

Informe Anual - 2008

LABORATORIO



SALUD PUBLICA VETERINÁRIA

Centro Panamericano de Fiebre Aftosa - OPS/OMS

INFORME ANUAL 2008
LABORATORIO



**Organización
Panamericana
de la Salud**

Oficina Regional de la
Organización Mundial de la Salud

SALUD PÚBLICA VETERINARIA
Centro Panamericano de Fiebre Aftosa – OPS/OMS

CONTENIDO

RESUMEN	5
1. Tipo de tests usados, objetivo y número aproximado	7
2. Reporte de ocurrencias y de muestras enviadas por los países	7
3. Suministro de reactivos de referencia para diagnóstico	14
4. Armonización regional y dinámica operativa de la red de laboratorios de América del Sur	16
5. Armonización internacional, estandarización de métodos de diagnóstico y control de vacuna e implementación de sistemas de calidad.	17
6. Preparación y suministro de estándares de referencia regional e internacional	17
7. Investigación	18
8. Eventos internacionales.....	19
9. Capacitaciones y discusiones técnicas.....	20
10. Participación en proyectos colaborativos a nivel regional e internacional.....	23
11. Disseminación de información: presentaciones a congresos y publicaciones.....	23

INFORME ANUAL 2008

LABORATORIO

RESUMEN

En el año 2008 el laboratorio de llevado a cabo sus actividades como Laboratorio de Referencia de OIE para enfermedades vesiculares, dentro del marco de la colaboración en la Red de Laboratorios de Referencia Nacionales de América del Sur. Se ha brindado cooperación técnica relacionada al diagnóstico, vigilancia y control de biológicos enfermedades vesiculares y también en relación a zoonosis emergentes. Las actividades de armonización regional e internacional de procedimientos de diagnóstico e implantación de sistemas de gestión de calidad, incluyendo biocontención fueron reforzadas. Asimismo, se brindaron capacitaciones a través de la ejecución de 10 módulos cubriendo las áreas de diagnóstico, epidemiología molecular, serovigilancia y control de vacuna para enfermedades vesiculares y zoonosis emergentes (Influenza aviar y BSE) .

Se participó en reuniones de expertos de FAO y OIE, consolidando la posición de la región en el ámbito internacional y promoviendo las interacciones con otros organismos de referencia.

Se cumplieron las actividades de referencia, incluyendo caracterización de muestras, provisión de biológicos y kits diagnósticos, capacitaciones, asesorías a consultas y divulgación de información.

A continuación se describen las principales actividades realizadas y los resultados alcanzados durante el 2008.

1. TIPO DE TESTS USADOS, OBJETIVO Y NÚMERO APROXIMADO

Test	Para detección	Diagnóstico /Vigilancia	Control de Vacunas	Control de Calidad de kits/biológicos	Investigación	Total
Aislamiento Viral	Virus infeccioso	24		12	72	108
ELISA-CFL (FA)	Anticuerpos	90	59	690	220	1,059
ELISA-CFL (EV)	Anticuerpos	33		96	32	161
ELISA-SI (FA/EV)	Antígenos	24		24	80	128
ELISA Inhibición 3ABC	Antígeno 3ABC				17.820	17.820
I-ELISA 3ABC/EITB (FA)	Anticuerpos			24.354/3.828	350	24.704 /3.828
ELISA Enf. Diferenc. (Lengua Azul, IBR)	Anticuerpos			30		30
Inmunohistoquímica	Antígeno				10	10
Inmunoperoxidasa	Antígeno				5	5
IDGA (FA)	Anticuerpos			250		250
IDGA Lengua Azul	Anticuerpos			10		10
VN50% (EV)	Anticuerpos	14		6		20
VN50% (FA)	Anticuerpos		20	8	12	40
FC 50% (FA/EV)	Antígenos	39		4	80	123
PCR FA (3D)	RNA	0	0	0	4	4
PCR FA (VP1)	RNA	26	0	10	45	81
Secuenciamiento FA	RNA	8	0	4	8	20
PCR EV	RNA	10	0	4	53	67
Secuenciamiento EV	RNA	10	0	4	8	22
PCR/ secuenciamiento Lengua Azul	RNA	0	0	0	10	10

2. REPORTE DE OCURRENCIAS Y DE MUESTRAS ENVIADAS POR LOS PAÍSES

2.1. Reporte del número de rebaños con enfermedades vesiculares en América del Sur en 2008 (hasta semana 46)

A continuación se resume el número de focos de Fiebre Aftosa y Estomatitis Vesicular, año 2008, reportados por los países de América del Sur al Sistema Continental de Información y Vigilancia de PANAFTOSA.

País	Rebaños afectados por Fiebre Aftosa (#)				FA Total
	Virus O	Virus A	Virus C	Diag. Clínico/epidem.	
Colombia	4	3	-	-	7
Ecuador	14	-	-	-	14
Venezuela	20	27	-	-	47
Total	38	30	-	-	68

#. Hasta semana 46

País	Rebaños afectados con Estomatitis Vesicular #			EV Tot
	New Jersey	Indiana	Diag. Clin	
Brasil	-	4		4
Colombia	96	13	27	136
Ecuador	4	5		9
Perú	2	10		12
Venezuela	25	1		26
Total	127	33	27	187

#. Hasta semana 46

El resto de los países de Sudamérica, no reportó ocurrencia de enfermedades Vesiculares en el período mencionado

2.2. Diagnóstico/caracterización de muestras recibidas/procesadas en el año 2008.

PANAFTOSA dio apoyo al Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), Colombia, realizando estudios de aislamiento viral, caracterización antigénica y molecular de 35 muestras de LEF correspondientes a las emergencias de Fiebre Aftosa ocurridas en las localidades de Cúcuta (20 muestras) y Sardinata (15 muestras), Norte de Santander (Tabla A.1.).

Asimismo, se dio apoyo al SESA Ecuador, realizando estudios de aislamiento viral, caracterización antigénica y molecular de 2 muestras de epitelio bucal provenientes de eventos de Fiebre Aftosa, en las Provincias de Esmeralda y Los Ríos (Tabla A.2.), y realizando estudios moleculares en 3 muestras adicionales, remitidas en trizol, de epitelios correspondientes a casos de Estomatitis Vesicular ocurridas en las provincias de Los Ríos, Z. Chinchipe y Pichincha (Tabla B.1.). También se colaboró con el MAPA, Brasil en la caracterización de 10 muestras de epitelios con sospecha de Estomatitis Vesicular, remitidas ya inactivadas en Trizol, provenientes de los estados de Goiás, Mato Grosso, Pernambuco y Piauí (Tabla B.2.). También fueron analizadas 11 muestras de sueros de bovinos y equinos por prueba de virus neutralización para identificación de anticuerpos de estomatitis vesicular, resultando todas las muestras negativas a todos los serotipos de estomatitis vesicular. Debido a dificultades logísticas, se registraron demoras en el envío de las muestras correspondientes a los episodios ocurridos en 2008 en Venezuela, por lo cual las mismas se recibirán en PANAFTOSA a inicio del año 2009.

Para aislamiento viral las muestras fueron procesadas e inoculadas en cultivos celulares IB-RS-II y BHK-21 (monocapa y suspensión). Los estudios antigénicos e inmunogénicos se llevaron a cabo mediante determinación de relaciones r y estimativa de protección con paneles de sueros de referencia de animales vacunados mediante ELISA CFL. Para los estudios moleculares, se efectuó la amplificación específica por PCR y el secuenciamiento del gen que codifica para la proteína VP1 (gen 1D - Fiebre Aftosa).

Los resultados de caracterización antigénica de las muestras recibidas se muestran en la Figura 1., y los estudios de relaciones filogenéticas utilizando el método de Neighbour-Joining, implementado en el programa MEGA 4 se muestran en: Figura 2, Fiebre Aftosa Tipo O y Figura 3, Fiebre Aftosa Tipo A.

A – FIEBRE AFTOSA – muestras de episodios ocurridos en 2008

A.1. COLOMBIA

Código del País	Localidad	Especie	Aislamiento viral	PCR del LEF (a)
13	Cúcuta/N. de Santander	LEF/Bovino	FA-Virus O	Negativo
21	Cúcuta/N. de Santander	LEF/Bovino	FA-Virus O	FA-Virus O
1	Cúcuta/N. de Santander	LEF/Bovino	Negativo	FA-Virus O (*)
16	Cúcuta/N. de Santander	LEF/Bovino	FA-Virus O	Negativo
9	Cúcuta/N. de Santander	LEF/Bovino	Negativo	Negativo
28	Cúcuta/N. de Santander	LEF/Bovino	Negativo	Negativo
15	Cúcuta/N. de Santander	LEF/Bovino	FA-Virus O	Negativo
29	Cúcuta/N. de Santander	LEF/Bovino	FA-Virus O	Negativo
2	Cúcuta/N. de Santander	LEF/Bovino	FA-Virus O	Negativo
24	Cúcuta/N. de Santander	LEF/Bovino	Negativo	Negativo
30	Cúcuta/N. de Santander	LEF/Bovino	FA-Virus O	Negativo
Payasita	Cúcuta/N. de Santander	LEF/Bovino	FA-Virus O	FA-Virus O (*)
Melcocho	Cúcuta/N. de Santander	LEF/Bovino	FA-Virus O	FA-Virus O
El Chivo	Cúcuta/N. de Santander	LEF/Bovino	Negativo	Negativo
Arquimedes	Cúcuta/N. de Santander	LEF/Bovino	FA-Virus O	Negativo
Lechuzo	Cúcuta/N. de Santander	LEF/Bovino	Negativo	Negativo
Hijo Margot	Cúcuta/N. de Santander	LEF/Bovino	Negativo	Negativo
NN	Cúcuta/N. de Santander	LEF/Bovino	FA-Virus O	Negativo
Mosin	Cúcuta/N. de Santander	LEF/Bovino	Negativo	Negativo
Jana	Cúcuta/N. de Santander	LEF/Bovino	Negativo	Negativo
542106	Sardinata/N. de Santander	LEF/Bovino	AV pendiente/en proceso	FA-Virus A (*)
541171	Sardinata/N. de Santander	LEF/Bovino	AV pendiente/en proceso	FA-Virus A (*)
541090	Sardinata/N. de Santander	LEF/Bovino	AV pendiente/en proceso	Neg
541331	Sardinata/N. de Santander	LEF/Bovino	AV pendiente/en proceso	Neg
542114	Sardinata/N. de Santander	LEF/Bovino	AV pendiente/en proceso	FA-Virus A (*)
542105	Sardinata/N. de Santander	LEF/Bovino	AV pendiente/en proceso	Neg
541102	Sardinata/N. de Santander	LEF/Bovino	AV pendiente/en proceso	Neg
541101	Sardinata/N. de Santander	LEF/Bovino	AV pendiente/en proceso	FA-Virus A (*)

541164	Sardinata/N. de Santander	LEF/Bovino	AV pendiente/en proceso	Neg
542115	Sardinata/N. de Santander	LEF/Bovino	AV pendiente/en proceso	Neg
541088	Sardinata/N. de Santander	LEF/Bovino	AV pendiente/en proceso	Neg
542111	Sardinata/N. de Santander	LEF/Bovino	AV pendiente/en proceso	FA-Virus A
541172	Sardinata/N. de Santander	LEF/Bovino	AV pendiente/en proceso	FA-Virus A (*)
541180	Sardinata/N. de Santander	LEF/Bovino	AV pendiente/en proceso	FA-Virus A (*)
542110	Sardinata/N. de Santander	LEF/Bovino	AV pendiente/en proceso	FA-Virus A

(a): Todos los aislamientos virales resultaron PCR positivos en el tercer pasaje de BHK

(*): Virus secuenciado. Resultados en figuras 2 y 3

A.2. ECUADOR

Código del País	Provincia	Especie	Aislamiento Viral	PCR del epitelio
11/08	Esmeraldas	Bovino	FA-Virus O	FA-Virus O(*)
14/08	Los Rios	Bovino	Negativo	FA-Virus O(*)

(*): Virus secuenciado. Resultados en figura 2

B – ESTOMATITIS VESICULAR - muestras de episodios ocurridos en 2008

B.1. ECUADOR

Código del País	Provincia	Especie	Aislamiento Viral	PCR del epitelio
2/08	Los Rios	Bovino	NR(a)	EV-NJ
3/08	Z. Chinchipe	Bovino	NR(a)	EV-NJ
10/08	Pichincha	Bovino	EV-Indiana 1	EV-Indiana 1

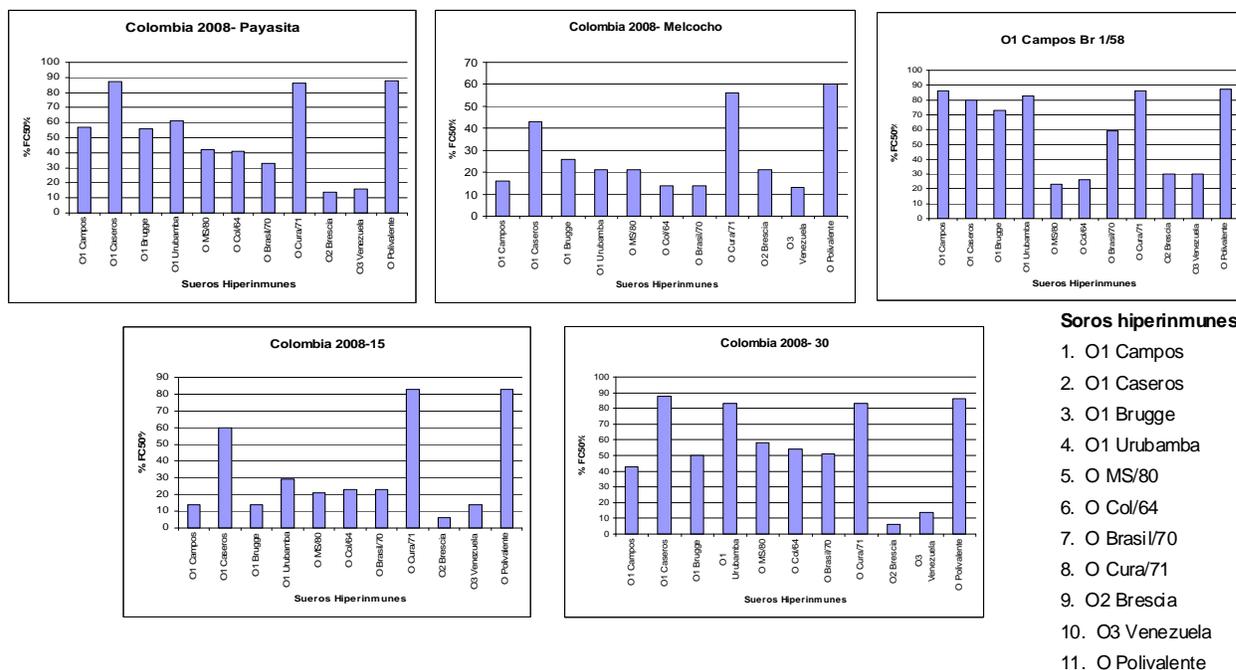
(a): NR, solo fueron remitidas muestras ya inactivadas en trizol

B.2. BRASIL

Código del País	Localidad	Especie	Aislamiento Viral	PCR del epitelio
055/08 Estrelinha EsEstrelinhaEstrelinha	Cocalinho/Mato Grosso	Bovino	NR(a)	Negativa FA y EV
072/08	Cocalinho/Mato	Porcino	NR(a)	EV-Ind 3
075/08	Cocalinho/Mato	Bovino	NR(a)	Negativa FA y EV Negativa -
232/08	Petrolina/Pernambuc	Bovino	NR(a)	EV-Ind 3
294/08	Cavalcante/Goias	Bovino	NR(a)	EV-Ind 3
312/08	Cocalinho/Mato	Bovino	NR(a)	Negativa FA y EV Negativa -
326/08	R. do Gurguéia/Piauí	Bovino	NR(a)	Negativa FA y EV Negativa -
055/08 Rolinha	Cocalinho/Mato Grosso	Bovino	NR(a)	EV-Ind 3

(a): NR: no realizado solo fueron remitidas muestras ya inactivadas en trizol

Figura 1. Perfil antigénico, determinado por subtipificación en fijación de complemento 50%, relaciones serológicas "r1" y EPP frente al banco de sueros de bovinos 30 dpv y 30 dpR, de cepas FA O-Colombia 2008



Relación serológica y cobertura de cepa vacunal O1 Campos Br/58

Cepa	"r1"
O Colombia/08 Payasita	0.54
O Colombia/08 Melcocho	0.28
O Colombia/08 15	0.46
O Colombia/08 30	0.5
O1 Campos Br/58	1

Cepa	EPP	
	30 dpV	30 dpR
O Colombia/08 30	87.39	98.23

Figura 2. Relaciones filogenéticas, determinadas con la secuencia completa de la región que codifica para la proteína VP1 (639n), para el Virus de la Fiebre Aftosa, tipo O

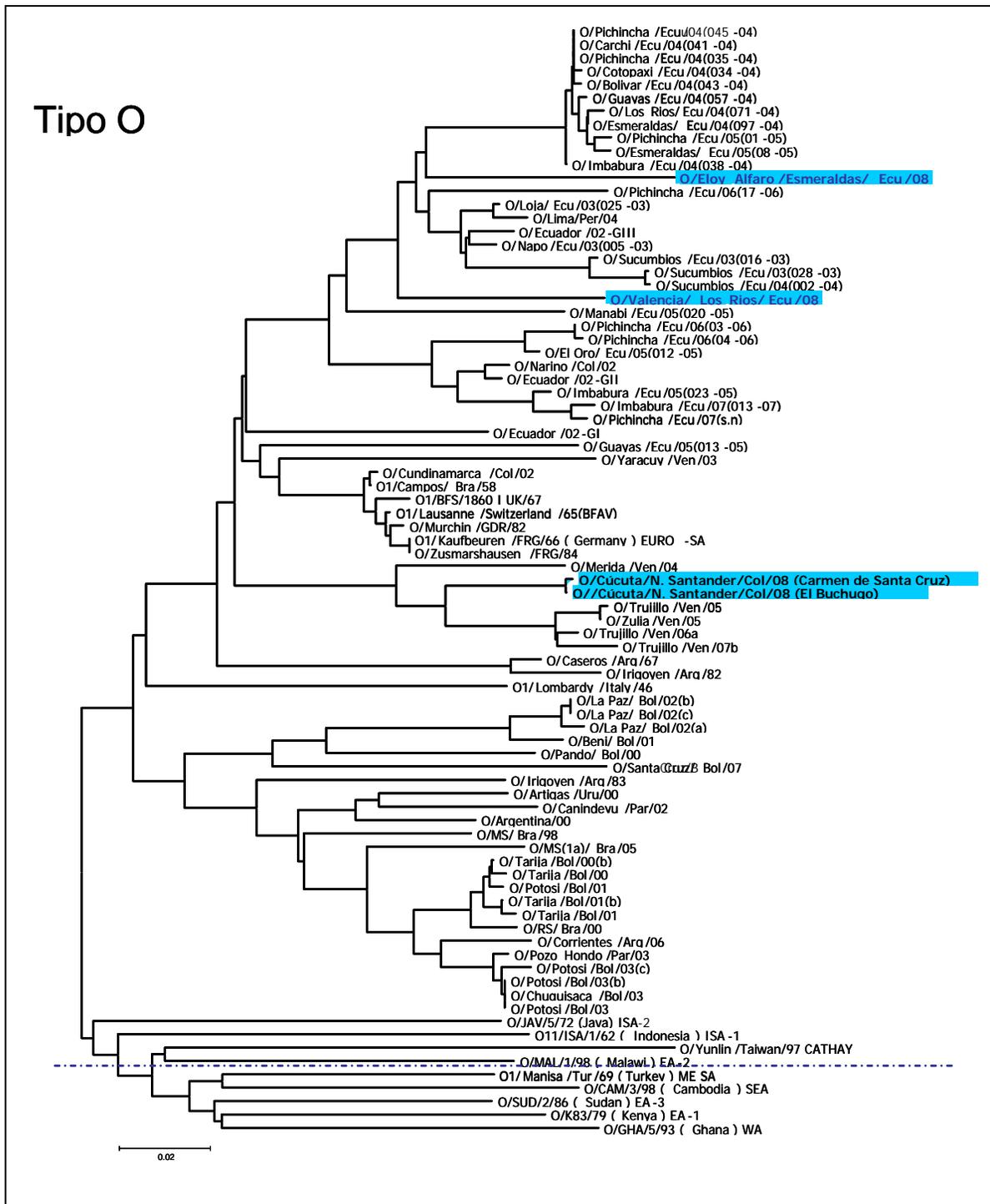
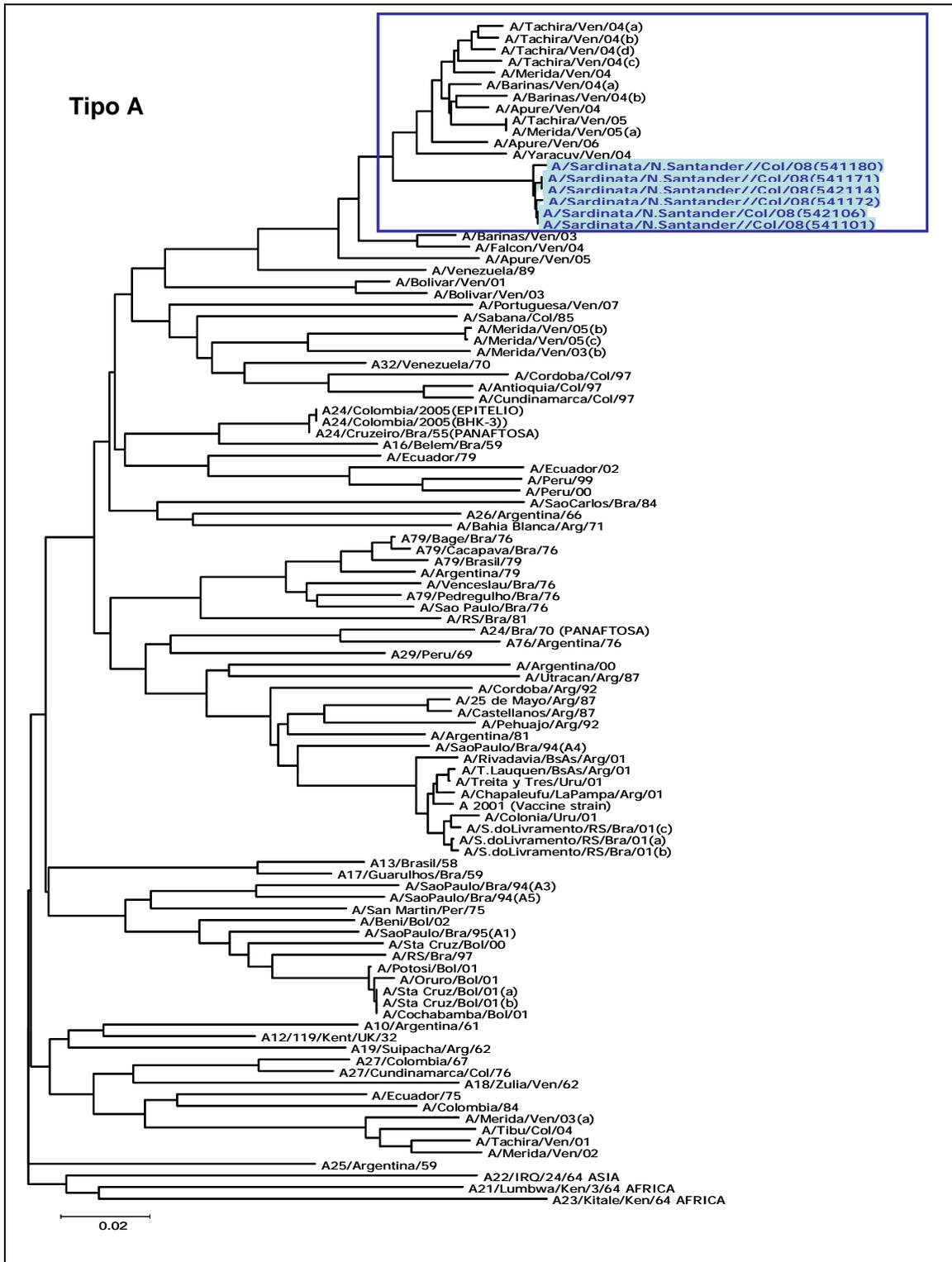


Figura 3. Relaciones filogenéticas, determinadas con la secuencia completa de la región que codifica para la proteína VP1 (639n), para el Virus de la Fiebre Aftosa, tipo A



2.3. Estudios de control de vacunas antiaftosa

Se realizaron estudios de referencia en vacunas acabadas para garantizar ausencia de virus C en el producto a ser exportado a regiones históricamente sin registro de ocurrencia de dicho serotipo a través de pruebas de ELISA-CFL virus neutralización en sueros de animales vacunados. Asimismo se realizaron pruebas para caracterización antigénica mediante perfil de reactividad con anticuerpos monoclonales y policlonales, con muestras de suspensiones inactivadas de antígenos para formulación de vacunas.

2.4. Investigación seroepidemiológica

El laboratorio ha cooperado con el proyecto FOCEM “Programa de Acción MERCOSUR Libre de Fiebre Aftosa”, en el marco del PAMA/CMA/CVP, en la elaboración de guías para la ejecución de las investigaciones seroepidemiológicas para monitoreo de actividad viral en las zonas de alta vigilancia (ZAV), mediante I-ELISA 3ABC / EITB en bovinos. Se recibieron de Argentina y Brasil, 3797 muestras de sueros (por duplicado) y se inició en ellas la ejecución de las pruebas para vigilancia activa (I-ELISA 3ABC/EITB). Se espera recibir al inicio de 2009 las muestras correspondientes a Paraguay y Bolivia.

2.5. Unidad laboratorial BSL3 Ag desconcentrada

De común acuerdo entre el Director de PANAFTOSA y el Coordinador de LANAGRO/MG se definió un cronograma de actividades para dar seguimiento a las acciones relacionadas a la transferencia de actividades de PANAFTOSA en LANAGRO/PA para LANAGRO/MG. Fue implementado el cultivo de células en suspensión necesarias para actividades de diagnóstico y producción de antígenos de PANAFTOSA. La sala No. 5 (BSL 3Ag) fue destinada para uso exclusivo de PANAFTOSA y en la misma se instaló: refrigerador, congelador -20°C, baño María, triturador de muestras y cabina de flujo laminar. En el área administrativa se definió la sala 1 como Escritorio de PANAFTOSA, instalándose teléfono, un micro procesador de datos, una impresora, mesa escritorio, mesa circular para reunión con 4 sillas. Se prepararon las placas para identificación de las puertas de las 2 salas (laboratorio y escritorio) de uso exclusivo de PANAFTOSA. El cronograma mencionado arriba no pudo ser cumplido en su totalidad debido a que están pendientes algunas definiciones a nivel político.

3. SUMINISTRO DE REACTIVOS DE REFERENCIA PARA DIAGNÓSTICO

3.1. Respuesta a las solicitudes de reactivos de referencia para diagnóstico

El laboratorio de PANAFTOSA colaboró con los países en el suministro y control de calidad de insumos de referencia, para actividades de diagnóstico e investigaciones relacionadas a la vigilancia

epidemiológica de la fiebre aftosa y otras enfermedades confundibles, así como para control de vacuna y evaluación de inmunidad poblacional. En la siguiente tabla se resumen los biológicos (A) o kits completos (B) entregados a los diferentes países para la ejecución de las pruebas correspondientes.

A. Set de biológicos para el número indicado de ensayos

Pais Tests	Argentina	Bolivia	Brasil	Chile	Colombia	Paraguay	Perú	Rep. Dominicana	Venezuela	Total
Tipificación ELISA-SI (FA/EV)	4.550	700	1.400		2.450		700		2.450	12.250
FC 50% (FA/EV) SHI (ml)			20.000		16.500				9.000	45.500
ELISA CFL Seroepidemiología FA	10.000	20.000	26.000	3.000	12.000	90.000			2.000	163.000
ELISA CFL Seroepidemiología EV	30.000	1.000	9.000	6.000	2.000			3.000		51.000
ELISA CFL Control Vacuna (FA)	5.000		268.000		55.000	30.000			24.000	382.000
ELISA CFL Control Vacuna (EV)					2.000					2.000
IDGA-3D (FA)		6.000	22.000		4.000		4.000		1.000	37.000
IDGA-LA		1.000	9.000	1.000	1.000					12.000
ELISA CFS-LA		1.000	1.000		3.000					5.000
ELISA CFS-IBR		1.000	1.000	1.000						3.000

B. Kits completos para el número indicado de ensayos

Tests	Argentina	Bolivia	Brasil	Chile	Colombia	Ecuador	Paraguay	Peru	Venezuela	Total
I-ELISA 3ABC	72.160	29.040	139.040	880	40.480	880	74.800	6.160	2.640	366.080
EITB	5.400	1.800	20.800	200	2.800	200	6.400	800	400	38.800

Asimismo, han sido producidas y distribuidas las siguientes líneas de células para diagnóstico y producción de inmunobiológicos: a) Brasil: BHK-21 C13, IBRS II, MDBK, Vero y NEURO-2A; b) Colombia: BHK-21 C13; c) Paraguay: BHK-21 C13

Se distribuyeron a Colombia los reactivos necesarios para la aplicación de instrumentos moleculares para la detección / tipificación por PCR de virus causantes de fiebre aftosa, estomatitis vesicular y lengua azul.

3.2. Preparación y definición de herramientas y estándares de referencia para kits/sets de biológicos.

Se definió el panel a ser usado en el control de calidad del set ELISA-CFL para anticuerpos de estomatitis vesicular Indiana-3 y se seleccionaron sueros para conformar los paneles de control de calidad de los sets ELISA-CFL para anticuerpos de estomatitis vesicular Indiana-1 y New Jersey.

Se colaboró con el MAPA en la preparación de suero hiperinmune de cobayo para uso de referencia nacional.

Se conformaron nuevos sueros controles para kits PNC para bovinos, en base a la caracterización de 400 sueros.

Para armonizar y evaluar el desempeño de las herramientas para vigilancia activa que están surgiendo como opción en el mercado internacional, PANAFTOSA realizó estudios comparativos de sensibilidad analítica con kits que detectan anticuerpos contra PNC del VFA.

Se concluyó la transferencia de las actividades de envíos de kits/sets a la administración de PANAFTOSA.

4. ARMONIZACIÓN REGIONAL Y DINÁMICA OPERATIVA DE LA RED DE LABORATORIOS DE AMÉRICA DEL SUR

Se ejecutó la ronda correspondiente al año 2008 de la Prueba Interlaboratorio para los tests que conforman el sistema I-ELISA 3ABC / EITB. 13 laboratorios de 10 países de América del Sur fueron convidados a participar. Asimismo se realizó la ronda de control externo 2008 de Tipificación viral (FA/EV). Participaron 11 laboratorios de 10 países de América del Sur. También se realizó la ronda 2008 de la prueba interlaboratorios para detección / tipificación del virus de la fiebre aftosa mediante técnica de PCR. Participaron 4 de los 10 países invitados.

Se están analizando los datos recibidos de los laboratorios participantes

En el marco del PAMA/CMA/CVP, proyecto FOCEM, y durante la reunión de Expertos de laboratorio en materia de bioseguridad y control de calidad de vacunas antiaftosa llevada a cabo en la sede de PANAFTOSA, entre los días 19 a 22 de febrero de 2008, se colaboró en la definición de normas para la metodología y armonización de las auditorías de bioseguridad y bioprotección en Laboratorios Oficiales y Privados que manipulan el Virus de la Fiebre Aftosa a ser implementadas en el ámbito de ejecución del Proyecto, siendo aprobadas durante dicha reunión la “GUIA DE EVALUACIÓN DE SEGURIDAD BIOLÓGICA EN EL PROCESO DE PRODUCCIÓN DE VACUNA ANTIAFTOSA” y la “GUIA DE EVALUACIÓN DE SEGURIDAD BIOLÓGICA PARA INSTALACIONES DESTINADAS A LA MANIPULACIÓN DEL VIRUS DE LA FIEBRE AFTOSA”.

Asimismo, durante esta reunión se colaboró en la elaboración de la “Guía de verificación para la evaluación de laboratorios de control de calidad de vacunas antiaftosa”, así como en la confección de

una “propuesta de directrices operativas para desarrollar el programa de evaluaciones de laboratorios de control de calidad de vacunas 2008” y en el programa para desarrollar las evaluaciones de laboratorios de control de calidad de vacunas 2008, priorizando para dicho año, las evaluaciones en calidad de vacunas.

También dentro del proyecto FOCEM, se colaboró en las actividades correspondientes al sistema de vigilancia epidemiológica longitudinal activa aplicado en la zona de alta vigilancia, en particular en materia de los procedimientos para colecta y envío de muestras y se inició el procesamiento de aproximadamente 8.000 sueros por el sistema I-ELISA 3ABC/EITB, colectados por los países en la referida zona.

Este año fue postergada la reunión anual de especialistas de laboratorio en enfermedades vesiculares, por razones presupuestarias.

5. ARMONIZACIÓN INTERNACIONAL, ESTANDARIZACIÓN DE MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO Y CONTROL DE VACUNA E IMPLEMENTACIÓN DE SISTEMAS DE CALIDAD.

Como parte de las actividades del grupo ad hoc de la Comisión Científica de la OIE sobre banco de antígenos y vacunas, y en particular en lo que hace relación a la red de laboratorios de referencia de OIE para fiebre aftosa, se continuaron las discusiones tanto en el foro Regional como en la OIE y FAO, sobre la estructura, constitución y funcionalidad de la misma. Dentro de este marco, se elaboró un informe anual unificado acerca de los resultados de los laboratorios de referencia de OIE, en el año 2007.

Se participó en la reunión de la red de laboratorios de referencia de OIE/FAO para fiebre aftosa llevada a cabo en Lanzhou, China del 15 al 18 de Septiembre. Fueron discutidos aspectos relacionados a la estructura y funcionamiento de la red, prioridades a ser abordados durante el próximo año, donde se manifestó el énfasis hacia la armonización de metodologías de “vaccine matching”. Se implementó el uso de la red de información virtual (ReLaIS) (Network’s Reference Laboratory Information System). La red elabora un informe anual que incluye recomendaciones del uso de vacunas.

6. PREPARACIÓN Y SUMINISTRO DE ESTÁNDARES DE REFERENCIA INTERNACIONAL

Con la finalidad de contar con herramientas rápidas y eficaces para confirmación de características de desempeño de los tests para PNC, se constituyó un panel internacional de evaluación conformado por 34 sueros bovinos con diferentes niveles de reactividad. Los mismos fueron caracterizados y mostraron un excelente desempeño para discriminar diferencias de sensibilidad comparativa de dichos tests. También se mostraron de utilidad para su inclusión en rondas de interlaboratorio.

Los resultados de este estudio fueron publicados en la revista Journal of Virological Methods. El panel fue reconocido por la Comisión de Estándares Biológicos de la OIE como el primer Panel de Referencia Internacional para de Evaluación de kits.

Se consolidaron las colecciones de sueros bovinos 30 días pos vacunación (dpv) y 30, 180 y 360 días pos re vacunación (dpr) a 30 días de la primo vacunación con vacuna antiaftosa comercial trivalente (O1, A24 y C3) de formulación oleosa.

7. INVESTIGACIÓN

Se publicaron los resultados de los estudios realizados para la constitución de un panel de evaluación para tests que utilizan PNC PNC.

Asimismo, y en seguimiento a las actividades realizadas durante el taller organizado por la Unión Europea, proyecto FMD-ImproCom sobre tests que utilizan proteínas no capsidales, se publicó un trabajo en la revista Vaccine referente al uso de curvas ROC aplicando los modelos utilizados en dicho taller.

Como parte de un proyecto de colaboración con la Comisión para Asuntos de Aftosa (CAS) del Sindicato Nacional de Industria de Productos para Salud Animal (SINDAN) de Brasil, del Departamento de Defensa Animal (DDA) del Ministerio da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, (MAPA), Brasil y PANAFTOSA, está en fase final el desarrollo de un ELISA directo para detección de PNC en suspensiones virales destinadas a vacuna.

Se avanzó en la validación de PCR cuantitativo (PCR en tiempo real) para la detección del virus de la fiebre aftosa, incluyendo aproximadamente 200 muestras de suspensiones celulares y epitelios correspondientes a episodios de América del Sur. Asimismo, se avanzó considerablemente en la estandarización de la detección del virus de la Estomatitis Vesicular mediante PCR, y se implementó la caracterización de cepas de VSV de New Jersey e Indiana 1 mediante secuenciamiento parcial del gen que codifica para la proteína P y para los tipos Indiana 2 e Indiana 3 mediante detección y secuenciamiento del gen que codifica para la glicoproteína.

En colaboración con el SAG se dio inicio a la estandarización de la metodología de caracterización por secuenciamiento de la hemaglutinina del virus de la influenza aviaria. Esta metodología fue aplicada exitosamente durante el módulo 9 de capacitación intramural (Diagnóstico Molecular del Virus la Influenza Aviar).

8. EVENTOS INTERNACIONALES

Se participó y/o promovió el desarrollo de los siguientes eventos:

- Reunión de Expertos de Laboratorio en materia de Bioseguridad y Control de Calidad de Vacunas Antiaftosa del proyecto FOCEM “Programa de Acción MERCOSUR Libre de Fiebre Aftosa”. Río de Janeiro, Brasil, 19 a 22 de Febrero.
- Taller Regional para la elaboración del Plan Operativo Anual (POA) del Proyecto de Influenza Aviar y otras ENTRAS, Montevideo, Uruguay 10 a 11 de Marzo
- XXXV Reunión Ordinaria de la Comisión Sudamericana de lucha contra la Fiebre Aftosa (COSALFA), Porto Alegre, RS, Brasil, 13-14 Marzo 2008.
- 42da Sesión del Comité asesor de investigación en salud (CASI) de la OPS. Río de Janeiro, Brasil, 13-14 Abril.
- Primera Conferencia Latinoamericana sobre Investigación y Innovación para la Salud, organizada por la Organización Panamericana de la Salud, Rio de Janeiro, Brasil, 16 a 18 de Abril
- Sandia National Laboratories – International Biological Threat Rreduction. Latin America Laboratory Biosafety and Biosecurity Conference. Río de Janeiro, Brasil 13-15 de Mayo, 2008.
- Comité Hemisférico de Erradicación de la Fiebre Aftosa.
- Reunión Ordinaria N. XI – Río de Janeiro, Brasil, 09 de junio, 2008.
- Joint PAHO/AAVMC Technical consultation with veterinary medical collages and chief veterinary officers. Río de Janeiro, Brasil, 09 de Junio
- Reunión de la Comisión Panamericana de Inocuidad de Alimentos. Río de Janeiro, Brasil 10 de Junio, 2008.
- Reunión Interamericana a Nivel Ministerial en Salud y Agricultura.
- Reunión Ordinaria N. XV – Río de Janeiro, Brasil, 11-12 de junio, 2008.
- Reunión de la red de laboratorios de referencia para fiebre aftosa de OIE/FAO, Lanzhou, China, 15-18 de Junio.
- Workshop on BSE and vCJD Risk in North América PAHO-HQ, Washington, DC, USA 10 de Julio de 2008
- Taller sobre fortalecimiento de sistemas de prevención de BSE organizado por FAO, San Salvador, El Salvador 1 a 2 de Septiembre de 2008
- 12ª Reunión de Directores de Programas Nacionales de Rabia de Latinoamérica, La Antigua, Guatemala, 30 de Noviembre-02 de Diciembre
- Primera Reunión de Laboratorios de los servicios veterinarios de las Américas, Ciudad de Panamá, Panamá del 9 al 11 de diciembre

9. CAPACITACIONES y DISCUSIONES TÉCNICAS

A. Entrenamientos individuales en PANAFTOSA

- Dr. Marcelo Damiao Ferreira de Menezes. UFRJ/Brasil
19 a 30 de Mayo
Detección viral por PCR en tiempo real
- Karina Jardim de S. Araújo
27 de Octubre al 28 de Noviembre
Detección molecular del Virus de la Estomatitis Vesicular
- Dra. Julia Jiménez LAVECEN/Rep. Dominicana
4 de Noviembre a 4 de Diciembre
Cultivo celular para diagnostico de Rabia.

B. Capacitación Intramural PANAFTOSA

Módulo 1 – Cultivo celular – 28 de Abril al 09 de Mayo.

Elizete de Oliveira (LANAGRO/PE, Brasil)

Jorge Ribeiro dos Reis (LANAGRO/PA, Brasil)

Janus Pablo Fonseca de Macedo (LANAGRO/PA, Brasil)

Módulo 2 – Diagnóstico y Caracterización Molecular de Virus de Enfermedades Vesiculares y Confundibles – 05 a 16 de Mayo:

Marcela Aguilera (SAG, Chile)

Maria do Rosário Beltrão (LANAGRO/PE, Brasil)

Módulo 5 – Técnica inmunoenzimática para identificación de anticuerpos de Fiebre Aftosa – ELISA-CFL – 30 de Junio a 4 de Julio

Adriana Soares Leite (LANAGRO/PE, Brasil)

Zuny Rodríguez (SENACSA, Paraguay)

Módulo 5 (bis) – Técnica inmunoenzimática para identificación de anticuerpos de fiebre aftosa – ELISA-CFL – 4 a 15 de agosto

Ana Luisa Palma Guimarães Assmann (OUROFINO, Brasil)

Eliana Valente Ramos (OUROFINO, Brasil)

Mariana Bertini Fernandes (OUROFINO, Brasil)

Carolina Nunes Costa Corgozinho (INOVA, Brasil)

Eliziane Maria Machado dos Anjos (INOVA, Brasil)

Sérgio Luiz de Freitas Balsamão (INOVA, Brasil)

Simone Alencar Renault (INOVA, Brasil)

Módulo 6 – Técnicas Inmunoenzimáticas para Vigilancia de Fiebre Aftosa (I-ELISA 3ABC/EITB) – 25-29 de Agosto

Ana Luisa Palma Guimarães Assmann (OUROFINO, Brasil)

Eliana Valente Ramos (OUROFINO, Brasil)

Mariana Bertini Fernandes (OUROFINO, Brasil)

Kelly Capeti (OUROFINO, Brasil)

Carolina Nunes Costa Corgozinho (INOVA, Brasil)

Eliziane Maria Machado dos Anjos (INOVA, Brasil)
Sérgio Luiz de Freitas Balsamão (INOVA, Brasil)
Simone Alencar Renault (INOVA, Brasil)
Laura Ricciardi (DILAVE, Uruguay)

Módulo 7 – Identificación de antígeno para Diagnóstico de Enfermedades Confundibles con Vesiculares - 16 a 27 de Junio:
Marta Maria N.F. da Silva LANAGRO/PE- BRASIL :
Gabriela Calmon SENACSA- PARAGUAI :

Módulo 8 – Técnica inmunoenzimática para tipificación de antígenos de fiebre aftosa y estomatitis vesicular (ELISA-SI): 25 a 29 de agosto.
Maria Izaora Oliveira Cunha (LANAGRO/PE, Brasil)
Elizabeth Oviedo Benítez (SENACSA, Paraguay)

Módulo 9 – Diagnóstico Molecular del Virus de la Influenza Aviar – 01 a 12 de Septiembre:
Sofía de la Sota (SENASA, Argentina)
Martha Calderón (LIDIVECO, Bolivia)
Cid Alencar (LANAGRO/PE, Brasil)
Alfonso García (SAG, Chile)
Adriana Silva, (SENACSA, Paraguay)
Raúl Castro (DILAVE, Uruguay)

Módulo 10 – Detección por Inmunohistoquímica de la PrPSc para el diagnóstico de encefalopatía espongiiforme bovina: 23 de Septiembre al 03 de Octubre
Cynthia Rodriguez Salcedo (SENACSA, Paraguay) :
Aerlen Soares Sinara (LANAGRO/PE- Brasil)

C. Cursos

International Course in Real Time PCR for the rapid diagnosis of foot-and-mouth disease and vesicular stomatitis. Winnipeg, Canadá, 23-27 de Junio.
Claudia Calderón (LNDV, Colombia)
Salomón Ortiz (SENASA, Perú)
Limberg Rojas Guzmán (LIDIVET, Bolivia)
Christel Machin Pire (SASA, Venezuela)

D. Programas de grado y postgrado

- Orientación de tesis de doctorado de la MS Renata de Mendonca Campos. Universidad Federal de Río de Janeiro. Conclusión Diciembre
- Orientación de tesis de doctorado de la MS Lya Madureira Sepúlveda. Universidad Federal de Río de Janeiro

E. Consultorías y visitas técnicas a países

Laboratorio Veterinario Central, Santo Domingo, República Dominicana
28 de Enero al 2 de Febrero
Evaluación técnica de los laboratorios nacionales de Influenza Aviar

LANAGRO/MG, Pedro Leopoldo, Brasil,
12 – 13 de Febrero
Reunión de la Comisión de Transferencia de las actividades realizadas por PANAFITOSA en LANAGRO/PA para LANAGRO/MG

LANAGRO/RS, Porto Alegre, Brasil,
18 de Marzo
Control de calidad de vacuna de fiebre aftosa

LANAGRO/MG, Pedro Leopoldo, Brasil
2 al 4 de Abril
Transferência de actividades de diagnóstico

DSA/MAPA, Brasilia, Brasil.
14-16 de Abril
Diseño de estudio para control de calidad de vacunas de fiebre aftosa a nivel de campo

LANAGRO/PE, Recife, Brasil.
22 al 25 de Abril
Asesoría en titulación y control de calidad de suero hiperinmune de cobayo

LANAGRO/MG, Pedro Leopoldo, Brasil,
03 a 07 de Marzo
20 al 23 de Agosto
12 al 13 de Septiembre
Visita técnica para implantación de métodos de cultivo celular en suspensión

Laboratorio Veterinario Central, Santo Domingo, República Dominicana
04 a 07 de Septiembre
Evaluación técnica del progreso en las recomendaciones a los laboratorios nacionales de Influenza Aviar y evaluación del Laboratorio Nacional de Rabia

ICA, Bogotá, Colombia.
24 a 28 de Noviembre
Implementación de PCR convencional y PCR en tiempo real para Fiebre Aftosa, Esrtomatitis Vesicular y Lengua Azul

F. Participación en actualización y de certificación de personal

Tópicos Avanzados en Diagnóstico de Enfermedades Infecciosas
Instituto de Microbiología (IMPPG), Universidad Federal de Río de Janeiro (UFRJ)

Transporte Aéreo de Materiales Biológicos – Módulo: Preparación de embarques
2 al 3 de Octubre, Río de Janeiro, Brasil

10. PARTICIPACIÓN EN PROYECTOS COLABORATIVOS A NIVEL REGIONAL E INTERNACIONAL

Se implementó un proyecto de colaboración con el National Centre for Foreign Animal Disease NCFAD, Canadá para la capacitación en técnicas de diagnóstico de enfermedades vesiculares en varios países de la Región Andina.

Conjuntamente con los laboratorios de la Red de Laboratorios de Referencia de OIE/FAO para fiebre aftosa, se está participando en un proyecto para armonización de los procedimientos para “vaccine matching”.

Se dio continuidad a los proyectos de colaboración iniciados con el Instituto de Microbiología (IMPPG) de la Universidad Federal de Rio de Janeiro (UFRJ) en temas de desarrollo y validación de métodos inmunoenzimáticos y moleculares aplicados al estudio de enfermedades virales. Como parte de estos proyectos se participa en los programas de pós-dgraduación (Doctorado) de esa Universidad.

Se presentó un proyecto de colaboración conjunto con EMBRAPA en temas de diagnóstico de virus causadores de enfermedades vesiculares

Se ha colaborado con la Facultad de Veterinaria de la Universidad Federal Fluminense (UFF) en la ejecución de trabajos de investigación en métodos moleculares de detección viral (LA, DVB, EV, etc).

Se dio inicio a proyectos de colaboración con la Universidad de São Paulo en temas de Anticuerpos Monoclonales para detección del Virus de la rabia.

Se encuentra en fase final el proyecto de colaboración con la Comisión para Asuntos de Aftosa (CAS) del Sindicato Nacional de Industria de Productos para Salud Animal (SINDAN) de Brasil, del Departamento de Defensa Animal (DDA) del Ministerio da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, (MAPA), Brasil y PANAFTOSA, para el desarrollo de un ELISA directo para detección de PNC en suspensiones virales destinadas a vacuna.

11. DISEMINACIÓN DE INFORMACIÓN: PRESENTACIONES A CONGRESOS Y PUBLICACIONES

A. Publicaciones.

- Campos R de M, Malirat V, Neitzert E, Grazioli S, Brocchi E, Sanchez C, Falczuk AJ, Ortiz S, Rebello M and Bergmann IE*. Development and characterization of a standardized serological tool to evaluate immunoassays based on detection of antibodies against foot-and-mouth disease viral non-capsid proteins in bovine serum. *Journal of Virological Methods* 151: 15-23 (2008).
- Centro Panamericano de Fiebre Aftosa. Laboratorio: Informe anual, 2007. Rio de Janeiro. PANAFTOSA, 2008.
- Dekker, A.; Sammin, D.; Greiner, M.; Bergmann, I.E.; Paton, D.; Grazioli, S.; Clercq, K. & Brocchi, E. “Use of continuous results to compare ELISAs for the detection of antibodies to non-structural proteins of foot-and-mouth disease virus”. *Vaccine* 26: 2723-2732 (2008).
- Malirat V.; Bergmann I.E.; Campos, R. M.; Neitzert E.; Villamil M.; Quiroga Civera J.L.; Conde F.; Salgado G.J. “Tracing 2007-2008 emergency episodes of foot and mouth disease virus in South America: phylogenetic analysis”. Report of the Session of the Research Group of the Standing Technical Committee of the European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease (EUFMD), Erice, Sicily, Italy, 14-17 de Octubre. En Prensa 2008

B. Presentaciones a Congresos / Reuniones

- “Gaps in the current commercial kit market to address the needs for the foot-and-mouth disease control/eradication programs in South America.”.
Bergmann, I.E.
- Session of the European Group of the Standing Technical Committee of the European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease (EUFMD). Erice, Sicilia, Italia, 14-17 de Octubre (2008).
- “Apoyo del laboratorio hacia la erradicación de la fiebre aftosa”.
Bergmann, I.E.
- Seminario Internacional “Sudamérica libre de la fiebre aftosa: Nuevos paradigmas”. Porto Alegre, Brasil, 11-12 de Marzo (2008).
- “El laboratorio en una Sudamérica libre de fiebre aftosa”.
Bergmann, I.E.
Seminario Internacional “Sudamérica libre de la fiebre aftosa: Nuevos paradigmas”. Porto Alegre, Brasil, 11-12 de Marzo (2008).
- “Tracing 2007-2008 emergency episodes of foot-and-mouth disease virus in southamerica: phylogenetic analysis”.
Malirat V.; Bergmann I.E.; Campos, R. M.; Neitzert E.; Villamil M.; Quiroga Civera J.L.; Conde F.; Salgado G. J.
Session of the European Group of the Standing Technical Committee of the European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease (EUFMD). Erice, Sicilia, Italia, 14-17 de Octubre (2008).
- “Technical Cooperation of PANAFTOSA PAHO/WHO as OIE/FAO Reference Laboratory of Vesicular Diseases and the experience with Real Time PCR”.
Malirat V.
National Center for Foreign Animal Diseases, Canadian Food Inspection Agency, Winnipeg, Canadá. 26 de Junio.
- “Diagnóstico y Caracterización del Virus de la Fiebre Aftosa”.
Malirat V.
Laboratorio Nacional de Diagnóstico Veterinario, Instituto Colombiano agropecuario (ICA), Bogotá, Colombia. 27 de Noviembre.
- “Caracterização de isolados do Vírus da Língua Azul obtidos de animais assintomáticos. Estudos moleculares e de estrutura”.
Sepúlveda, L.M, Malirat, V., Bergmann, I.B., Ferreira, D.F & Rebello, M.A.
VII Jornadas da Pós-Graduação do IMPPG/UFRJ, Rio de Janeiro, Brasil. 8 a 12 de Septiembre