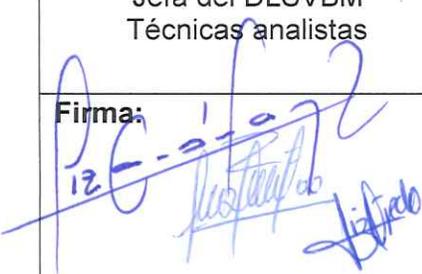
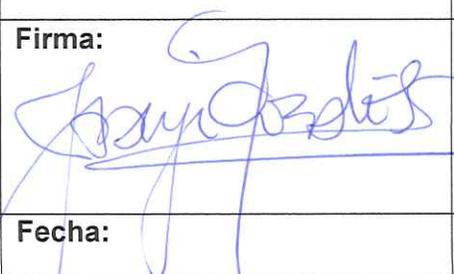




PROCESAMIENTO DE MUESTRAS

Código: PRO-DLSVBM-301
Emisor: DL-DLSVBM
Versión: 01
Vigente: 17/08/2023
Página : 1 de 7

PROCESAMIENTO DE MUESTRAS

MODIFICADO POR	VERIFICADO POR	APROBADO POR
Nombre y Apellido: M.Sc Carolina Garay Lic. Luz Morales Ing. Liz Ojeda	Nombre y Apellido: Dra. Jadiyi Torales	Nombre y Apellido: Ing. Agr. César Rivas
Cargo: Jefa del DLSVBM Técnicas analistas	Cargo: Directora de Laboratorios	Cargo: Director General Técnico
Firma: 	Firma: 	Firma: 
Fecha:	Fecha:	Fecha: 17/08/2023



PROCESAMIENTO DE MUESTRAS

Código: PRO-DLSVBM-301
Emisor: DL-DLSVBM
Versión: 01
Vigente: **A 08/2023**
Página : 2 de 7

1. OBJETIVO

Establecer el procedimiento para el procesamiento de muestras ingresadas en el Departamento de Laboratorio de Sanidad Vegetal y Biología Molecular con fines de ensayo.

2. ALCANCE

Procedimiento aplicable a toda muestra que ingrese al DLSVBM con fines de ensayo.

3. SIGLAS Y DEFINICIONES

3.1 Siglas.

3.1.1 DLSVBM: Departamento de Laboratorio de Sanidad Vegetal y Biología Molecular

3.1.2 DLSyCV Departamento de Laboratorio de Semillas y Calidad Vegetal

3.1.3 DL: Dirección de Laboratorio

3.1.4 SENAVE: Servicio Nacional de Calidad y Sanidad Vegetal y de Semillas

3.1.5 SILAB: Sistema informático del Laboratorio

3.1.6 IOA: Inspector Oficial Autorizado

3.2. Definiciones

3.2.1 Áreas de ensayo: Áreas dependientes del Laboratorio especializadas para los diferentes tipos de ensayo: Área de Entomología y Acarología, Área de moscas de las frutas, Área de Fitopatología y Área de Biología Molecular

3.2.2 Muestra: son plantas enteras o partes de ella como hojas, tallos, raíz; frutos; semillas; productos y subproductos de origen vegetal; suelo; especímenes entomológicos, trampas (amarillas o laminillas pegajosas con especímenes) que ingresan al Laboratorio con fines de ensayo.

3.2.3 Ensayo: exanimación minuciosa y pormenorizada de una muestra a fin de determinar el organismo causante del problema a través de procedimientos establecidos para el efecto.

3.2.4 Ensayos fitopatológicos: Ensayos realizados en las áreas de micología, bacteriología, virología y nematología.

3.2.5 Procesamiento: proceso que sigue la muestra desde el ingreso al Área de ensayo hasta la obtención del resultado. Incluye, la preparación de la muestra, la observación, el ensayo propiamente dicho y la evaluación del resultado.

3.2.6 Trampas adhesivas cromáticas: se utilizan para atraer y atrapar a los insectos. Se utilizan principalmente en invernaderos, jardines, cultivos al aire libre, en almacenes de frutas y verduras, etc. con fines de monitoreo de plagas, estas pueden ser de color amarillo o azul.

4. RESPONSABILIDAD

Es responsabilidad del técnico analista el procesamiento de las muestras y el registro de los resultados cumplimiento del presente procedimiento.



PROCESAMIENTO DE MUESTRAS

Código: PRO-DLSVBM-301

Emisor: DL-DLSVBM

Versión: 01

Vigente: 17/08/2023

Página : 3 de 7

5. ACTIVIDADES

Las muestras ingresan a las áreas de ensayo acompañadas por el formulario destinado para cada tipo de ensayo. En caso de solicitudes de ensayos en la cual involucren diferentes áreas, acompaña a la muestra el FOR-DLSVBM-327 Registro interno de ensayo.

5.1 Procesamiento de muestras vegetales

Las muestras deben ser preferentemente frescas y con la cantidad mínima necesaria para su procesamiento y sin ningún tipo de deterioro que pongan en riesgo el resultado del ensayo. Una vez procesada, el resultado deberá ser registrado en el Formulario FOR-DLSVBM-327 Registro interno de ensayo.

Aquellas muestras vegetales cuyos ensayos están establecidos por Biología Molecular ingresan al área de ensayo con el FOR-DLSVBM-332 Registro interno de ensayos de Biología Molecular.

Las muestras para diagnóstico de HLB deben ser hojas frescas (de 15 a 20 hojas) sin presentar síntomas de oxidación, limpios y sin contaminantes y en lo posible con síntomas visibles de la plaga, también pueden ser muestras de nervaduras acondicionadas en alcohol al 70%.

Las contra muestras de HLB con resultado positivo estas sean material vegetal triturado o ADN son acondicionadas en tubos criogénicos a una Temperatura 4°C y de -20°C respectivamente con el N° de Mesa de Entrada por un periodo de al menos seis meses.

5.2 Procesamiento de muestras de insectos

Las muestras ingresan al laboratorio para su procesamiento acompañadas por el FOR-DLSVBM-333 Registro Interno de Ensayos Entomológicos o el FOR-DLSVBM-343 "Registro Interno de ensayo Moscas de la fruta" según corresponda al tipo de ensayo solicitado. Para el caso de registro de resultados en formato digital, para el área de moscas de las frutas se cuenta el FOR-DLSVBM-304 Registro de ensayo - Moscas de la fruta.

El técnico analista es el encargado del procesamiento y su registro en el formulario correspondiente.

5.2.1 Insectos muertos

Las muestras ingresadas al Laboratorio de moscas de la fruta, deben estar sumergidas en alcohol a los 70%, preferentemente enteras a fin de facilitar su identificación. Estas se registran en el FOR-DLSVBM-343 "Registro Interno de ensayo Moscas de la fruta".

Las muestras de *Diaphorina citri*, ingresadas con fines de identificación de HLB, primero se deberá confirmar la presencia del insecto en la muestra y registrar en el FOR-DLSVBM-333 Registro interno de ensayos entomológicos y luego derivar al área de Biología Molecular para el ensayo correspondiente acompañado del FOR-DLSVBM-332 Registro interno de ensayos de biología molecular

Para muestras de insectos muertos en estados inmaduros acondicionar en alcohol al 70%.

5.2.2 Insectos vivos

Para insectos vivos de *Diaphorina citri*, colocar el frasco con muestra en el freezer durante al menos 1 hora, luego se transvasa en los tubos tipo eppendorf y se sigue el procedimiento mencionado en el punto 5.2.1.



PROCESAMIENTO DE MUESTRAS

Código: PRO-DLSVBM-301

Emisor: DL-DLSVBM

Versión: 01

Vigente: 17/08/2023

Página : 4 de 7

Para muestras de artrópodos (insectos, ácaros, etc. adultos) es importante tener en cuenta el tipo de insecto como se describe a continuación:

- a) Los chinches, grillos, escamas, moscas y hormigas deben ser conservados en alcohol antiséptico, preferentemente en frascos de boca ancha, limpios y que tengan cierre hermético. Los frascos deben estar completamente llenos de alcohol para evitar deterioro de los especímenes.
- b) Las mariposas y polillas estas deben ser acondicionadas en sobres de papel con las alas extendidas o plegadas, cuidando de no dañar o romper las alas y de no tocarlas con los dedos.

Para aquellas muestras de estados inmaduros vivos y acompañados de suficiente material vegetal son acondicionados en frascos de plástico, aireadas para su posterior cría a temperatura ambiente e identificación en estado adulto. Evitar manipular excesivamente las muestras.

El técnico analista es el encargado de verificar el estado de las muestras para su procesamiento, en el caso de que estos no cumplan con los requisitos establecidos, las mismas serán registradas en el Formulario correspondiente.

5.2.3 Muestras de insectos en trampas pegajosas

Las trampas deben estar limpias y sin ningún material adherido a la misma (papel, adhesivo, polietileno etc) de manera a poder retirar los insectos con facilidad y puedan ser analizadas.

5.3 Muestras de granos/semillas/frutos

Para granos/semillas/frutos, la muestra debe ser de tamaño igual o superior a 2 kilogramos, del mismo modo, aquellas muestras cuya cantidad es muy inferior a la requerida, esta podrá ser analizada según criterio técnico del analista y registrado su peso en el formulario de ensayo. Los resultados que generen estas muestras serán registrados en el formulario correspondiente al ensayo solicitado.

Las muestras cuyo ensayo solicitado corresponde solo para el área de entomología, deberán estar acompañadas por el FOR-DLSVBM-333 Registro Interno de Ensayos Entomológicos, sin embargo, si estas aparte del ensayo entomológico, se solicita otros ensayos, deberá acompañara a la muestra el FOR-DLSVBM-327 Registro interno de ensayo.

Para granos/semillas/frutos, la muestra debe ser de tamaño igual o superior a 2 kilogramos, del mismo modo, aquellas muestras cuya cantidad es muy inferior a la requerida, esta podrá ser analizada según criterio técnico del analista y registrado su peso en el formulario de ensayo. Los resultados que generen estas muestras serán registrados en el formulario correspondiente al ensayo solicitado.

Nota: Para todos los casos, el procesamiento de muestras en estado de descomposición en la cual no se pueda realizar el ensayo, se registra dicha condición en el Formulario correspondiente para cada área.

Una vez procesadas las muestras, las contra muestras de aquellas que necesitan ser almacenadas estas sean por procedimiento establecido o a solicitud del usuario son acondicionadas y conservados.

Las contra muestras de ensayos con fines de Certificación de Exportación son resguardados por un plazo de al menos 6 (seis meses). El peso de la muestra será reducido a 1Kg para su almacenamiento.

[Handwritten signatures]



PROCESAMIENTO DE MUESTRAS

Código: PRO-DLSVBM-301
Emisor: DL-DLSVBM
Versión: 01
Vigente: 17/08/2023
Página : 5 de 7

El procesamiento será realizado según procedimiento establecido para cada tipo de ensayo. Las muestras sujetas a confirmaciones de resultado, ya sea por la variación de tiempo en el crecimiento de los microorganismos, contaminaciones, repeticiones, confirmación de especie a través de consultas, Interlaboratorio o por algún otro motivo establecido en los procedimientos, serán registradas como resultado preliminar hasta tanto se llegue al resultado final.

5.3 Almacenamiento

Las muestras que no estén sujetas a rápida descomposición, tales como granos, semillas, y provenientes de acciones judiciales, decomisos o con fines de certificación de exportación, serán almacenadas en el Laboratorio por un periodo de 6 (seis) meses y registradas en el FOR-DLSVBM-324 Planilla de almacenamiento de muestras. Pasado este tiempo, podrán ser eliminadas siguiendo el procedimiento establecido para el efecto.

Nota: Cuando las muestras no son procesadas en el día de recepción, ya sea por sobre carga de trabajo, o por recepciones al termino del día laboral o fin de semana, o cualquier otro motivo que impida su procesamiento, estas serán almacenadas y conservadas en la heladera del Laboratorio. En el caso que la cantidad de muestra supera la capacidad de almacenamiento, estas serán conservadas en un lugar fresco con las condiciones mínimas necesarias de temperatura y humedad.

6. CONTROL DE CAMBIOS

Ítem	Página	Cambios
		Este procedimiento se encontraba en su versión 10 y se adecua el formato conforme a la Resolución SENAVE N° 230/2023 PRO-DSGC-001 "Control de documentos" versión 05.

7. REFERENCIAS

No aplica

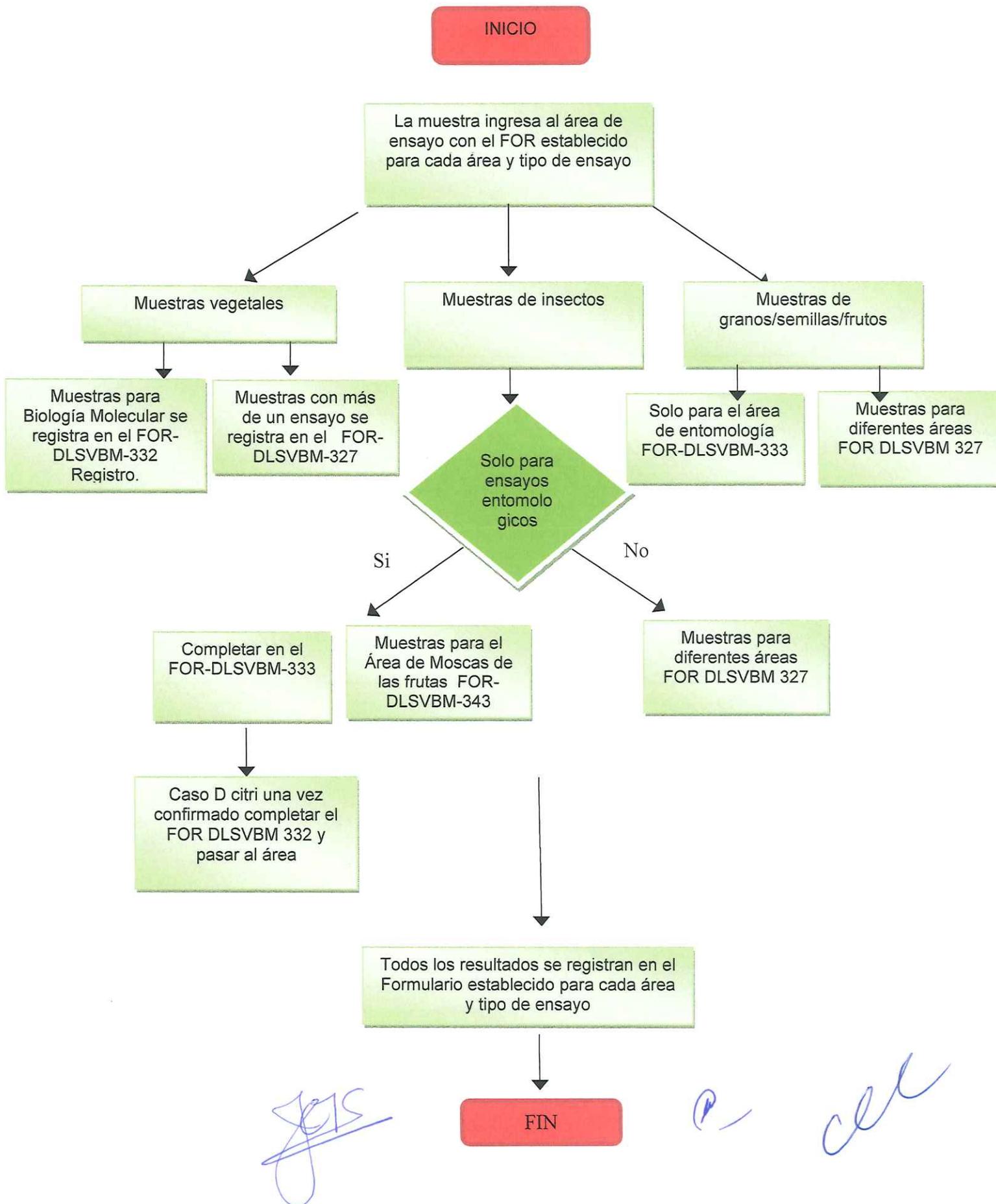
8. DOCUMENTO

Nombre del Registro	Código	Área de archivo	Responsables	Tiempo de retención por dependencia	Disposición final
Registro interno de ensayo	FOR-DLSVBM-327	Sala de archivos DLSVBM	Analista	5 años	Eliminación
Registro de ensayos - Moscas de las frutas	FOR-DLSVBM-304	Archivo digital de Moscas de la fruta	Analista	5 años	Eliminación
Registro Interno de Ensayos de Moscas de la Fruta	FOR-DLSVBM-343	Área de Gabinete	Analista	5 años	Eliminación
Registro interno de ensayo de Biología Molecular	FOR-DLSVBM-332	Sala de archivos DLSVBM	Analista	5 años	Eliminación
Registro interno de ensayo entomológico.	FOR-DLSVBM-333	Sala de archivos DLSVBM	Analista	5 años	Eliminación
Planilla de almacenamiento de muestras	FOR-DLSVBM-324	Sala de archivos DLSVBM	Analista	5 años	Eliminación

[Handwritten signatures and initials]

9. ANEXOS

ANEXO 1
FLUJOGRAMA



	PROCESAMIENTO DE MUESTRAS	Código: PRO-DLSVBM-301 Emisor: DL-DLSVBM Versión: 01 Vigente: 17/08/2023 Página : 7 de 7
---	----------------------------------	---

ANEXO 2

METODOS UTILIZADOS:

CODIGO	REFERENCIA
M01	PRO-DLSVBM-311 Identificación taxonómica de especies de moscas de la fruta (Díptera: Tephritidae) mediante caracteres morfológicos
M02	PRO-DLSVBM-309 Diagnostico Por PCR Convencional
M03	PRO-DLSVBM-312 Diagnóstico de HLB por PCR en Tiempo Real
M04	Manual de Fitopatología H.Kimati, et all 1997.
M05	H.L.Barnett. Descriptions and Illustrations
M06	Fungos Fitopatogénicos Menezes M. 1993
M07	Manual de Fitopatología. Galli, F. et all. 1980
M08	G. Llácer. Patologia Vegetal. Tomos I y II
M09	Guide to Plant Pathogenic Bacteria, Bradbury J. F. 1986
M10	Manual de Laboratorio Diagnóstico de Hongos, bacterias y nematodos Fitopatógenos. 1991.
M11	Mathur. S.B. 2003.Common Laboratory Seed Health Testing Methods for Detecting Fungi.
M12	K.M. Ahmed. 1993. A pictorial guide to the identification of seedborne fungi of Sorghum, Pearl millet, Finger millet, Chickpea, Pigeonpea, and Groundnut
M 13	Utilización de Clave de Identificación Entomológica
M 14	Clave Para Determinar Géneros de Nematodes del Suelo de la República de Argentina Chaves, E. J. et al. s/d.
M 15	Pictorial Key to genera of plant- parasitic nematodes. W.F. MAI – 1975
M16	Método estadístico del Programa SEEDCALc 7.1
M17	LOPEZ, C.A 1994. Enfermedades del tomate
M18	MCCOLLOCH, L.O et al. Enfermedades de tomates, pimientos y berenjenas para el mercado
M19	Zillinsky, F.J. 1984 Guía para la identificación de enfermedades en cereales de grano pequeño
M20	Freitas, A.S. et al.2014. Sanidade de raizes
M21	Manual técnico Roya de la soja. Morel P., Wilfrido, 2005
M22	PRO-DLSVBM-323 Ensayo entomológico en granos almacenados y/o semillas
M23	PRO-DLSVBM-325 Análisis bacteriológico en vegetales
M24	PRO-DLSVBM-326 Preparación de medios de cultivo para bacterias fitopatógenas.
M25	PRO-DLSVBM-327 Identificación de nematodos fitopatógenos
M26	PRO-DLSVBM-328 Identificación de hongos fitopatógenos
M26	PRO-DLSVBM-313 Extracción de ADN