

CIR013CR

CIRCULAR N° 013/2015

Santiago, 5 de junio 2015

URGENTE

A : SEÑORES EXPORTADORES DE CÍTRICOS A LOS ESTADOS UNIDOS DE NORTEAMERICA.

DE : ASOCIACION DE EXPORTADORES DE CHILE, A.G.

REF. : PROGRAMA DE PRE-EMBARQUE SAG/USDA-APHIS/ASOEX. APLICACIÓN DE TÉCNICA DE PCR CONVENCIONAL PARA IDENTIFICACIÓN DE HUEVOS DE CURCULIONIDOS EN LOTES RECHAZADOS DE CÍTRICOS

Hemos recibido nota del SAG, que adjuntamos, en la que se informa la autorización por parte de USDA APHIS para la aplicación de la técnica de PCR convencional en el Laboratorio de Lo Aguirre, a lotes rechazados de cítricos por la causal : Huevos de Curculionidos. Con dicha técnica, se podrá determinar si los huevos presentes en la fruta y detectados en la inspección SAG/USDA pertenecen a la especie *Naupactus cervinus* (no cuarentenaria para USA) o a *Naupactus xanthographus* (cuarentenaria para USA).

Asimismo, adjuntamos el "Protocolo para el Envío de Muestras Inter-Laboratorios para PCR", procedimiento que deberá ser realizado por el interesado y el costo que tendrá el análisis para aquellas empresas que opten por utilizar esta técnica.

Esperando que esta innovación sea bien acogida por la industria, saludamos atentamente a ustedes,

ASOCIACIÓN DE EXPORTADORES DE FRUTAS DE CHILE, A.G.


Jimena López A.
Jefe Depto. de Frutas y Hortalizas

cc: Sr. Juan E. Ortúzar, Sra., Monserrat Valenzuela, Comité de Cítricos
Sr. Luis Fuentes, USDA
Sr. Roberto Mir, SAG
Sr. Erik León, SAG



CIRC. N° : 357/2015

ANT. :

**MAT. : APLICACIÓN DE PCR CONVENCIONAL PARA
LOTES DE CÍTRICOS RECHAZADOS EN
SITIOS SAG/USDA POR HUEVOS DE
CURCULIONIDOS.**

SANTIAGO, 02/06/2015

DE : JEFE DIVISIÓN PROTECCIÓN AGRÍCOLA Y FORESTAL OR.OC

A : SEGÚN DISTRIBUCIÓN

Informo a Ud. que USDA/APHIS ha autorizado la aplicación de la técnica de PCR convencional en el laboratorio Lo Aguirre, como alternativa para aquellos lotes de cítricos que resulten rechazados en los Sitios de Inspección SAG/USDA debido a la detección de huevos de curculionidos.

Para aplicar esta técnica los entomólogos de los Sitios deberán enviar la interceptación al laboratorio Lo Aguirre de acuerdo al protocolo que se desarrolló con este fin, el cual se adjunta a esta Circular.

El valor que se deberá aplicar en el caso que los exportadores opten por esta alternativa es de 1,836 UTM + IVA.

Agradeceré informar de lo señalado anteriormente, al personal de los Sitios de Inspección, para que su implementación se realice a la brevedad posible.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Rodrigo Astete Rocha', with a long horizontal stroke extending to the right.

**RODRIGO ASTETE ROCHA
JEFE
DIVISIÓN PROTECCIÓN AGRÍCOLA Y FORESTAL**

RCG/ELO

Incl.: Documento Digital: Traslado de Muestra

Distribución:

Oscar Enrique Concha Díaz Director Regional Servicio Agrícola y Ganadero Región Metropolitana de Santiago Or.RM

Juan Rodrigo Sotomayor Cabrera Director (TyP) Región de O'Higgins Servicio Agrícola y Ganadero Or.VI

Nicanor Cuevas Dinamarca Director Regional Región del Maule Servicio Agrícola y Ganadero Or.VII

Jorge Esteban Fernandez Gonzalez Director Regional Región de Coquimbo Servicio Agrícola y Ganadero Or.IV

Francisca Herrera Monasterio Directora Regional (TyP) Dirección Regional de Valparaíso Or.V

c.c.: Pablo Hernan Reyes Muñoz Coordinador/a Exportaciones Agrícolas RM Exportaciones Agrícolas RM Or.RM

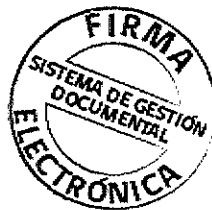
Carol Luisa Catalan Opazo Coordinadora de Exportaciones Agrícolas y Forestales Protección Agrícola y Forestal Región de Valparaíso Or.V

Danol Alexis Quintanilla Guerra Coordinador de Exportaciones Agrícolas Protección Agrícola y Forestal Región de O'Higgins Or.VI

Alexis Enrique Calabrán Rodríguez Coordinador Exportaciones Agrícolas Unidad Técnica Protección Agrícola y Forestal Or.VII

Carmen Pérez Maturana Coordinador de Exportaciones Unidad Protección Agrícola y Forestal Or.IV

División Protección Agrícola y Forestal - Paseo Bulnes N° 140



El presente documento ha sido suscrito por medio de firma electrónica avanzada en los términos de la Ley 19.799 (Sobre Documentos Electrónicos, Firma Electrónica y Servicios de Certificación de dicha Firma), siendo válido de la misma manera y produciendo los mismos efectos que los expedidos por escrito y en soporte de papel, con firma convencional.

El documento original está disponible en la siguiente dirección

url:<http://custodiafirma1506.acepta.com/v01/d76d4cf765c7aace2babd08d6cd2646c157a7246>



Programa de Pre-embarque SAG/USDA-APHIS/ASOEX
Protocolo para el Envío de Muestras
Inter-Laboratorios para PCR

1. Antecedentes

USDA-APHIS recientemente ha reconocido la Técnica de PCR establecida en el Laboratorio de Lo Aguirre, para la identificación de huevos de Curculionidos. A lo anterior se suma el reconocimiento que ya contaba la técnica de PCR en tiempo real, para la identificación de estados inmaduros de Pseudococcidos que son detectados en los Sitios de Inspección.

2. Objetivo

Este documento define la forma en que un Entomólogo de un Sitio de Inspección, debe preparar una intercepción de estados inmaduros de Pseudococcidos o de huevos de Curculionidos (Detectados en cítricos) para que sea enviada a otro laboratorio, en el cual la intercepción será sometido a la Técnica de PCR tradicional o en Tiempo Real para la identificación de la especie.

3. Procedimiento ante la Intercepción

Se debe tener presente, que para un análisis de PCR, uno de los riesgos más altos para que no se obtengan resultados es que la muestra esté contaminada con ADN correspondiente a otras fuentes, provenga este material ya sea de: virus, bacterias, restos de otros insectos, etc.

Por lo anterior, el lugar de trabajo debe estar siempre limpio, desinfectado y todo material que se use para manipular las intercepciones debe ser idealmente nuevo, de primer uso.

La fruta con el ejemplar de Pseudococcido o Curculionido, interceptada por el Inspector de Sitio, debe ser recepcionada por el Entomólogo pensando que se puede tratar de una potencial muestra a análisis de PCR, es decir, el instrumental usado para buscar la presencia de Pseudococcidos o huevos de Curculionidos se deberá cambiar por cada fruta analizada. Para esto será necesario contar con pinzas desechables o con el mayor número de éstas para cambiar; si corresponde al último caso, una vez usada la pinza se debe limpiar con toalla de papel embebida en alcohol de 95°, y flameada en un mechero para volver a usar.

Programa de Pre-embarque SAG/USDA-APHIS/ASOEX Protocolo para el Envío de Muestras Inter-Laboratorios para PCR

Si bien este procedimiento no asegura la eliminación del material genético del Pseudocóccido o huevo de Curculionido, disminuye al mínimo la posibilidad de contaminación cruzada de una muestra a otra.

Una vez seleccionada la muestra para análisis de PCR, ésta se debe colocar en una placa Petri u otro recipiente, que la mantenga separada, aislada e identificada de las otras muestras para análisis de PCR, en espera que se proceda a su fijación en el Biostamp o preparación de la muestra según se describe en el numeral **3.2** de este documento.

3.1. Preparación de la Muestra con Biostamp

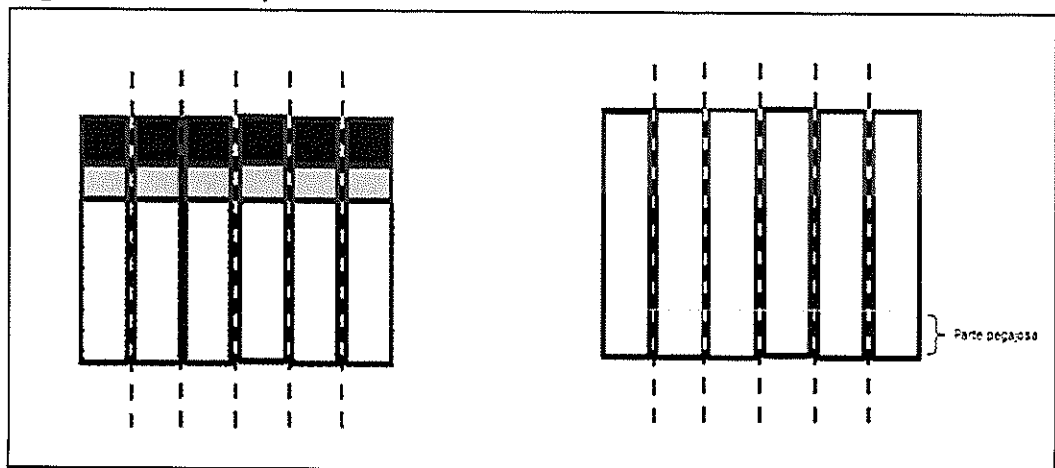
El Biostamp (Figura 1) es el medio donde se fija y almacena la muestra del Pseudococcus o huevo de Curculionido, para luego hacer la extracción de su DNA.

El Biostamp consta de una parte frontal, con dos franjas (azul y Amarilla), donde se identifica la muestra, y de una posterior, con una sección pegajosa en el extremo inferior, donde se deposita el espécimen interceptado.

Al Usar el Biostamp se debe considerar lo siguiente:

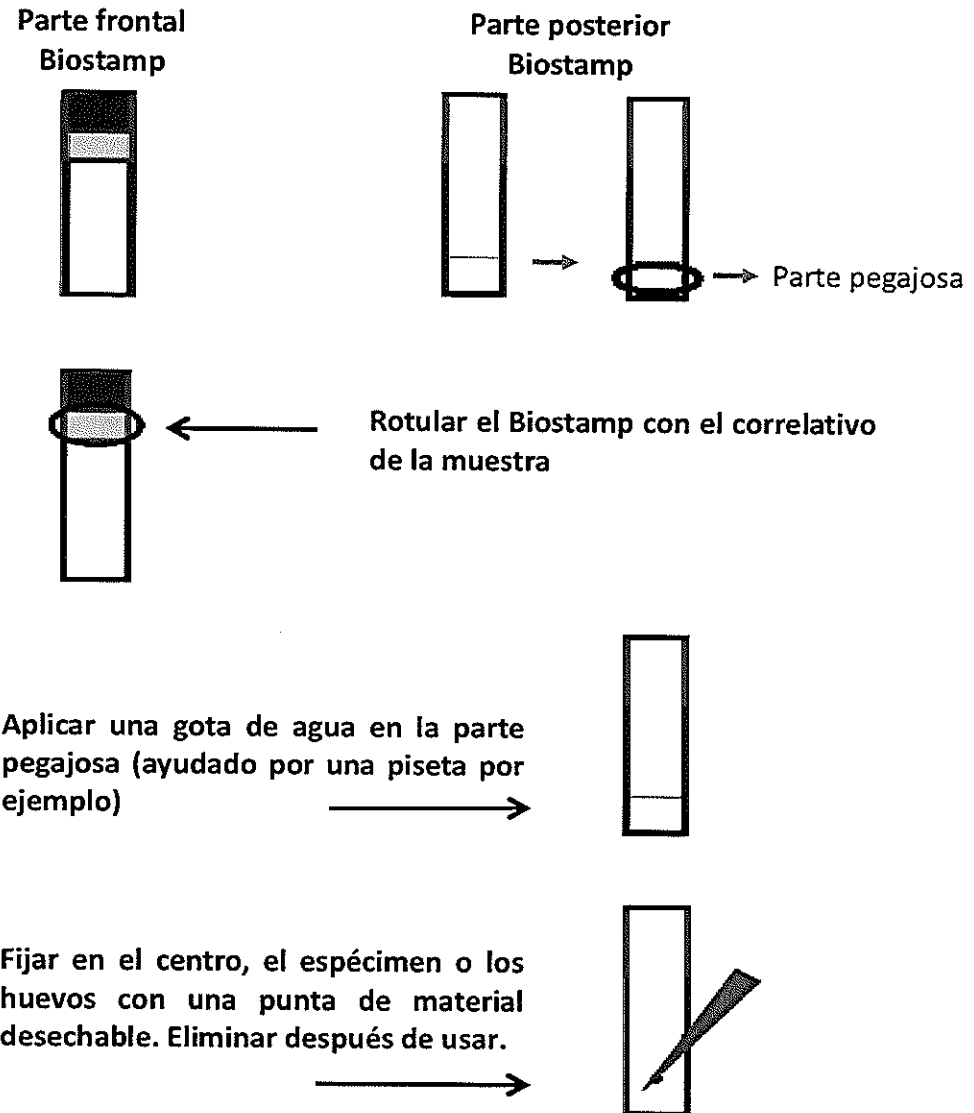
- Usar guantes, para evitar contaminaciones.
- Subdividir el Biostamp en 6 unidades, cortándolos transversalmente, evitando tocar con la mano el extremo pegajoso, que es donde se deposita la intercepción.

Figura 1. Biostamp



Programa de Pre-embarque SAG/USDA-APHIS/ASOEX Protocolo para el Envío de Muestras Inter-Laboratorios para PCR

- a) Fijar el Especimen en el El Biostamp
Para fijar el espécimen, se debe seguir la siguiente secuencia.





Programa de Pre-embarque SAG/USDA-APHIS/ASOEX Protocolo para el Envío de Muestras Inter-Laboratorios para PCR

Independientemente de la alternativa a utilizar, la muestra debe ser identificada con el número correlativo de cada Sitio, y debe estar acompañada por el formulario establecido en el Anexo 1.

En este caso, una vez llegada la muestra al Laboratorio donde se realizará el análisis de PCR se procederá a fijarla en el Biostamp.

3.3. Envío de la Muestra

Para todos los casos, la muestra debe ser transportada en un sobre con la identificación correspondiente y sellado con la Cinta roja USDA/SAG.

El transporte de la muestra será por cuenta del interesado. La persona que retire la muestra del Sitio deberá firmar el formulario "Envío de Muestras para Análisis de PCR". Una copia del formulario acompaña la muestra al Laboratorio y la otra copia queda en el Sitio.

El Entomólogo del Sitio debe avisar por correo electrónico que se ha generado el envío de una muestra al laboratorio que realizará el análisis con la finalidad de evitar extravíos y realizar el seguimiento de las muestras.

El encargado de retirar la muestra del Sitio deberá firmar además la Solicitud de Prestación de Servicios (SPS).

4. Manejo de las Muestras.

Todo el personal que maneje muestras para análisis de PCR deberá estar previamente capacitado. Los encargados para otorgar esta capacitación son:

BIOSCAN

Laboratorio Lo Aguirre

Ing. Agr. Srta. Galia Bello, Entomóloga Sitio Aeropuerto

Ing. Agr. Sra., Bernarda Reyes, Entomóloga Sitio Los Lirios

Bióloga Srta. Carolina Avendaño, Entomóloga Sitio Teno



Programa de Pre-embarque SAG/USDA-APHIS/ASOEX Protocolo para el Envío de Muestras Inter-Laboratorios para PCR

Cada Sitio debe llevar una numeración correlativa, por temporada, de las muestras generadas para análisis de PCR y también copia digital o impresa del formulario de "Envío de Muestras para Análisis de PCR".

5. Resultado Análisis

El laboratorio debe comunicar el resultado del análisis en el formulario "Envío de Muestras para Análisis de PCR", enviándolo a través de correo electrónico al Sitio de origen de la muestra, y manteniéndolo como registro.

6. Costo de los Análisis

Los análisis para identificar *Pseudococcus*, tienen su tarifa fijada por Res ex N° XXXX, del ddmmaaaa.

Los análisis de PCR, que se pueden realizar exclusivamente en Lo Aguirre, para identificar huevos de Curculionidos, tienen una tarifa fijada de 1.836 UTM.