



GOBIERNO DE CHILE
MINISTERIO DE AGRICULTURA
SAG

INSTRUCTIVO

**TOMA Y ENVIO DE MUESTRAS PARA DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS
BOVINA**

I-PP-VE-011

MINISTERIO DE AGRICULTURA
SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO



INSTRUCTIVO TOMA Y ENVIO DE MUESTRAS PARA DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS BOVINA

TABLA DE RESPONSABILIDADES

	Nombre	Cargo	Firma	
Elaboración	Claudio Araya Pérez	Encargado Laboratorio de Patología y Bacteriología Pecuaria SAG Osorno.		
	Luis Alfredo Paredes Noack	Encargado Proyecto Tuberculosis		
Revisión				
Técnica	Claudio Ternicier	Jefe División Protección Pecuaria		
NCh-ISO 9001:2000	No aplica.			
Regional y Central	<p><i>Este documento fue consultado con las siguientes Direcciones Regionales:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Región de Arica y Parinacota, Región de Tarapacá, Región de Antofagasta, Región de Atacama, Región de Coquimbo, Región de Valparaíso, Región del Libertador General Bernardo O'Higgins, Región del Maule, Región del Bío-Bío, Región de la Araucanía, Región de Los Lagos, Región de Los Ríos, Región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo, Región de Magallanes y la Antártica Chilena, y Región Metropolitana de Santiago.</i> <p><i>y con las siguientes Divisiones/Departamentos:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Auditoría Interna, Jurídica, Planificación y Desarrollo Estratégico, Protección Pecuaria y Laboratorios y Estaciones Cuarentenarias</i> 			
Jurídica	No aplica	No aplica		
Aprobación	Víctor Venegas Venegas	Director Nacional		
Fecha de entrada en vigencia:		01 - diciembre - 2009	Versión: 01	

Índice

1. Objetivo	4
2. Alcance	4
3. Definiciones y abreviaturas.....	4
3.1 Definiciones	4
3.2 Abreviaturas.....	4
4. Marco legal, referencias normativas y documentos relacionados	4
4.1 Marco legal y referencias normativas.....	4
4.2 Documentos relacionados.....	5
5. Responsabilidades	5
6. Descripción de actividades	5
6.1 Antecedentes generales.....	5
6.2 Materiales.....	6
6.3 Toma y envío de muestras.....	6
7. Diagrama de flujo	8
8. Indicadores de Desempeño:.....	8
9. Formularios.....	8
10. Anexos.....	8
11. Control de cambios.....	9

TOMA Y ENVÍO DE MUESTRAS PARA DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS BOVINA

1. Objetivo

El propósito de este documento es describir las actividades y las responsabilidades para la toma y envío de muestras biológicas, dentro del Programa Nacional de Control y Erradicación de Tuberculosis Bovina.

2. Alcance

Este documento se aplica en las actividades que efectúen los MVO, MVIO, MVA, TIO para la toma y envío de muestras, tanto en los mataderos, centros de faenamiento de autoconsumo y en necropsias, en el marco del Proyecto Nacional de Control y Erradicación de Tuberculosis Bovina.

3. Definiciones y abreviaturas

3.1 Definiciones

Inspección Post-mortem: Inspección sanitaria de las canales, vísceras y subproductos de los animales en el matadero o CFA durante y después del faenamiento hasta su despacho. Es realizada por el MVO de acuerdo a lo establecido en la norma de referencia correspondiente.

Nódulo Linfático: Órgano linfoide que drena la linfa de una región específica del animal, y que se utiliza para el diagnóstico de tuberculosis bovina.

Lesión Granulomatosa: Lesión inflamatoria crónica ubicada en diferentes nódulos, tejidos u órganos del animal.

Vísceras: Órganos de las cavidades torácicas y abdominal de los animales beneficiados.

3.2 Abreviaturas

MVA : Médico Veterinario Acreditado.

MVIO : Médico Veterinario Inspector Oficial.

MVO : Médico Veterinario Oficial.

TIO : Técnico Inspector Oficial.

4. Marco legal, referencias normativas y documentos relacionados

4.1 Marco legal y referencias normativas.

- Resolución Exenta N°711 de 2002, del Ministerio de Salud, y sus modificaciones, que aprueba la Norma General Técnica N° 62 del 2002, sobre Inspección Médico

TOMA Y ENVIO DE MUESTRAS PARA DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS BOVINA

Veterinaria de las Reses de Abasto y de sus Carnes y Criterios para la Calificación de Aptitud para el Consumo Humano.

4.2 Documentos relacionados.

- Bases para la inspección de la Tuberculosis Bovina en Matadero. Servicio Agrícola y Ganadero.

5. Responsabilidades

5.1 Jefe de Oficina Sectorial:

Responsable de gestionar los recursos para la toma y envío de muestras de lesiones granulomatosas al laboratorio oficial.

5.2 Médico Veterinario Acreditado:

Responsable de efectuar necropsias en terreno, ya sea en los predios cuarentenados, predios negativos o predios con situación desconocida respecto de tuberculosis bovina que asesore; tomar muestras en caso de hallazgos de lesiones granulomatosas y despacharlas al laboratorio oficial u oficina SAG sectorial según corresponda.

5.3 Médico Veterinario Inspector Oficial:

Responsable de efectuar la inspección sanitaria post mortem de animales beneficiados en mataderos o CFA, y en caso de presencia de hallazgos de lesiones granulomatosas o de seguimiento de animales reactivos que no tengan lesiones visibles, tomar y despachar las muestras al laboratorio oficial u oficina sectorial según corresponda.

5.4 Médico Veterinario Oficial:

Responsable de efectuar necropsia de animales sospechosos de tuberculosis, tomar y despachar las muestras al laboratorio.

5.5 Técnico Inspector Oficial:

Apoyo a la inspección post-mortem de los animales y toma y envío de las muestras granulomatosas encontradas en mataderos y CFA.

6. Descripción de actividades

6.1 Antecedentes generales

Las muestras serán colectadas tanto en mataderos, centros de faenamiento de autoconsumo cada vez que el MVIO o TIO encuentre una lesión granulomatosa en una canal, o en aquellos casos que el MVO solicite efectuar un seguimiento a uno o varios

**TOMA Y ENVÍO DE MUESTRAS PARA DIAGNÓSTICO DE
TUBERCULOSIS BOVINA**

animales producto de reacciones ocurridas en las pruebas tuberculínicas. Esta misma actividad será efectuada por el MVA o MVO en caso de necropsias.

Para ésto el MVIO, TIO, MVA o MVO según corresponda, realizará las actividades descritas en este documento.

6.2 Materiales

Para la toma y envío de muestras, se recomienda contar con los siguientes implementos:

- Cuchillos (recto y curvos)
- Ganchos
- Chaira
- Guantes de látex
- Guante metálico
- Overol
- Pecheras
- Botas
- Gorros
- Cascos
- Mascarillas
- Lentes protectores
- Frascos estériles volumen mínimo de 50 a 100 ml, doble tapa.(muestra congelada)
- Frasco de volumen mínimo de 200 a 250 ml con doble tapa (muestra fijada con formalina tamponada 10%).
- Lápiz marcador permanente.
- Cinta adhesiva.
- Contenedor aislante y material refrigerante.
- Etiquetas para identificar los frascos con las muestras y para identificar el contenedor final.
- Formulario Protocolo de toma y envío de muestras granulomatosas.
- Desinfectantes.
- Aplicador spray (desinfectante).
- Tijeras y pinzas

6.3 Toma y envío de muestras

Cuando a la inspección de las canales se encuentren lesiones granulomatosas el MVA, MVIO, MVO o TIO deberá:

1. Seleccionar los nódulos linfáticos u órganos que tengan lesiones.
2. Limpiar los nódulos linfáticos del exceso de grasa.

**TOMA Y ENVIO DE MUESTRAS PARA DIAGNÓSTICO DE
TUBERCULOSIS BOVINA**

3. La muestra seleccionada se deberá dividir en dos mitades, cuidando que ambas contengan lesión:
 - 3.1 La primera mitad se enviará para histopatología fijada en formalina tamponada o salina al 10 % (Anexo 1) en una relación aproximadamente de 1:10 (volumen muestra: volumen fijador). La muestra fijada deberá incluir tejido normal y lesión.
 - 3.2 La segunda mitad se enviará a temperatura de congelación (idealmente - 20°C) para realizar PCR y cultivo.
 - 3.3 La muestra congelada deberá ser del tamaño no menor a una nuez.

En caso que no se pueda dividir el nódulo linfático o tejido, o la lesión sea demasiado pequeña, se privilegiará el envío de la muestra congelada.

4. Sellar correctamente las tapas de los frascos para así evitar derrames en el transporte.
5. En un frasco deberán colocarse las muestras correspondientes a un solo animal.
6. Cada frasco deberá ser identificado correctamente rotulándolo con la etiqueta ad-hoc.
7. Se deberá llenar el formulario protocolo de toma y envío de muestras granulomatosas anotando el nódulo linfático u órgano enviado, especificando la categoría y edad del animal muestreado, si tiene o no lesión macroscópica y despacharlo al laboratorio conjuntamente con las muestras.
8. Para el envío de las muestras al laboratorio, el MVIO deberá considerar:
 - 8.1 Despacho en un plazo máximo de 10 días hábiles,
 - 8.2 Las muestras y sus correspondientes protocolos se consignarán en Hoja de Envío dirigida al Jefe del Laboratorio Oficial, donde se registre al menos la cantidad de muestras y folio del o los protocolos incluidos. Copia de la Hoja de Envío se despachará al Jefe de Oficina Sectorial. Estos documentos deberán ser adosados afuera de la caja de envío y tener la precaución de no dañarlos ni contaminarlos biológicamente.

El MVIO del matadero que toma las muestras de lesiones granulomatosas o muestras de seguimiento de animales, efectuará la siguiente distribución de los protocolos:

- **Original:** se despacha al laboratorio de diagnóstico, quien lo devuelve contestado a la oficina sectorial de la jurisdicción del matadero.
- **Copia 1:** se despacha al laboratorio de diagnóstico, quien lo devuelve contestado a la oficina sectorial de la jurisdicción del matadero.
- **Copia 2 Laboratorio:** se despacha al laboratorio de diagnóstico, quien lo mantiene como respaldo del resultado del análisis.
- **Copia 3 Matadero:** se mantiene en el matadero u oficina sectorial según corresponda, como respaldo de la toma y envío de muestra.

El MVO de la oficina sectorial que recibe los protocolos con los resultados de las muestras enviado por el laboratorio, deberá seguir el siguiente procedimiento para el destino final de ellos:

TOMA Y ENVIO DE MUESTRAS PARA DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS BOVINA

- Enviar una **fotocopia del protocolo** al matadero de origen de las muestras para su archivo junto a la documentación de respaldo de o las muestras correspondientes.
- Entregar la **copia 1 al propietario** del animal muestreado en el matadero.
- Si el predio de origen de los animales muestreados corresponde a un predio del sector, el original será **archivado en la carpeta predial** que se mantiene en la oficina sectorial.
- Si el predio de origen de los animales muestreados corresponde a un predio de un sector distinto, entonces se sacará una fotocopia de respaldo para la oficina y se deberá enviar el **protocolo original al sector identificado como de origen de los animales**, para proceder a su seguimiento y posterior archivo en la carpeta predial del sector.

En caso de seguimiento de animales reactivos a la prueba tuberculínica y que no presenten lesiones visibles (SLV) a la inspección sanitaria, se deberá tomar y enviar un pool de nódulos linfáticos que incluyan los nódulos retrofaríngeos, traqueobronquiales, mediastínicos y mesentéricos,

7. Diagrama de flujo

No aplica.

8. Indicadores de Desempeño:

No aplica

9. Formularios

Código Formulario	Nombre Formulario	Forma y Lugar de Archivo del Formulario	Forma y Lugar de Archivo del Registro	Tiempo de Retención del Registro	Cargo del Responsable de almacenamiento del Registro
No aplica	Rótulo de la Muestra	Papel: Archivador Proyecto TB Electrónico; intranet	No aplica	No Aplica	No aplica
No Aplica	Etiqueta Envío de Muestra	Papel: Archivador Proyecto TB Electrónico; intranet	No aplica	No Aplica	No aplica
No aplica	Protocolo de toma y envío de muestras granulomatosas	Papel: Archivador Proyecto TB Electrónico; intranet	Papel: Archivador Proyecto TB Electrónico:	5 años Disposición : eliminar	MVO / MVIO

10. Anexos

Anexo 10.1: Soluciones fijadoras a base de formaldehído.

Anexo 10.2: Modelo de Protocolo de Toma y Envío de Muestras Granulomatosas.



INSTRUCTIVO

TOMA Y ENVÍO DE MUESTRAS PARA DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS BOVINA

Anexo 10.3: Instrucciones de llenado Pprotocolo de Toma y Envío de Muestras Granulomatosas.

Anexo 10.4: Etiqueta para envío de muestras.

Anexo 10.5: Etiqueta para rotulación de muestra.

11. Control de cambios

Capítulo	Breve descripción del cambio con respecto a última versión
No aplica	

**TOMA Y ENVIO DE MUESTRAS PARA DIAGNÓSTICO DE
TUBERCULOSIS BOVINA**

Anexo 10.1: Soluciones fijadoras a base de formaldehído

Las soluciones de formaldehído constituyen los fijadores más difundidos, pero es recomendable utilizarlos en soluciones neutras agregándoles carbonato de calcio, sodio o magnesio o bien soluciones tampones. Esta precaución es necesaria ya que en caso contrario se forma, por oxidación, progresivamente ácido fórmico, lo que presenta desventajas notables para la fijación histológica.

El formaldehído es un gas soluble en agua, cuya solubilidad máxima es de 40 % p/v. Comercialmente se expende en soluciones entre el 37 y 40% p/p, denominándose a esta solución "formol" o "formalina". En técnica histológica, la solución comercial se considera como formaldehído puro y en los casos que se indica solución al 10% corresponde a una concentración real aproximada de un 4% p/v

FORMALINA TAMPONADA (pH 7)

Formaldehído 37-40%	100 ml
Agua destilada	900ml
Fosfato de sodio monobásico (NAH ₂ PO ₄ +H ₂ O)	4g.
Fosfato de sodio anhidro (NA ₂ HPO ₄)	6,5g.

FORMALINA SALINA

Formaldehído 37-40%	100ml
Cloruro de sodio	8,5g.
Agua destilada	900ml.

Las soluciones de formaldehído no deben conservarse por mucho tiempo, para evitar a formación de paraformaldehído (CH₂O)_n, y la disminución de la reactividad de la solución fijadora.

TOMA Y ENVIO DE MUESTRAS PARA DIAGNÓSTICO DE
TUBERCULOSIS BOVINA

Anexo 10.2: Modelo de Protocolo de Toma y Envío de Muestras Granulomatosas



CHILE
POTENCIA ALIMENTARIA Y FORESTAL



PROTOCOLO DE TOMA Y ENVIO DE MUESTRAS
GRANULOMATOSAS



Folio: 0000000

PREDIO TRAZABLE SI NO

ORIGEN DE LAS MUESTRAS	INSPECCION RUTINARIA	SEGUIMIENTO	NECROPSIA
MATADERO	NUMERO LOTE FAENA:		
PREDIO:		PROPIETARIO:	
COMUNA:		SECTOR:	
RUP:		FECHA: / /	

Identificación Animal			Tejidos y órganos afectados (*) / ESPECIE (****):											
N°	CAT	EDAD	NRL	NRM	NP	NM	N. Med.	P	H	NH	N. Mesen.	NCS	NPF	Otros.

(*) NRL: Nódulo Retrofaringeo Lateral; NRM: Nódulo Retrofaringeo Medial; NP: Nódulo Parotideo; NM: Nódulo Mandibular; N. Med: Nódulos Mediastínicos; P: Pulmón; H: Hígado; NH: Nódulos Hepáticos; N.Mesen: Nódulos Mesentéricos; NCS: Nódulo Cervical Superficial; NPF: Nódulo Prefemoral.
(****): Indicar la especie si fuese distinta a la bovina.

Identificación de la Muestra	Nódulos o tejidos que contiene la muestra enviada al laboratorio (*) (**)		Tipo de lesión (***)
	CONGELADA	FIJADA	

(**) Indicar codificación del nódulo que se incluye en cada muestra congelada o fijada (***) Tipo Lesión: Caseosa, Calcificada, Sin Lesión

Nombre y Firma Medico Veterinario: _____

USO EXCLUSIVO LABORATORIO DIAGNÓSTICO			
Nº Orden de Análisis:		Fecha Ingreso: / /	
Identificación de la Muestra	Resultados de Laboratorio		
	PCR	Histopatología	Cultivo

Nombre y Firma Analista de Laboratorio	
Fecha Despacho:	

Copia 1

TOMA Y ENVIO DE MUESTRAS PARA DIAGNÓSTICO DE
TUBERCULOSIS BOVINA

Anexo 10.3: Instrucciones de llenado de Protocolo de Toma y Envío de Muestras Granulomatosas.

- **Predio trazable:** marcar con una **X** o un **círculo** si la información entregada permite llegar el predio de origen de las muestras.
- **Origen de las muestras:** marcar con una **X** o un **círculo** si corresponde a Inspección sanitaria, seguimiento o necropsia en terreno.
- **Matadero:** consignar el nombre del matadero o CFA de origen de la muestra
- **Lote de Faena:** identificación del lote de faena en que se detectan lesiones granulomatosas, del cual se toma la muestra.
- **Predio:** en lo posible identificar el nombre del predio de origen de las muestras, aún en caso de proceder de una feria. En caso que no pueda identificarse el predio y el origen sea una feria, entonces indicar el nombre del recinto
- **Propietario:** indicar el nombre de la persona asociada al RUP.
- **Comuna:** en relación al predio, al propietario o al recinto ferial, de origen de los animales.
- **Sector:** corresponde al Sector SAG a que pertenece el matadero,
- **RUP:** en lo posible del predio o en último término del recinto ferial. Es posible agregar el nombre del propietario.
- **Fecha:** registrar cuando se toma la muestra.
- **Identificación del Animal:** bajo esta columna se registra el N° (DIIO, Crotal predial, N° faena, etc) del animal inspeccionado del cual se toma muestra, que en lo posible permita un trazabilidad para cruzar información con las pruebas y resultado de campo. Frente al animal, en la fila se debe indicar la categoría y su edad, e identificar con una **X** los nódulos y tejidos afectados (con lesión sospechosa a TB), además en el punto “**ESPECIE**” consignar la especie si esta fuese distinta a la bovina.
- **Identificación de la Muestra:** el registro que se anota debe ser coincidente con la identificación del animal anotada en el cuadro anterior. En los espacios de “**CONGELADA**” y “**FIJADA**” se anotarán que nódulos linfáticos o tejidos se envían al laboratorio oficial y qué tipo de lesión corresponde.
- **Nombre y firma del Médico Veterinario:** se debe registrar el profesional MVIO responsable de la toma de la muestra y del respaldo de la información entregada.

El resto del formulario corresponde al uso exclusivo del laboratorio oficial que efectúa el diagnóstico.

TOMA Y ENVIO DE MUESTRAS PARA DIAGNÓSTICO DE
TUBERCULOSIS BOVINA

Anexo 10.4: Etiqueta para envío de muestras

 <p>GOBIERNO DE CHILE MINISTERIO DE AGRICULTURA SAG</p>	
<p>PROGRAMA DE CONTROL Y ERRADICACIÓN DE TUBERCULOSIS BOVINA ENVIO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS</p>	
LABORATORIO DE DESTINO: _____	
DIRECCIÓN: _____	
TIPO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS: FIJADA <input type="radio"/> CONGELADA <input type="radio"/>	
FECHA: _____ / _____ / _____ DIA MES AÑO	



INSTRUCTIVO

TOMA Y ENVIO DE MUESTRAS PARA DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS BOVINA

Anexo 10.5: Etiqueta para Rotulación de Muestra .

 GOBIERNO DE CHILE MINISTERIO DE AGRICULTURA SAG			
Programa de Control y Erradicación de Tuberculosis Bovina			
Nº Folio			
Autocrotal / DIIO / Nº Faena			
Fecha Toma de Muestra			
Tipo de Muestra	Congelada		Fijada