



INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL DIAGNÓSTICO DE PLUM POX VIRUS - RAZA D (PPV-D)

TABLA DE CONTENIDOS

CONTENIDO	PÁGINA
1 OBJETIVOS Y ALCANCE	2
2 REFERENCIAS Y DOCUMENTOS RELACIONADOS.....	2
3 DEFINICIONES Y ABREVIATURAS	3
4 REQUISITOS	4
4.1 Requisitos de infraestructura, equipos, materiales y reactivos	4
4.2 Requisitos de personal.....	6
4.3 Requisitos Específicos.	6
4.4 Medios de verificación de requisitos.	7
5 ANÁLISIS/ENSAYO	7
5.1 Captación y Envío	7
5.2 Recepción de la muestra y manejo de la muestra/contramuestra	8
5.3 Metodología.....	10
5.4 Cálculo y Expresión de Resultados	12
6 REGISTRO Y ENVÍO DE LOS RESULTADOS	12
Anexo N° 1: Técnicas de Diagnóstico para determinación de Plum Pox Virus.	14
Anexo N° 2: Lista de Analista(s) del laboratorio vinculado a la técnica	15
Anexo N° 3: Inicio Recepción Muestras PPM- PPV-D	16
Anexo N° 4: Protocolo Toma De Muestras y Resultados De PPV.....	18
Anexo N° 5: Protocolo Toma de Muestras y Resultados de PPV- Prueba Biológica	21
Anexo N° 6: Resultados Toma de Muestras en PPM- PPV, Raza D.....	24
Anexo N° 7: Folios de protocolos recepcionados por el Laboratorio Acreditado.....	25
Anexo N° 8: Informe Fitosanitario	27



1 OBJETIVOS Y ALCANCE

El objetivo de este documento es establecer los requisitos que deberán cumplir los(as) interesados(as) que voluntariamente postulen ante el SAG para ser laboratorios acreditados en la ejecución del diagnóstico de Plum Pox Virus Raza D, en el marco del programa para el control oficial de esta plaga.

Asimismo, entrega las directrices para que estos laboratorios, una vez acreditados, realicen estos análisis.

El alcance de la acreditación distingue dos situaciones:

- El diagnóstico de Plum Pox Virus en muestras provenientes de Planteles de Plantas Madres de frutales de carozo o de huertos para producir plantas de vivero.
- El diagnóstico de Plum Pox Virus en muestras provenientes de Planteles de Plantas Madres de frutales de carozo o de huertos postulantes a formar PPM.
- El diagnóstico de Plum Pox Virus provenientes de plantas negativas de Planteles de Plantas Madres Excluidos como material postulante a formar Planteles de Plantas Madres o de otros orígenes.

2 REFERENCIAS Y DOCUMENTOS RELACIONADOS

- Servicio Agrícola y Ganadero. 1994. Resolución Exenta del Director Nacional N° 796 del 13 de abril del 1994. Establece el control obligatorio de la Plaga de los Vegetales que indica en todo el territorio nacional y establece medidas de carácter cuarentenario.
- Servicio Agrícola y Ganadero. 2007. Resolución Exenta del Director Nacional N° 534 del 31 de enero de 2007. Reglamenta control obligatorio de la plaga denominada “Enfermedad de Sharka”, causada por Plum Pox Virus, Raza D, deroga Resoluciones que indica.
- EPPO. 2004.¹ Protocolos de diagnóstico para parásitos regulados PM 7/32. Plum Pox potyvirus. Boletín OEPP/EPPO 34, 247–256.
- Varga, A. and James, D. 2005². Detección y diferenciación del virus Plum Pox usando PCR tiempo real múltiple con análisis por curva de gradiente de temperatura SYBR verde: un método rápido para la tipificación de cepas. J. Virol. Métodos 123:213-220
- Capote, N., Gorris, M.T., Martínez, M.T., Asensio, M., Olmos, M. and Cambra, M., 2006.³ Interferencia entre cepas D y M del virus Plum Pox en ciruelo japonés determinado por anticuerpo monoclonal específico y RT-PCR en tiempo real cuantitativo. Fitopatología 96:320-325

1 EPPO. 2004. Diagnostic protocols for regulated pests PM 7/32. Plum Pox potyvirus. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 34, 247–256.

2 Varga, A. and James, D. 2005. Detection and differentiation of Plum pox virus using real time multiplex PCR with SYBR Green and melting curve analysis: a rapid method for strain typing. J. Virol. Methods 123:213-220.

3 Capote, N., Gorris, M.T., Martínez, M.T., Asensio, M., Olmos, M. and Cambra, M., 2006. Interference between D and M types of Plum pox virus in Japanese plums assessed by specific monoclonal antibodies and quantitative real-time RT-PCR. Phytopathology 96: 320-32



- Servicio Agrícola y Ganadero. 2004. Resolución Exenta del Director Nacional del SAG N° 3678 del 30 de Septiembre del 2004, que norma el Sistema Nacional de Acreditación de Terceros.
- Servicio Agrícola y Ganadero. Reglamento Específico para la Acreditación de Laboratorios de Análisis/Ensayos, versión vigente.
- Desvignes, J.C., 1999.⁴ Enfermedades virales en árboles frutales. CTIFL, *Centr'imprint*, France, 202pp.
- Jelkmann, W. 2004.⁵ Grupo Internacional de trabajo en virus de árboles frutales. Detección de enfermedades causadas por virus y semejantes a virus enfermedades frutales. Ensayos de laboratorio, Bioensayos e Indicadores. En: Procedimientos del XIX Simposio Internacional de Enfermedades causadas por virus y agentes semejantes a virus en cultivo de fruta de zonas templadas – Enfermedades de Árboles Frutales. Acta Horticultura número 657. Valencia, España.

3 DEFINICIONES Y ABREVIATURAS

PPV-D	Virus Plum Pox Raza D
PPM	Plantel de Plantas Madres libre de PPV-D
PCR o Polimerase Chain Reaction.	Reacción en cadena de la polimerasa
IC	Inmuno Captura
Prueba Biológica	Técnica basada en la transmisión de un agente patógeno a plantas susceptibles al mismo
ELISA o Enzime Linked Inmuno Assay	Inmuno análisis ligado a enzimas
Servicio/SAG	Servicio Agrícola y Ganadero
Tercero Muestreador	Tercero acreditado para la realización del proceso de muestreo dirigido a plantales de plantas madres, sujetos al control obligatorio de Plum Pox Virus- Raza D (PPV)

⁴ Desvignes, J.C., 1999.4 Virus diseases of fruit trees. CTIFL, *Centr'imprint*, France, 202 pp.

⁵ Jelkmann, W.2004. International Working Group on Fruit Tree Viruses. Detection of Virus and Virus-Like Diseases of Fruit Trees. Laboratory Assays, Bioassays and Indicators. IN: Proceedings of the XIX International Symposium on Virus and Virus-like Diseases of Temperate Fruit Crops Fruit Tree Diseases. Acta Horticulturae Number 657. Valencia, Spain.



4 REQUISITOS

4.1 Requisitos de infraestructura, equipos, materiales y reactivos.

4.1.1 REQUISITOS DE INFRAESTRUCTURA

El laboratorio debe contar con una infraestructura tal que garantice el correcto desarrollo de la metodología de análisis a realizar.

En todos los casos debe existir una separación efectiva entre las áreas vecinas en donde se efectúan actividades incompatibles, para evitar contaminación cruzada.

Las superficies de muros, cielos, pisos y mesones deben ser lisas, de fácil limpieza e impermeables. En el caso de los invernaderos, se debe asegurar que el material no se encuentre en contacto directo con el suelo.

Además, dependiendo de la técnica de análisis, se deberá cumplir con los siguientes requisitos:

Técnica ELISA: El laboratorio debe contar al menos con salas separadas de preparación de muestras, lavado y laboratorio de serología.

PCR y PCR Tiempo Real: El laboratorio debe contar al menos con salas separadas de preparación de muestras, de amplificación y electroforesis, esta última cuando corresponda.

Pruebas Biológicas: El laboratorio debe contar con invernaderos o casa de mallas, de estructura sólida, que aseguren la hermeticidad y resistencia a las condiciones climáticas durante el período de ensayo, las cuales deberán estar dotadas de doble puerta y contar con pediluvio o sistema de desinfección para el calzado.

4.1.2 REQUISITOS DE EQUIPAMIENTO

El laboratorio debe contar con los equipos necesarios, acordes al volumen de muestras, que garanticen el correcto desarrollo de la metodología de análisis a realizar.

En todos los casos, se debe contar con un sensor de temperatura que permita verificar la temperatura de las muestras al momento del ingreso, el rango de trabajo debe ser de 0 a 30°C, con una división de 1°C y un error máximo de 0.5 °C.

A continuación se detalla el equipamiento mínimo que se debe considerar dependiendo de la o las técnicas de análisis con las que se postula a la acreditación:

ELISA

- Balanza 1 a 500 gr. con una resolución de 0.1 gr.
- Estufa de incubación que alcance una temperatura de 37 °C, con un error máximo de +- 1°C
- Micropipetas de 10, 100 y 1000ul, o equivalente
- Peachímetro
- Freezer que alcance temperaturas de -18 °C o menores
- Refrigerador que alcance una temperatura de 6°C+-2°C
- Conservadora de muestras que alcance una temperatura de 6°C+-2°C



- Lector Elisa con sistema de impresión de los resultados

PCR Y PCR TIEMPO REAL

- Cámara flujo laminar
- Balanza rango de uso .1 a 500 gr. con una resolución de 0.1 gr.
- Micro-Centrífuga (hasta 14000 r.p.m.)
- Estufa de incubación que alcance una temperatura de 37 °C, con un error máximo de +- 1°C
- Micropipetas de 10, 100 y 1000ul, de uso exclusivo para la técnica
- Refrigerador que alcance una temperatura de 6°C+-2°C
- Conservadora de muestras a que alcance una temperatura de 6°C+-2°C
- Freezer que alcance temperaturas de -18 °C o menores
- Mezclador Vortex
- Termociclador
- Cámara de electroforesis (según corresponda)
- Sistema de fotodocumentación
- Termociclador Tiempo Real (exigible para la técnica PCR Tiempo Real)

PRUEBAS BIOLÓGICAS

- Sistema de foto-documentación con registro de fecha e identificación de la planta
- Sistema de seguimiento de temperatura con capacidad de registro de mínima y máxima.
- El material de aislamiento deberá corresponder a malla antiáfidos de 50 mesh como mínimo o vidrio o policarbonato o polietileno.
- Sistema de regulación térmica que aseguren que la temperatura interior cumpla los requisitos del ensayo (Desvignes, 1999) (Jelkmann, 2004).
- Herramientas de invernadero, las que deben ser de uso exclusivo.

4.1.3 REQUISITOS DE MATERIALES Y REACTIVOS

El laboratorio debe contar con los materiales, reactivos necesarios y material de referencia⁶ acordes al volumen de muestras y que garanticen el correcto desarrollo de la técnica de análisis a realizar.

El material vegetal de referencia infectado con PPV deberá estar mantenido en condiciones de resguardo similares a las exigidas para cuarentenas permanentes, vale decir en estructuras de aislamiento (invernadero o casa de mallas antiáfidos), con acceso restringido, con identificación clara de su condición, aislado de materiales sanos, con monitoreo de pulgones con trampas pegajosas y la aplicación de todas las medidas necesarias para evitar que el virus contamine otras plantas.

En el caso de utilizar reactivos diferentes a los indicados en los procedimientos de análisis definidos en el numeral 5.3, estos quedarán sujetos a la evaluación por parte del Servicio.

⁶ Entiéndase por material de referencia al Material vegetal infectado con el virus y material sano.



4.2 Requisitos de personal

El laboratorio debe contar con el siguiente 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 acreditado, y deberá cumplir con los siguientes requerimientos:

- Poseer título profesional otorgado por una entidad reconocida por el Estado, correspondiente a una carrera de las ciencias silvoagrícolas, bioquímicas, biotecnológicas o biológicas, de una duración de al menos 10 semestres académicos. 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 laboratorio de virología y técnicas serológicas, moleculares, o pruebas biológicas según corresponda.

Sin perjuicio de lo anterior, en el caso de postular a **Pruebas Biológicas** el responsable técnico sólo podrá ser un profesional del área agrícola, de una carrera de una duración de al menos 10 semestres académicos en cuya malla curricular se incluya fundamentos de fruticultura o fruticultura general, entomología agrícola y fitopatología agrícola.

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 o ser egresado, de una carrera correspondiente al área biológica o afín, impartida por una entidad de enseñanza superior reconocida por el Estado. En caso de título obtenido en el extranjero, éste deberá estar revalidado según procedimiento establecido por el Ministerio de Educación.
- Tener competencia técnica o experiencia laboral (de al menos 6 meses) comprobable en laboratorio de virología y técnicas serológicas, moleculares, o pruebas biológicas según corresponda.

4.3 Requisitos Específicos.

El laboratorio debe contar con un procedimiento que describa en forma detallada el proceso de análisis, el manejo de los controles, el manejo de las contramuestras y la eliminación de residuos. Sin perjuicio de lo anterior, el laboratorio también deberá contar con los procedimientos que consideren las metodologías indicadas en el punto 5.3 de este Instructivo.

En el caso de acreditarse para Pruebas Biológicas el procedimiento debe detallar el diseño experimental, las condiciones en que se desarrollará la prueba, los materiales a utilizar y las formas de resguardo de la trazabilidad del ensayo.



El laboratorio debe contar con un sistema de control de calidad interno con controles de referencia certificados o secundarios que aseguren la validez de sus ensayos.

El laboratorio deberá contar con timbres a ser utilizados en el marco de la acreditación.

4.4 Medios de verificación de requisitos.

De acuerdo a lo dispuesto en el Reglamento Específico para la acreditación de laboratorios de análisis/ensayos, los interesados en acreditarse para realizar el diagnóstico de Plum Pox Virus Raza D, deben presentar **junto a la solicitud de acreditación** lo siguiente:

1. Formulario anexo para el diagnóstico de Plum Pox Virus Raza D (Anexo N° 1).
2. Los antecedentes generales del laboratorio que se establecen en el numeral 6.1 del Reglamento Específico para la acreditación de laboratorios de análisis/ensayos.
3. Croquis del laboratorio y/o invernadero, 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.
5. Lista de materiales, reactivos y material de referencia.
6. Formulario de identificación del personal que se desempeña como analista, según formato establecido en el Anexo N° 2 de este Instructivo.
7. Certificado de título o de egreso de los/las analistas identificados en el formulario respectivo, en original o fotocopia legalizada.
8. Documentos que acrediten la competencia o experiencia tanto del/la responsable técnico como de los/las analistas en el área de la serología, técnicas moleculares y/o pruebas biológicas, según corresponda.
9. Procedimientos con la información requerida en el numeral 4.3 de este Instructivo.

Sin perjuicio de lo anterior, el cumplimiento de los requisitos descritos tanto en el Reglamento Específico de acreditación como en este instructivo, serán confirmados por el Servicio en la visita de verificación o por los medios que considere idóneos para tal efecto.

Con este fin, el SAG podrá solicitar al postulante la ejecución de la técnica por parte de uno o más analistas del laboratorio.

5 ANÁLISIS/ENSAYO

5.1 Captación y Envío

5.1.1 Captación

La captación de muestras para desarrollar análisis de laboratorio no es una actividad de competencia de los laboratorios acreditados en esta especialidad.

Sin perjuicio de lo anterior, en el caso de muestras destinadas a desarrollar **Pruebas Biológicas**, éstas serán tomadas directamente por personal del laboratorio acreditado para este fin.

Este procedimiento se deberá realizar en presencia de Inspector(a) SAG y del (la) Propietario(a) del PPM o la Contraparte Técnica, para lo cual este último deberá informar



esta actividad por escrito con dos días hábiles de anticipación al Encargado(a) Sectorial de Control Oficial de PPV.

Durante la captación de la muestra se deberá completar el documento PROTOCOLO DE TOMA DE MUESTRAS Y RESULTADOS DE PPV (PRUEBA BIOLÓGICA), el que será válido con la identificación y firma del Inspector(a) SAG y que deberá acompañar a la muestra colectada.

5.1.2 Envío

En muestras destinadas a Pruebas Biológicas, será personal del laboratorio acreditado el responsable de este envío, debiendo contar para esto con los implementos necesarios para transportar el material sin que supere los 15°C, así como para identificar el material con la clave correspondiente al árbol de tal forma que se garantice su trazabilidad.

Para muestras destinadas a análisis de laboratorio, la muestra será captada y enviada al laboratorio acreditado por un tercero muestreador.

5.2 Recepción de la muestra y manejo de la muestra/contramuestra

El laboratorio acreditado previo al inicio de las actividades propiamente tal, deberá informar por escrito al Departamento de Laboratorios y Estaciones Cuarentenarias del Servicio, el momento en que se inicia la recepción de muestras, dentro de las 24 horas siguientes de recibidas las primeras muestras. Para tal efecto deberá utilizar un documento según formato establecido en Anexo N° 3 (INICIO RECEPCION MUESTRAS PPM-PPV-D).

Esto no aplicará en el caso de Pruebas Biológicas.

5.2.1 RECEPCIÓN DE LA MUESTRA

El laboratorio deberá verificar al momento del ingreso de la muestra que se cumplan las siguientes condiciones:

Parámetro	Muestra apta(aceptación)	Muestra no apta
Protocolo	Cada contenedor debe venir acompañado por un protocolo timbrado y firmado por el tercero acreditado muestreador	Contenedor sin protocolo o datos incompletos o erróneos.
Nº de muestras contendor/protocolo	Coincide	No coincide
Temperatura contenedor	Menor o igual a 25 °C	Mayor a 25 °C
Tiempo entre el muestreo y la recepción en el laboratorio	Menor o igual a 72 horas	Mayor a 72 horas

- En el caso de muestras destinadas a análisis de laboratorio, las muestras deberán venir en contenedores, cada uno de los cuales deberá venir acompañado por un "PROTOCOLO DE TOMA DE MUESTRAS Y RESULTADOS DE PPV"⁷.

⁷ Este documento vendrá en cuadruplicado quedando una copia en manos del tercero acreditado muestreador, dos copias en el laboratorio y el original deberá ser enviado con los resultados a la oficina SAG correspondiente a la ubicación en que se originó la muestra.



En el caso de muestras tomadas por personal del laboratorio acreditado, destinadas al desarrollo de Pruebas Biológicas, será de exclusiva responsabilidad del mismo laboratorio el cumplimiento de este requisito.

- Los Protocolos deberán venir firmados y timbrados por el tercero acreditado muestreador, o por el Inspector(a) SAG en el caso de muestras captadas para Pruebas Biológicas.
- En caso que el contenedor no venga acompañado por este documento, o que la información esté incompleta, las muestras podrán ser aceptadas, bajo exclusiva responsabilidad del laboratorio acreditado, en la medida que se asegure su trazabilidad y que el tercero muestreador se comprometa a regularizar tal situación, dentro de un plazo no mayor a 24 hrs. hábiles. No obstante lo anterior, estas muestras que han sido aceptadas sólo podrán ser analizadas una vez que se complete la información faltante.
- El número total de muestras indicadas en el protocolo deberá coincidir con el número de muestras ingresadas, en el caso de faltar una muestra deberá quedar constancia en el “PROTOCOLO DE TOMA DE MUESTRAS Y RESULTADOS DE PPV” al momento del ingreso.
- Se debe verificar la temperatura del contenedor de muestras al momento del ingreso, la que no debe exceder los 25° C, la temperatura deberá quedar registrada en el “PROTOCOLO DE TOMA DE MUESTRAS Y RESULTADOS DE PPV”. En caso de sobrepasar esta temperatura se deberán rechazar todas las muestras incluidas en el contenedor.
- El laboratorio deberá verificar, que no hayan transcurrido más de 72 horas desde que fue tomada la muestra hasta su ingreso, a través del chequeo de la información registrada por el tercero muestreador en el “PROTOCOLO DE TOMA DE MUESTRAS Y RESULTADOS DE PPV”. En caso de detectar que han transcurrido más de 72 horas, se deberán rechazar todas las muestras incluidas en el contenedor.

En caso que se produzca **rechazo** de un contenedor de muestras el laboratorio deberá:

- Proceder a la destrucción de la muestra, de acuerdo al procedimiento correspondiente.
- Estampar todas las hojas que componen el “PROTOCOLO DE TOMA DE MUESTRAS Y RESULTADOS DE PPV” con un timbre de RECHAZO, entregando en el acto una copia al tercero muestreador, y guardar las dos copias del laboratorio y el original para el posterior envío al Servicio.
- Informar a la Oficina SAG correspondiente al origen de la muestra, mediante el envío del “PROTOCOLO DE TOMA DE MUESTRAS Y RESULTADOS DE PPV” (vía fax o correo electrónico- documento escaneado), dentro de un plazo no mayor a 24 hrs. hábiles desde producido el rechazo.

5.2.2 MANEJO DE LA MUESTRA/CONTRAMUESTRA

Las condiciones descritas en este punto sólo serán aplicables a aquellas muestras destinadas a ensayos de laboratorio.

Al momento de manejar las muestras se deberán verificar las **condiciones de embalaje**, que deberán concordar con lo descrito en el Anexo N° 5 del “REGLAMENTO ESPECÍFICO DE ACREDITACIÓN DE TERCEROS PARA LA REALIZACIÓN DEL MUESTREO DIRIGIDO A PPM-PPV-D”. En el caso de encontrar una no conformidad, la muestra deberá ser rechazada.



En relación a **la calidad de la muestra** para el análisis, se considera muestra apta aquella que mantiene las características normales, es decir no debe presentar signos de deshidratación o descomposición, como también debe ser representativa en cantidad y tamaño según se indica en el Anexo N° 5 del “REGLAMENTO ESPECÍFICO DE ACREDITACIÓN DE TERCEROS PARA LA REALIZACIÓN DE MUESTREO DIRIGIDO A PPM-PPV-D”. En caso de presentar alguna no conformidad la muestra deberá ser rechazada.

Antes de realizar el análisis, se deberá verificar que **la especie** de la muestra corresponda a la descrita en el “PROTOCOLO DE TOMA DE MUESTRAS Y RESULTADOS DE PPV”, de lo contrario deberá ser rechazada. Este documento deberá venir en cuadruplicado, quedando una copia en manos del tercero muestreador, dos copias en el laboratorio y el original deberá ser enviado con los resultados a la Oficina SAG en cuya jurisdicción se originó la muestra.

En caso de rechazo de la(s) muestra(s) se deberá avisar en forma escrita (vía fax o correo electrónico (documento escaneado) y de manera simultánea de tal situación, tanto al tercero muestreador como a la Oficina SAG correspondiente al origen de la muestra. En este documento se deberá indicar que la muestra no ha sido apta para el análisis, identificando el N° Protocolo, la clave y causal del rechazo (esto dentro de un plazo máximo de 5 días corridos contados desde la recepción de la muestra por parte del laboratorio acreditado).

Finalmente el laboratorio deberá mantener las muestras originales de tejido vegetal, y en el caso de RNA y cDNA, mantener las extracciones, conservadas a $7 \pm 2^\circ \text{C}$ y por al menos 10 días después de enviados los resultados.

En el caso de Pruebas Biológicas, adicionalmente se deberá conservar el ensayo (tanto de los indicadores como de los positivos y negativos), durante el mismo período de tiempo.

En el caso de los **positivos** tanto de técnicas de laboratorio como de Pruebas Biológicas, las contramuestras, deberán ser conservadas por un período mínimo de dos meses a contar de la fecha de emisión del informe final.

5.3 Metodología.

Los análisis de laboratorio que se realizarán a las muestras dependerán de la época de muestreo, situación del plantel, situación específica de cada planta y uso de la planta, entre otras. Esta situación estará definida en el protocolo de muestreo, por lo cual el **laboratorio deberá realizar las técnicas de diagnóstico ahí definidas**. En el caso de que se indique sola una técnica (técnica de barrido), se deberán analizar todas las muestras mediante la indicada, y solo las muestras positivas deberán ser analizadas por una segunda técnica de laboratorio complementaria.

Por lo anteriormente expuesto los laboratorios deberán postular a lo menos a dos técnicas de laboratorio, definiendo una de ellas como de barrido y la otra como confirmatoria.

El diagnóstico de PPV mediante **ELISA y PCR** debe realizarse de acuerdo a los siguientes procedimientos:



- EPPO. 2004.⁸ Protocolos de diagnóstico para parásitos regulados PM 7/32. Plum Pox potyvirus. Boletín OEPP/EPPO 34, 247–256.

Para el caso de diagnóstico mediante **PCR Tiempo Real**, debe realizarse de acuerdo a lo indicado en:

- Varga, A. and James, D. 2005⁹. Detección y diferenciación del virus Plum Pox usando PCR tiempo real múltiple con análisis por curva de fusión SYBR verde: un método rápido para la tipificación de cepas. J. Virol. Métodos 123:213-220
- Capote, N., Gorris, M.T., Martínez, M.T., Asensio, M., Olmos, M. and Cambra, M., 2006. Interferencia entre cepas D y M del virus Plum Pox en ciruelo japonés determinado por anticuerpo monoclonal específico y RT-PCR en tiempo real cuantitativo. Fitopatología 96:320-325

Para el caso de **Pruebas Biológicas**, las muestras deberán ser analizadas oportunamente y cumpliendo con las condiciones descritas en los siguientes procedimientos:

- EPPO. 2004. Protocolos de diagnóstico para parásitos regulados PM 7/32. Plum Pox potyvirus. Boletín OEPP/EPPO 34, 247–256.
- Desvignes, J.C., 1999. Enfermedades virales en árboles frutales. CTIFL, *Centr'imprint*, France, 202pp.
- Jelkmann, W. 2004. Grupo Internacional de trabajo en virus de árboles frutales. Detección de enfermedades causadas por virus y semejantes a virus enfermedades frutales. Ensayos de laboratorio, Bioensayos e Indicadores. En: Procedimientos del XIX Simposio Internacional de Enfermedades causadas por virus y agentes semejantes a virus en cultivo de fruta de zonas templadas – Enfermedades de Árboles Frutales. Acta Horticultura número 657. Valencia, España.

La realización de Pruebas Biológicas, sólo se llevará cabo cuando el resultado del análisis complementario haya sido **negativo y autorizado por el Servicio**.

En base a la metodología descrita en los documentos anteriores, cada laboratorio debe elaborar su propio procedimiento de trabajo indicando los detalles de las Pruebas Biológicas, en el que se debe incluir los siguientes aspectos: sustratos a utilizar, origen y producción de plantas indicadoras, procedimiento de inoculación, fertilización y controles sanitarios de plantas inoculadas, duración de la prueba, número de repeticiones, control de temperaturas, evaluación de síntomas, etc.

No obstante lo anterior, los laboratorios podrán presentar para la evaluación por parte del Servicio, otras metodologías o variantes de las indicadas en este instructivo, las que una vez aprobadas podrán ser implementadas por los laboratorios acreditados.

⁸ EPPO. 2004. Diagnostic protocols for regulated pests PM 7/32. Plum Pox potyvirus. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 34, 247–256.

⁹ Varga, A. and James, D. 2005. Detection and differentiation of Plum pox virus using real time multiplex PCR with SYBR Green and melting curve analysis: a rapid method for strain typing. J. Virol. Methods 123:213-220.



5.4 Cálculo y Expresión de Resultados

5.4.1 CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

Para determinar la presencia de una **planta positiva** a la presencia de PPV-D, se deberán obtener resultados positivos tanto en el análisis de barrido (screening) como en la prueba confirmatoria. Según la técnica utilizada se considerará **resultado positivo** si cumple con lo siguiente:

ELISA: Los valores de Densidad Óptica a 405 nm deben ser iguales o superiores al doble del promedio de las muestras de controles sanos.

PCR: Se obtienen bandas de amplificación que correspondan con el tamaño definido por los partidores utilizados.

PCR Tiempo Real: Los valores de fluorescencia deben ser significativamente mayores al valor de fondo (Background).

Prueba Biológica: Las muestras deben mostrar los síntomas característicos de la enfermedad comparables con los de los controles positivos.

5.4.2 EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

Los resultados se informarán en el PROTOCOLO DE TOMA DE MUESTRAS Y RESULTADOS DE PPV (Anexo N° 4) o en el PROTOCOLO DE TOMA DE MUESTRAS Y RESULTADOS DE PPV (PRUEBA BIOLÓGICA) (ANEXO N° 5) según corresponda. En todos los casos, la expresión de los resultados deberá ser cualitativa, es decir se expresarán como Positivo a PPV-D “P”, Negativo a PPV-D “N” o “NA” en caso que la muestra haya sido rechazada ser no apta.

6 REGISTRO Y ENVÍO DE LOS RESULTADOS

El laboratorio deberá contar con un sistema de registro de muestras que incluya la identificación de la planta (ID planta) que dio origen a la muestra, fecha de recepción, aceptación/ rechazo, resultado y fecha de resultado, identificación y firma del analista.

Todos los registros y documentos se deben conservar al menos durante los 5 años siguientes de realizado el análisis.

Los resultados serán informados en el PROTOCOLO DE TOMA DE MUESTRAS Y RESULTADOS DE PPV (Anexo N° 4) o en el PROTOCOLO DE TOMA DE MUESTRAS Y RESULTADOS DE PPV (Prueba Biológica) (Anexo N° 5) según corresponda. En el caso de obtener resultados positivos estos deberán ser registrados, además en un INFORME FITOSANITARIO que deberá ser elaborado por cada muestra positiva, según el formato establecido en el Anexo N° 8.

Sólo se deberá registrar en el Protocolo, el resultado final de los análisis de laboratorio realizados, incluida la prueba de confirmación, si corresponde. Será de responsabilidad del laboratorio, realizar los análisis de muestras positivas mediante dos técnicas de laboratorio, cuando corresponda.

Cuando se haya completado la totalidad de los resultados correspondientes a las muestras contenidas en los protocolos respectivos, tanto estos documentos, como el INFORME FITOSANITARIO si procediere, deberán ser enviados en forma escrita vía fax o correo electrónico (documentos escaneados), a la Oficina SAG correspondiente al origen



de la muestra. El plazo máximo para el envío de esta información es de 10 días corridos desde realizado el análisis de screening.

En el caso de realizar **Pruebas Biológicas**, se deberá informar dentro de los tres días siguientes desde obtenidos los resultados, siguiendo el mismo procedimiento descrito anteriormente.

Adicionalmente el Laboratorio deberá enviar, a la Oficina SAG en cuya jurisdicción se encuentre ubicado el plantel que dio origen a las muestras analizadas:

A. Cada 15 días, en forma personal o vía correo certificado la siguiente documentación:

Los originales de LOS PROTOCOLOS DE TOMA DE MUESTRAS Y RESULTADOS DE PPV y LOS INFORMES FITOSANITARIOS ya informados.

B. Dos días después de enviado el último Protocolo de Toma de Muestra correspondiente a cada plantel analizado:

El documento RESULTADOS TOMA DE MUESTRAS EN PPM- PPV, RAZA D (Anexo N° 6) en formato electrónico y documental. Adicionalmente este informe deberá ser enviado al Departamento de Laboratorios Agrícolas del Servicio.

C. Diez días de terminado el período de diagnóstico correspondiente a cada época de muestreo (Primavera y Otoño) de muestreo:

El documento INFORME DE FOLIOS según formato contenido en Anexo N° 7.

La información que sea **requerida por el Propietario(a) del PPM** al laboratorio acreditado no requiere de autorización previa por parte del Servicio para ser entregada. Sin perjuicio de lo anterior los resultados positivos deben ser comunicados al menos simultáneamente tanto al Servicio como al propietario.



ANEXO Nº 1: TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO PARA DETERMINACIÓN DE PLUM POX VIRUS.

Formulario anexo para el diagnóstico de Plum Pox Virus Raza D (PPV-D)

Identificación del laboratorio:

Nombre/Razón social:

Cédula de Identidad N°/RUT:

Marcar con una X la(s) técnica(s) de diagnóstico para las cuales solicita la acreditación, especificando cuando corresponda, la técnica de screening y la técnica a utilizar como confirmatoria:

Técnicas de diagnóstico de laboratorio a las que postula el laboratorio para acreditación	
T É C N I C A (*)	U S O
1. ELISA.	Técnica screening:
	Técnica confirmatoria:
2. PCR Tradicional.	Técnica screening:
	Técnica confirmatoria:
3. PCR Tiempo real.	Técnica screening:
	Técnica confirmatoria:

(*) Las técnicas marcadas deberán ser complementarias; es decir, ELISA respecto de cualquier tipo de PCR y viceversa

TÉCNICA	USO
4. Prueba Biológica	-----

Firma del postulante o representante legal

Fecha,.....



ANEXO Nº 2: LISTA DE ANALISTA(S) DEL LABORATORIO VINCULADO A LA TÉCNICA

Nombre Completo	Nº Cédula de Identidad	Firma	Técnica que realiza

Firma del postulante o representante legal

Fecha,.....



ANEXO Nº 3: INICIO RECEPCIÓN MUESTRAS PPM- PPV-D

Logo Laboratorio Acreditado
Diagnóstico PPV- D

INICIO RECEPCION MUESTRAS PPM- PPV- D

Fecha aviso	
-------------	--

ANTECEDENTES TERCERO ACREDITADO (Emisor)	
Nombre Laboratorio Acreditado	
Nombre Responsable Técnico	
Dirección Oficina/ Comuna	
Fax	
Teléfono (s) (fijo/ móvil)	

ANTECEDENTES SERVICIO AGRICOLA Y GANADERO (Uso exclusivo SAG)			
Departamento Laboratorios y Estaciones Cuarentenarias – UNIDAD VIROLOGÍA			
Nombre Funcionario Receptor			
Firma Funcionario Receptor		Fecha Recepción	

ANTECEDENTES RECEPCION MUESTRAS					
INFORMO A UD. QUE A PARTIR DE _____ (indicar fecha) SE HAN EMPEZADO A RECEPCIONAR MUESTRAS VEGETALES PARA DIAGNÓSTICO DE PPV- D, CORRESPONDIENTES A TEMPORADA _____ / _____ Y EPOCA DE MUESTREO _____, DE ACUERDO AL SIGUIENTE DETALLE:					
Nº REGISTRO SAG	VIVERO PROPIETARIO	REGION	COMUNA	FOLIO PROTOCOLO (S)	NOMBRE TERCERO MUESTREADOR

NOMBRE	FIRMA
RESPONSABLE TECNICO LABORATORIO	



Instrucciones Llenado Inicio Recepción Muestras PPM- PPV- D

Este aviso debe ser:

- ❖ Enviado al Departamento de Laboratorios del Servicio Agrícola y Ganadero, el día en que se recepciona el primer PROCOLO DE TOMA DE MUESTRAS Y RESULTADOS DE PPV.
- ❖ Enviado al SAG, hasta 24 horas de iniciado el proceso de recepción, vía fax, correo electrónico (escaneado) o entregado personalmente en las dependencias del Departamento de Laboratorios del Servicio, oficina de partes.
- ❖ Emitido con un original y una copia, las cuales se encontrarán en poder del Departamento de Laboratorios del Servicio y el Laboratorio acreditado, respectivamente.
- ❖ Mantenido en forma documental (5 años), en las dependencias del laboratorio acreditado y deberá estar disponible para las supervisiones que realicen los inspectores (as) del Servicio.
- ❖ Este aviso sólo será válido con el nombre y firma del responsable técnico.

Fecha aviso: se debe indicar la fecha en que se envía el documento.

ANTECEDENTES DEL TERCERO ACREDITADO (Emisor)

Nombre Responsable Técnico. Indicar nombre completo del responsable técnico, designado por el laboratorio acreditado.

Dirección Oficina/ Comuna: indicar el lugar donde se mantendrán/ analizarán las muestras y los registros documentales de las actividades que el laboratorio acreditado desarrollará.

Fax: indicar número de fax del laboratorio acreditado muestreador.

Teléfono (s) fijo/ móvil: indicar teléfonos, ya sea de res fija o móvil, donde se pueda establecer contacto con el laboratorio acreditado y el responsable técnico.

ANTECEDENTES SERVICIO AGRICOLA Y GANADERO (Receptor)

Nombre Funcionario Receptor: debe ser llenado por el funcionario SAG que recepciona este documento, para lo cual debe dejar registrado su nombre completo.

Firma Funcionario Receptor: el funcionario SAG debe firmar el documento

Fecha Receptor: corresponde a la fecha de recepción del documento, debe ser llenado por el funcionario que lleva a cabo esta acción.

ANTECEDENTES RECEPCION MUESTRAS

Nº Registro SAG: corresponde al número asignado por el SAG, para individualizar un PPM- PPV-D, del cual se están recepcionando muestras. Esta información debe ser generada por el propietario del PPM-PPV-D y se encuentra indicada en la Declaración de Muestreo Anual de PPM- PPV- D, Declaración Complementaria de Muestreo Anual de PPM-PPV, Raza D y Plantel Excluido: Declaración de Muestreo PPV para obtener Plantas de Vivero, autorizada por el Servicio. Se deberá completar cuando la muestra provenga de un PPM-PPV-D.

Vivero Propietario: indicar nombre del vivero al cual pertenece el PPM o el material sujeto a muestreo.

Región: indicar la región en la que se ubica el PPM o el material sujeto a muestreo.

Comuna: indicar la comuna en la que se ubica el PPM o el material sujeto a muestreo.

Folio Protocolos(s): indicar los folios de los protocolos que se están decepcionando, en la fecha señalada.

Nombre Tercero Muestreador: indicar el nombre del tercero acreditado muestreador que le entrega las muestras al laboratorio acreditado.

Nombre/ Firma responsable técnico: indicar nombre y firma de responsable técnico del laboratorio acreditado.



Instrucciones Llenado Protocolo De Toma De Muestras Y Resultados De PPV

FOLIO N°: codificación impresa en cada protocolo y que debe ser utilizado en forma correlativa por el tercero muestreador.

USO EXCLUSIVO LABORATORIO: debe ser llenado por personal autorizado del laboratorio acreditado.

Nombre del Laboratorio Acreditado: indicar el nombre del mismo de acuerdo a lo autorizado por el Servicio.

RECEPCIÓN: se debe registrar los siguientes antecedentes relacionados directamente con la recepción física de las muestras en el laboratorio:

Fecha: indicar la fecha exacta en que las muestras son recepcionadas por el laboratorio acreditado.

Temperatura: registrar la temperatura que tiene la unidad en que son transportadas las muestras recepcionadas por el laboratorio acreditado (°C).

Nombre y firma: indicar el nombre y firma de la persona del laboratorio que recepciona el envío de muestras.

Timbre: uso de timbre de autorización o rechazado, de acuerdo al resultado del proceso de recepción.

Aprobado: indicar, con una X, si el proceso de recepción es autorizado.

Rechazado: indicar, con una X, si el proceso de recepción no es autorizado.

Causal: indicar el motivo que genera el rechazo en el ingreso

Nombre Responsable Técnico Muestreo: indicar el nombre completa de esta persona.

Firma Responsable Técnico Muestreo: registrar firma del Responsable Técnico.

Fecha Muestreo: indicar la fecha en que fueron tomadas las muestras que respaldan este protocolo, si es más de una se debe llenar un protocolo por cada fecha de muestreo.

N° Registro PPM- PPV: indicar el número de registro con el que el plantel de plantas madres de PPV se encuentra inscrito en el Servicio. Se encuentra incluido en las Declaraciones de Muestreo, autorizadas por el Servicio.

Nombre vivero: indicar el nombre del vivero Propietario(a) del PPM.

Región/ Comuna: indicar región/ comuna donde se ubica el plantel muestreado.

Oficina SAG: indicar el nombre de la Oficina SAG en cuya jurisdicción se encuentra establecido el PPM sometido a muestreo.

USO EXCLUSIVO MUESTREADOR

TECNICAS A REALIZAR (1): (1) Marcar con una X que análisis de laboratorio debe(n) realizarse a las muestras señaladas en cada fila, de acuerdo a lo registrado en la Declaración de Muestreo Anual de PPM-PPV, Raza D o la Declaración Complementaria de Muestreo Anual de PPM-PPV, Raza D.

ELISA: marcar con una X lo que corresponda

PCR: marcar con una X lo que corresponda

PLANTAS MADRES MUESTREADAS

Especie: indicar la especie sujeta a muestreo, para cada planta madre, utilizando la siguiente denominación: **CI= ciruelo; DA= damasco; DU= duraznero; NE= nectarino.**

Variedad: indicar nombre completo de la variedad (de acuerdo a lo contenido en la Declaración de Muestreo, autorizada por el Servicio). Si no se tiene acceso a esta información, por no estar incluida en la referida Declaración, señalarlo como S/I.

ID. Planta: indicar el rango de códigos de plantas con el que las muestras, correspondientes a la especie/ variedad, son identificadas y que corresponden al que posee cada planta madre declarada dentro del plantel.

N° Muestras: indicar el número de muestras que respaldan a los códigos señalados, para la especie/ variedad.



USO EXCLUSIVO LABORATORIO

Técnica Diagnóstico: Indicar técnica de laboratorio que se realiza para llevar a cabo la determinación de PPV, así como la confirmatoria.

Nº Muestras: indicar al momento de la recepción, el número efectivo de muestras que ingresan al laboratorio acreditado.

Resultado (*): indicar el resultado definitivo, con una:

- N: si las muestras analizadas son negativas a PPV.
- P: si alguna de las muestras analizadas, provenientes del rango descrito, es positiva a PPV
- NA: muestra no apta para ser analizada, especificar causal en (*) claves de muestras sin diagnóstico.

ID. PLANTAS (MUESTRAS) CON SINTOMATOLOGIA A PPV: indicar el código de las muestras que presentan síntomas asociados a PPV, al momento de realizar el análisis (si corresponde).

(*) ID. PLANTAS (MUESTRAS) CON RESULTADOS POSITIVOS: indicar el código de las muestras que presentan resultados positivos a PPV.

(*) ID. PLANTAS (MUESTRAS) SIN DIAGNOSTICO (Especificar): indicar cual es la causal del no diagnóstico (mal estado de conservación, no correspondencia, etc.) y especificar las claves involucradas.

ANALISTA: registrar nombre y firma del (la) virólogo (a) que realiza el diagnóstico de las muestras respaldadas por el protocolo.

RESPONSABLE TECNICO: registrar nombre y firma del Responsable Técnico del Laboratorio Acreditado.

TIMBRE: timbrar cada uno de los protocolos, con el timbre de analizado, para validar el documento por parte del Laboratorio Acreditado



ANEXO 5: PROTOCOLO TOMA DE MUESTRAS Y RESULTADOS DE PPV- PRUEBA BIOLÓGICA

<p>Nombre Laboratorio Acreditado Diagnóstico PPV- Raza D</p>	<p>PROTOCOLO DE TOMA DE MUESTRAS Y RESULTADOS DE PPV (Prueba Biológica)</p>
--	--

FOLIO N° _____

U S O S A G		FECHA MUESTREO			
Nombre Oficina SAG/ Región					
Nombre Inspector(a) SAG					
Firma Inspector(a) SAG					
A N T E C E D E N T E S L A B O R A T O R I O A C R E D I T A D O					
Nombre Laboratorio Acreditado					
Nombre Responsable Técnico					
Firma Responsable Técnico					
Nombre Analista					
Firma Analista					
A N T E C E D E N T E S P L A N T E L P L A N T A S M A D R E S					
Nombre PPM- PPV					
Registro SAG	PPM/				
Nombre Propietario(a) PPM					
Nombre Contraparte técnica					
Firma Propietario(a)/ Contraparte técnica <small>(subrayar la que corresponda)</small>					
P L A N T A S M A D R E S M U E S T R E A D A S				U S O L A B O R A T O R I O A C R E D I T A D O	
Especie	Variedad	ID. PLANTA MADRE	Fecha Muestreo	PRUEBA BIOLÓGICA	
				RESULTADO	FECHA

**TIMBRE LABORATORIO
ACREDITADO**



Instrucciones Llenado Protocolo De Toma De Muestras Y Resultados De PPV

(Prueba Biológica)

FOLIO N°: número impreso asociado a cada protocolo.

FECHA MUESTREO: indicar fecha xx/ xx/ xxxx en la que se lleva a cabo la toma de muestra.

USO SAG

Nombre Oficina SAG/ Región: funcionario SAG debe indicar nombre de la Oficina del Servicio y región donde ésta se ubica (uso de números naturales).

Nombre Inspector(a) SAG: el funcionario que presencia la toma de muestra debe señalar su nombre completo.

Firma Inspector(a) SAG: funcionario SAG debe registrar su firma

ANTECEDENTES LABORATORIO ACREDITADO debe ser llenado por personal SAG que presencia toma de muestra.

Nombre del Laboratorio Acreditado: indicar el nombre del laboratorio acreditado autorizado por el Servicio para tomar muestras.

Nombre Responsable Técnico / Firma Responsable Técnico: registrar nombre completo y firma del Responsable Técnico del Laboratorio Acreditado.

Nombre Analista/ Firma Analista: registrar nombre y firma del Analista que realiza el diagnóstico de las muestras respaldadas por el protocolo.

ANTECEDENTES PLANTEL PLANTAS MADRES

Nombre PPM- PPV: indicar nombre completo del plantel.

N° Registro PPM- PPV: indicar el número de registro con el que el plantel de plantas madres de PPV se encuentra inscrito en el Servicio. Se encuentra incluido en la Declaración de Muestreo, autorizada por el Servicio.

Nombre Propietario(a) PPM: indicar el nombre completo del Propietario(a) del PPM, que aparece en la Declaración de Muestreo, autorizada por el Servicio.

Nombre Contraparte técnica: indicar nombre completo de la Contraparte técnica del PPM- PPV.

Firma Propietario(a)- Contraparte técnica: (subrayar la que corresponda), se debe registrar la firma del Propietario(a) o contraparte técnica que se encuentra presente al momento del muestreo.

PLANTAS MADRES MUESTREADAS (debe ser llenado por funcionario SAG que autoriza el muestreo de plantas madres)

Especie: indicar la especie sujeta a muestreo, para cada planta madre, utilizando la siguiente denominación: **CI= ciruelo; DA= damasco; DU= duraznero; NE= nectarino.**

Variación: indicar nombre completo de la variedad (de acuerdo a lo contenido en la Declaración de Muestreo Anual de PPM- PPV, Raza D o Declaración Anual Complementaria de Muestreo Anual de PPM- PPV, Raza D, autorizadas por el Servicio). Si no se tiene acceso a esta información, por no estar incluida en la referida Declaración, señalarlo como **S/I.**

ID. Planta Madre: indicar el rango de códigos de plantas con el que las muestras, correspondientes a la especie/ variedad, son identificadas y que corresponden al que posee cada planta madre declarada dentro del plantel.

Fecha Muestreo: indicar la fecha en que se toma la muestra (xx/ xx/ xxxx).

USO LABORATORIO ACREDITADO

PRUEBA BIOLÓGICA

Resultado: indicar con una:

- N: si la muestra analizada es negativa a PPV.
- P: si la muestra analizada es positiva a PPV

Fecha: indicar la fecha en que se realiza el diagnóstico (xx/ xx/ xxxx).

TIMBRE: timbrar cada uno de los protocolos, con el timbre de analizado, para validar el documento por parte del laboratorio acreditado



USO EXCLUSIVO LABORATORIO

Técnica Diagnóstico: Indicar técnica de laboratorio que se realiza para llevar a cabo la determinación de PPV, así como la confirmatoria.

Nº Muestras: indicar al momento de la recepción, el número efectivo de muestras que ingresan al laboratorio acreditado.

Resultado (*): indicar el resultado definitivo, con una:

- N: si las muestras analizadas son negativas a PPV.
- P: si alguna de las muestras analizadas, provenientes del rango descrito, es positiva a PPV
- NA: muestra no apta para ser analizada, especificar causal en (*) claves de muestras sin diagnóstico.

ID. PLANTAS (MUESTRAS) CON SINTOMATOLOGIA A PPV: indicar el código de las muestras que presentan síntomas asociados a PPV, al momento de realizar el análisis (si corresponde).

(*) ID. PLANTAS (MUESTRAS) CON RESULTADOS POSITIVOS: indicar el código de las muestras que presentan resultados positivos a PPV.

(*) ID. PLANTAS (MUESTRAS) SIN DIAGNOSTICO (Especificar): indicar cual es la causal del no diagnóstico (mal estado de conservación, no correspondencia, etc.) y especificar las claves involucradas.

ANALISTA: registrar nombre y firma del (la) virólogo (a) que realiza el diagnóstico de las muestras respaldadas por el protocolo.

RESPONSABLE TECNICO: registrar nombre y firma del Responsable Técnico del Laboratorio Acreditado.

TIMBRE: timbrar cada uno de los protocolos, con el timbre de analizado, para validar el documento por parte del Laboratorio Acreditado



**Instructivo Técnico para el diagnóstico de
Plum Pox Virus – Raza D (PPV – D)**

ANEXO Nº 6: RESULTADOS TOMA DE MUESTRAS EN PPM- PPV, RAZA D

RESULTADOS TOMA DE MUESTRAS EN PPM-PPV, RAZA D

Antecedentes Laboratorio Acreditado:			
Nombre Laboratorio Acreditado:		Resumen muestras recepcionadas	Resumen Diagnóstico
Nombre Responsable Técnico:		Muestras Recepcionadas	Muestras positivas
Firma Responsable Técnico:		Muestras con diagnóstico	Muestras con síntomas
Periodo Recepción Protocolos		Muestras sin diagnóstico	Muestras negativas
Fecha emisión informe			TOTAL

TEMPORADA
/

EPOCA MUESTREO

Antecedentes Plantel de Plantas Madres de PPV		
Nombre PPM- PPV		Registro PPM- PPV
Nombre Propietario(a) PPM		Nombre Contraparte técnica

Antecedentes Oficina SAG		
Nombre Oficina SAG		Región

USO EXCLUSIVO SAG	
Nombre Inspector SAG	
Firma Inspector SAG	

TIMBRE SAG

Recepción				Identificación Planta Madre					Técnica de Diagnóstico			Diagnóstico		
Folio Protocolo	Fecha	Autorizado	Rechazado	Fecha muestreo	Nombre 3º Muestreador	ID Planta Madre	Especie	Variedad	Elisa	PCR	Biológica	Positivo	Sintoma	Negativo



GOBIERNO DE CHILE
MINISTERIO DE AGRICULTURA
SAG

Instructivo Técnico para el diagnóstico de
Plum Pox Virus – Raza D (PPV – D)

**ANEXO N° 7: FOLIOS DE PROTOCOLOS RECEPCIONADOS POR EL LABORATORIO
ACREDITADO**

Logo Laboratorio Acreditado
Diagnóstico- PPV- Raza D

**INFORME FOLIOS DE PROTOCOLOS DE TOMA DE
MUESTRAS Y RESULTADOS DE PPV/ LABORATORIO**

ANTECEDENTES LABORATORIO ACREDITADO

Nombre Responsable Técnico

Firma

TEMPORADA

EPOCA MUESTREO

FOLIO PROTOCOLO	FECHA (DD/MM/ AAAA)	N° REGISTRO SAG	TERCERO MUESTREADOR	RECEPCION			
				FECHA	AUTORIZADO	RECHAZADO	TOTAL



**Instrucciones Llenado Informe Folios de Protocolos de Toma de Muestras
y Resultados de PPV/ Laboratorio**

Este registro debe ser:

- ❖ Llenado por el Responsable Técnico del laboratorio acreditado.
- ❖ Este registro deberá estar vigente y ser mantenido en forma documental y como base de datos electrónica, en las dependencias del laboratorio acreditado (5 años) y deberá estar disponible para las supervisiones que realicen los inspectores (as) del Servicio.
- ❖ Este registro sólo será válido con el nombre del responsable técnico del laboratorio acreditado.
- ❖ Deberá ser enviado por fax o correo electrónico, como documento escaneado, a la Oficina Sectorial SAG, en cuya jurisdicción se encuentre establecido el PPM sujeto a muestreo, y al Departamento Laboratorios del Servicio, cada 15 días, el primer día hábil de la semana siguiente de cumplido este plazo.

ANTECEDENTES LABORATORIO ACREDITADO

Nombre Responsable Técnico: indicar el nombre completo del responsable técnico.

Firma: registrar firma del responsable técnico.

TEMPORADA: indicar temporada de muestreo a la que corresponden los folios de Protocolos informados (Ej.: 2007/ 2008, 2008/ 2009, etc.).

EPOCA MUESTREO: indicar la época de muestreo a la que corresponden los folios de Protocolos informados (Primavera, Otoño).

Folio Protocolo: señalar número de folio protocolo informado.

FECHA: señalar la fecha de muestreo del protocolo.

Nº Registro SAG: número de registro del plantel relacionado con el protocolo informado.

Tercero Muestreador: indicar nombre del tercero que realiza el muestreo, indicado en el protocolo.

RECEPCION

Fecha: indicar fecha en que se realiza la recepción del protocolo informado.

ANULADO. Indicar causal de anulación del protocolo.

Nº MUESTRAS:

Autorizado: indicar número de muestras validadas por el laboratorio acreditado, para cada protocolo, al momento de la recepción.

Rechazado: indicar número de muestras rechazadas por el laboratorio acreditado, para cada protocolo, al momento de la recepción.

Total: corresponde a la suma de las muestras validadas y rechazadas, para cada protocolo informado, al momento de la recepción.



GOBIERNO DE CHILE
MINISTERIO DE AGRICULTURA
SAG

Instructivo Técnico para el diagnóstico de Plum Pox Virus – Raza D (PPV – D)

ANEXO Nº 8: INFORME FITOSANITARIO

LOGO LABORATORIO ACREDITADO

DIAGNOSTICO PPV Raza D

INFORME FITOSANITARIO Nº _____

ID. PLANTA Nº _____ RECIBIDA _____

(Fecha)

Consistente en _____

(Especie, Variedad)

FOLIO PROTOCOLO. _____

Procedente de _____

(Nº Registro PPM- PPV- D, Región, Comuna, Oficina SAG)

Remitida por _____

(Nombre Tercero Muestreador)

DIAGNOSTICO (Resultado y técnica de diagnóstico)

Analista: _____

RESPONSABLE TECNICO
LABORATORIO ACREDITADO