COSALFA

49ª Reunión Ordinaria de la Comisión Sudamericana de Lucha contra la Fiebre Aftosa

ATIVIDADES REALIZADAS POR EL LABORATÓRIO DE REFERENCIA OMSA/FAO PARA FEBRE AFTOSA Y ESTOMATITIS VESICULAR

(Junio 2021 a Julio 2022)

Edviges Maristela Pituco

Coordinadora del Laboratorio de Referencia OMSA para fiebre aftosa y estomatitis vesicular

PANAFTOSA/SPV-OPAS/OMS

ECUADOR

Reunión virtual 25-26 de agosto de 2022

OPS 120 ANIVERSARIO OPS | PANAFTOSA Centro Panamericano de Fiebre Aftosa y Salud Pública Veterinaria | 70 AÑOS

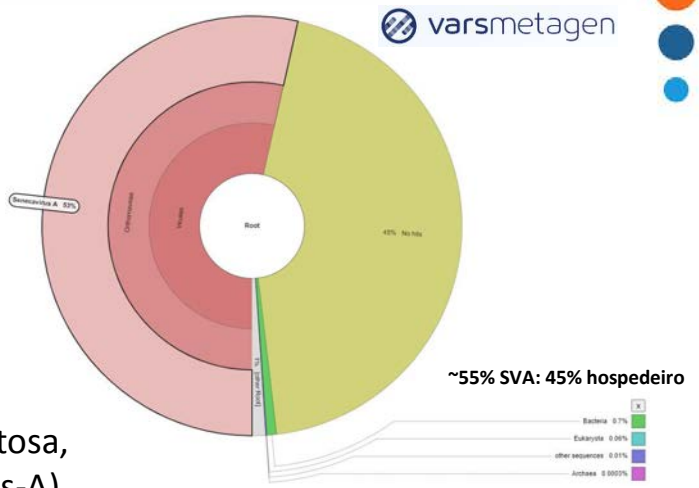
PAPEL DEL LABORATÓRIO DE REFERENCIA OMSA DE PANAFTOSA

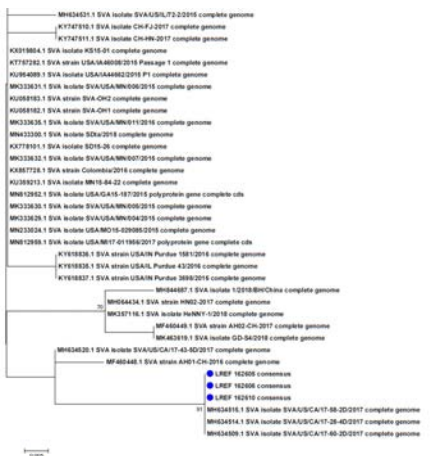
- Realiza procedimientos de alta complejidad para complementación diagnóstica y de control de calidad de vacunas para fiebre aftosa.
- Atividade principal: el análisis de las muestras enviadas por otros laboratorios de referencia nacionales, principalmente de países sudamericanos para confirmación de diagnóstico de fiebre aftosa y diferenciales.
- Además de eso, contribuir en garantizar la calidad del diagnóstico:
  - ✓ **reagentes de referencia** - controles o padrones usados para verificar la calidad y rastreabilidad metodológica de los análisis;
  - ✓ promoviendo **armonización de procedimientos** entre de los miembros de la red;
  - ✓ **ensayos de proficiência**
  - ✓ **cooperación técnica**
  - ✓ **capacitación** de recursos humanos
  - ✓ promoviendo **interacción con otras organizaciones** de referencia.
  - ✓ **investigación científica**

Sin casos sospechosos de fiebre aftosa desde 2018

REFERENCIA DIAGNÓSTICA

Chile – primer caso confirmado de Senecavírus A (2022) – PANAFTOSA contribuyo con la confirmación de los resultados ya obtenidos por el SAG. El equipo fue capaz en realizar los análisis de modo oportuno e eficaz.





- Fueron realizadas análisis por RT-PCR para todas las enfermedades vesiculares (fiebre Aftosa, exantema vesicular suíno, enfermedad vesicular suína, estomatitis vesicular e senecavirus-A), con **resultado positivo solo para senecavirus A.**
- Las muestra positiva fueron sometidas al ensayo metagenómico, capaz de detectar cualquier DNA o RNA presente en la muestra, esta herramienta nos permitió concluir que las muestras solo había ARN de SVA y que el virus detectado en Chile está relacionado con cepas americanas. Sin embargo hay pocas secuenciaciones recientes depositadas en el Genbank , como resultado son necesarios mas estudios para determinar la causa directa de la introducción del SVA en Chile.
- Apoyamos en el análisis de otras enfermedades vesiculares o confundibles (senecavirose, estomatitis vesicular lengua Azul, enfermedades causadas por orthopoxvirus o parapoxvirus - ectima contagioso, vaccínia bovina, pseudovaríola e estomatitis papular en bovinos)

TEST DE CONTROL DE CALIDAD DE VACUNAS

- El laboratorio de referencia **(LREF)** está apoyando al Laboratorio Venezolano productor de vacunas contra fiebre aftosa **(CALA)**, en la implantación de los test para el **control de calidad de las vacunas** producidas.

- Objetivo: evaluar si las vacunas producidas inducen a una **inmunidad satisfactoria**

COOPERACION TÉCNICA E INTERCAMBIO DE EXPERIENCIAS

Compartimos procedimientos para el diagnóstico de la fiebre aftosa y diferenciales con objetivo de armonizar:

Métodos:

- ✓ Biología molecular
- ✓ Neutralizacion viral
- ✓ ELISA
- ✓ Vaccine matching - control de vacunas

Equador

Bolívia

Uruguai

Chile

Peru

Colombia

Guyana

MATERIAL DE REFERENCIA

El LREF atendió todas las solicitudes de materiales de referencia, utilizados como estándar de análisis por los laboratorios nacionales para la verificación, implementación y validación de métodos de diagnóstico para la fiebre aftosa y diferencial (estomatitis vesicular, SVA, fiebre catarral ovina, poxvirus).

Proporcionó sueros de control positivos y negativos, cepas virales, líneas celulares y ARN viral utilizados en pruebas serológicas y moleculares.

DISTRIBUCIÓN DE REACTIVOS DE REFERENCIA

TIPOS DE REATIVOS	QUANTIDADE	PAÍSES DE DESTINO
Linajes celulares	10	Brasil y Colombia
Cepas de virus de estomatitis vesicular	15	Canadá
Cepas de virus de fiebre aftosa	5	Paraguay
ARN viral – controles positivos biología molecular	197	Argentina, Bolivia, Chile, Ecuador, Guyana, México y Paraguay
Sueros positivos contra proteínas estructurales y no-estructurales	47	Argentina, Colombia e Uruguay

PROVEEDOR DE PRUEBAS DE COMPETENCIA

PEP-2021 – Ensayo de Competencia en métodos de diagnóstico para **FMDV e VSV**, con el propósito de monitorear el desempeño y las garantías de resultados, complementando los procedimientos internos de controle de cualidad de los laboratorios.

RESULTADOS SATISFATÓRIOS
(todos los laboratorios)

PARTICIPANTES: 22 laboratorios de referencia nacionales e internacionales de 14 países (Argentina, Bolivia, Brasil, Canadá, Chile, Colombia, Ecuador, Estados Unidos, México, Panamá, Paraguay, Perú, Trinidad e Tobago e Uruguay)

04 PANELES para detección/tipificación del virus de fiebre aftosa, estomatitis vesicular y control de vacuna

MÉTODOS:

- ✓ RT-qPCR/RT-PCR y secuenciacion;
- ✓ ELISA – SI (tipificación FMDV/VSV);
- ✓ ELISA-3ABC/EITB – detección de anticuerpos contra proteínas capsidiales de FMDV;
- ✓ ELISA-LPBE – detección de anticuerpos contra proteínas capsidiales de FMDV;
- ✓ Neutralización viral - detección de anticuerpos anti-FMDV y VSV.

CONTROL EXTERNO DE CUALIDAD DIAGNÓSTICA DE LREF

Ensayos acreditados - ISO 17025 - CGCRE/INMETRO

➢ Manutención:

- ELISA 3 ABC
- EITB
- ELISA CFL - FMDV
- Neutralización viral – FMDV/VSV/SVA

➢ Extensión del alcance en 2022 (octubre)

- RT-qPCR - FMDV
- RT-PCR - FMDV
- RT-PCR - VSV
- ELISA-SI - tipificación

Participación de pruebas de competencia para evaluar la conformidad con as normas internacionales

Desempeño del LREF – clasificación PCP 5 – realizo pruebas de alta complejidad, sin ningún incumplimiento, **clasificación compatible con un laboratorio de referencia OMSA** de acuerdo con os criterios establecidos.

Pirbright

Feedback on the Foot-and-Mouth Disease Proficiency Test Scheme 2021

Dr Donald King
Head of the Vesicular Reference Laboratory
Head of the WRLFMD

Dr Anna Lutt
Head of Serology
Organiser of the PTS

5	OIE/FAO Reference Laboratories (PCP 5)	Enhanced genome sequencing	• FMD virus present • FMDV serotype • topotype, lineage, and relationship between FMDV positive samples in panel	NSP ELISA SP ELISA VNT	• Define infectious status • vaccination status • serotype • PVM • identify cross-reactivity

Invitación a la ronda 2022, (XXXIV edición)

TRANSFERENCIA DE CONOCIMENTO

EVENTOS VIRTUALES

Participamos de diversas transmisiones en vivo por internet, en plataformas como YouTube, Instagram, sitios institucionales y otros, promoviendo el debate sobre la fiebre aftosa y sus diferenciales, atendiendo un público diversificado, como veterinarios, técnicos y productores.

FECHA	INSTITUICION PROMOTORA DEL EVENTO	TEMA
05/07/2021	WEBINAR / ADAF / Amazonas-Brasil	Enfermedades vesiculares en Amazonas: situación del senecavirus el (SVA) y histórico de la enfermedad
Julho/2021	Podcast / DSA MAPA/ Brasil	Conversación sobre serotipos/topotipos y cepas del virus de la fiebre aftosa
05/10/2021	CNPC / Assembleia Geral Ordinária do Conselho Nacional da Pecuária de Corte	FMDV – Namíbia / África do Sul (nuevo linje?)
Novembro/2021	Virtual / DSA MAPA/ Brasil	Papel de PANAFTOSA como Centro de Referencia de la OMSA en Programas de Salud
02/12/2021	AGED / Maranhão	Situación de la fiebre aftosa en Brasil y Maranhão: perspectivas y riesgos
23 e 24/03/2022	AGED-MA - Curso de atendimento à suspeita de doença vesicular em estabelecimento de abate	Situación de la fiebre aftosa en Brasil y el mundo
Junho/agosto/ outubro 2021	Instrutor 03 cursos EAD MAPA/Brasil	Atendimiento y notificación de sospechas de enfermedades vesicular

TRANSFERENCIA DE CONOCIMENTO

CAPACITACIONES PRESENCIALES

SENACSA Paraguay en noviembre y diciembre de 2021

- Gabriela Annalizze Colman Garcete
- Anibal Nicolas Asilvera Piris
- Nilda Rosanna Bóveda Quiñonez
- Andrea Carolina López Arellano
- David Javier Melgarejo Vera
- Paola Cilia Santomé

INTA Argentina – julio 2022

- Lautaro Nahuel Franco

- Métodos de Diagnóstico serológicos y moleculares de enfermedades vesiculares
- Vacccine Matching estudio de desempeño de la vacuna contra fiebre aftosa frente a aislamientos de campo por el método de neutralización viral
- (EPP e R1)
- RT-qPCR e RT-PCR para la detección de Senecavirus A (SVA) y neutralización viral para detección de anticuerpos contra SVA

TRANSFERENCIA DE CONOCIMENTO

Con apoyo: ALBERT EINSTEIN Sociedade Beneficente Israelita Brasileira · varsmetagen

Workshop sobre **Secuenciamento de Patógenos Emergentes y Análisis bioinformático, período** 23 a 26 de mayo de 2022.
Objetivo: fortalecer la capacidad diagnóstica de los laboratorios de los servicio veterinario e incentivar a los países a implementar la vigilancia genómica de rutina contra patógenos emergentes.
Participación 07 países (Argentina, Brasil, Chile, Colombia, Paraguay, Perú y Uruguay)

MISION TÉCNICA BOLÍVIA

En mayo de 2022 realizamos misión técnica al UNILAB/SENASAG - Bolivia

EL Objetivo principal fue apoyar al laboratorio de enfermedades vesiculares en temas como procedimientos de diagnóstico para fiebre aftosa y enfermedades confundibles. Acompañamos el análisis con el nuevo Kit ELISA FMD gIII (3ABC) de PANAFTOSA. También fue discutido la importancia de implementar sistema de gestión de cualidad según el ISO 17025, entre otros asuntos.

ENTRENAMIENTO DEL EQUIPO LREF/PANAFTOSA

TÉCNICO

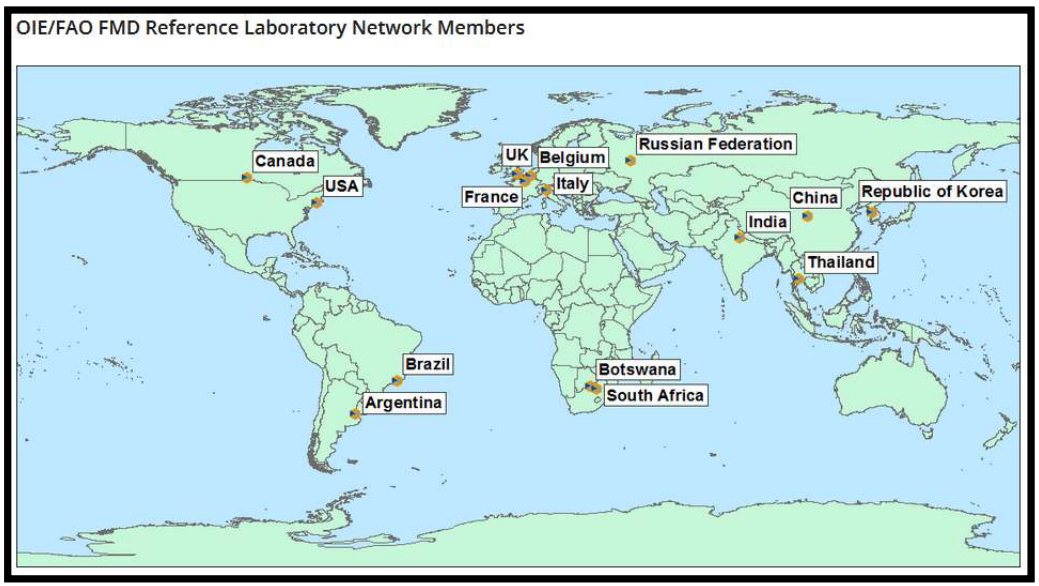
- Curso de introducción a la estructura, evolución y análisis por NGS de Genomas Virales, promovido por la Sociedad Brasileña de Virología – 20 h
- Workshop Teórico-Práctico sobre Secuenciación de Patógenos Emergentes y Análisis Bioinformático

GESTION DE CUALIDAD

- Curso de formación para especialistas en ABNT NBR ISO/IEC 17043:2011, Sociedad Brasileña de Metrología – modalidad EAD (28 horas) – 19 de agosto de 2021;
- Capacitación en metrología para medición de presión, promovido por RMW Soluciones Tecnológicas – online – 18 a 22 de octubre e 25 a 29 de octubre de 2021
- Workshop Dicla/INMETRO – Acreditación de Laboratorios, Inmetro – online – 22 a 24 de noviembre de 2021

PARTICIPACION EN FÓROS INTERNACIONALES

- **16th Reunión Anual de Redes de Laboratorios de Referencia para FMD de la OMSA/FAO 23 e 24 de noviembre de 2021** (virtual)



OIE/FAO
Foot-and-Mouth Disease
Reference Laboratories
Network

WAGENINGEN
UNIVERSITY & RESEARCH
New FAO laboratory
WBR Lelystad

PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

PROJECTOS DE INVESTIGACION

1- Inactivación de virus causantes de enfermedades vesiculares en muestras colectadas en campo

Objetivo: facilitar el transporte y permitir el procesamiento en laboratorios de baja biocontención probados (nivel 02)

- 07 productos aprobados: **MagMAX™ CORE Nucleic Acid Purification Kit, DNA/RNA Shield™, BUFFER AL, BUFFER AVL, SWAB NASAL GENOTUBE, TRIzol RNA, Maxwell® 16 Tissue DNA Purification Kit.**

Muestras: epitelio positivo para fiebre aftosa e senecavirus A

2 - Serovigilancia en un rebaño bovino vacunado contra FMD con 03 vacunas bivalente disponibles en el mercado brasileño (serotipos O_1 Campos e A_{24} cruzeiro)**.**

Objetivos:

- ✓ Evaluar la especificidad del kit FMD gIII ELISA en animales vacunados sistemáticamente.
- ✓ Evaluar la caída de anticuerpos caloterales en respuesta a primovacunados en becerros recién-nacidos con vacuna

PROJECTOS DE INVESTIGACION

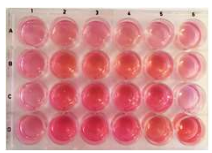
Inactivación de virus causantes de enfermedad vesicular en muestras colectadas en campo

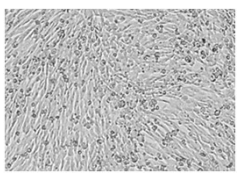
Objetivo: facilitar el transporte y permitir el procesamiento en laboratorios de baja biocontención probados (nivel 02)

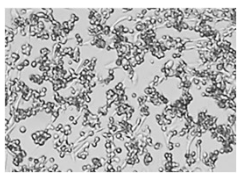
07 productos testados: **MagMAX™ CORE Nucleic Acid Purification Kit, DNA/RNA Shield™, BUFFER AL, BUFFER AVL, SWAB NASAL GENOTUBE, TRIzol RNA, Maxwell® 16 Tissue DNA Purification Kit.**

Muestras: epitelio positivo fiebre aftosa y senecavirus A

Aislamiento viral







Se evidenció que algunos presentaron un buen desempeño para inactivar el virus de fiebre aftosa en muestras virales aisladas en BHK.

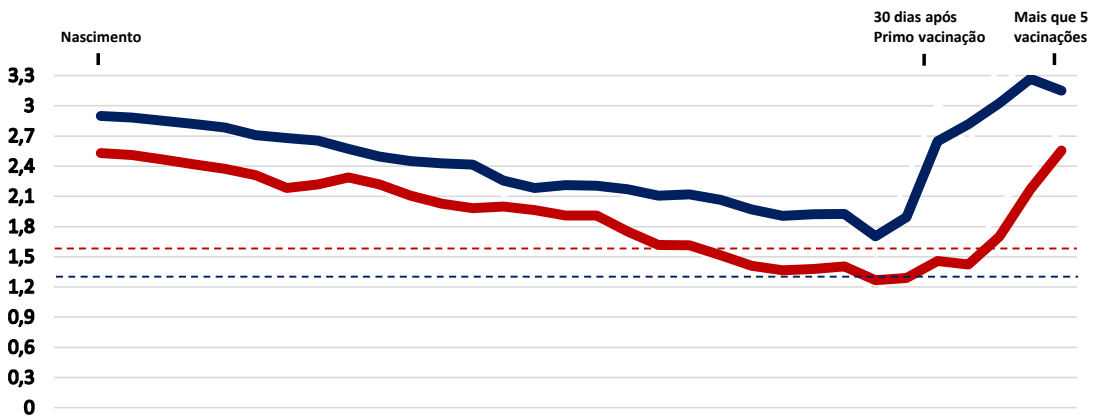
PRÓXIMAS ETAPAS:

- **Hacer prueba con tejiido que se sabe que está infectado con el virus de la fiebre aftosa**
- **Realizar prueba PCR para confirmar la ausencia de virus.**

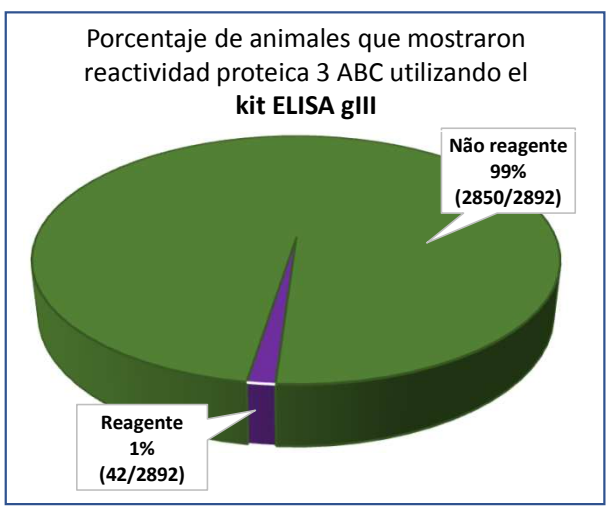
Serovigilancia en un rebaño bovino vacunado contra la fiebre aftosa con 03 vacunas bivalentes disponibles en el mercado brasileño

Porcentaje de protección esperado (SPP) considerado: EPP ≥75%= Serotipo A ≥ 1,36; Serotipo O: ≥ 1.66). Muestreo (Total de animales monitorizados): 382. * en curso

Pais de origem	Sorotipo FMDV		Nascimento	03 meses após nscimento e dias antes da primovacinação	30 dias após primovacinação	30 dias após 2-4 vacinação	30 dias apósmais que 5 vacinações
Brazil	O_1 Campos	Média de título	**2,58**	**1,3**	**1,4**	**2**	**2,8**
		% protegidos	100% (20/20)	9% (4/44)	23% (10/42)	53% (48/90)	86% (159/185)
Brazil	A_{24} Cruzeiro	Média de título	**2,88**	**1,5**	**2,2**	**3,2**	**3,4**
		% protegidos	100% (20/20)	40% (17/44)	67% (28/42)	97% (118/122)	98% (191/195)



Calendario de vacunación brasileño contra la fiebre aftosa – 2 ciclos de vacunación (mayo y noviembre), siendo una vez hasta los 2 años de edad y otra toda la manada.



Titulo protetor Ab/% (Serotipo O)		Titulo protetor Ab/% (Serotipo A)	
3.50	99.9%	3.00	99.90%
1.66	75%	1.36	75%
1.32	50%	1.14	50%
1.00	25%	0.92	25%
0.50	3.80%	0.50	3.80%

Fuente: estudio anterior PANAFTOSA (1995). Sub-proyecto para la correlación de las técnicas de control de potencia de las vacunas contra la fiebre aftosa en los países de la cuenca del Río de la Plata. Cooperación de la Comunidad Económica Europea con Argentina, Brazil y Uruguay a través del Centro Panamericano de Fiebre Aftosa/OPS.

OPS PANAFTOSA Centro Panamericano de Fiebre Aftosa y Salud Pública Veterinaria

CONSIDERACIONES FINALES

EL Laboratorio es uno de los pilares del PHEFA.

Rede Sulamericana de laboratários

Para garantizar la calidad de los resultados de los análisis y un programa de vigilancia eficaz objetivo común de todos los países

Fortalezas:

- ✓ Recursos humanos calificados en el área de laboratorio con profesionales especializados
- ✓ Integración entre PANAFTOSA y Laboratorios nacionales de referencia (relación de confianza y estricto relacionamiento interpersonal e institucional)
- ✓ Intercambio sistemático de procedimientos y material de apoyó
- ✓ Participación sistemática en ensayos de proeficiência
- ✓ Equipamientos suficientes para ejecución de los métodos de anál
- ✓ Compromiso del equipo para trabajar en harmonía incluso en situaciones adversas;

Investimento

Crescimento e fortalecimento

Desafíos:

- ✓ Modernización del parque de equipamientos y manutención de infraestructura laboratorial apropiada
- ✓ Implementar y mantener sistema de gestión de calidad según ISO 17025 en los laboratorios de referencia nacionales e internacionales.
- ✓ Elaborar y cumplir con los planes anuales de capacitación de los profesionales de los laboratorios.

"El mayor beneficio de la capacitación no proviene de aprender algo nuevo, sino de hacer mejor lo que ya hacemos bien".

(Peter Drucker)

EQUIPO DEL LABORATÓRIO

Maristela Pituco
5436 Advisor, Diagnostic Vir...
P-4
Rio de Janeiro

ALESSANDRA DO ALTISS
8104 Assistente Técnico de ...
AFT Centro Panamericano d...
Rio de Janeiro

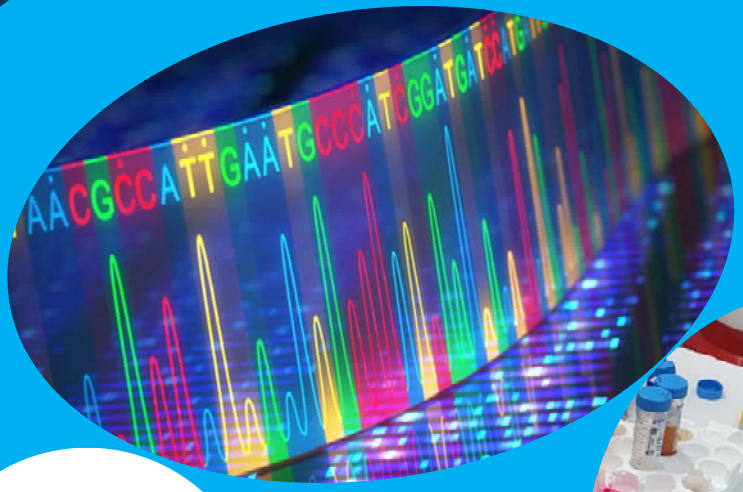
Flavia Bessi Constantino |
National PAHO Consultant (...
Rio de Janeiro

Iassudara Garcia de Alme
8163 Técnico de Laboratóri...
AFT Centro Panamericano d...
Rio de Janeiro

Arianna Drumond Lage
AFT Centro Panamericano d...
Rio de Janeiro

Vanderly De Campos
8083 Técnico de Laboratóri...
AFT Centro Panamericano d...
Rio de Janeiro

Antonidio Silva De Lima
8116 Assistente Técnico de ...
AFT Centro Panamericano d...
Rio de Janeiro



Gracias
Muito obrigada

OPS 120 OPS Organización Panamericana de la Salud | Organización Mundial de la Salud | PANAFTOSA Centro Panamericano de Fiebre Aftosa y Salud Pública Veterinaria | 70

www.paho.org/es/panaftosa

PANAFTOSAinf

panaftosa_inf

OPS 120 ANIVERSARIO

OPS

PANAFTOSA
Centro Panamericano de Fiebre Aftosa
y Salud Pública Veterinaria

70 AÑOS PANAFTOSA