



DOCUMENTO GENERAL

INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL MONITOREO Y ANÁLISIS DE IDENTIFICACIÓN DE LA PLAGA *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae).

INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL MONITOREO Y ANÁLISIS DE IDENTIFICACIÓN DE LA PLAGA *Drosophila suzukii* (MATSUMURA) (DIPTERA: DROSOPHILIDAE)



DOCUMENTO GENERAL

INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL MONITOREO Y ANÁLISIS DE IDENTIFICACIÓN DE LA PLAGA *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae).

1. OBJETIVOS Y ALCANCE.....	4
1.1 Monitoreo <i>D. suzukii</i>	4
1.2 Análisis de las muestras entomológicas obtenidas.	4
1.3 Aspectos generales.	5
2. REFERENCIAS Y DOCUMENTOS RELACIONADOS.	5
3. DEFINICIONES Y ABREVIATURAS.	7
4. REQUISITOS PARA LA AUTORIZACIÓN.	8
4.1 Requisitos de infraestructura, materiales, equipos y reactivos.....	8
4.1.1. Requisitos de infraestructura.	9
4.1.1.1 Para las labores relacionadas con el monitoreo de <i>D. suzukii</i> :	9
4.1.1.2 Para análisis de las muestras de insectos:.....	9
4.1.2. Requisitos de materiales, equipos y reactivos.	11
4.1.2.2 Para el análisis de las muestras de insectos recolectadas:	14
4.2 Requisitos de personal.	16
4.2.1. Para labores en terreno.	16
4.2.1.1 Responsable técnico de labores en terreno.....	16
4.2.1.2 Personal técnico que ejecutará labores en terreno.....	16
4.2.2. Para laboratorio de identificación taxonómica tradicional.	16
4.2.2.1 Responsable técnico.	16
4.2.2.2 Analista.	17
4.2.3. Para laboratorio de identificación molecular mediante técnica PCR-RFLP.	17
4.2.3.1 Responsable técnico.	17
4.2.3.2 Analista.	17
4.3 Requisitos específicos.....	18
4.4 Medios de verificación de requisitos.	19
4.4.1. Solicitud de autorización.....	19
4.4.1.1 Dossier legal y antecedentes generales.	19
4.4.1.2 Dossier técnico.	20
4.4.2. Solicitud de ampliación de la autorización como laboratorio de análisis/ensayo.	21



DOCUMENTO GENERAL

INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL MONITOREO Y ANÁLISIS DE IDENTIFICACIÓN DE LA PLAGA *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae).

4.4.3.	Solicitud de ampliación de la autorización dentro del alcance del presente Instructivo técnico.	22
4.4.4.	Solicitud de renovación de la autorización.	22
5.	ASPECTOS GENERALES DEL MONITOREO Y ANÁLISIS.....	22
5.1	Manejo del sistema de trampas.	22
5.2	Manejo de la prospección visual y muestreo de fruta.	23
5.3	Colecta de las muestras.	23
5.4	Traslado o envío de muestras desde el lugar de muestreo	23
5.5	Recepción y manejo de la muestra.....	24
5.5.1.	Recepción de la muestra.	24
5.5.2.	Metodología de diagnóstico.	24
5.6	Esterilización y eliminación de material de desecho.	24
6.	REGISTRO Y ENVÍO DE LOS RESULTADOS.	24
7.	SUPERVISIÓN DE LOS LABORATORIOS AUTORIZADOS.	26
8.	OBLIGACIONES.	27
9.	DOCUMENTOS ANEXOS Y FORMULARIOS RELACIONADOS.	27
9.1	Listado de documentos complementarios.	27
9.2	Listado de formularios relacionados.	28
9.3	Formularios que establecen formatos de documentos de uso interno de los terceros autorizados.	28



DOCUMENTO GENERAL

INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL MONITOREO Y ANÁLISIS DE IDENTIFICACIÓN DE LA PLAGA *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae).

1. OBJETIVOS Y ALCANCE.

El objetivo de este documento es establecer los requisitos, procedimientos, metodologías y obligaciones que deberán cumplir los/as interesados/as que, voluntariamente, postulen a la autorización ante el SAG para:

- A) Ejecutar el monitoreo de *Drosophila suzukii* (Matsumura) (en adelante *D. suzukii* o DS) mediante un sistema de trampas y/o prospección visual y muestreo de fruta en campo.
- B) Realizar el análisis de las muestras entomológicas obtenidas en el monitoreo y muestreo de frutos en relación a la plaga *D. suzukii*. El análisis correspondiente a los insectos capturados podrá ser mediante taxonomía tradicional en los insectos adultos, o por medio de la identificación molecular, mediante técnica PCR-RFLP para los ejemplares adultos, larvas, pupas y huevos del insecto colectados en el campo.

El alcance de la autorización que SAG otorga puede corresponder a una o más de las siguientes actividades, según lo que el postulante especifique en el formulario anexo a la solicitud, código F-ATR-AAT-196:

- Manejo del sistema de trampas.
- Manejo de la prospección visual y muestreo de fruta en campo.
- Análisis taxonómico de los ejemplares de insectos colectados en trampas y/o fruta.
- Análisis molecular de los ejemplares de insectos colectados en trampas y/o fruta.
- Otras que el Servicio determine.

1.1 Monitoreo *D. suzukii*.

Las actividades relacionadas al proceso de monitoreo de la plaga corresponden al manejo de un sistema de trampas para DS y a la prospección visual y muestreo de frutos en campo.

Las actividades relacionadas al proceso de manejo de un sistema de trampas son: instalación, mantención y revisión de trampas; colecta de muestras de insectos; prediagnóstico de *D. suzukii*, si corresponde; resguardo y envío de la muestra colectada al laboratorio autorizado para la identificación mediante metodología taxonómica o análisis molecular.

Las actividades relacionadas al proceso de prospección visual y muestreo de fruta en campo son: prospección visual de los frutos; la colecta de muestras de fruta; conservación y medidas de resguardo de la muestra; el almacenamiento de la muestra; análisis preliminar de la muestra y crianza de insectos sospechosos de DS (en caso de ser necesario) y el envío y entrega de las muestras entomológicas al laboratorio autorizado.

1.2 Análisis de las muestras entomológicas obtenidas.

Las actividades relacionadas al proceso de análisis de las muestras entomológicas por medio de taxonomía tradicional en un laboratorio autorizado son: recepción de



DOCUMENTO GENERAL

INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL MONITOREO Y ANÁLISIS DE IDENTIFICACIÓN DE LA PLAGA *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae).

muestras que contienen insectos del orden Díptera en estado adulto con sus datos de colecta correspondientes; identificación de *D. suzukii* entre los insectos que presente la muestra entomológica; consolidación de datos y entrega de resultados.

Las actividades relacionadas al proceso de análisis molecular de las muestras entomológicas en un laboratorio autorizado son: recepción de muestras conformadas por individuos en estado adulto o en estados inmaduros que son sospechosos de ser *D. suzukii* con sus datos correspondientes; manejo de la muestra/contramuestra; realización de la técnica de análisis de identificación de *D. suzukii* aplicada a individuos sospechosos de la plaga; consolidación de datos y entrega de resultados.

1.3 Aspectos generales.

Las actividades señaladas anteriormente, deben considerar la identificación y trazabilidad de las muestras durante todo el proceso, desde la toma de la muestra en campo, hasta el análisis final de la muestra y emisión de su resultado oficial.

La autorización que otorga el Servicio en las materias descritas en este Instructivo técnico es de carácter nacional y apunta a obtener información con base científica, para determinar la ausencia/presencia de la plaga mediante el monitoreo de ejemplares adultos (detección por trampas) y/o estados inmaduros (sistema de muestreo de frutas), en Chile.

Las disposiciones del presente Instructivo técnico serán aplicables a todas las personas naturales o jurídicas que voluntariamente postulen a la autorización referida en este documento.

2. REFERENCIAS Y DOCUMENTOS RELACIONADOS.

- Servicio Agrícola y Ganadero. 2020. Resolución Exenta N° 3.571, de fecha 25 de mayo de 2020, que aprueba Reglamento General del Sistema Nacional de Autorización de Terceros, o aquella que la modifique o reemplace.
- Servicio Agrícola y Ganadero. 2014. Reglamento Específico para la autorización de laboratorios de análisis/ensayos, código D-GF-CGP-PT-012, versión 04, aprobado por la Resolución Exenta N° 90, de fecha 06 de enero de 2014, o aquél que lo modifique o reemplace.
- Servicio Agrícola y Ganadero. 2017. Plan de trabajo para la Vigilancia y Manejo Integrado de la plaga *Drosophila suzukii* en huertos productivos y lugares de procesamiento de fruta hospedante. Disponible: https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/plan_de_trabajo_para_drosophila_suzukii_huertos_y_otros_julio2017.pdf.



DOCUMENTO GENERAL

INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL MONITOREO Y ANÁLISIS DE IDENTIFICACIÓN DE LA PLAGA *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae).

- Servicio Agrícola y Ganadero. 2019. Resolución Exenta N° 1.943, de fecha 15 de marzo de 2019 - que deroga Resolución N° 3.672 Exenta de 2017- que declara plaga presente con distribución restringida y establece programa de acciones de vigilancia para la plaga *Drosophila suzukii*. Disponible en: https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/resol_1943_plaga_presente_ds_15marzo2019.pdf
- Servicio Agrícola y Ganadero. 2017 Fichas técnicas: Recomendaciones para el Manejo Integrado de la Plaga Drosófila de alas manchadas (*Drosophila suzukii*) (DS). Disponible en <https://www.sag.gob.cl/ambitos-de-accion/drosophila-de-alas-manchadas-drosophila-suzukii>
- Rojas E.; Andrade J.; Concha C.; Astudillo F. 2019. Manual de reconocimiento. Estados de desarrollo de *Drosophila suzukii* (Díptera: Drosophilidae) y otras especies del género, comunes en el sur de Chile. Ministerio de Agricultura, Servicio Agrícola y Ganadero. Primera edición. 76 pp. Disponible en: https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/manual_reconocimiento_drosophila_suzukii.pdf
- Servicio Agrícola y Ganadero. 2020. TUTORIAL: Monitoreo de *Drosophila suzukii*. Disponible en: https://www.youtube.com/playlist?list=PLodp9tooY7XHgeDOCxBeRfpFOKo6VA_d7
- Kim, Sh., Tripodi, A., Johnson, D., Szalanski, A. 2014. Molecular Diagnostics of *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) using PCR-RFLP. J. Econ. Entomol. 107(3): 1292-1294.
- Biokit DNA Extractions Kit (GMO&Allergen), Neogen Europe Ltd.
- Requisitos generales para la competencia ISO 17025 de los laboratorios de ensayo y calibración. NCh 17025 Of. 2005.
- Brncic D (1957) Las especies chilenas de Drosophilidae. Colección de Monografías Biológicas, Universidad de Chile. Imprenta Stanley, Santiago, Chile. 257 pp.
- Brncic D (1987) A review of the genus *Drosophila* Fallen (Diptera, Drosophilidae) in Chile with the description of *Drosophila atacamensis* sp. nov. Revista Chilena de Entomología 15: 37-60
- Grimaldi, D. (2010). Drosophilidae (Small Fruit Flies, Pomace Flies, Vinegar Flies). In B. Brown et al, A. Borkent, J. Cumming, D. Wood, N. Woodley & M. Zumbado, Manual of Central American Diptera: Volume 2(1st ed., pp. 1197-1206). Ottawa, Ontario, Canadá: NRC Research Press.
- Vlach, J. 2013. Spotted Wing *Drosophila*: Identifying *Drosophila suzukii*. October 2013. Oregon Department of Agricultural. Disponible en <http://www.oregon.gov/ODA/shared/Documents/Publications/IPPM/SpottedWingDrosophilaIDKey.pdf>. Leído el 30 agosto 2017.



DOCUMENTO GENERAL

INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL MONITOREO Y ANÁLISIS DE IDENTIFICACIÓN DE LA PLAGA *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae).

- Buck, M., Woodley, N., Borkent, A., Wood, D., Pape, T., & Vockeroth, J. et al. (2009). Key to Diptera Families-Adults. In B. Brown, A. Borkent, J. Cumming, D. Wood, N. Woodley & M. Zumbado, Manual of Central American Diptera Volume 1 (1st ed., pp. pp95-156). Ottawa, Ontario, Canadá: NRC Research Press.
- Markow, T., & O'Grady, P. (2006). *Drosophila: A guide to species identification and use*. London: Elsevier Academic Press.
- McAlpine, J. (1981). Key to Families-Adults. In J. McAlpine, B. Peterson, G. Shewell, H. Teskey, J. Vockeroth & D. Wood, Manual of Nearctic Diptera Volume 1 (1st ed., pp. pp89-124). Ottawa, Canadá: Research Branch Agriculture Canada.
- Wheeler, M. (1987). *Drosophilidae*. In J. McAlpine, B. Peterson, G. Shewell, H. Teskey, J. Vockeroth & D. Wood, Manual of Nearctic Diptera: Volume 2 (1st ed., pp. 1011-1019). Ottawa, Canadá: Research Branch, Agriculture Canada.

3. DEFINICIONES Y ABREVIATURAS.

Sin perjuicio de las definiciones establecidas en el título 3 del Reglamento de autorización de Laboratorios de análisis/ensayos, para los efectos del presente Instructivo técnico se entenderá por:

Analista	Persona capacitada, con conocimientos de taxonomía tradicional y/o técnicas moleculares, para la identificación a nivel de especie de la plaga <i>Drosophila suzukii</i> (Matsumura). Orden Diptera, Familia Drosophilidae.
DPAFS/DSV	Sigla utilizada para denominar a la División de Protección Agrícola-Forestal y Semillas/Departamento de Sanidad Vegetal.
Díptera	Orden de insectos. Comúnmente llamadas moscas; se caracterizan por presentar un sólo par de alas en el mesotorácico, mientras que en el metatorácico las alas se reducen a un par de halterios.
Drosophilidae	Familia del orden Diptera, conocidas también como moscas del vinagre. Son moscas de pequeño tamaño, antena de arista plumosa y de alas de venas paralelas.
Drosophila	Género de la familia Drosophilidae.
DS	Sigla utilizada para denominar a <i>Drosophila suzukii</i> (Matsumura). Mosca del vinagre de alas manchadas, perteneciente a la familia Drosophilidae. En este Instructivo técnico también se utiliza la expresión <i>D. suzukii</i> .
ISO	Acrónimo de la "International Organization for Standardization" (Organización Internacional para la Estandarización).
Monitoreo	Proceso de vigilancia continuo que permite verificar la situación de una plaga mediante la instalación y revisión de trampas y el muestreo sistemático de fruta utilizada como hospedante.



DOCUMENTO GENERAL

INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL MONITOREO Y ANÁLISIS DE IDENTIFICACIÓN DE LA PLAGA *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae).

Muestreo	Actividad que consiste en la recolección de frutas o muestras vegetales que puedan contener estados inmaduros (huevo, larva, pupa) de la plaga <i>Drosophila suzukii</i> .
Muestreador	Persona capacitada y calificada para realizar labores de prospección visual y de muestreo de fruta a nivel de huerto productivo, cultivo, sitio de procesamiento de fruta hospedante u otro lugar que se considere de interés para los propósitos del monitoreo de DS.
NCh	Sigla de Norma Chilena.
PCR	Sigla de Polimerase Chain Reaction (Reacción en Cadena de la Polimerasa).
Prosector	Persona capacitada y calificada para realizar la revisión de trampas a nivel de huerto productivo, cultivo, sitio de procesamiento de fruta hospedante u otro lugar que se considere de interés para los propósitos del monitoreo de DS.
Prospección visual	Actividad que consiste en la revisión de un cultivo, huerto o planta, en forma dirigida en busca de la plaga <i>Drosophila suzukii</i> .
Revisión de trampas	Actividad desarrollada en el campo por personal capacitado (prosector) y que tiene la finalidad de recolectar la muestra de insectos capturados en las trampas. Además, y cuando sea pertinente, debe señalar que en la muestra van incluidos insectos sospechosos de ser la especie <i>Drosophila suzukii</i> .
RFLP	Siglas de Restriction Fragment Length Polimorfism (Polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción).
Servicio/SAG	Servicio Agrícola y Ganadero.
Trazabilidad de la muestra	Sistema de documentación que permite la identificación de la muestra (tanto de trampas como de fruta recolectada en campo) desde su recolección y su posterior ingreso al laboratorio hasta la emisión del resultado.

4. REQUISITOS PARA LA AUTORIZACIÓN.

4.1 Requisitos de infraestructura, materiales, equipos y reactivos.

Los postulantes a la autorización deben contar con la infraestructura, equipos y materiales establecidos en el Reglamento Específico para la autorización de laboratorios de análisis/ensayo, y los requisitos requeridos para el desarrollo de un monitoreo y análisis de DS, acorde a lo indicado en el presente documento, y según la actividad a la cual postula.

Sin perjuicio de lo anterior, el SAG se reserva el derecho de establecer otros requisitos en el transcurso del período de ejecución de las actividades y vigencia de la autorización, los cuales serán comunicados oficialmente para su implementación.

**INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL MONITOREO Y ANÁLISIS
DE IDENTIFICACIÓN DE LA PLAGA *Drosophila suzukii*
(Matsumura) (Diptera: Drosophilidae).**

4.1.1. Requisitos de infraestructura.

4.1.1.1 Para las labores relacionadas con el monitoreo de *D. suzukii*:

Las áreas de trabajo para el manejo y preparación de trampas y sus respectivos atrayentes, deben estar dispuestas de tal manera, que no se interfieran durante el desarrollo de sus actividades y que no implique el riesgo de posible contaminación del atrayente con la superficie externa de las trampas o en el lugar del cultivo.

Se recomienda dividir el espacio designado para el manejo de trampas en distintas secciones de trabajo, las que corresponden a las distintas labores que deben ser efectuadas para mantener un adecuado monitoreo en campo y las actividades asociadas a éste. Estas zonas o áreas de trabajo corresponden a:

- Zona de almacenamiento de trampas y material limpio o nuevo (sin uso) para ser utilizado. Este espacio debe estar cerrado, aislado y limpio, independiente de las demás estaciones de trabajo.
- Zona de almacenamiento y manejo del atrayente.
- Zona de recepción-lavado de trampas y material usado en terreno.
- Zona de recepción y almacenamiento de muestras colectadas en terreno (tanto para muestras entomológicas de las trampas como muestras de fruta).
- Zona de análisis preliminar de muestras de fruta y de crianza de insectos sospechosos de DS.
- Zona de prediagnóstico de las muestras entomológicas provenientes de trampas en terreno.

Los materiales de construcción del espacio de trabajo para el manejo y preparación de materiales a usar en el monitoreo deben ser inertes a los distintos tipos de insumos utilizados (ej.: alcohol, cebo atrayente), de fácil limpieza y sin grietas donde se pueden acumular residuos u otros productos químicos.

El área debe contar con un sistema seguro y adecuado de instalaciones de electricidad y agua. Debe tener desagüe y depósito de basura, y un área para realizar el lavado de las trampas que hayan sido revisadas y reemplazadas en campo, y eliminar los desechos que queden de éstas.

Las distintas zonas o áreas pueden comunicarse por puertas, cortinas o similar, permitiendo diferenciar claramente un área de otra.

4.1.1.2 Para análisis de las muestras de insectos:

- Para la identificación taxonómica tradicional en adultos, los postulantes a la autorización en este alcance deben disponer de al menos lo siguiente:
 - Las áreas del laboratorio deben ser diseñadas de modo que no se produzcan interferencias entre las distintas tareas, de manera que no exista posibilidad de confusión entre las muestras.
 - El laboratorio debe contar con áreas físicas preparadas para la realización

**INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL MONITOREO Y ANÁLISIS
DE IDENTIFICACIÓN DE LA PLAGA *Drosophila suzukii*
(Matsumura) (Diptera: Drosophilidae).**

ordenada de cada tarea y así evitar la confusión interna de las muestras. Las áreas que debe contar el laboratorio son:

- Área de recepción de muestras.
 - Área de extracción, análisis e identificación de la muestra (recolección de ejemplares desde los tubos o envases y revisión acuciosa en búsqueda de ejemplares de *Drosophila suzukii*).
 - Área de entrega de resultados y manejo de información (Trazabilidad de las muestras).
- Los materiales de construcción del laboratorio deben ser de fácil limpieza y sin grietas donde se pueden acumular residuos.
 - El laboratorio debe contar con un sistema seguro y adecuado de instalaciones de electricidad y agua. Debe contar con suficientes tomas de corriente eléctrica para asegurar el correcto funcionamiento de los equipos.
 - La circulación de las personas que ingresen o trabajen en el laboratorio debe ser unidireccional.
- Para realizar la identificación molecular mediante técnica PCR-RFLP, los postulantes a la autorización en este alcance deberán cumplir con lo siguiente:
 - Las áreas del laboratorio deben ser diseñadas de modo que no se produzcan interferencias entre las distintas tareas, de manera que no exista posibilidad de confusión de las muestras en análisis.
 - El laboratorio debe contar con áreas físicas separadas para evitar la contaminación interna con productos de PCR. Al separar las actividades de pre-PCR y post-PCR, el potencial de contaminación se reduce significativamente. Por este motivo, se recomienda dividir el espacio en las siguientes salas:
 - Recepción de muestras.
 - Procesamiento de muestras (extracción de ADN).
 - Sala limpia (preparación mezcla de reacción PCR).
 - Sala PCR (adición a la mezcla de reacción el ADN).
 - De ser posible, contar con otra sala donde se encuentren los termocicladores, y sala de electroforesis (preparación de geles de agarosa y corrida electroforética).
 - Los materiales de construcción de este laboratorio deben ser inertes a los reactivos y solventes utilizados habitualmente en este tipo de laboratorio, de fácil limpieza y sin grietas donde se pueden acumular residuos u otros productos químicos.
 - El laboratorio debe contar con un sistema seguro y adecuado de instalaciones de electricidad y agua. Debe contar con suficientes tomas de corriente eléctrica para asegurar el correcto funcionamiento de los equipos.
 - Cuando exista distintas salas o áreas separadas de trabajo, se recomienda que estas se comuniquen por puertas o cortinas que deben permanecer cerradas mientras se trabaja (generalmente puertas con brazos hidráulicos

**INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL MONITOREO Y ANÁLISIS
DE IDENTIFICACIÓN DE LA PLAGA *Drosophila suzukii*
(Matsumura) (Diptera: Drosophilidae).**

que permiten el cierre automático). La circulación en el laboratorio debe ser unidireccional.

4.1.2. Requisitos de materiales, equipos y reactivos.

4.1.2.1 Para labores relacionadas con el monitoreo de *D. suzukii*:

- Para la zona de almacenamiento de trampas y material limpio o sin uso (nuevo):
 - Estanterías y recipientes para guardar ítems clasificados según uso y mantener recuento de inventario.
- Para zona de recepción-lavado de trampas y material usado en terreno:
 - Vestimenta de seguridad y de trabajo adecuada para los prospectores y muestreadores.
 - Recipiente para recibir el material que ya ha sido usado a la espera de ser lavado para su re- utilización.
 - Estación de lavado con detergente y agua para limpiar el material.
 - Estación de secado con implementos necesarios para secar utensilios.
- Para zona de recepción y almacenamiento de muestras colectadas en terreno (muestras entomológicas y muestras de fruta):
 - Mesón para recibir las muestras y revisar que vengan con un correcto etiquetado.
 - Computador para ingresar los datos de las muestras en planilla Excel "Trampeo y análisis DS autorizados", código F-ATR-AAT -201.
 - Computador para ingresar los datos de las muestras en planilla Excel "Prospección Muestreo de fruta y análisis DS autorizados", código F-ATR-AAT-202.
 - Estantes o cajas para almacenar las muestras antes de ser llevadas a análisis en laboratorio.
- Para zona de análisis preliminar de las muestras de fruta y de crianza de insectos sospechosos de DS:
 - Mesón y sillas ergonómicas, suficientemente cómodas y adecuadas para realizar en forma eficiente el análisis preliminar de la fruta. Dicho análisis podrá ser realizado por la persona aprobada por el Servicio para desempeñar el rol de muestreador o de analista.
 - Vestimenta de seguridad y de trabajo adecuada para el personal referido en el punto anterior.
 - Luz de escritorio en adición a la iluminación de la sala para que las/os analistas puedan observar de la mejor manera las muestras.
 - "Ficha de identificación de muestra de fruta para *Drosophila suzukii*", de acuerdo al formato indicado en el formulario código F-ATR-AAT-200, que debe venir anexa a la muestra para indicar datos de ésta.
 - Bandejas adecuadas para posicionar la fruta y posibles ejemplares a ser detectados de una misma muestra.
 - Cuchillo para realizar una adecuada disección de la fruta.
 - Pincel de cerdas suaves para mover la pulpa de la fruta

**INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL MONITOREO Y ANÁLISIS
DE IDENTIFICACIÓN DE LA PLAGA *Drosophila suzukii*
(Matsumura) (Diptera: Drosophilidae).**

- cuidadosamente y buscar insectos sospechosos.
 - Puntas de disección para ayudar a manipular ejemplares.
 - Placas Petri para depositar ejemplares sospechosos.
 - Piseta con agua para mantener posibles ejemplares de DS hidratados.
 - Tubos plásticos o tubos de ensayo para la recolección y el envío de los ejemplares sospechosos de ser *D. suzukii* a análisis molecular si es necesario (con alcohol al menos 70%).
 - Lupa aumento al menos de 10X
 - Líquidos y reactivos para el manejo de muestras entomológicas.
 - Lente grande o lupa con un aumento de al menos 30x
 - Bolsas de plástico transparente sellables,
 - Pinzas para manipulación de insectos
 - Sal y azúcar morena
 - Jarros de aproximadamente 4 litros de capacidad
 - Estantería que permita mantener cajas/jaulas/envases de crianza para los insectos sospechosos de DS
 - Cajas, envases o jaulas de crianza.
 - Humidificador de sala y equipo de medición de temperatura para la crianza de insectos sospechosos de DS.
- Para zona de prediagnóstico de las muestras entomológicas provenientes de trampas en terreno.

En forma previa a enviar una muestra sospechosa con la plaga objetivo a laboratorio de identificación, se puede realizar un filtro y prediagnóstico de la muestra separando los insectos sospechosos de *D.suzukii* de otros insectos contenidos en la muestra. Los materiales requeridos son:

- Lupas estereoscópicas o de bolsillo
 - Agua destilada
 - Aguja de disección
 - Alcohol metílico ETOH 70%
 - Placas Petri
 - Marcadores permanentes
 - Pinzas de micro disección
 - Pinceles de cerdas suaves nº0,5 (0/5)
- Para el monitoreo mediante un sistema de trampas en campo:
- El/la prospector/a debe disponer de todo el equipo necesario para realizar la correcta instalación, mantención y revisión de la trampa, además de la colecta de muestras de insectos en el lugar de trabajo cuando corresponda. También debe disponer de todo el material para el almacenamiento, resguardo e identificación de las muestras a ser trasladada a un laboratorio (cuando corresponda). De este modo, debe contar al menos con lo siguiente:
- Vehículo adecuado para el transporte de los materiales y llegada a los lugares donde están instaladas las trampas.
 - Vestimenta de seguridad y de trabajo adecuada.

**INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL MONITOREO Y ANÁLISIS
DE IDENTIFICACIÓN DE LA PLAGA *Drosophila suzukii*
(Matsumura) (Diptera: Drosophilidae).**

- Colador de malla fina o filtro para insectos: permite colar el líquido del atrayente de la trampa y retener a los insectos capturados.
- Plato blanco (plástico u otro material) (opcional): recipiente que permite vaciar todos los insectos que fueron retenidos por el colador de malla fina u otro filtro para insectos, en donde se pueden observar con mayor claridad sus características de manera de distinguir algún ejemplar sospechoso.
- Pincel de cerdas suaves: permite retirar y manipular los insectos del plato blanco y también los que quedan en las paredes de la trampa y el colador o filtro, sin el peligro de deteriorarlos.
- Tubos (envases) para depositar la colecta de la trampa. Se utiliza normalmente un tubo por trampa, aunque en algunos casos, al ocurrir una alta cantidad de captura de insectos, puede ocuparse más de un tubo por trampa (con alcohol etílico al 70%). Se debe transportar a terreno al menos, la misma cantidad de tubos con alcohol que la cantidad de trampas que vayan a ser revisadas en una jornada de trabajo (en el supuesto de que todas las trampas a revisar durante la jornada capturen insectos).
- Trampas de recambio: para cada jornada de revisión de trampas, se debe llevar, adicionalmente, al menos la misma cantidad de trampas limpias de recambio que tenga el recorrido.
- Envase para el reciclaje de líquidos de desecho: el líquido del plato blanco en que son colectados los insectos o el atrayente que fue utilizado, **NO** debe ser desechado en terreno, sino que debe ser vertido en un recipiente (bidón) que se lleva para ese propósito. Posteriormente este líquido debe desecharse en el sistema de desagüe.
- Vaso de colecta plástico de boca ancha de alrededor de un litro u otro recipiente (opcional): permite el colado y posterior traspaso de los insectos colectados en forma directa al tubo de muestra.
- Tarjeta de Identificación de Trampas (TIT): cada trampa instalada en terreno debe tener una TIT, idealmente de plástico, en la que se van marcando las fechas en que se ha efectuado la revisión de la trampa.
- "Ficha de inspección de Trampas autorizadas. *Drosophila suzukii*", de acuerdo al formato indicado en el formulario código F-ATR-AAT-199. Documento que contiene toda la información relacionada a cada trampa (ubicación, fechas de revisión de trampas, situación de la trampa, etc.). Cada vez que se revisa una trampa debe anotarse la actividad realizada en este documento.
- GPS: para registro de coordenadas cada vez que la trampa sea ubicada en un nuevo lugar. Tener presente que coordenada X debe tener 6 dígitos y coordenada Y 7 dígitos Ej.: X: 241270; Y: 5646737. El GPS debe estar dispuesto en WGS84 coordenadas UTM (Huso 18 y 19 para Chile Continental, Huso 12 Isla de Pascua y Huso 17 Juan Fernández).
- Lápiz grafito y marcador.

**INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL MONITOREO Y ANÁLISIS
DE IDENTIFICACIÓN DE LA PLAGA *Drosophila suzukii*
(Matsumura) (Diptera: Drosophilidae).**

- Para monitoreo mediante prospección visual y muestreo de frutos:

El/la muestreador/a del tercero autorizado debe disponer de todo el equipo necesario para la adecuada observación de los frutos/cultivo/ planta que desea prospectar visualmente y para realizar una correcta obtención de la muestra de fruta. Además, deberá disponer de todo el material para el almacenamiento, resguardo, identificación y traslado de la muestra mientras se encuentre en el campo. De este modo, debe contar al menos con lo siguiente:

 - Vehículo adecuado para el transporte de los materiales requeridos en el muestreo de fruta y recorrer sin dificultades los lugares a recoger muestras.
 - Vestimenta de seguridad y de trabajo adecuada.
 - Bolsas de muestreo: bolsas plásticas sellables para depositar las muestras de fruta recolectadas.
 - En el caso de que las bolsas no sean sellables, se debe utilizar algún tipo de instrumento de cierre de bolsas de muestreo (cinta embalaje, scotch, corchetes u otro).
 - "Ficha de identificación de muestra de fruta para *Drosophila suzukii*", de acuerdo al formato indicado en el formulario código F-ATR-AAT-200. Esta ficha debe ir anexa a la bolsa para indicar datos de donde fue extraída la muestra.
 - Lupa de mano (al menos, con aumento de 10X).
 - Cuchillo o cortaplumas.
 - Lápiz grafito y marcador.

4.1.2.2 Para el análisis de las muestras de insectos recolectadas:

- Cada área debe tener disponible su propio material de trabajo.
- Para la determinación taxonómica tradicional, el laboratorio debe disponer de los siguientes equipos y materiales:
 - Microscopio (opcional)
 - Lupas estereoscópicas (al menos 40X)
 - Agua destilada
 - Agujas de disección
 - Alcohol metílico ETOH 70%
 - Placas Petri
 - Marcadores permanentes
 - Pinzas de micro disección
 - Pinceles de cerdas suaves n°0,5 (0/5)
- Para la identificación molecular mediante técnica PCR-RFLP, los postulantes deberán cumplir con disponer de a lo menos lo siguiente:
 - Balanza analítica de 0 a 200 gramos resolución 0,0001 gramos
 - Micropipetas de 10, 100 y 1000 µl.

INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL MONITOREO Y ANÁLISIS DE IDENTIFICACIÓN DE LA PLAGA *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae).

- Freezer que alcance temperaturas de -20°C o menores.
- Refrigerador que alcance una temperatura de 8°C ± 2°C
- Termociclador
- Cámaras de electroforesis
- Rack magnético
- Fuente de poder
- Transiluminador UV
- Estación de trabajo con luz UV
- Gabinete de bioseguridad tipo II
- Centrífugas máx. 14.000 rpm
- Mini centrífuga de mesa
- Vortex
- Cámara fotográfica
- Nano Drop o similar
- Además, cada sala debe tener su propio material disponible (pipetas, puntas con filtro, papel absorbente, microtubos, soluciones, agua libre de nucleasas, batas, guantes sin talco, etc.).

El laboratorio debe contar con los materiales y reactivos necesarios, acordes al volumen de muestras (stock suficiente para los análisis de la temporada) y que garanticen el correcto desarrollo de la técnica de análisis a realizar. Específicamente, deberá contar con el kit de extracción necesario para analizar las muestras indicadas en el alcance de la presente autorización. A continuación, se detallan algunos de los materiales y reactivos que se deben considerar como mínimo:

- Kit de extracción de ADN: Biokit DNA Extractions Kit (GMO & Allergen), Neogen, Europa Ltda. o similar
- Control positivo de *Drosophila suzukii* (el laboratorio del SAG hará entrega de los clones concentrados para su dilución antes del uso)
- Enzima de restricción: Msp I
- Puntas de micropipetas de 10, 100 y 1000 ul
- Microtubos plásticos tipo eppendorf de 1.5 ml
- Micro pistilos plásticos autoclavables
- Microtubos o placas plásticas tipo eppendorf de 0.2ul
- Partidores de acuerdo a la Tabla 1
- Agarosa grado molecular
- Enzima Taq DNA Polimerasa Platinum o similar
- Buffer TAE o TBE
- Colorante Bromuro de Etidio o Gel red
- Buffer de carga 6X
- Marcador peso molecular 100pb

Tabla 1. Partidores para la identificación de *D. suzukii*.

Nombre partidor	Secuencia 5' - 3'
LCO1490	GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G
HCO2198	TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA

**INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL MONITOREO Y ANÁLISIS
DE IDENTIFICACIÓN DE LA PLAGA *Drosophila suzukii*
(Matsumura) (Diptera: Drosophilidae).**

4.2 Requisitos de personal.

4.2.1. Para labores en terreno.

Los postulantes a la autorización deben contar con personal en calidad y cantidad suficiente acorde a lo establecido en el presente Instructivo técnico.

4.2.1.1 Responsable técnico de labores en terreno.

El postulante deberá contar con un responsable técnico, quien será la contraparte del SAG, en temas técnicos asociados a la actividad de monitoreo y deberá cumplir con el siguiente perfil:

- Poseer título profesional otorgado por una universidad reconocida por el Estado, correspondiente a una carrera de Agronomía o similar. En caso de título obtenido en el extranjero, éste deberá estar revalidado o reconocido según procedimiento establecido por el Ministerio de Educación.
- Manejo herramientas computacionales nivel usuario (Office: Word, Excel).
- Experiencia laboral en el área agrícola de al menos dos (2) años.
- Tener competencia técnica o experiencia laboral (de al menos 6 meses) comprobable.

4.2.1.2 Personal técnico que ejecutará labores en terreno.

El postulante deberá contar con una (1) o más personas encargadas de desempeñar el rol de prospector y/o muestreador, quienes deberán cumplir con el siguiente perfil:

- Poseer título profesional o técnico otorgado por una entidad de educación superior reconocida por el Estado, correspondiente al área silvoagrícolas o biológica. En caso de título obtenido en el extranjero, éste deberá estar revalidado o reconocido según procedimiento establecido por el Ministerio de Educación.
- Manejo herramientas computacionales nivel usuario (Office: Word, Excel).
- Experiencia laboral en el área agrícola de al menos dos (2) años.

Sin perjuicio de lo anterior, el Servicio podrá determinar la necesidad de realizar un curso y/o evaluación de las personas encargadas de realizar instalación, mantención y revisión de trampas, colecta de muestras de insectos, y/o la prospección visual y muestreo toma de muestras de fruta, en cualquier momento, previo al comienzo de sus actividades.

4.2.2. Para laboratorio de identificación taxonómica tradicional.

4.2.2.1 Responsable técnico.

Se deberá designar un responsable técnico, quien será la contraparte ante el SAG en temas técnicos asociados a su actividad como laboratorio autorizado y deberá

**INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL MONITOREO Y ANÁLISIS
DE IDENTIFICACIÓN DE LA PLAGA *Drosophila suzukii*
(Matsumura) (Diptera: Drosophilidae).**

cumplir con los siguientes requerimientos:

- Poseer título profesional otorgado por una entidad reconocida por el Estado, correspondiente a una de las siguientes carreras: Ingeniero Agrónomo, Ingeniero Forestal o Biólogo. En caso de título obtenido en el extranjero, éste deberá estar revalidado o reconocido según procedimiento establecido por el Ministerio de Educación.
- Experiencia laboral en el área de laboratorios de al menos dos (2) años.
- Tener experiencia laboral (de al menos 6 meses) comprobable en la identificación y diagnóstico entomológico.

4.2.2.2 Analista.

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 silvoagrícola, 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 o reconocido según procedimiento establecido por el Ministerio de Educación.
- Tener competencia técnica o experiencia laboral (de al menos 1 año) comprobable en diagnósticos entomológicos.

4.2.3. Para laboratorio de identificación molecular mediante técnica PCR-RFLP.

4.2.3.1 Responsable técnico.

El laboratorio debe contar con un responsable técnico, quien será la contraparte del SAG, en temas técnicos asociados a su actividad como laboratorio autorizado y deberá cumplir con el siguiente perfil:

- Poseer título profesional otorgado por una entidad reconocida por el Estado, correspondiente a una carrera de las ciencias bioquímicas, biotecnológicas o biológicas. 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 diagnósticos por PCR.

4.2.3.2 Analista.

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 silvoagrícola, biológica o afín, impartida por una entidad de enseñanza superior reconocida por el Estado. En caso de título



DOCUMENTO GENERAL

INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL MONITOREO Y ANÁLISIS DE IDENTIFICACIÓN DE LA PLAGA *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae).

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 diagnósticos por PCR.

Sin perjuicio del análisis al cual postula, el laboratorio, previendo una eventual ausencia del responsable técnico o del o los analistas, podrá postular a otras personas para que actúen en ausencia del o los titulares, en calidad de subrogante. En tal caso, el laboratorio deberá solicitarlo por escrito, presentando al Servicio la documentación que demuestre que ese personal cumple con el perfil para desempeñar el cargo.

4.3 Requisitos específicos.

Los postulantes a la autorización deben cumplir tanto con lo establecido en el Reglamento Específico para la autorización de laboratorios de análisis/ensayos, como con lo indicado en el presente Instructivo técnico, según la actividad a la cual postulan.

Respecto de las labores relacionadas con el proceso de monitoreo (sistema de trapeo; prospección visual y muestreo de fruta; incluyendo la toma, conservación, almacenamiento, envío y entrega de las muestras al laboratorio), se deberá contar con un manual de procedimientos que describa en forma detallada el proceso de trabajo y que contenga la documentación que se detalla a continuación, la cual debe ser presentada ante el Servicio al momento de realizar la postulación:

- Instructivo/s técnico/s de instalación y revisión de trampas.
- Instructivo manejo de muestras involucradas en el alcance de la autorización.
- Instructivo de toma de muestras de fruta.
- Instructivo de análisis preliminar de muestras de fruta.
- Instructivo eliminación y descontaminación de residuos y materiales de monitoreo y análisis de muestras de fruta.
- Instructivo aseo y limpieza de zonas de trabajo.
- Programa de monitoreo calendarizado.

Asimismo, los laboratorios postulantes para los análisis taxonómicos tradicionales o análisis molecular deben contar con un sistema de gestión de calidad o aseguramiento de calidad implementado, basado en buenas prácticas de laboratorio. En este sentido, debe contar con un manual de procedimientos que describa en forma detallada el proceso de análisis y con la siguiente documentación:

- Instructivo de las técnicas diagnósticas a las que postula.
- Instructivo manejo de muestras y contramuestras involucradas en el alcance de la autorización.
- Instructivo eliminación y descontaminación de residuos y materiales.
- Instructivo aseo y limpieza de laboratorios.
- Instructivo de control de equipos.
- Lista e identificación de los equipos y materiales, utilizados en la realización de los análisis a los que postula, incluyendo: nombre del equipo, marca,

**INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL MONITOREO Y ANÁLISIS
DE IDENTIFICACIÓN DE LA PLAGA *Drosophila suzukii*
(Matsumura) (Diptera: Drosophilidae).**

modelo, serie, capacidad, fecha de recepción y puesta en servicio, según corresponda.

- Programa de mantención, verificación y calibración de los equipos involucrados en el alcance de la autorización.
- Registros de la calibración de los equipos involucrados en el alcance de la autorización.
- Instructivos de uso de los equipos involucrados en el alcance de la autorización.
- Procedimiento para el rechazo de muestras no aptas para su procesamiento, según formato código D-ATR-AAT-074.
- Procedimiento de entrega de resultados, según documento D-ATR-AAT-074.

El tercero deberá contar con timbres para ser utilizados en el marco de la autorización, que consignen el nombre del laboratorio al que representa.

4.4 Medios de verificación de requisitos.

Los interesados en postular para realizar el monitoreo y análisis de identificación de la plaga *Drosophila suzukii*, deberán presentar la documentación en razón a lo establecido en el 6.1 del Reglamento Específico para la autorización de laboratorios de análisis/ensayos y, adicionalmente, la documentación técnica que se encuentra estipulada en el presente Instructivo técnico según la actividad a la cual postulan.

4.4.1. Solicitud de autorización.

Se debe presentar el formulario de Solicitud de autorización de laboratorios de análisis/ensayo, código F-GF-CGP-PT-068 o aquél que lo reemplace, según versión vigente disponible en el sitio Web del SAG, www.sag.gob.cl, y el Formulario anexo a la solicitud de autorización, código F-ATR-AAT-196. Además, se debe adjuntar la siguiente documentación, ordenada según lo siguiente y lo que corresponda:

4.4.1.1 Dossier legal y antecedentes generales.

Los documentos que se describen a continuación corresponden al dossier legal y de antecedentes generales especificados en el numeral 6.1 del Reglamento específico para la autorización de laboratorios de análisis/ensayo, los cuales sólo se deben presentar en el caso de que sea la primera autorización en el ámbito de laboratorios de análisis/ensayo. Si el laboratorio ya se encuentra autorizado en otro alcance bajo el Reglamento Específico mencionado anteriormente, corresponde tramitar la solicitud como una ampliación de conformidad con lo dispuesto en el numeral 4.4.2 del presente Instructivo técnico y numeral 13 del mencionado Reglamento Específico.

- i) Fotocopia por ambos lados de la cédula de identidad del postulante.
- ii) Fotocopia del rol único tributario de la persona jurídica y de la cédula de identidad por ambos lados, del respectivo representante legal o documento de identificación oficial para el caso de extranjeros.

**INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL MONITOREO Y ANÁLISIS
DE IDENTIFICACIÓN DE LA PLAGA *Drosophila suzukii*
(Matsumura) (Diptera: Drosophilidae).**

- iii) Declaración jurada simple, según formato establecido en el formulario código F-ATR-AAT-312, aplicable tanto para personas naturales como personas jurídicas, el cual se encuentra disponible en el sitio Web del SAG, www.sag.gob.cl.
- iv) Copia del comprobante del pago realizado por concepto de postulación a la autorización ante el SAG, de acuerdo al sistema tarifario vigente.
- v) Autorización de publicación de datos de terceros autorizados ante el SAG, para fines institucionales, firmada por el/la postulante o su representante legal en el caso de tratarse de persona jurídica, según formato establecido en el formulario código F-ATR-AAT-314, el cual se encuentra disponible en el sitio Web del SAG, www.sag.gob.cl.
- vi) Fotocopia de la escritura social de constitución, con sus respectivas modificaciones si las hubiere, fotocopia de la publicación de extracto respectivo cuando corresponda, y certificado de vigencia de la persona jurídica emitido por la autoridad competente. Al momento de la postulación este certificado deberá tener una antigüedad no superior a 30 días corridos.
- vii) Documento que acredite la personería del representante legal para actuar en nombre del postulante, y certificado de vigencia del mandato con una antigüedad no superior a 30 días corridos.

Adicionalmente, y de conformidad con la ley N° 19.913, que crea la Unidad de Análisis Financiero y modifica diversas disposiciones en materia de lavado y blanqueo de activos, el o los representantes legales del postulante deben presentar la "Declaración de vínculo con personas expuestas políticamente (PEP)", conforme al formato establecido por la Unidad de Análisis Financiero (UAF) del Ministerio de Hacienda, que se encuentra disponible en su sitio web, <https://www.uaf.cl/legislacion/politica.aspx>.

4.4.1.2 Dossier técnico.

Deberá incluir a lo menos la siguiente información:

- a) Croquis del laboratorio y/o lugar de trabajo para el monitoreo, identificando uso de áreas y ubicación de equipos.
- b) Organigrama del personal.
- c) Formulario de identificación del responsable técnico, según formato establecido en el Reglamento Específico para la autorización de laboratorios de Análisis/Ensayos, correspondiente al formulario de identificación del responsable técnico F-GF-CGP-PT-069 o aquél que lo reemplace según versión vigente disponible en el sitio Web del SAG, www.sag.gob.cl.
- d) Formulario de identificación de personal que realizará labores de terreno y del personal vinculado a él o los análisis a los que postula, según formato del Formulario de identificación de personal, código F-ATR-AAT-197, indicando nombre completo, número de cédula de identidad, firma, y las funciones o actividades que cada uno de ellos ejecutará.

**INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL MONITOREO Y ANÁLISIS
DE IDENTIFICACIÓN DE LA PLAGA *Drosophila suzukii*
(Matsumura) (Diptera: Drosophilidae).**

- e) Certificado de título del responsable técnico identificado en el formulario respectivo, en original.
- f) Certificado de título o de egreso de los/los analistas identificados en el formulario respectivo, en original.
- g) Documentos que garanticen la competencia técnica y/o experiencia laboral de la totalidad del personal (responsable técnico, analista, prospector, muestreador).
- h) Copia simple del plano o croquis de las distintas zonas de almacenamiento y manejo de materiales, trampas y muestras colectadas.
- i) Procedimientos o instructivos de acuerdo a lo señalado en el numeral 4.3 de este Instructivo técnico.
- j) Lista de equipos, indicando nombre, marca, modelo, fecha de puesta en servicio, fecha de última mantención realizada por una empresa de certificación formal externa acreditada por la entidad correspondiente.
- k) Lista de materiales, reactivos y material de referencia requeridos para el diagnóstico de cada muestra, según el protocolo o análisis para los cuales postulará.
- l) Manual de procedimientos de manejo, revisión y análisis de muestras.

Sin perjuicio de la presentación de la documentación anterior, el cumplimiento de los requisitos descritos tanto en el Reglamento Específico para la autorización de laboratorios de análisis/ensayos, como en este Instructivo técnico, serán confirmados por el Servicio en la visita de verificación de requisitos. Asimismo, en la visita de verificación, el SAG solicitará al postulante (en el caso que aplique), el análisis de muestras control, mediante la ejecución de la/s técnica/s solicitada/s a autorizar, ya sea por parte de uno o más analistas del laboratorio, según determine el supervisor SAG.

4.4.2. Solicitud de ampliación de la autorización como laboratorio de análisis/ensayo.

Un tercero con autorización vigente como laboratorio de análisis/ensayo en otros ámbitos, podrá solicitar al SAG la ampliación de su autorización para incorporar una o más de las actividades que forman parte del alcance regulado por el presente Instructivo técnico.

Para ello debe presentar la correspondiente solicitud de ampliación, utilizando el formulario F-GF-CGP-PT-075, o aquél que lo reemplace, según versión vigente disponible en el sitio Web del SAG, www.sag.gob.cl, y el formulario anexo a la solicitud de autorización, código F-ATR-AAT-196. Además, debe acompañar la documentación que conforma el dossier técnico, según lo descrito en el numeral 4.4.1.2 del presente Instructivo técnico.

**INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL MONITOREO Y ANÁLISIS
DE IDENTIFICACIÓN DE LA PLAGA *Drosophila suzukii*
(Matsumura) (Diptera: Drosophilidae).**

4.4.3. Solicitud de ampliación de la autorización dentro del alcance del presente Instructivo técnico.

Un tercero autorizado en el ámbito del monitoreo y análisis de la plaga *Drosophila suzukii* podrá solicitar la ampliación del alcance de su autorización, en los siguientes casos:

- a) Para incorporar nueva actividad dentro del monitoreo de *Drosophila suzukii*.
- b) Para incorporar nueva metodología de análisis para la identificación de insectos sospechosos de ser *D. suzukii*.

La ampliación de la autorización requerirá la presentación por parte del tercero autorizado, de la correspondiente solicitud, utilizando el formulario F-GF-CGP-PT-075, o aquél que lo reemplace, según versión vigente disponible en el sitio Web del SAG, www.sag.gob.cl, y el formulario anexo a la solicitud de autorización, código F-ATR-AAT-196. Además, debe acompañar la documentación del dossier técnico que aplique, según lo descrito en el numeral 4.4.1.2 del presente Instructivo técnico.

4.4.4. Solicitud de renovación de la autorización.

Para elevar la solicitud de renovación se deberá seguir el procedimiento establecido y utilizar el formulario F-GF-CGP-PT-073 o aquél que lo reemplace, según versión vigente disponible en el sitio Web del SAG, www.sag.gob.cl, y el formulario F-ATR-AAT-196 del presente Instructivo técnico. Además, debe acompañar la documentación que indique el Reglamento específico para la autorización de laboratorios de análisis/ensayo.

La renovación de la autorización quedará supeditada a la emisión de un informe que indique que el tercero autorizado no posee "No Conformidades" que afectan el desempeño, conforme a las especificaciones contenidas en este Instructivo técnico y Reglamento específico para la autorización de laboratorios de análisis/ensayos.

5. ASPECTOS GENERALES DEL MONITOREO Y ANÁLISIS.

Todas las actividades ejecutadas por el tercero en el marco de su autorización deben ser realizadas de acuerdo a lo establecido en el presente Instructivo técnico, debiendo cumplir en particular con lo siguiente, según las actividades comprendidas en el alcance de la autorización:

5.1 Manejo del sistema de trampas.

El sistema de trampeo debe informarse al SAG de acuerdo a lo establecido en el documento anexo D-ATR-AAT-070 y D-ATR-AAT-071, referidos a la instalación, revisión y mantención de trampas que contienen un atrayente adecuado para la detección de la plaga. El monitoreo con trampas permite determinar la ausencia, presencia y/o nivel poblacional de individuos adultos de la plaga en los lugares donde son instaladas.

INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL MONITOREO Y ANÁLISIS DE IDENTIFICACIÓN DE LA PLAGA *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae).

5.2 Manejo de la prospección visual y muestreo de fruta.

La prospección visual y el muestreo de fruta hospedante tienen como propósito determinar la ausencia o presencia de individuos en estado inmaduro de *Drosophila suzukii*, ya sean huevos, larvas o pupas.

La actividad será informada al SAG según lo normado en el documento D-ATR-AAT-091, en los huertos/cultivos o plantas de fruta hospedante o potencialmente hospedante. También será efectuada esta actividad en la vegetación que presente fruta en estado infestable (fruta hospedante y potencialmente hospedante) y que se encuentre inmediatamente colindante al huerto/cultivo o lugar de monitoreo.

5.3 Colecta de las muestras.

Las actividades de monitoreo de la plaga cuyo resultado es la captación (colecta) de muestras de insectos sospechosos de DS, pueden ser efectuadas por prospectores del tercero autorizado, empresas, productores y también por particulares, de acuerdo a los procedimientos establecidos por el Servicio en los documentos técnicos complementarios del presente Instructivo técnico correspondientes a D-ATR-AAT-071 y D-ATR-AAT-091.

Las muestras serán enviadas a los laboratorios autorizados debidamente etiquetadas para su identificación. Con cada muestra enviada a laboratorio debe ser adjuntada la siguiente documentación, dependiendo del tipo de muestra:

- Si la muestra corresponde a estados adultos de la plaga (colectados en trampas), debe adjuntarse a cada muestra enviada una copia digital y/o en papel de la planilla Excel denominada "Trampeo y análisis DS autorizados", código F-ATR-AAT-201, en la cual debe completarse la información requerida en la hoja de cálculo denominada "Datos trampas" y también debe ser completado lo que sea aplicable en la hoja de cálculo denominada "Revisiones trampas". Ambas hojas de cálculo forman parte de la misma planilla. También podrán ser ocupados otros formularios dispuestos o aceptados previamente por el Servicio para tal efecto.
- Si la muestra corresponde a estados inmaduros de la plaga (colectados a partir de la prospección visual y/o muestreo de fruta), debe adjuntarse a cada muestra enviada una copia digital y/o en papel de la planilla en Formato Excel denominada "Prospección, muestreo de fruta y análisis DS autorizados", código F-ATR-AAT-202. También podrán ser ocupados otros formularios dispuestos o aceptados previamente por el Servicio para tal efecto.

5.4 Traslado o envío de muestras desde el lugar de muestreo

El despacho o traslado de la/s muestra/s, desde el lugar en donde ésta fue colectada hasta las dependencias de laboratorio autorizado, será de responsabilidad de cada tercero autorizado a cargo del monitoreo de la plaga. Sin perjuicio de lo anterior, podrá utilizar los servicios de una empresa de transporte de encomiendas o courier reconocida a nivel nacional, establecida legalmente, que garantice el envío en el tiempo y que mantenga las condiciones de temperatura adecuadas (mantención de cadena de frío de ser necesario).

**INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL MONITOREO Y ANÁLISIS
DE IDENTIFICACIÓN DE LA PLAGA *Drosophila suzukii*
(Matsumura) (Diptera: Drosophilidae).**

5.5 Recepción y manejo de la muestra.

5.5.1. Recepción de la muestra.

El plazo para recepcionar la muestra en el laboratorio autorizado, no debe superar el tiempo establecido en el documento D-ATR-AAT-071 y D-ATR-AAT-091.

Posteriormente, el responsable técnico del laboratorio autorizado deberá evaluar la condición de la muestra para el análisis, considerándose como muestra apta, aquella que se encuentra adecuadamente etiquetada, presenta la información de respaldo correspondiente, no presenta signos evidentes de deshidratación y/o descomposición, u otras situaciones contempladas en el procedimiento.

Si la muestra presenta condiciones de embalaje inadecuadas o no apta para análisis, ésta debe ser rechazada.

Las muestras deberán ser conservadas, hasta el momento del análisis, según lo establezcan los documentos para el monitoreo e identificación de *Drosophila suzukii* correspondientes a D-ATR-AAT-071 y D-ATR-AAT-091.

5.5.2. Metodología de diagnóstico.

El laboratorio autorizado deberá realizar los análisis mediante la/s metodología/s establecida/s en el documento al cual desea postular:

- D-ATR-AAT-92: Identificación de estados adultos de *Drosophila suzukii* a través de taxonomía tradicional.
- D-ATR-AAT-74: identificación molecular de *Drosophila suzukii* mediante técnica PCR-RFLP a partir de adultos, larvas, pupas y huevos.

5.6 Esterilización y eliminación de material de desecho.

El material vegetal de desecho, debe ser eliminado de forma segura y sin riesgo de dispersión de la plaga acorde a los documentos técnicos respectivos, citados en el punto 9, para el monitoreo e identificación de *Drosophila suzukii*, sin dejar residuos en el laboratorio.

El material contenido en las muestras que han sido colectadas en trampas y que resultaron ser negativas a la presencia de *Drosophila suzukii* deben ser eliminadas en forma segura, sin riesgo de contaminar otras muestras, e idealmente a través de la red de alcantarillado.

6. REGISTRO Y ENVÍO DE LOS RESULTADOS.

Los terceros autorizados deberán cumplir con lo establecido en el título 8 del Reglamento específico para la autorización de laboratorios de análisis/ensayo, versión vigente, y con lo establecido en el presente Instructivo técnico.

Asimismo, los resultados obtenidos del análisis de muestras deberán ser informados al SAG de acuerdo a lo indicado en los siguientes documentos técnicos complementarios:

**INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL MONITOREO Y ANÁLISIS
DE IDENTIFICACIÓN DE LA PLAGA *Drosophila suzukii*
(Matsumura) (Diptera: Drosophilidae).**

- D-ATR-AAT-92: Identificación de estados adultos de *Drosophila suzukii* a través de taxonomía tradicional.
- D-ATR-AAT-74: identificación molecular de *Drosophila suzukii* mediante técnica PCR-RFLP a partir de adultos, larvas, pupas y huevos

En caso de que el laboratorio autorizado determine una o más muestras positivas a la especie *Drosophila suzukii*, debe realizar el siguiente procedimiento:

- Durante los primeros 10 días hábiles de cada mes, enviar la información mensual de las actividades respectivas efectuadas durante el mes previo. Además, en forma trimestral (los primeros 15 días hábiles del mes de enero, abril, julio y octubre), enviar los resultados acumulados de las actividades respectivas efectuadas durante la temporada en curso. La información debe enviarse en los archivos digitales, de acuerdo al formato Excel establecido en los formularios denominados "Trampeo y análisis DS autorizados" (código F-ATR-AAT-201) y "Prospección visual, muestreo de fruta y análisis DS autorizados" (código F-ATR-AAT-202), a DPAFS/DSV-Subdepartamento Moscas de la Fruta, al correo drosophila.suzukii@sag.gob.cl, y al Laboratorio SAG regional y/o encargado/a regional de Protección Agrícola-Forestal y Semillas, según lo que corresponda.
- Para aquellas capturas de la plaga correspondientes a nuevos puntos de detección (puntos donde anteriormente no se hayan presentado detecciones), desde la recepción de la muestra por parte del laboratorio de análisis hasta la recepción de los resultados de análisis en el SAG Central, no debe exceder los 7 días corridos.
- Los resultados de capturas de la plaga correspondientes a nuevos puntos de detección, deben ser enviadas a SAG en formato digital en planilla Excel denominada "Nuevas Detecciones DS autorizados" (código F-ATR-AAT-203) al correo drosophila.suzukii@sag.gob.cl.
- Notificar y enviar la(s) muestra(s) con ejemplares positivos al Laboratorio Regional SAG establecido, o según indicación que determine el Servicio.
- Notificar al Laboratorio Mosca de la Fruta del Nivel Central sobre el envío de la(s) muestra(s) con ejemplares positivos al SAG regional.
- Informar al usuario que envió la muestra para análisis, sobre el resultado de la misma.

A su vez el laboratorio autorizado, deberá conservar por un período de 5 años, copia de los resultados de los análisis. Estos registros deberán ser mantenidos en forma documental (digital y/o impreso), en las dependencias del tercero autorizado y deberá estar disponible para las supervisiones que realice el Servicio.

Cualquier anomalía que el laboratorio autorizado perciba en los análisis, deberá informarla al Servicio.

Los informes de resultados de análisis de muestras deben ser emitidos con el timbre de laboratorio (digital y/o impreso), la fecha de emisión del informe y con el nombre y firma del responsable técnico del laboratorio (digital y/o impreso).



DOCUMENTO GENERAL

INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL MONITOREO Y ANÁLISIS DE IDENTIFICACIÓN DE LA PLAGA *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae).

7. SUPERVISIÓN DE LOS LABORATORIOS AUTORIZADOS.

De conformidad con lo señalado en el Reglamento General del Sistema Nacional de Autorización de Terceros, el Reglamento específico para la autorización de laboratorios de análisis/ensayo, convenio de autorización y el presente Instructivo técnico, todo laboratorio autorizado será supervisado por el SAG, a través de al menos una visita de supervisión al año a las dependencias del laboratorio y mediante pruebas de capacidad (pruebas de aptitud u otras) en cualquier momento, para verificar que continúan cumpliendo con las normas de rendimiento, y en general con todas las condiciones que permitieron su autorización.

Por cada visita de supervisión se generará un informe según formato código F-ATR-AAT-198.

Junto con lo anterior, se realizarán supervisiones en forma indirecta, para lo cual se solicitará el envío de contramuestras para el estudio de concordancia respectivo, con una frecuencia anual, o cuando el Servicio lo estime conveniente. Asimismo, el laboratorio oficial SAG podrá coordinar con los laboratorios autorizados, pruebas de capacidad o rondas interlaboratorios, para evaluar el desempeño de los analistas, los muestreadores y los prospectores, cuando aplique para cada caso. De no obtenerse una buena concordancia en los resultados, se programará una visita de supervisión para verificar la conducción de un test de evaluación.

En caso de detectarse no conformidades en el desempeño del tercero, el Servicio indicará en el informe de supervisión u otro documento por escrito, los puntos a subsanar y el plazo correspondiente para cada una de éstas. Cumplido dicho plazo, el Servicio realizará supervisiones adicionales, las cuales podrán ser presenciales o documentales, dependiendo del tipo de la no conformidad, que tendrá como objeto verificar que cada no conformidad fue subsanada.

En caso de no haberse corregido las no conformidades detectadas en los correspondientes plazos establecidos, procederá aplicar una medida por incumplimiento conforme a lo indicado en el título VI Reglamento General del Sistema Nacional de Autorización de Terceros.

Por cada una de las supervisiones presenciales adicionales que el Servicio deba realizar para verificar que las no conformidades fueron subsanadas, el tercero autorizado deberá pagar la tarifa respectiva por cada una de ellas, salvo que la supervisión presencial adicional sea por un objetivo distinto determinado por el Servicio, tal como realizar seguimiento a resultados o acciones específicas efectuadas por el tercero autorizado, entre otras, en que la supervisión no tendrá cobro alguno.

En el caso que los supervisores SAG detecten no conformidades y/o incumplimientos reiterados, y se deben al actuar del responsable técnico, analista u otro personal del tercero autorizado, el Servicio podrá instruir por escrito al tercero, que postule a una nueva persona para desempeñar el cargo, la cual deberá cumplir con los requisitos establecidos según ámbito de acción.

DOCUMENTO GENERAL

INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL MONITOREO Y ANÁLISIS DE IDENTIFICACIÓN DE LA PLAGA *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae).

Sin perjuicio de lo anterior, el laboratorio autorizado deberá estar dispuesto a recibir supervisiones adicionales, en cualquier momento, ya sea auditorías nacionales y/o internacionales, asimismo el Encargado de la Supervisión SAG del laboratorio autorizado, podrá solicitar a este último, en cualquier momento, analizar un set de muestras, tanto positivas como negativas para verificar la ejecución del análisis.

Las acciones de supervisión anteriores se efectuarán sin perjuicio de las facultades de fiscalización que tiene el Servicio.

8. OBLIGACIONES.

El tercero autorizado deberá cumplir con las obligaciones establecidas en el Reglamento General del Sistema Nacional de Autorización de Terceros, Convenio de Autorización, Reglamento Específico para la autorización de laboratorios de análisis/ensayos y las siguientes obligaciones específicas del presente Instructivo Técnico:

- En caso de desperfecto de algún equipamiento que implique un retraso en la ejecución de los análisis, el tercero autorizado deberá informar al Servicio (Subdepartamento Moscas de la Fruta), correo electrónico (drosophila.suzukii@sag.gob.cl), indicando la cantidad de muestras que quedaron con el análisis comprometido, las medidas correctivas a implementar y el tiempo de reinicio del servicio.

9. DOCUMENTOS ANEXOS Y FORMULARIOS RELACIONADOS.

9.1 Listado de documentos complementarios.

Código	Nombre del documento complementario
D-ATR-AAT-70	Instrucciones para completar planilla trampeo y análisis <i>Drosophila suzukii</i> autorizados
D-ATR-AAT-71	Implementación sistema de trampeo
D-ATR-AAT-91	Implementación Sistema prospección visual y el muestreo de fruta
D-ATR-AAT-92	Identificación de estados adultos de <i>Drosophila suzukii</i> a través de taxonomía tradicional
D-ATR-AAT-74	Identificación molecular de <i>Drosophila suzukii</i> mediante técnica PCR-RFLP a partir de adultos, larvas, pupas y huevos
D-ATR-AAT-75	Listado de hospedantes de la plaga <i>Drosophila suzukii</i>

INSTRUCTIVO TÉCNICO PARA EL MONITOREO Y ANÁLISIS DE IDENTIFICACIÓN DE LA PLAGA *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae).

9.2 Listado de formularios relacionados.

Código	Nombre del formulario
F-GF-CGP-PT-068 o aquel que lo reemplace	Formulario solicitud de autorización de laboratorios de análisis/ensayo.
F-GF-CGP-PT-069 o aquel que lo reemplace	Formulario de identificación de responsable técnico.
F-GF-CGP-PT-073 o aquel que lo reemplace	Formulario solicitud de renovación de la autorización.
F-GF-CGP-PT-074 o aquel que lo reemplace	Declaración jurada simple para la renovación de la autorización de laboratorios.
F-GF-CGP-PT-075 o aquel que lo reemplace	Formulario solicitud de ampliación de la autorización de laboratorios.
F-ATR-AAT-312	Formulario declaración jurada simple para la autorización (personas naturales y jurídicas).
F-ATR-AAT-314	Autorización de publicación de datos de terceros autorizados ante el SAG.
F-ATR-AAT-196	Formulario anexo para el monitoreo y análisis de la plaga <i>Drosophila suzukii</i> .
F-ATR-AAT-197	Formulario de identificación del personal.
F-ATR-AAT-198	Informe de supervisión para el monitoreo y análisis <i>Drosophila suzukii</i> .
F-ATR-AAT-201	Trampeo y análisis DS autorizados.
F-ATR-AAT-202	Prospección, muestreo de fruta y análisis DS autorizados.
F-ATR-AAT-203	Planilla Nuevas detecciones DS autorizados.

9.3 Formularios que establecen formatos de documentos de uso interno de los terceros autorizados.

Se debe utilizar solo el formato establecido.

Código	Nombre del formulario
F-ATR-AAT-199	Ficha de inspección de trampas autorizados <i>Drosophila suzukii</i>
F-ATR-AAT-200	Ficha identificación de muestra de fruta <i>Drosophila suzukii</i> .