDIANTE rRT-PCR: LABORATORIO DE NIVEL DE BIOSEGURIDAD 2<sup>1</sup>**

#### Recomendaciones generales

Estos requisitos aplican a laboratorios autorizados por el SAG para la manipulación de muestras y la realización del ensayo RT-PCR en tiempo real para la detección del virus PRRS. Estos laboratorios requieren de un diseño especial, necesario para un laboratorio funcional y adecuado. Son necesarios gabinetes de bioseguridad, ya que el método diagnóstico a realizar es muy sensible a contaminaciones. Siempre se deben llevar a cabo Buenas Prácticas de Laboratorio. Se debe poner énfasis en evitar la diseminación viral fuera del laboratorio.

#### 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 puertas deben permanecer cerradas.

No deben existir ventanas que se puedan abrir.

Las paredes, cielos, muebles y pisos deben ser lavables y resistentes a los productos químicos y desinfectantes normalmente utilizados en el laboratorio. Las esquinas idealmente deben ser redondeadas.

Se requiere contar con al menos un Gabinete de Bioseguridad Clase II (certificado anualmente).

Se requiere como infraestructura mínima: una sala separada para la extracción de ARN viral, una sala de RT-PCR con los equipos de PCR Real Time y una estación de trabajo para el Mix PCR.

El laboratorio debe contar con un Autoclave (con registros de mantención anual y de capacitación del personal que lo maneje).

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.

El laboratorio debe disponer de espacio suficiente para realizar el trabajo en condiciones de seguridad y para la limpieza y el mantenimiento. Debe existir espacio suficiente para guardar los artículos de uso inmediato, evitando así su acumulación desordenada sobre las mesas de trabajo y en los pasillos.

La iluminación debe ser adecuada para todas las actividades.

Los casilleros para guardar la ropa de calle y los objetos personales se deben encontrar fuera de las zonas de trabajo del laboratorio.

Se debe disponer de un suministro de electricidad seguro y de suficiente capacidad.

Conviene contar con un grupo electrógeno de reserva para alimentar el equipo esencial (Gabinetes de Bioseguridad, congeladores, termociclador, entre otros).

Es deseable que el laboratorio cuente con presión de aire negativa dentro del laboratorio y sistema de ventilación controlada.

#### Precauciones de trabajo

##### ACCESO

1. Las puertas del laboratorio deberán estar cerradas y el acceso al mismo deberá estar restringido. La puerta deberá portar emblemas que digan: "Prohibido pasar – Peligro biológico".
2. Sólo podrá entrar en las zonas de trabajo del laboratorio el personal autorizado.
3. Las puertas del laboratorio se mantendrán cerradas.
4. No se autorizará ni permitirá la entrada de niños en las zonas de trabajo del laboratorio.

##### REQUERIMIENTOS

1. El laboratorio deberá mantenerse limpio, ordenado y libre de materiales extraños.
2. 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.
3. Usar delantal, chaqueta o uniforme dentro del laboratorio, el cual se debe cambiar y lavar con agua y detergente o desechar en el caso de utilizar ropa desechable, periódicamente. Además se deberá usar calzado de trabajo exclusivo para estar dentro del laboratorio, los zapatos de calle se deben dejar fuera del laboratorio. 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. Cada área de trabajo debe contar con cambio de delantal y calzado.
4. Al estar trabajando con las muestras, utilizar mascarillas. En caso que el laboratorio no exija una ducha del personal al salir del laboratorio, se deberá utilizar gorros para cubrir el cabello. Puede utilizarse equipo adicional para protección de ojos cuando sea necesario.
5. 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.
6. 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.
7. No abandonar el laboratorio o caminar fuera del lugar de trabajo con los guantes, el gorro, el delantal ni los zapatos de trabajo puestos.
8. 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.

9. Todos los procedimientos deberán ser realizados de manera tal que sea nula la generación de aerosoles, gotas, salpicaduras, etc.

10. Bajo ninguna circunstancia se pipeteará sustancia alguna con la boca, para ello se usarán pipeteadores automáticos.

11. 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 una vez desinfectado se deberá incinerar, ya sea con incinerador propio y/o ser retirado por una empresa calificada para esto, guardando los comprobantes en cada caso.

12. 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 (por ejemplo: Virkon®) o clorhexidina, en concentración adecuada.

13. Una vez usados los guantes de látex deberán ser colocados dentro del recipiente con solución descontaminante.

14. 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.

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

16. 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).

**Otros aparatos (Gabinete de Bioseguridad, etc.):** luego de ser utilizados deberán limpiar cuidadosamente las 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 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 otras prendas protectoras que se usen en el laboratorio, deberán ser colocadas, 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.

<sup>1</sup> Basado en:

- 1- Organización Mundial de la Salud. *Manual de Bioseguridad en el Laboratorio*. 3ª edición. Ginebra, 2005.
- 2- 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)



## 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 Agrícola 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				<div style="border: 1px solid black; height: 100px; width: 100%;"></div>			
TORULA	ORAL						
	CLOACAL						
	AMBIENTAL						
	OTRA:						
ORGANO/TEJIDO (CUAL):		CONGELADO		<b>FIRMA/TIMBRE</b>			
		FIJADO					
HECES							
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 Agrícola 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.

### IDENTIFICACION DE LA MUESTRAS

Nº	IDENTIFICACION	RAZA	CAT.	EDAD	Nº	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 LABORATOIRO					
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					
JABALIES		FECHA DE MUESTREO		D	M	A		
N° DE MUESTRAS TOMADAS								
VERRACOS	CERDAS REPROD. ABUELAS	CERDAS REPROD. COMERCIAL	LECHONES DESTETE	CERDOS RECRÍA 65 - 70 DÍAS	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				

ORIGINAL: DESPACHAR A LABORATORIO SAG LO AGUIRRE

Imp. Jemba S.A. - R.U.T.: 96.996.650-9 - F. 27991929 - Siga.



**PROTOCOLO DE RESULTADOS DE LABORATORIO  
AUTORIZADO PARA DIAGNÓSTICO DE PRRS  
MEDIANTE RT-PCR EN TIEMPO REAL**

Código: F-GF-CGP-PT-102  
Versión: 01

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	Diagnóstico	Técnica
				rRT-PCR

**Antecedentes de la Técnica:**

<b>Kit utilizado para Extracción</b>	<b>N° de Lote del Kit</b>	<b>Fecha de Vencimiento Kit</b>
<b>Kit utilizado para rRT-PCR/ Protocolo OIE utilizado</b>	<b>N° de Lote del Kit</b>	<b>Fecha de Vencimiento Kit</b>

**Resumen Análisis:**

N° Muestras Analizadas	N° Pools Realizado s	N° Muestras Negativas	N° Muestras Positivas	N° Sospechosas

**Límite de detección:**

**Controles:**

	Control Negativo	Control Positivo (CT)
<b>Extracción</b>		
<b>rRT-PCR</b>		

**Observaciones:**



**PROTOCOLO DE RESULTADOS DE LABORATORIO  
AUTORIZADO PARA DIAGNÓSTICO DE PRRS  
MEDIANTE RT-PCR EN TIEMPO REAL**

Código: F-GF-CGP-PT-102  
Versión: 01

**Detalle Análisis:**

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

\_\_\_\_\_  
**Analista Responsable**  
(Nombre y Firma)

\_\_\_\_\_  
**Responsable Técnico Laboratorio Diagnóstico**  
(Nombre y Firma)



**PROCOLO DE RESULTADOS DE LABORATORIO  
AUTORIZADO PARA DIAGNÓSTICO DE PRRS  
MEDIANTE RT-PCR EN TIEMPO REAL**

Código: F-GF-CGP-PT-102  
Versión: 01

**Detalle Análisis:**

Pool N°	Muestra N°	Identificación Muestra	Categoría	Resultado PRRS Americano	CT	Resultado PRRS Europeo	CT	Control Interno CT
	41							
	42							
	43							
	44							
	45							
	46							
	47							
	48							
	49							
	50							
	51							
	52							
	53							
	54							
	55							
	56							
	57							
	58							
	59							
	60							
	61							
	62							
	63							
	64							
	65							
	66							
	67							
	68							
	69							
	70							
	71							
	72							
	73							
	74							
	75							
	76							
	77							
	78							
	79							
	80							

\_\_\_\_\_  
**Analista Responsable**  
(Nombre y Firma)

\_\_\_\_\_  
**Responsable Técnico Laboratorio Diagnóstico**  
(Nombre y Firma)







**FORMULARIO DE IDENTIFICACIÓN DE ANALISTAS  
VINCULADOS AL ANÁLISIS DIAGNÓSTICO DE PRRS  
MEDIANTE RT-PCR EN TIEMPO REAL**

Código: F-GF-CGP-PT-099  
Versión: 01

<b>Nombre Completo</b>	<b>Nº cédula de identidad</b>	<b>Firma</b>

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

**Fecha recepción SAG: .....**



**DECLARACIÓN JURADA SIMPLE  
PERSONA JURÍDICA**

Código: F-GF-CGP-PT-100  
Versión: 01

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 rRT-PCR, 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 RT-PCR en tiempo real.

2-. La persona postulante a la que represento se 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 RT-PCR en tiempo real:

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 criarlos.

c. El laboratorio autorizado derivará toda muestra y contramuestra que resulte positiva a la detección de genoma del virus PRRS mediante rRT-PCR, al Laboratorio SAG de Lo Aguirre.

d. No se mezclarán reactivos de diferentes kits comerciales.

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

.....  
Firma del Representante Legal del postulante

Fecha,.....



**DECLARACIÓN JURADA SIMPLE  
PERSONA NATURAL**

Código: F-GF-CGP-PT-101  
Versión: 01

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

3-. Yo ..... cumpla 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 rRT-PCR, 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 RT-PCR en tiempo real.

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 RT-PCR en tiempo real:

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 criarlos.

e. El laboratorio autorizado derivará toda muestra y contramuestra que resulte positiva a la detección de genoma del virus PRRS mediante rRT-PCR, al Laboratorio SAG de Lo Aguirre.

f. No se mezclarán reactivos de diferentes kits comerciales.

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

.....

Firma del postulante

Fecha,.....



**FORMULARIO ANEXO PARA EL DIAGNÓSTICO DE  
PRRS MEDIANTE RT-PCR EN TIEMPO REAL**

Código: F-GF-CGP-PT-098  
Versión: 01

Identificación del Laboratorio:

Nombre/Razón Social: .....

Cédula de Identidad N°/RUT: .....

Cuadro 1. Marcar con una X el o los kits comerciales para los cuales solicita la autorización:

<b>Kits comerciales para efectuar la Extracción de ARN viral para el diagnóstico de PRRS</b>	
1. Ambion MagMAX®, de Life Technologies	
2. QIAamp Viral RNA Mini Kit®, de Qiagen	
3. High Pure Viral RNA Kit® de Roche	
4. Otro	

Cuadro 2. En caso de haber marcado la opción 4 en el cuadro anterior, completar la siguiente tabla:

<b>Kits comerciales para los cuales solicita autorización para efectuar la Extracción de ARN para el diagnóstico de PRRS mediante rRT-PCR</b>
1.
2.

Cuadro 3. Marcar con una X el o los kits comerciales para los cuales solicita la autorización:

<b>Kits comerciales para efectuar rRT-PCR para el diagnóstico de PRRS</b>	
1. PrioCHECK® PRRSV RT-PCR, de Prionics	
2. VetMAX® PRRSV EU/NA Real-Time PCR Kit de Life Technologies	
3. Otro	

Cuadro 4. En caso de haber marcado la opción 3 en el cuadro anterior, completar la siguiente tabla:

<b>Kits comerciales para los cuales solicita autorización para efectuar rRT-PCR para el diagnóstico de PRRS</b>
1.
2.



**FORMULARIO ANEXO PARA EL DIAGNÓSTICO DE PRRS MEDIANTE RT-PCR EN TIEMPO REAL**

Código: F-GF-CGP-PT-098  
Versión: 01

Cuadro 5. Marcar con una X el o los métodos a partir de un protocolo validado por la OIE y aprobado por el SAG para la realización de la rRT-PCR para los cuales solicita la autorización:

<b>Métodos para los cuales solicita autorización para la realización de la rRT-PCR para el diagnóstico de PRRS</b>	
1. Kleiboeker <i>et al.</i> , 2005	
2. Otro	

Cuadro 6. En caso de haber marcado la opción 2 en el cuadro anterior, completar la siguiente tabla:

<b>Métodos para los cuales solicita autorización para la realización de rRT-PCR para el diagnóstico de PRRS</b>
1.
2.

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

Fecha,.....