

## DIARIO OFICIAL 45.402

### ACUERDO 00009

24/11/2003

por el cual se establecen las actividades específicas y requisitos para la autorización de laboratorios que realicen pruebas de rosa de Bengala y Elisa indirecta para el diagnóstico serológico de brucelosis bovina.

El Consejo Directivo del Instituto Colombiano Agropecuario, ICA, en uso de sus atribuciones legales y en especial de las conferidas en la Ley 101 de 1993, los Decretos 2141 de 1992, 1840 de 1994, 1454 de 2001, el Acuerdo 008 de 2001 y la Ley 489 de 1998, y

#### CONSIDERANDO:

Que el artículo 65 de la Ley 101 de 1993, modificado por el artículo 112 del Decreto 2150 de 1995, establece que el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, por intermedio del Instituto Colombiano Agropecuario, ICA, debe desarrollar políticas y planes tendientes a la protección de la producción agropecuaria del país;

Que de acuerdo con el literal h) del artículo 10 del Decreto 1840 de 1994, el Instituto Colombiano Agropecuario, ICA, para promover y mejorar la protección a la producción agropecuaria, podrá acreditar a personas jurídicas, oficiales o particulares mediante la celebración de contratos o convenios para el ejercicio de actividades relacionadas con la sanidad agropecuaria;

Que el Capítulo XVI de la Ley 489 de 1998 establece las condiciones para el ejercicio de funciones administrativas por particulares, así como los requisitos y procedimientos de los actos administrativos y convenios para conferir dichas funciones;

Que el Decreto 2140 de 1999 delegó en los Ministros la función de aprobar los actos expedidos por los organismos descentralizados para conferir funciones administrativas a particulares;

En mérito de lo expuesto, el Consejo Directivo del ICA,

#### ACUERDA:

Artículo 1°. Establecer las actividades específicas y los requisitos para la autorización de laboratorios que realicen pruebas de rosa de Bengala y Elisa indirecta para el diagnóstico serológico de brucelosis bovina.

Artículo 2°. Para los efectos de la aplicación e interpretación del presente acuerdo, se establecen las siguientes definiciones:

a) *Brucelosis bovina*. Enfermedad de naturaleza infectocontagiosa conocida como aborto contagioso o infeccioso. El agente principal en el bovino es la bacteria *Brucella abortus*. Afecta a bovinos de todas las edades, pero persiste con mayor frecuencia en animales sexualmente adultos, principalmente de las ganaderías de cría y leche. El signo predominante en hembras preñadas es el aborto, o bien el nacimiento prematuro o a término de terneros muertos o débiles;

b) *Finca libre de brucelosis bovina*. Predi o con ganadería negativa a brucelosis bovina, verificada a través de las pruebas diagnósticas y demás condiciones establecidas por el Instituto Colombiano Agropecuario, ICA;

c) *Porcentaje de Positividad (PP)*. Forma de expresión de los resultados de los sueros problema, en la prueba de Elisa indirecta, calculado como relación de porcentaje de reacción de cada uno con respecto al control positivo.

Artículo 3°. Las actividades específicas que realizarán y cumplirán los Laboratorios de Diagnóstico Autorizados son:

1. Realizar las pruebas de rosa de Bengala y Elisa Indirecta para el diagnóstico de brucelosis bovina.
2. Asistir al ICA en caso de emergencia zoonosaria por brucelosis bovina.
3. Asistir y proporcionar la información adicional cuando sea requerido por el ICA.
4. Conservar en forma ordenada el registro de actividades.
5. Orientar a los productores sobre el cumplimiento de la legislación sanitaria.
6. Vigilar el cumplimiento permanente de la legislación sanitaria.

Artículo 4°. Una vez realizada una prueba de diagnóstico, los laboratorios autorizados elaborarán un Informe de Resultados de Diagnóstico en original y tres copias que será distribuido de la siguiente manera:

- Original debidamente refrendado para el usuario.
- Copia para la Subgerencia de Protección y Regulación Pecuaria del ICA.
- Copia para la oficina local del ICA a cuya jurisdicción pertenece la finca de donde procede la muestra.

- Copia para su archivo personal.

Artículo 5°. Los Laboratorios de Diagnóstico autorizados deben realizar el cierre del ejercicio de sus actividades el último día hábil de cada mes, y presentar un informe de actividades en original y dos copias, dentro de los primeros 5 días hábiles del mes siguiente. Este informe será distribuido de la siguiente manera:

- Original para su archivo personal.
- Copia para la Subgerencia de Protección y Regulación Pecuaria del ICA.
- Copia para la oficina local del ICA a cuya jurisdicción pertenece la finca de donde procede la muestra.

Artículo 6°. Los requisitos que deben cumplir los laboratorios aspirantes a ser autorizados como Laboratorio de Diagnóstico para realizar pruebas de Rosa de Bengala y Elisa indirecta para el diagnóstico serológico de brucelosis bovina son los siguientes:

1. Contar con la Dirección Técnica de un médico veterinario, médico veterinario zootecnista o profesional del área de las ciencias de la salud que demuestre experiencia mínima de tres años en el diagnóstico veterinario, quien entre sus funciones tendrá la de ser el responsable directo de los resultados de brucelosis emitidos.

2. Poseer un equipo al menos de dos (2) profesionales, entrenados y actualizados en las metodologías de Rosa de Bengala y Elisa Indirecta para Brucelosis Bovina. Estos profesionales deberán aprobar con un mínimo de 90/100 la prueba de desempeño establecida por el ICA, basada en muestras ciegas entregadas por el laboratorio de referencia del ICA. (2.6.6.1 MC-BR-06).

3. Usar métodos y procedimientos estipulados por la Oficina Internacional de Epizootias (OIE, Manual de Estándares, 2000) y detallados en el reglamento técnico del ICA (2.6.8. MP-BR-05, 2.6. 6.1. MTA-BR-01).

4. Contar con los siguientes equipos mínimos, según el nivel establecido en Resolución 2059 del 31 de julio de 2003 (nivel 1: laboratorios que trabajan rosa de bengala; nivel 2: laboratorios que trabajan Elisa indirecta):

#### 4.1 Nivel 1.

4.1.1 Centrífuga velocidad mínima alcanzada, 5.000 rpm.

4.1.2 Portatubos con protección contra aerosoles.

4.1.3 Potenciómetro, medición pH y conductividad.

4.1.4 Agitador para tubos, Vortex.

4.1.5 Refrigerador, rango 4 a 10 °C ± 0.5.

4.1.6 Congelador, rango -20-40 °C ± 0.5.

4.1.7 Pipeteadores eléctricos.

4.1.8 Pipetas automáticas unicanal rangos 1-10 µL y 10 a 40 µL.

4.1.9 Agitador unidireccional 30 oscilaciones por minuto, para tarjetas o placas de Rosa de Bengala.

4.1.10 Estufa incubadora, que comprenda rango de 25 a 40°C ± 0.5.

4.1.11 Reloj cronómetro digital, certificado.

4.1.12 Autoclave.

4.1.13 Los siguientes elementos menores: Placa de vidrio plano o loza cerámica o tarjeta plastificada, dividida en cuadrados de 1,5 cm de lado; Mezcladores, varillas de vidrio o palillos, mezclador múltiple para cinco muestras; agitador unidireccional 30 oscilaciones por minuto, agitador rotante; aparato de lectura, caja con luz blanca y superficie blanca traslúcida iluminada desde dentro, o lámpara de luz blanca indirecta; crioviales y criocajas para preservación a bajas temperaturas; puntas desechables para pipetas automáticas correspondientes.

#### 4.2 Nivel 2.

4.2.1 Además de los equipos requeridos para laboratorio de Nivel 1:

4.2.2 Balanza analítica.

4.2.3 Sistema de purificación de agua, destilación y desmineralización, Tipo I, 18mo.

4.2.4 Cabina de flujo laminar vertical, Tipo II.

4.2.5 Pipetas automáticas multicanal, de rangos entre 10 a 1.000 µL.

4.2.6 Agitador magnético.

4.2.7 Agitador orbital para placas de Elisa.

4.2.8 Lavador semiautomático de placas.

4.2.9 Lector fotométrico automático (multicanal) de placas, rango de longitud de onda 405-690 nm.

4.2.10 Microplacas de poliestireno.

5. Emplear reactivos que cumplan con las especificaciones estipuladas para tal fin por la Oficina Internacional de Epizootias (OIE, Manual de Estándares, 2000).

6. Emplear los siguientes materiales de referencia:

6.1 Prueba de rosa de Bengala:

6.1.1 *Antígeno*. Células muertas de *Brucella abortus* cepa 119-9 o 99 coloreadas con Rosa de Bengala, que cumpla las especificaciones de pH 3.6 ±0.05, Concentración celular 8%±0.5, sensibilidad y especificidad estipulada en el Manual de Estándares de la OIE, reacción con suero control de referencia positivo hasta 1:45 (2UI), negativo a dilución 1:55.

6.1.2 *Suero control positivo*. Para control de calidad interno diario debe ser suero procedente de animal infectado, evaluado previamente ante estándar secundario, el cual debe dar la mínima reacción positiva visible claramente.

6.1.3 *Suero control negativo*. Suero de animal negativo procedente de hato libre de Brucelosis, con reacción negativa en todas la pruebas serológicas de alta sensibilidad, Elisa.

6.2 Prueba de elisa indirecta.

6.2.1 *Antígeno*. *B. abortus* sLPS, 1 mg/mL en bufer carbonato pH 9.6, dilución

1:100 para 100 ng/100uL/pozo.

6.2.2 *Conjugado*: Anti IgG bovino, monoclonal o policlonal marcado con peroxidasa; anti IgG1 bovino monoclonal específico de cadena pesada optimiza la especificidad.

6.2.3 *Suero de referencia para control interno diario*. Control positivo fuerte, control positivo moderado y control negativo.

6.2.4 *Control positivo fuerte*: Suero de origen bovino infectado con *B. abortus* con lecturas de densidad óptica, entre 1.000 y 1.800 a los 10 minutos de revelado. Valor que debe ser considerado el 100% de porcentaje de positividad. (OIEELISASPSS o referencia secundario).

6.2.5 *Control positivo moderado*. Suero de origen bovino infectado en fase inicial del periodo de incubación, con lectura en zona lineal de la curva de titulación del positivo fuerte. Valores de PP igual o superior a 30%. (OIEELISAWPSS o referencia secundario).

6.2.6 *Control negativo*. Suero de animal negativo procedente de un hato libre de Brucelosis, con reacción negativa en todas la pruebas serológicas. (OIEELISANSS o referencia secundario).

7. Debe disponer de instalaciones que garanticen la completa independencia del área administrativa y el área técnica (procesamiento de muestras), que minimice el riesgo de contaminación de un agente zoonótico como la *Brucella abortus*.

8. Contar con normas vigentes y señalización convencional para la restricción de acceso de personal autorizado a las áreas de procesamiento de muestras.

9. Contar con una infraestructura básica mínima de nivel de contención moderado (ver *Biosafety in Microbiological and Biochemical Laboratories, CDC -NHI*. 4th Edition. 2001. 235 pp), complementado con cabina de flujo laminar tipo II, cuando el alcance de la autorización incluya la manipulación de muestras de leche o materiales y fluidos con alto riesgo de contener el microorganismo vivo.

10. Contar con los siguientes elementos mínimos de protección personal:

10.1 bata de laboratorio.

10.2. guantes de látex.

10.3. mascarilla de protección buco-nasal.

11. Garantizar la completa descontaminación mediante esterilización por autoclave de todos los materiales y desechos empleados en el procedimiento diagnóstico.

12. Mantener evidencia escrita de participación en rondas de pruebas interlaboratorios.

13. Mantener por escrito los procedimientos operativos estándar sobre la prueba e indicar las características de los reactivos empleados, kits, estándares de referencia y la documentación correspondiente sobre su validación.

14. Mantener ficha de los reactivos y materiales de referencia.

15. Tener establecidos los criterios de aceptación o rechazo y correspondiente registro de resultados, así como la descripción de los procedimientos para la evaluación de calidad interna de la prueba respectiva y las acciones correctivas requeridas.

16. Adicionalmente deben presentar:

16.1 Descripción detallada de procedimientos operativos estándar sobre manejo de muestras.

16.2 Descripción detallada de procedimientos operativos de las respectivas técnicas de Rosa de Bengala y/o Elisa Indirecta.

16.3 Descripción detallada de procedimientos operativos para la eliminación de desechos.

16.4 Evidencia documentada de la validación de las metodologías de prueba.

16.5 Documento de asignación de responsabilidades para la emisión de informes de diagnóstico, así como el formato para su expedición, incluyendo espacio para las firmas del representante legal y del responsable del

diagnóstico.

16.6 Un documento en que sustente, según su capacidad operativa, el número y zonas a atender mensualmente.

16.7 Las demás garantías y condiciones establecidas en el Acuerdo número 008 de noviembre 24 de 2003 por el cual se crea y organiza el Sistema de Autorización, y demás procedimientos derivados.

Parágrafo 1°. Si dispone de equipos o elementos adicionales que puedan ser útiles en el área de autorización, se debe anexar a la solicitud la relación correspondiente.

Parágrafo 2°. En la eventualidad de emplear kits comerciales los materiales de referencia indicados anteriormente deben ser requisito obligatorio y el kit debe ser validado localmente y calibrado con los tres sueros estándar de referencia OIE (OIEELISASPSS, OIEELISAWPSS, OIEELISANSS), 2.6. 6.1. MTA-BR-04. Los sueros problema o muestras deberán ser procesadas por duplicado y el resultado de porcentaje de positividad expresado con base en el promedio de las dos lecturas con CV (coeficiente de variabilidad) menor del 10%.

Artículo 7°. El Instituto Colombiano Agropecuario, ICA, llevará a cabo una visita de auditoría, antes de ser concedida la autorización para verificar la veracidad de la información entregada al Instituto.

Artículo 8°. El Instituto Colombiano Agropecuario, ICA, hará seguimiento a los laboratorios autorizados bajo tres modalidades:

1. Visita de auditoría, al menos una vez al año que será cancelada por el autorizado según tarifa determinada por el Consejo Directivo del ICA.

2. Visitas de supervisión realizadas por funcionarias de la Subgerencia de Protección y Regulación Pecuaria.

3. Evaluación de la idoneidad de los analistas y las pruebas, mediante pruebas interlaboratorio de verificación, empleando paneles de sueros entregados por el ICA, con periodicidad establecida mínima de seis meses. El laboratorio deberá responder por escrito dentro de un lapso no mayor a cinco (5) días contados a partir de la fecha en que recibió el panel y su calificación mínima deberá ser de 90/100.

Artículo 9°. Para la certificación de fincas libres de brucelosis bovina o para la expedición de guías de movilización, las muestras deben ser tomadas por los inspectores autorizados o por funcionarios del ICA.

Artículo 10. El presente acuerdo rige a partir de la fecha de su publicación, y deroga los que sean contrarios.

Publíquese, comuníquese y cúmplase.

Dado en Bogotá, D. C., a 24 de noviembre de 2003.

El Presidente Consejo Directivo,

*Juan Lucas Restrepo Ibiza.*

El Secretario Consejo Directivo,

*Antonio F. Sánchez.*

Imprenta Nacional de Colombia. Recibo 087300. 11-XII-2003. Valor \$52.200.