



# TALLER INTERNACIONAL DE ESPECIALISTAS DE LABORATORIO EN ENFERMEDADES VESICULARES

**del Proyecto Regional para la Operación Coordinada de la Red  
de Laboratorios de Salud Animal de América del Sur**

PANAFTOSA, Rio de Janeiro - Brasil  
14 al 16 de Diciembre de 2004



**Organización  
Panamericana  
de la Salud**

Oficina Regional de la  
Organización Mundial de la Salud

**Centro Panamericano de Fiebre Aftosa**  
Unidad de Salud Pública Veterinaria - OPS/OMS



# TALLER INTERNACIONAL DE ESPECIALISTAS DE LABORATORIO EN ENFERMEDADES VESICULARES

INFORME FINAL

*PANAFTOSA, Río de Janeiro 14 al 16 de Diciembre de 2004*



**CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA**  
Unidad de Salud Pública Veterinaria – OPS/OMS



## CONTENIDO

Antecedentes .....	5
Objetivos del Taller .....	5
Resultados esperados .....	6
Participantes .....	6
Desarrollo de la reunión .....	6
Conclusiones y recomendaciones .....	6
1. Control de vacuna antiaftosa.....	6
2. Biología molecular.....	8
3. Enfermedades diferenciales .....	9
4. Esquema de cooperación para banco regional de muestras .....	11
5. I-ELISA 3ABC / EITB para la vigilancia activa de FA, .....	12
6. Potencial interferencia de vacuna en muestreos para reconocimiento de áreas libres.....	16
Conclusión general .....	17
Recomendaciones generales .....	18
Anexos .....	19
Anexo 1 – 1ª Reunión del Grupo Interlaboratorial.....	21
Anexo 2 – Lista de Participantes.....	23
Anexo 3 – Programa del Taller .....	24



## **ANTECEDENTES**

Los avances observados en la erradicación de la Fiebre Aftosa (FA) en Sudamérica, son el resultado del esfuerzo de los países y del desarrollo de una visión estratégica de lucha regional.

La actualización, optimización y armonización de las pruebas utilizadas en el diagnóstico y el control de calidad de reactivos de referencia e inmunobiológicos, utilizados en la vigilancia epidemiológica y el control de las enfermedades, son demandas permanentes de los países de la región.

Los cambios en la reglamentación internacional sobre la FA, conforme a lo establecido en el capítulo 2.2.10. del Código Internacional de la OIE y el desarrollo de guías específicas (3.8.7.) sobre la vigilancia epidemiológica requieren la actualización de técnicas serológicas y virológicas para atender los nuevos requerimientos.

En este sentido y de acuerdo con la Resolución VI de la XXIX COSALFA, la Resolución IV de XXX COSALFA y las recomendaciones del “Seminario Internacional sobre el uso de herramientas serológicas y virológicas en la vigilancia activa”, se realizó la “Primera Reunión para evaluación de pruebas laboratoriales” en el marco del “Proyecto Regional para la operación coordinada de la Red de Laboratorios de Salud Animal de América del Sur”, cuyas recomendaciones se encuentran en el Anexo I.

Por otra parte los avances del PHEFA con la incorporación de áreas libres y la participación de la región en los foros internacionales (OIE, FAO, UE), canalizada a través de PANAFTOSA – OPS/OMS requieren, entre otros instrumentos, del soporte científico técnico de los laboratorios de diagnóstico y control de biológicos, que den sustento e información objetiva de la situación sanitaria alcanzada en la región.

## **OBJETIVOS DEL TALLER**

1. Establecer enfoques tendientes a fortalecer la dinámica operativa de los Laboratorios de América del Sur, con el objetivo de optimizar el desempeño de las pruebas usadas en la región acordes a estándares internacionales, promoviendo el uso armonizado de los procedimientos laboratoriales, cuya interpretación y análisis contribuyan suministrando información confiable a los programas de Prevención, Control y Erradicación de las enfermedades vesiculares y a la toma fundamentada de decisiones y acciones.
2. Fortalecer la interacción de los laboratorios de los Servicios Nacionales con PANAFTOSA – OPS/OMS a los efectos de dar apoyo a sus actividades como laboratorio de Referencia Regional e Internacional (RRL-OIE), brindando respaldo técnico científico a las propuestas de implementación de normas internacionales de manera que incluyan nuestra realidad sanitaria.
3. Consensuar recomendaciones para su presentación a la XXXII COSALFA.

## RESULTADOS ESPERADOS

La elaboración de recomendaciones tendientes a orientar la interacción de la red de laboratorios de los Servicios Nacionales y PANAFTOSA – OPS/OMS para el próximo año.

## PARTICIPANTES

Participó de la reunión un grupo de especialistas de Latinoamérica (anexo 2).

## DESARROLLO DE LA REUNIÓN

El Director de PANAFTOSA – OPS/OMS, Dr. Eduardo Correa Melo dio la bienvenida a los participantes, expresando la importancia de la reunión en el marco de los avances del programa de erradicación de la FA, de las nuevas exigencias internacionales, y de la mayor presencia de nuestra región en la elaboración de las normativas internacionales.

La reunión se desarrolló en una dinámica de discusión tomando como base el temario descrito en la agenda (Anexo 3). Para cada uno de los temas propuestos, se designó un moderador, dos relatores así como el responsable de introducir el tema.

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 1. CONTROL DE VACUNA ANTIAFTOSA

*Presentación del tema: Rossana Allende*

*Relatores: Lucia Maria Branco de Freitas Maia y Jorge W. López*

*Moderador: Eduardo Maradei*

#### Conclusiones

##### A. Aplicación del ELISA-CFL para vigilancia activa de FA.

El grupo concuerda con la recomendación del anexo 3.8.7 del Código Zoosanitario de OIE sobre su uso en áreas libres sin vacunación y discutió la necesidad de profundizar el análisis y los criterios de validación en bovino (pérdida de sensibilidad cuando se evalúa una cepa de campo, diferente a la de referencia usada como sonda serológica en la prueba, reactividad cruzada entre serotipos, puntos de corte, etc.) y de validar la prueba en otras especies.



## B. Control de vacuna antiaftosa.

Luego de un intercambio de diferentes experiencias y opiniones se acordó revisar los siguientes puntos:

- a) la eventual necesidad de actualizar las cepas vacunales usadas en la región una vez que las mismas son aislamientos de hace más de 40 años;
- b) la representatividad de las curvas de correlación ELISA–CFL - PGP (convenio OPS - Unión Europea - Cuenca del Plata, 1988) y la posibilidad de actualizarlas con información de pruebas ELISA/PGP de vacunas utilizadas al presente;
- c) la necesidad de revisión de los materiales de referencia a ser puestos a disposición de los servicios nacionales (cepas, epitelio bovino, pasajes celulares, y sueros de referencia);
- d) el desempeño de la prueba ELISA-CFL en materia de repetibilidad / reproducibilidad, en el formato actual en el que los laboratorios no usan kits completos, así como la metodología del control de calidad externo del ELISA-CFL en función de los resultados de los ejercicios efectuados en los años 2002 y 2004;
- e) la necesidad de validar el ELISA CFS para un eventual uso en control de vacuna;
- g) el formato de cálculo de las EPP y la regla de decisión para aprobación de las vacunas;
- h) la conveniencia de desarrollar pruebas alternativas al ELISA-CFL de PANAFTOSA – OPS/OMS;
- i) criterios de selección de bovinos de prueba;
- j) los requisitos para las vacunas de exportación y las responsabilidades en su control de calidad;
- k) necesidad de revisar los procedimientos utilizados para evaluar inocuidad en vacunas

En este contexto y dada la falta de tiempo para tratar en profundidad estos temas, fue propuesto que, dada la importancia de los mismos, se agendara a la brevedad posible una reunión en la que se discutieran estas problemáticas con la base documental que permita un análisis exhaustivo.

### Recomendaciones

1. Constituir un grupo ad hoc para analizar detalladamente las problemáticas planteadas y proponer recomendaciones.
2. Validar el ELISA CFL para uso en vigilancia activa de FA en bovinos y otros hospedadores.
3. Que PANAFTOSA – OPS/OMS evalúe la posibilidad de establecer kits completos o un sistema próximo a un kit completo a la brevedad para la prueba de ELISA – CFL.
4. Que PANAFTOSA – OPS/OMS trabaje en la validación regional del ELISA-CFS.
5. Que PANAFTOSA – OPS/OMS emita una recomendación basada en un análisis de riesgo sobre el uso de vacunas producidas por método Frenkel.
6. Que PANAFTOSA – OPS/OMS fundamente ante la OIE la reintroducción del ELISA – CFL como test recomendado en el Manual de Standards.

## 2. BIOLOGÍA MOLECULAR

*Presentación del tema: Viviana Malirat*

*Relatores: Camilo Sánchez y Abraham Falczuk*

*Moderador: Alfonso García*

### Conclusiones

PANAFTOSA – OPS/OMS cuenta con metodología molecular que permite la detección del virus de la fiebre aftosa (VFA) y su caracterización genética posibilitando logros en los estudios de la epidemiología molecular del virus en el continente, particularmente relevante para apoyo a emergencias sanitarias.

PANAFTOSA – OPS/OMS agradeció el apoyo de los países en la remisión de muestras epidemiológicamente relevantes e históricas, que permitió establecer un banco de datos genético y las relaciones filogenéticas con considerable precisión, y se estableció la importancia de completar el mismo con cepas que aun no han sido enviadas para caracterización.

Se reconoció la necesidad de fortalecer las metodologías de detección molecular del VFA para identificación temprana del agente durante emergencias sanitarias, así como para el diagnóstico diferencial.

Se estableció la conveniencia de validar métodos moleculares para detección de infección persistente del VFA, y su correlación con métodos serológicos.

Se evidenció la necesidad de mapear mediante monoclonales y genéticamente las cepas utilizadas en la región para producción y control de vacuna antiaftosa, a fin de actualizar dicha información.

Se estableció la conveniencia de armonizar un panel de monoclonales único para la región

### Recomendaciones

1. Ratificar la recomendación de la XXVIII y XXX COSALFA referente a la remisión en tiempo y forma de los virus causantes de episodios de FA para su caracterización completa, genética, antigénica con monoclonales e inmunogénica, en PANAFTOSA – OPS/OMS, así como de los virus de relevancia histórica para la región y faltantes en los bancos de datos genéticos,
2. Que los países contribuyan con PANAFTOSA – OPS/OMS facilitando muestras para el desarrollo / validación de métodos de detección precoz de FA durante emergencias, detección de FA a partir de LEF y en la detección y caracterización de enfermedades confundibles con FA
3. Que los países informen a PANAFTOSA – OPS/OMS sobre el interés de ejecutar y/o sobre la disponibilidad de los modelos requeridos para evaluar el papel epidemiológico de los portadores, conforme proyecto presentado en COSALFA XXIX e incluido en los materiales entregados

4. Que los países envíen durante el primer semestre 2005 a PANAFTOSA – OPS/OMS las semillas maestras y la semilla de trabajo utilizada en la producción de vacuna antiaftosa en todos los laboratorios, así como los virus utilizados por los servicios nacionales en el control de lotes para efectuar la caracterización genética y antigénica mediante anticuerpos monoclonales durante el segundo semestre, 2005. Los materiales deberán estar correctamente inactivados (BEI para estudios antigénicos y trizol para estudios moleculares), y acompañados de los certificados de inocuidad respectivos.
5. Realizar esfuerzos para la caracterización y armonización de los paneles de monoclonales disponibles en la región
6. Que los países envíen muestras epiteliales positivas a EV con el objeto de continuar los estudios moleculares, validar PCR y secuenciamiento, etc. y conformar el banco de muestras para estudios futuros.

### **3. ENFERMEDADES DIFERENCIALES**

*Presentación del tema: Jorge W. López*

*Relatores: Natalia Vergara, Rossana Allende*

*Moderador: Álvaro Nuñez*

#### **Conclusiones**

El seguimiento de las recomendaciones del Taller Internacional de Armonización de Técnicas de Diagnóstico Diferencial, 1al 4 de octubre de 2002, resaltó la relevancia de la elaboración por parte de PANAFTOSA – OPS/OMS del “Procedimiento para colecta y remisión de muestras para el diagnóstico de enfermedades vesiculares y su diagnóstico diferencial”. En lo que hace al resto de las recomendaciones, se constató un avance limitado en su implementación.

Los participantes manifestaron que se deberían establecer prioridades en el diagnóstico de las enfermedades confundibles con vesiculares.

Se reconoció la importancia de orientar las prioridades al diagnóstico del agente viral sobre la detección de anticuerpos, una vez que el avance de los programas y las exigencias internacionales exigen un diagnóstico conclusivo de cada evento reportado.

Se constató que pese a los esfuerzos realizados para preparar el manual de toma de muestras para el diagnóstico de enfermedades vesiculares y confundibles con FA, se requiere estimular la remisión de muestras apropiadas para el diagnóstico diferencial al Laboratorio oficial. La elaboración de un manual didáctico para los profesionales de campo podría colaborar en ese sentido.

La escasa remisión de muestras específicas para el diagnóstico virológico diferencial es una, pero no la única causa que dificulta el avance en esta materia. También lo es el impacto negativo de las normativas internacionales ante la declaración de una sospecha y la falta de instrumentos diagnósticos armonizados.

Algunos laboratorios manifestaron problemas en mantener líneas celulares para diagnóstico diferencial.

#### Recomendaciones

1. Que PANAFTOSA – OPS/OMS reitere a los Servicios Oficiales y éstos a sus servicios de campo sobre la importancia de incentivar la colecta de muestras para diagnóstico diferencial de FA ante una sospecha así como el cumplimiento de las instrucciones del “Manual sobre Colecta y Envío de Muestras al Laboratorio” ya que un resultado negativo para FA requiere del diagnóstico diferencial a efectos de obtener un resultado de laboratorio conclusivo en cada evento.
2. Que PANAFTOSA – OPS/OMS elabore durante el primer semestre del 2005 un CD didáctico para ser difundido a los servicios de campo, sobre la importancia y la metodología de “La colecta de muestras apropiadas para el diagnóstico diferencial”.
3. Que durante el primer trimestre, 2005, los países actualicen en la matriz de encuesta Diagnóstico Diferencial de PANAFTOSA – OPS/OMS, su situación. La matriz deberá contemplar la inclusión de información relevante de los resultados obtenidos en los últimos 4 años (aislamientos, serología etc.) en los laboratorios oficiales. Dicha matriz será elaborada por PANAFTOSA – OPS/OMS durante enero, 2005.
4. Que en el primer cuatrimestre del año 2005 PANAFTOSA – OPS/OMS revise los protocolos de diagnóstico diferencial en uso en la región, identifique los más relevantes y los envíe a los países para comentarios.
5. Que PANAFTOSA – OPS/OMS, cuando fuera solicitado, coopere con los laboratorios oficiales en la implementación del cultivo de líneas celulares destinadas a aislamiento de virus confundibles con Enfermedades Vesiculares.
6. Que PANAFTOSA – OPS/OMS identifique países para la constitución, organización y caracterización del cepario de virus regionales para validación de pruebas de identificación de antígeno de enfermedades diferenciales de Fiebre Aftosa.
7. Que PANAFTOSA – OPS/OMS, con la colaboración de los países valide las técnicas en uso en la región y las armonice.

#### 4. ESQUEMA DE COOPERACIÓN PARA BANCO REGIONAL DE MUESTRAS

*Presentación del tema: Ingrid Bergmann*

*Relatores: Gustavo Salgado, Abraham Falczuk*

*Moderador: Natalia Vergara*

##### Conclusiones

Se discutió la conveniencia de la creación de un banco regional de muestras multiespecie que refleje los distintos modelos y situaciones epidemiológicas de la Fiebre Aftosa de nuestra región, compuesto por una amplia variedad de especímenes (epitelial, sanguíneo, suero, hisopados, LEF, secreciones, líquidos, fluidos, órganos, etc.), a los efectos de facilitar estudios y el desarrollo técnico científico de interés regional.

En principio los siguientes países contarían con los modelos necesarios para los estudios regionales: Chile y Argentina: áreas libres sin vacunación; Ecuador, Venezuela, y Norte de Brasil, y eventualmente otros países de la región en los cuales haya emergencia sanitaria: áreas afectadas. Se acordó, cuando fuere necesario, la cooperación técnica y logística de PANAFTOSA – OPS/OMS para la colecta de las muestras.

En función de la permanente demanda de instituciones extra regionales de muestras tanto a PANAFTOSA – OPS/OMS como a países de nuestra región, y en el marco de la preservación del patrimonio genético, se hace necesario establecer, atendiendo normas o leyes vigentes en algunos países de la región, las condiciones requeridas para los acuerdos de cooperación técnica que involucren la entrega extra regional de muestras para estudio.

##### Recomendaciones

1. Que PANAFTOSA – OPS/OMS conjuntamente con los asistentes a esta reunión, representando a Ecuador y Venezuela, elabore durante el mes de enero las pautas (alcances, derechos de uso, costos, etc.) para la implementación de un banco regional de muestras. El mismo será enviado a comentarios durante la primera semana de febrero y el documento final será elevado a la COSALFA en su próxima reunión en marzo, 2005.
2. Para responder a la demanda de instituciones extra regionales de muestras, que PANAFTOSA – OPS/OMS estudie las regulaciones y normativas al respecto y presente una propuesta de marco regulatorio para establecer acuerdos de cooperación con instituciones extra regionales que involucren el intercambio de muestras que no sean de referencia. La misma será remitida a los países para comentarios y el documento final será elevado a la XXXII COSALFA en su próxima reunión en marzo, 2005.

## 5. I-ELISA 3ABC / EITB PARA LA VIGILANCIA ACTIVA DE FA

*Presentación del tema: Ingrid Bergmann*

*Relatores: Salomón Ortiz, Renata Campos*

*Moderador: Abraham Falczuk*

### Conclusiones

Los países reconocieron el logro de PANAFTOSA – OPS/OMS en la producción de kits completos de I-ELISA 3ABC / EITB bajo exigencias de control de calidad, y a partir de las ventajas reconocidas del uso de kits completos solicitaron la extensión de este enfoque para otras pruebas de diagnóstico usadas en la región.

La encuesta sobre el desempeño y formato de los kits completos sugirió algunos ajustes de formato.

PANAFTOSA – OPS/OMS enfatizó la necesidad de un ajuste más estricto a la agenda de pedidos, fundamentado en cuestiones operativas.

Se reconoció el logro de la región en cuanto al desarrollo y validación de un enfoque diagnóstico que permitió el sustento a la categoría internacional de región libre con vacunación, cuyo proceso de validación culminó con el reconocimiento del index test.

Fue reforzada la importancia del uso de perfiles de anticuerpos de reactividad de I-ELISA 3ABC, en particular en estudios longitudinales y acordada la necesidad de profundizar el análisis estadístico de los datos disponibles.

Es necesario incentivar la evaluación de los resultados conjuntamente entre los laboratorios y los epidemiólogos, en un contexto poblacional. Esto permite una mejor interpretación de la información obtenida y una orientación ventajosa de las investigaciones.

Dado que existen limitaciones en la interpretación de resultados reactivos cuando son utilizadas para evaluar individuos previo a autorizar el movimiento de animales, particularmente en animales multivacunados, se reconoció la importancia de revisar la utilización de este sistema para dichos casos siendo necesario complementar los resultados con información epidemiológica relevante.

Atendiendo a las exigencias internacionales de calidad y uso armonizado de pruebas, los países reconocieron la importancia de fortalecer sus controles internos y participar en pruebas de proficiencia, así como de un seguimiento continuo del desempeño de las pruebas a partir de los controles.

PANAFTOSA – OPS/OMS agradeció el apoyo de los países para la preparación y validación de los standards de referencia internacionales (control débil positivo, fuerte positivo y negativo), así como para el panel de evaluación. Fue acordado que el panel de evaluación actual, se extienda a un panel con grandes volúmenes para validarlo en la Región y ponerlo a disposición de los laboratorios oficiales

de la Región así como a la OIE, ante su requerimiento. PANAFTOSA – OPS/OMS ofreció apoyo en la validación de los paneles internos usados actualmente en algunos laboratorios.

Se enfatizó la importancia del uso de tests validados conforme al templatado de validación OIE/FAO/IAEA.

A partir de los resultados presentados de los ejercicios de pruebas comparativas efectuados en la Reunión del grupo interlaboratorial, 2003 y en pruebas efectuadas en el marco del Proyecto IAEA en esta materia, así como en colaboración con la Unión Europea, se ratificó la conclusión c. de la reunión del grupo interlaboratorial, 2003 que reconoce que el test de referencia para la región para detección de anticuerpos contra PNC del VFA, es el sistema I-ELISA 3ABC / EITB.

El uso de porcentaje de positividad para expresar los resultados de I-ELISA 3ABC sugerida durante la primera reunión para evaluación de pruebas laboratoriales, 2003, propuesto por la OIE y ya incorporado al manual de standards 2004, fue reconocido como una alternativa al T/C.

Se reconoce la relevancia de completar la validación de los tests para hospedadores diferentes que el bovino.

#### Recomendaciones

1. Que PANAFTOSA – OPS/OMS evalúe la posibilidad de modificar algunos aspectos referentes a la presentación del kit: envase de sueros controles en tubos que minimicen la pérdida (se proponen tubos de reacción de 0,5ml), o alternativamente aumente el excedente de 50% a 70% del volumen necesario, tapas de frascos con diferencia de color para las soluciones sustrato de EITB y ELISA y optimización de la estructura de contención de frascos/tubos.
2. Que PANAFTOSA – OPS/OMS suministre 2 bandejas de incubación por kit de EITB, una vez que PANAFTOSA – OPS/OMS haya efectivizado la importación de un número adecuado de este insumo (tentativamente a partir de octubre de 2005).
3. Que los países colaboren con el cumplimiento de la agenda de pedidos, los cuales deberán ser efectuados por las autoridades del Servicio Nacional, y preferentemente canalizados a través de la representación de OPS en el país. Se solicita el acompañamiento de la documentación pertinente ajustada a los períodos de vigencia de los mismos.
4. Que PANAFTOSA – OPS/OMS aumente el estoque de emergencia hasta un 20% de la cantidad producida en el cuatrimestre.
5. Que PANAFTOSA – OPS/OMS de trámite a las solicitudes de cotización de suministros, en tiempo y forma tal que sea posible asegurar la atención de pedidos dentro del tiempo contemplado en la agenda.

6. Que adicionalmente a la indicación de la fecha en que se introdujeron las últimas modificaciones que acompaña a las instrucciones de uso de todos los kits, PANAFTOSA – OPS/OMS incluya una nota alertando sobre la elaboración de una nueva versión de dichas instrucciones de uso.
7. Que los datos obtenidos de la evaluación serológica sean analizados disponiendo de la información epidemiológica correspondiente, antecedentes de vacunación, edad de los animales, unidades epidemiológicas, propiedades, pruebas ya realizadas y resultados, etc. Es recomendable que dicha evaluación se realice conjuntamente entre el laboratorio y epidemiología. La incorporación de perfiles de reactividad en la investigación seroepidemiológica puede ser un componente importante de la investigación. Particular cuidado debe tenerse cuando se evalúan las muestras como positivo y negativo, especialmente en resultados de la zona gris de la prueba.
8. A pesar de que la prueba de I-ELISA 3ABC no es recomendada para el uso individual, cuando la misma es utilizada para certificar movimiento de animales se recomienda que la interpretación de los resultados sea acompañada de la evaluación epidemiológica de la región y del predio de origen de los animales (incluyendo muestreos para evaluación de circulación viral en los mismos).
9. Que los países envíen a PANAFTOSA – OPS/OMS sus paneles internos de validación para evaluación final.
10. Que se eleve el número de sueros que constituye el panel de proficiencia a un número de 20, conforme recomendación OIE.
11. Que se establezca un calendario anual de ejecución de la ronda de control de calidad externo (CCE) (se propone durante el mes de Mayo), y se eleve una carta formal de invitación a los laboratorios de la región para participar de la misma. Se solicitó la inclusión de LANIP, Colombia en la lista de laboratorios participantes.
12. Que PANAFTOSA – OPS/OMS suministre kits para la ejecución del CCE en los casos excepcionales de laboratorios que no dispongan de suministros en la referida fecha, los cuales serán descontados del siguiente pedido.
13. Que los países remitan cada dos meses a PANAFTOSA – OPS/OMS los valores de absorbancia de los duplicados/triplicados obtenidos para los controles (CP1, CP2, CN) de todas las placas de todos los lotes utilizados en el laboratorio, incluyendo la identificación del lote como reportes mensuales. Evidencia de desvíos serán informados por PANAFTOSA – OPS/OMS a los países a la brevedad.
14. Que eventuales problemas en las pruebas sean informados inmediatamente a PANAFTOSA – OPS/OMS, remitiendo los valores de absorbancia de los duplicados/triplicados obtenidos para los controles (CP1, CP2, CN) y eventualmente los resultados del panel interno de evaluación, a los efectos de implementar acciones correctivas.
15. Se solicita al Servicio Nacional que haya transferido kits ELISA/EITB a laboratorios de su red (o bajo su supervisión técnica) que verifique y se responsabilice del uso de los mismos y de la información generada.



16. Que PANAFTOSA – OPS/OMS envíe a todos los países de la región cuatro viales de cada uno de los sueros estándares internacionales una vez certificados por OIE para tests de PNC, preparados y validados en PANAFTOSA – OPS/OMS (C++, C+ y CN) .
17. Que los países colaboren con PANAFTOSA – OPS/OMS en la constitución de un panel de evaluación Internacional (30 sueros, mínimo de 500 ml por suero). Contribuirán con este material: sueros de áreas libres sin vacunación: Argentina y Chile; sueros de zonas de foco y perifoco: Ecuador; sueros de animales con múltiples vacunaciones: Bolivia, sueros de animales de pruebas de PGP: Argentina. Se solicita la remisión de estos sueros, inactivados con BEI, acompañados del certificado de inocuidad y de las informaciones exigidas por OIE para la constitución de estándares de referencia. El costo de los envíos será cubierto por PANAFTOSA – OPS/OMS.
18. Que los países de la región solo utilicen pruebas de detección de anticuerpos anti-PNC validadas ante OIE.
19. Que PANAFTOSA – OPS/OMS evalúe el impacto de la modificación de expresión de resultados T/C a Porcentaje de Positividad, en diferentes umbrales, aplicado a muestreos de dos países de la región (Colombia: aproximadamente 8000 sueros del muestreo Costa Atlántica, 2001; Argentina : 6000 sueros de muestreo de frontera, 2004). Dichos países enviarán los sueros durante el primer trimestre del 2005; PANAFTOSA – OPS/OMS los procesará y evaluará los resultados durante el primer semestre del 2005.
20. Que los países que dispongan de sueros de zona gris o que presentan reacciones no específicas en las pruebas de ELISA /EITB los envíen a PANAFTOSA – OPS/OMS para la conformación de paneles de optimización de metodología.
21. Que los países de la región colaboren con PANAFTOSA – OPS/OMS para completar los paneles de sueros necesarios para concluir la validación del sistema en ovinos, caprinos y búfalos. En principio, habría disponibilidad para las siguientes situaciones:

<p><b>OVINOS</b></p> <p>Sueros de modelo experimental de animales vacunados y revacunados: Argentina</p> <p>Sueros de áreas libres sin vacunación (1000): Chile, Argentina</p> <p>Suero padrón para uso en la región como control positivo: Argentina</p> <p>Suero negativo en gran volumen: Chile, Argentina</p>	<p><b>BÚFALO</b></p> <p>Sueros de áreas libres: Brasil (500).</p> <hr/> <p><b>CAPRINOS</b></p> <p>Vacunados: Argentina</p>
---	--

## **6. POTENCIAL INTERFERENCIA DE VACUNA EN MUESTREOS PARA RECONOCIMIENTO DE ÁREAS LIBRES**

*Presentación del tema: Ingrid Bergmann*

*Relatores: José Luis Quiroga, Abraham Falczuk*

*Moderador: Natalia Vergara*

### Conclusiones

Los resultados informados por los participantes de muestreos realizados en la región durante los últimos dos años en apoyo al reconocimiento ante la OIE de áreas libres con vacunación, indican porcentajes de reactividad a anticuerpos contra proteínas no capsidales (PNC) de 0,2; 0,3; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9; 1,2; 1,3 y 1,6. Para un área que no vacuna el porcentaje reportado fue de 0,16. Para mantener el “ruido inmunológico” observado en áreas con vacunación al mínimo, y así no comprometer los resultados de muestreos, es esencial contar con vacunas cuyas concentraciones de PNC no induzcan anticuerpos.

La liberación de vacunas con presencias residuales de PNC, capaz de inducir una reactividad de anticuerpos en condiciones sistemáticas de vacunación, puede ocasionar conclusiones erróneas en la interpretación de los resultados de los muestreos por lo que se torna fundamental el control sistemático de los lotes previo a su autorización de uso.

En el universo de vacunas elaboradas en la región se evidencia que existen productos que en base a la purificación convencional de sus antígenos vacunales no presentan reactividad de anticuerpos contra PNC en los test utilizados, inclusive en condiciones de vacunación forzada.

Sin embargo, se han detectado en algunas series de vacuna niveles de PNC que llevan a inducir respuesta de anticuerpos, particularmente en condiciones forzadas de vacunación, y que podrían interferir en los muestreos serológicos.

A pesar de la recomendación surgida durante el VII Seminario Internacional de Control de Vacuna Antiaftosa, y reiterada en XXX COSALFA y en la Reunión del grupo interlaboratorial, 2003, en materia de control de PNC remanentes en las suspensiones virales que podrían inducir interferencia en los muestreos para reconocimiento de áreas, en ningún país se ha reglamentado a la fecha al respecto.

Se reconoció la necesidad de establecer una normativa regional que contemple pautas mínimas a ser cumplidas en lo inmediato, para un control de PNC en las vacunas. Las mismas deberían establecerse previo estudio cuali-cuantitativo y análisis del impacto en la vigilancia epidemiológica en un trabajo conjunto entre PANAFTOSA – OPS/OMS, los servicios Oficiales y los Laboratorios elaboradores de vacuna.

## Recomendaciones

1. Que PANAFTOSA – OPS/OMS evalúe los resultados obtenidos por el sistema I-ELISA 3ABC / EITB para detección de PNC en la serie de vacunas del año 2004 obtenidos en Brasil y Argentina, y realice las pruebas de los lotes de Colombia con vistas a definir una normativa preliminar que contemple los requisitos **mínimos** para ser aplicados en el control oficial de vacunas en los sueros a 28 y/o 60 y/o 90 DPV (prueba a realizarse con los mismos animales de las pruebas de potencia). El plazo acordado para tal estudio es finales de marzo, 2005, desde que los resultados (absorbancias de sueros y de controles) sean enviados electrónicamente a PANAFTOSA – OPS/OMS durante el mes de enero. Una vez analizados los resultados conjuntamente con los técnicos de los servicios oficiales responsables del control de vacuna se establecerá la metodología de control de lotes y los requisitos mínimos para criterios de aceptación/rechazo.
2. Que PANAFTOSA – OPS/OMS ponga a disposición de los países la metodología para la evaluación de PNC en suspensiones virales destinadas a producción de vacuna elaborando propuesta de convenio, semejante al proyecto PANAFTOSA – OPS/OMS - SINDAN (Brasil) para los otros países productores de vacuna que demuestren interés.
3. Que los países importadores de vacunas que implementan un sistema de vigilancia epidemiológica exijan se incluya el control de PNC a los efectos de asegurar la no interferencia vacunal en los muestreos seroepidemiológicos.

## CONCLUSIÓN GENERAL

- Los participantes agradecieron a PANAFTOSA – OPS/OMS los esfuerzos para la realización de esta reunión, considerada de gran utilidad para optimizar la dinámica operativa de la Red de Laboratorios de América del Sur, y consecuentemente para optimizar y armonizar el desempeño y la interpretación de resultados de los procedimientos de uso en los programas de Prevención, Control y Erradicación de las enfermedades vesiculares.
- Fue resaltada la importancia de encontrar instancias de intercambio de opiniones, experiencias e información.
- La falta de laboratorio NBS3A en PANAFTOSA – OPS/OMS limita la cooperación técnica que PANAFTOSA – OPS/OMS brinda a los países.
- Los participantes resaltaron la utilidad de la actualización bibliográfica recibida, así como la amplitud de los temas documentados.
- Se estableció la necesidad de continuar y reforzar los programas de capacitación.

## **RECOMENDACIONES GENERALES**

1. Que PANAFTOSA – OPS/OMS implemente un foro virtual de vinculación permanente y un foro de discusión en aspectos de laboratorio.
2. Que PANAFTOSA – OPS/OMS coordine una reunión anual de similares características a ésta, agendada con la suficiente anticipación tal que permita la preparación de documentos relevantes.
3. Que PANAFTOSA – OPS/OMS implemente módulos de capacitación en todas las áreas de diagnóstico y control de vacuna.
4. Que PANAFTOSA – OPS/OMS realice todas las gestiones a su alcance para la construcción del laboratorio de seguridad NBS3A.

## **ANEXOS**



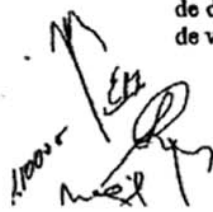
## 1 ° REUNIÓN DEL GRUPO INTERLABORATORIAL

### CONCLUSIONES y RECOMENDACIONES

El grupo de trabajo convocado para responder a la IV recomendación de la XXX COSALFA, ratificada en la IX COHEFA y 9° RIMSA, ha analizado los distintos aspectos relacionados con la necesidad del uso armonizado en la región de herramientas seroepidemiológicas para la vigilancia activa de la Fiebre Aftosa bajo la forma de kits completos para la detección de anticuerpos contra proteínas no capsidales (PNC).

Durante la reunión del referido grupo fueron identificados los puntos críticos de importancia para la región. De los trabajos efectuados así como de las discusiones generadas a partir de las experiencias con que se cuenta en los países en relación al uso de las referidas herramientas fueron extraídas las siguientes conclusiones:

- a. Se ratifica la necesidad de trabajo con kits completos,
- b. Se reconoce la necesidad de establecer pautas para el uso armonizado en la región de los kits diagnósticos basados en la detección de anticuerpos contra PNC que contemple el fortalecimiento del sistema de control de calidad interno y externo
- c. Se considera que el test de referencia para la región para la detección de anticuerpos contra PNC del virus de la fiebre aftosa, es el sistema I-ELISA 3 ABC/EITB
- d. Los estudios realizados durante la reunión del grupo de trabajo acerca del desempeño comparativo de los kits comercialmente disponibles para detección de anticuerpos contra PNC del virus de la fiebre aftosa, evaluados con sueros de la colección de PANAFTOSA así como con sueros suministrados por los países participantes en esta reunión, indican que existen considerables diferencias entre los desempeños comparativos de los kits estudiados.
- e. La experiencia en los países de la región demuestra que existen métodos convencionales de purificación de vacunas que no inducen interferencia en las pruebas usadas en la vigilancia activa, que pueda comprometer las interpretaciones, inclusive en aquellas que muestran los mejores desempeños de sensibilidad.
- f. Se reconoce la necesidad de disponer de paneles de sueros bovinos en número y volumen suficiente para comparar los parámetros de desempeño de los diferentes kits.
- g. Se reconoce la necesidad de conformar paneles de sueros para otras especies (ovina, caprina, bubalina, porcina) para comparar los parámetros de desempeño de los diferentes kits.
- h. Se solicita que PANAFTOSA colabore con el desarrollo y transferencia de metodología de detección y cuantificación de proteínas no capsidales durante el proceso de producción de vacunas.

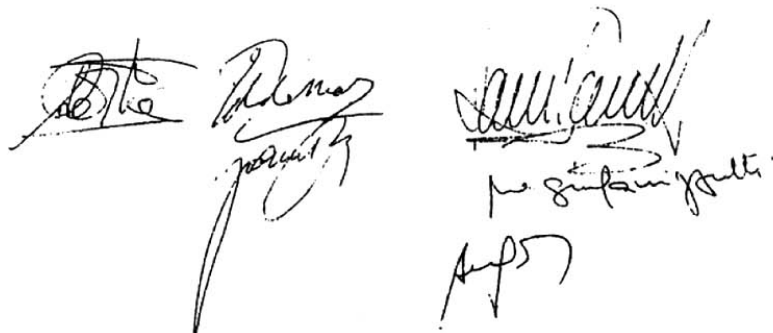
110001  


**Considerando:**

- a. Los avances observados en la erradicación de la fiebre aftosa en Sudamérica como resultado del esfuerzo de los países en una estrategia de lucha regionalizada;
- b. Los cambios en la reglamentación internacional sobre fiebre aftosa, conforme a lo establecido en el Capítulo 2.1.1 del Código Zoosanitario de la OIE y el desarrollo de guías sobre criterios mínimos de vigilancia que requieren una reorientación de la vigilancia epidemiológica en los países;
- c. Las conclusiones referidas anteriormente;

El grupo de trabajo recomienda:

1. Que los países que participaron de esta reunión conformen un grupo base para dar continuidad a las acciones tendientes a definir las pautas para el uso armonizado en la región de los kits basados en la detección de anticuerpos contra PNC. Este grupo convocará a otros países para formar parte del mismo, según los avances y necesidades detectadas.
2. Que los países utilicen kits completos con algoritmos de pruebas que sigan procedimientos validados, acompañados de la documentación pertinente, y que garanticen un desempeño comparable con el sistema de referencia para la región ELISA 3ABC/EITB.
3. Se reitera la recomendación de que los organismos nacionales de control de vacuna realicen la valoración de todas las series presentadas y, en caso de detectarse interferencias, que se tomen las acciones pertinentes.
4. Solicitar a PANAFTOSA que evalúe la posibilidad de expresar los resultados de la prueba I-ELISA 3 ABC en porcentajes de positividad, sin alterar las características de desempeño de la prueba.
5. Solicitar a los países de la región que colaboren con PANAFTOSA en la conformación de los sueros estándar de referencia para el sistema I-ELISA 3ABC/EITB, requeridos por la OIE.
6. Solicitar a los países de la región que colaboren con PANAFTOSA en la constitución de paneles de sueros, incluyendo bovinos, ovinos, caprinos y bubalinos, los cuales deberán estar disponibles para los países de la región, para ser utilizados en pruebas comparativas de desempeño de los kits.
7. Que PANAFTOSA asegure la disponibilidad y provisión oportuna y a precios accesibles a las economías de los países de la región, de kits I-ELISA 3 ABC y EITB y adicionalmente propugne el mantenimiento de un stock de emergencia de estos kits, mediante el fortalecimiento de la estructura de producción instalada para este fin.
8. Que los países realicen los esfuerzos necesarios para colaborar con el cumplimiento de la agenda propuesta por PANAFTOSA para solicitud de suministro de kits I-ELISA 3 ABC/EITB, con la finalidad de garantizar la disponibilidad y provisión oportuna de los mismos.





## LISTA DE PARTICIPANTES

PAÍS	PARTICIPANTE	INSTITUCIÓN
<b>Argentina</b>	Maradei, Eduardo	SENASA
<b>Bolivia</b>	Quiroga, José Luís	LIDIVET
<b>Brasil</b>	Maia, Lucia María Branca Brederodes, Carmen Lucia De Farias Cordeiro, Claudia Sfoggia, Marcos Vinicius Ravison, José Alberto Knust Ramalho, Alberto	LLA/SOS/MAPA LAPA - PE LAPA - PE LARA - RS LARA - RS LAPA - BELÉM
<b>Chile</b>	García, Alfonso	SAG
<b>Colombia</b>	Sánchez, Camilo Villamil, Mariluz	ICA ICA
<b>Ecuador</b>	Salgado, Gustavo	IZQUIETA PEREZ
<b>Paraguay</b>	Vergara, Natalia	SENACSA
<b>Perú</b>	Ortiz, Salomón	SENASA
<b>Uruguay</b>	Núñez, Álvaro	DILAVE
<b>Venezuela</b>	Conde, Florangel	INIA
<b>OPS/OMS</b>	Bergmann, Ingrid	PANAFTOSA – OPS/OMS
	Malirat, Viviana	PANAFTOSA – OPS/OMS
	Allende, Rossana	PANAFTOSA – OPS/OMS
	López, Jorge	PANAFTOSA – OPS/OMS
	Campos, Renata	PANAFTOSA – OPS/OMS
	Neitzert, Érika	PANAFTOSA – OPS/OMS
	Falczuk, Abraham	PANAFTOSA – OPS/OMS
	Sepúlveda, Lya	PANAFTOSA – OPS/OMS
	da Silva, Jonas	PANAFTOSA – OPS/OMS
	dos Reis, José Lourenço	PANAFTOSA – OPS/OMS
	Martins, Maurício A.	PANAFTOSA – OPS/OMS

**PROGRAMA DEL TALLER INTERNACIONAL DE ESPECIALISTAS  
DE LABORATORIO EN ENFERMEDADES VESICULARES**

---

**Día 14/12/04**

- 08:30 - Llegada a PANAFTOSA – OPS/OMS. Entrega de los materiales de trabajo.
- 08:45 - Palabras de bienvenida del Dr. Eduardo Correa Melo (Director de PANAFTOSA – OPS/OMS).
- 09:00 - Apertura de la Reunión. Objetivos y mecánica. Presentación de los participantes (Ingrid Bergmann).
- 09:15 - *Control de vacunas: Introducción* - Rossana Allende  
Potencia. Uso y desempeño del ELISA CFL. Intercambio de información.  
Correlación con PGP. Experiencias. Desarrollo del ELISA CFS.  
Inocuidad. Sensibilidad del método usado.  
Seguimiento a las recomendaciones del séptimo seminario (2001).  
Producción de vacunas. Producción, almacenamiento y suministro de virus de referencia (Bovino/BHK).  
Suministro de reactivos para pruebas ELISA CFL.
- 11:00 - Café.
- 11:20 - Continuación de las discusiones y elaboración de las recomendaciones.
- 13:00 - Almuerzo.
- 14:00 - *Biología Molecular. Introducción.* - Viviana Malirat  
Mecánica actual de interacción. Intercambio de información.  
Publicación y divulgación de las secuencias.  
Real Time PCR. Validación. Detección en LEF. PCR multiplex para diferenciales. Propuestas de proyectos.  
Elaboración de las recomendaciones.
- 14:50 - Café.
- 15:00 - *Enfermedades diferenciales. Introducción.* - Jorge López  
Grado de avance en el cumplimiento de las recomendaciones del último taller internacional.  
Uso y desempeño de los kits comerciales utilizados y de los suministrados por PANAFTOSA – OPS/OMS  
Futuras colaboraciones.  
Elaboración de las recomendaciones.
- 16:00 - *Esquema de Cooperación para un Banco Regional de Muestras. Introducción.* - Ingrid Bergmann  
Banco regional de muestras para validación de pruebas (sueros, epitelios, secreciones, fluidos etc.). Su necesidad y alcances.  
Sistema de colecta y almacenamiento.  
Estudios de caracterización.  
Usuarios y gerenciamiento.
- 

**Día 15/12/04**

- 08:30 - Esquema de Cooperación para un Banco Regional de muestras. (Continuación )  
Elaboración de las recomendaciones.
- 09:30 - *Sistema ELISA 3ABC-EITB. Introducción.* - Ingrid Bergmann, Renata de Mendonca Campos  
Experiencias en el uso de kits completos. Producción. Evaluación de las encuestas. Plazos de pedido y entrega. Cumplimiento.  
Interpretación de resultados. Control de Calidad Externo. Intercambio de datos.

Validaciones internas de desempeño. Robustez.  
Elaboración de las recomendaciones.

11:00 - Café.

11:20 - *Validación.*

Informes de las reuniones de: Grupo ad hoc OIE para NSP  
Grupo ad hoc OIE de epidemiología (infección Vs.Circulación viral.)  
Ejercicio U.E. en Brescia  
Cambio de T/C a porcentaje de positividad.  
Paneles de sueros estándares de referencia OIE y paneles de evaluación.  
Interpretación de muestreos.  
Experiencia de uso para otras especies: Bubalinos y ovinos.

13:00 - Almuerzo.

14:00 - Elaboración de las recomendaciones.

15:00 - *NSP en vacunas y su interferencia en la vigilancia activa. Introducción.* - Ingrid Bergmann, Erika Neitzert  
Experiencias de la interferencia de vacunas en los muestreos nacionales. Datos acumulados. Necesidad del control rutinario en series de vacunas.  
Alternativas de modelos a aplicar en el control. (primo- y revacunaciones)  
Experiencias en los países. Criterios mínimos de aceptación y rechazo.  
Pruebas para el control de antígenos durante la producción.  
Mecánica para el establecimiento de una Normativa Regional.

16:30: Café.

---

#### **Día 16/12/04**

08:30 - Continuación.

11:00 - Café.

11:20 - Recomendaciones.

12:30 - Almuerzo.

13:30 - *Revisión de las recomendaciones de COSALFA.* - Abraham Falczuk  
Discusión y recomendaciones.

14: 45 - Café.

15:00 - Redacción del informe de la reunión.

17:00 - Cierre de la reunión. Eduardo Correa Melo



**CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA**  
Unidad de Salud Pública Veterinaria – OPS/OMS