



Organisation
Mondiale
de la Santé
Animale

World
Organisation
for Animal
Health

Organización
Mundial
de Sanidad
Animal

Original: francés
Septiembre de 2006

INFORME DE LA REUNIÓN DE LA COMISIÓN DE NORMAS BIOLÓGICAS DE LA OIE

París, 13–15 de septiembre de 2006

La Comisión de Normas Biológicas de la OIE se reunió en la sede de la OIE, del 13 al 15 de septiembre de 2006. El Dr. Bernard Vallat, director general de la organización, dio la bienvenida a los miembros de la comisión: profesor Steven Edwards, su presidente, la Dra. Beverly Schmitt, vicepresidenta, el Dr. Mehdi El Harrak, su secretario general, y el Dr. S.K. Bandhopadhyay, así como a los demás expertos: el Dr. Adama Diallo, representante del centro colaborador de la OIE para ELISA¹ y las técnicas moleculares para diagnosticar enfermedades animales, OIEA², Viena, Austria, y el Dr. Peter Wright, de Pesquerías y Océanos, Canadá.

El Dr. Vallat hizo hincapié en la importancia que tiene el trabajo de esta comisión en el ámbito del diagnóstico, tanto para erradicar las enfermedades como para mejorar la calidad de las vacunas. La Comisión, asimismo, desempeña un papel esencial para organizar la red de 180 laboratorios de referencia y centros colaboradores de la OIE, así como para seleccionar a los laboratorios miembros de dicha red y en lo relativo a las medidas de bioseguridad para los laboratorios que trabajan con organismos patógenos. Dada la importancia de dichas tareas, se ha propuesto aumentar el número de miembros de la comisión con ocasión de las últimas elecciones, para que pase de tres a cinco, así como recurrir más a los grupos *ad hoc*. El Dr. Vallat recordó a los asistentes que la OIE tiene más de 120 miembros que son países en desarrollo y que los laboratorios en estos países deberían estar más implicados en la red, pero que ello requeriría un esfuerzo a largo plazo que podría comenzar con un programa global de hermanamiento de los laboratorios de los países en desarrollo con los de los países desarrollados.

El Prof. Edwards mencionó la próxima conferencia internacional de los laboratorios de referencia y centros colaboradores de la OIE, que se celebrará en Florianópolis, Santa Catarina, Brasil, en diciembre de 2006 y que sería una excelente oportunidad de promoción de dichos programas de hermanamiento. El Dr. Vallat también destacó la importancia de la reunión de los presidentes de las comisiones especializadas, en octubre, para entablar vínculos y trabajar en estrecha colaboración.

El Prof. Edwards procedió entonces a presentar a los nuevos miembros de la comisión, deseándoles la bienvenida y explicándoles brevemente el procedimiento de trabajo.

El temario y la lista de participantes figuran en los anexos I y II.

¹ ELISA: método inmunoenzimático

² OIEA: Organismo Internacional para la Energía Atómica

1. Laboratorios de referencia y centros colaboradores de la OIE

1.1. Nuevas candidaturas a centro colaborador y laboratorio de referencia:

La Comisión recomendó que se fuesen aceptados los candidatos siguientes:

Centro colaborador de la OIE para investigar las enfermedades aviarias emergentes

Southeast Poultry and Research Laboratory (SEPRL), departamento de Agricultura de Estados Unidos, Servicio de investigación agraria, 934 College Station Road, Athens, Georgia 30605, Estados Unidos. Tel.: (+1-706) 546.3433; E-mail: dswayne@seprl.usda.gov

Laboratorio de referencia de la OIE para el gusano barrenador del ganado

COPEG (Comisión Panamá-Estados Unidos para la erradicación y prevención del gusano barrenador del ganado), Panamá.

Experto de referencia designado: Ha sido enviada una carta oficial al Delegado de Panamá solicitando esta información.

Laboratorio de referencia de la OIE para el muermo

Friedrich-Loeffler-Institute, Instituto de infecciones bacterianas y zoonosis, Naumburger Str. 96a, 07743 Jena, Alemania

Tel.: (+49-3641) 80.42.00; Fax: (+49-3641) 80.42.28; E-mail: heinrich.neubauer@fli.bund.de

Experto de referencia designado: Dr. Heinrich Neubauer

Laboratorio de referencia de la OIE para la clamidiosis (ovina y aviar)

Friedrich-Loeffler-Institute, Instituto de infecciones bacterianas y zoonosis, Naumburger Str. 96a, 07743 Jena, Alemania

Tel.: (+49-3641) 80.43.34; Fax: (+49-3641) 80.42.28; E-mail: konrad.sachse@fli.bund.de

Experto de referencia designado: Dr. Konrad Sachse

1.2. Actualización de la lista de laboratorios de referencia

La OIE fue informada de varios cambios de expertos que trabajan en los laboratorios de referencia. La Comisión recomienda que los siguientes expertos sean aceptados:

Perineumonía contagiosa bovina

Dra. Ana Rosa Pombo Botelho reemplaza al Dr. José Regalla en el Laboratório Nacional de Investigação Veterinária, Lisboa, Portugal.

Control de los productos medicinales veterinarios en África subsahariana

Dr. Assionghon Teko-Agbo reemplaza al Dr. François Abiola en EISMV, Dakar, Senegal.

Brucelosis

Dr. Falk Melzer reemplaza al Dr. Konrad Sachse en el Friedrich-Loeffler-Institute, Instituto de infecciones bacterianas y zoonosis, Jena, Alemania.

Influenza aviar

Dr. Timm C. Harder reemplaza al Dr. Ortrud Werner en el Friedrich-Loeffler-Institute, Federal Research Centre for Virus Diseases of Animals (BFAV), Insel Riems, Alemania.

Enfermedad de Newcastle

Dr. Christian Grund reemplaza al Dr. Ortrud Werner en el Friedrich-Loeffler-Institute, Federal Research Centre for Virus Diseases of Animals (BFAV), Insel Riems, Alemania.

1.3. Actividades de los laboratorios de referencia en el campo de los agentes zoonóticos

La Comisión aprobó una propuesta de la profesora Ilaria Capua para que todos los laboratorios de referencia que trabajan con agentes zoonóticos sean animados a compartir los datos secuenciales y otras informaciones importantes con los laboratorios médicos, como ya se ha hecho en el caso de la influenza aviar, por medio de la red OFFLU.

1.4. Promoción del hermanamiento

La Comisión sigue fomentando el hermanamiento entre laboratorios de países desarrollados y en desarrollo y señala que la próxima Conferencia de los laboratorios de referencia y centros colaboradores de la OIE, en Brasil, brindará la oportunidad de promover tal concepto y de impulsar el programa.

1.5. Primera Conferencia internacional de los laboratorios de referencia y centros colaboradores de la OIE, Brasil, diciembre de 2006

La Comisión estudió y propuso enmiendas menores al programa de esta conferencia, que se celebrará en Florianópolis, Santa Catarina, Brasil, del 3 al 5 de diciembre de 2006. Asimismo, pasó revista a los proyectos de cuestionario que serán enviados a dichos centros y laboratorios y cuyo propósito consiste en recabar informaciones sobre la red de laboratorios y centros y sus métodos de trabajo. Las respuestas serán analizadas y presentadas por el Dr. Gideon Brückner en la conferencia para todos los delegados de la OIE y los expertos.

2. Normalización internacional de las pruebas de diagnóstico y las vacunas

2.1. Programas de normalización de la OIE para las pruebas de diagnóstico

Influenza aviar altamente patógena (HPAI) – Coordinador: Dr. P. Selleck, Australian Animal Health Laboratory (AAHL), Geelong, Victoria, Australia

El Dr. Selleck informó a la Comisión de que el suero de referencia internacional de la OIE para la prueba AGID³ todavía está en curso de preparación. Este proyecto se ha atrasado debido al fuerte incremento en la carga de trabajo de los laboratorios de referencia, como consecuencia de la situación actual de la influenza aviar. La Comisión se dio por enterada y animó al Dr. Selleck a continuar su trabajo.

PCR⁴ para la leucosis bovina enzoótica – Coordinador: Dr. L. Renström, Instituto Veterinario Nacional, Uppsala, Suecia

El Dr. Renström explicó que no había progresos que señalar para el protocolo estándar de esta prueba y que se esperaba que los expertos reunidos en Brasil hablarían del tema.

Suero de referencia estándar para la leucosis bovina enzoótica – Coordinador: Dr. Dagmar Beier, Friedrich Loeffler Institute, Wusterhausen, Alemania

La Comisión estudió un extenso documento presentado por el laboratorio de referencia de la OIE para esta enfermedad en Alemania, relativo a la validación de un suero estándar internacional que reemplazaría al actual (E4), cuyas existencias son ya escasas. Habiendo examinado los datos, la Comisión recomienda la adopción del nuevo suero estándar (E5).

Brucelosis ovina y caprina – Coordinadora: Sra. J. Stack, VLA Weybridge, Reino Unido

La Sra. J. Stack expuso los primeros resultados obtenidos con un ensayo en anillo con los sueros candidatos. Los laboratorios de referencia enviarán otros resultados.

Artritis/encefalitis caprina y maedi-visna – Coordinador: Dr. Gérard Perrin, AFSSA Niort, Francia

El Dr. Perrin había transmitido los resultados obtenidos por el Instituto Pourquier, que se ha encargado del trabajo por cuenta del laboratorio de referencia de la OIE. La Comisión solicitó que la OIE obtuviese explicaciones sobre varios aspectos técnicos del informe.

³ AGID = Inmunodifusión en gel de agar (*Agar gel immunodiffusion*)

⁴ PCR = Amplificación en cadena por la polimerasa (*Polymerase chain reaction*)

Durina – Coordinador: Prof. V.T. Zablotzky, All-Russian Research Institute for Experimental Veterinary Medicine (VIEV), Moscú, Rusia

El Prof. Zablotzky había informado a la Comisión que se estaban realizando evaluaciones adicionales de la preparación candidata a suero de referencia. La Comisión desea obtener más informaciones y le pedirá al Dr. Drygin que se haga cargo del asunto.

Brucelosis porcina – Coordinador: Dr. K. Nielsen, Canadian Food Inspection Agency, Nepean, Canadá

El Dr. Nielsen informó a la Comisión que se habían enviado kits a los laboratorios de referencia. Como se presentaron varias dificultades técnicas, fueron realizados envíos suplementarios. Todavía no había recibido los resultados de esta prueba en anillo. La Comisión instó a los laboratorios participantes a enviar sus resultados al Dr. Nielsen.

Gripe equina – Coordinador: Dr. J. Daly, Animal Health Trust, Newmarket, Reino Unido

La EDQM (*European Directorate for the Quality of Medicine*) había comunicado un expediente completo de validación para un antisuero para el subtipo 2 “americano” A/Eq/South Africa/4/03. La Comisión convino en adoptar este antisuero como suero estándar internacional de la OIE, añadiéndolo a los demás.

2.2. Normalización de las vacunas

La Dra. J. Mumford, experta de la OIE para la gripe equina, había enviado varias cartas relativas a la aplicación de las recomendaciones del panel de expertos de esta enfermedad por parte de los fabricantes de vacunas. El Prof. Edwards tratará este asunto con la Dra. Mumford.

3. Lista de pruebas prescritas y de sustitución

3.1. PCR en tiempo real para detectar el virus de la rinotraqueítis infecciosa bovina en extensiones de semen bovino

Después de que los expertos informasen sobre el expediente de validación de esta prueba (cf informe de la Comisión de enero de 2006), han sido recibidos más datos, que los expertos de la OIE también han estudiado. La Comisión convino en que no se dispone de un fundamento suficiente para recomendar el uso de la PCR en tiempo real para detectar este virus en extensiones de semen bovino como prueba prescrita para el comercio. El protocolo figura en el Anexo III y se añadirá a la versión del *Manual Terrestre* publicada en la web si el Comité lo autoriza.

4. Grupos *ad hoc*

4.1. Grupo *ad hoc* encargado de la biotecnología

Para tratar este tema, se unió a los participantes en la reunión el profesor Paul-Pierre Pastoret, presidente del grupo *ad hoc*. Fueron propuestas algunas modificaciones al mandato del grupo, que este examinará en su próxima reunión. La Comisión aceptó la propuesta del grupo, que se subdividirá en tres subgrupos para continuar su trabajo. El grupo *ad hoc* tendrá como prioridades las vacunas y los aspectos sanitarios de la tecnología de clonación de animales. Seguirá siendo informado sobre la nanotecnología. El informe del grupo fue aprobado y figura en el Anexo IV.

4.2. Grupo *ad hoc* encargado de la resistencia a los antimicrobianos

El Prof. Edwards informó a la Comisión del debate que tuvo lugar en la Sesión General de mayo de 2006 sobre la lista de antimicrobianos veterinarios. Con arreglo a la Resolución n° XXXIII de la Sesión General, el grupo *ad hoc* ha sido convocado para finales de septiembre de 2006 con el fin de seguir elaborando la lista. Sobre este tema, se ha entablado un diálogo con la Comisión del Codex Alimentarius.

4.3. Grupo *ad hoc* encargado de la bioseguridad

La Dra. Schmitt puso a la Comisión al tanto de las actividades del grupo. Prácticamente ha concluido la redacción del “Manual para la construcción en condiciones de bioseguridad veterinaria”, que será presentado en una reunión en Singapur, antes de que lo publique la OIE. La Comisión tomó nota, asimismo, de la última versión de un documento de la OMS titulado “*Biorisk management: Laboratory Biosecurity Guidance*” (gestión de riesgos: guía de bioseguridad para laboratorios). La OIE ha contribuido a la elaboración de este documento. La Comisión consideró que está bien equilibrado, por más que, lógicamente, preste mayor atención a los riesgos para los humanos que para las poblaciones animales. Podría completar las normas de la OIE publicadas en el *Manual Terrestre*.

4.4. Grupo *ad hoc* encargado de las pruebas de diagnóstico de la EEB⁵

La Comisión tomó nota de un documento preparado por el laboratorio de referencia de la OIE para la EEB, en Weybridge, Reino Unido, titulado: “Evaluación de las pruebas comerciales de confirmación de la EEB”.

4.5. Grupo *ad hoc* encargado de las directrices de la OIE para los sueros de referencia internacional para las pruebas con anticuerpos

Como se había decidido, el grupo ha trabajado comunicándose por vía electrónica. Su informe fue presentado por el Dr. Adama Diallo y figura en el [Anexo V](#). Sus principales recomendaciones, que fueron aceptadas por la Comisión, fueron que las directrices deberían ser revisadas, en particular para reconocer la radiación gamma o el tratamiento químico con bromoetilenimina (BEI) como alternativas aceptables para inactivar los agentes adventicios en los sueros de referencia internacional.

5. Revisión de las directrices de la OIE

Reconociendo la necesidad de revisar las directrices de la OIE para preparar sueros de referencia internacional (cf punto 4.5), la Comisión decidió emprender una revisión completa del manual “Normas de calidad y directrices de la OIE para los laboratorios veterinarios”. Se actualizará también la norma de calidad de la OIE para alinearla con la norma ISO 17025-2000, trabajo ya realizado por François Diaz y el Dr. Peter Wright. Asimismo, se encargará la revisión de las directrices de la OIE sobre las pruebas de aptitud, para tomar en cuenta el trabajo de ISO⁶ e ILAC⁷.

6. Manual de la OIE de pruebas de diagnóstico y vacunas para los animales terrestres (mamíferos, aves y abejas)

Para tratar este punto, se unió a los participantes el redactor-consultor, Dr. James Pearson.

Los Países Miembros habían enviado comentarios sobre los tres grupos de proyectos de capítulo que habían sido comunicados hasta entonces (68 capítulos en total). Los comentarios recibidos fueron estudiados y se modificaron los capítulos cuando era necesario.

A la vista de la existencia de un registro de la OIE de pruebas de diagnóstico validadas y certificadas, se convino en que las referencias a los kits comerciales, en la medida de lo posible, deberían ser suprimidas del *Manual Terrestre*. Al principio del manual, se añadirá una advertencia que dice: “las referencias a kits comerciales no significan que la OIE los apruebe. Todos los kits comerciales deberán ser validados. Las pruebas incluidas en el registro de la OIE ya han cumplido este requisito.”

La Comisión discutió la necesidad de realizar pruebas de patogenicidad en aves de corral con todos los aislados de H5 y H7 de influenza aviar de baja patogenicidad de secuencia determinada obtenidos en aves silvestres, cuando la información sobre las secuencias en aislados numerosos sea similar. La Comisión está de acuerdo en que al definir los programas de vigilancia los países puedan determinar por sí mismos si es necesario realizar pruebas de patogenicidad en aislados obtenidos de aves silvestres.

⁵ EEB: Encefalopatía espongiforme bovina

⁶ ISO: Organización Internacional de Normalización (*International Organization for Standardization*)

⁷ ILAC: *International Laboratory Accreditation Cooperation* (acuerdo de cooperación para acreditar laboratorios)

La Comisión consideró que el estado de avance de la sexta edición del *Manual Terrestre* es satisfactorio y que podrá ser publicado en el primer trimestre de 2008, como estaba previsto.

7. Registro de la OIE de pruebas de diagnóstico validadas y certificadas

François Diaz dio parte del estado de avance de los cuatro expedientes que hasta el momento había recibido la OIE. El Prof. Edwards recordó a la Comisión que sería necesario responder a algunas preguntas por correo, electrónico u ordinario, cuando los informes de los paneles de expertos estuviesen listos.

Diaz expuso algunos de los problemas que se habían presentado, en particular, la falta de expertos en enfermedades exóticas o raras y la ausencia de orientación para el “nivel de perfección” del expediente de candidatura. Asimismo, destacó que las evaluaciones daban un resultado distinto según la composición de los paneles de expertos.

La Comisión aprobó las modificaciones que Diaz había efectuado en el Procedimiento ordinario de actuación.

8. Revisión de las ciberpáginas de la OIE que conciernen a la Comisión

La Comisión pidió a sus miembros que preguntasen a sus colegas si tienen dificultades para consultar las ciberpáginas de la OIE, de tal modo que puedan ser solventadas.

9. Relaciones con las demás comisiones

Para tratar este punto, se unieron a los participantes el Dr. A. Thiermann, presidente de la Comisión de Normas Sanitarias para los Animales Terrestres (Comisión del Código), y la Dra. Sarah Kahn, jefa del departamento de Comercio Internacional de la OIE.

• COMISIÓN DE NORMAS SANITARIAS PARA LOS ANIMALES TERRESTRES

9.1. Métodos de diagnóstico de la paratuberculosis

La Comisión del Código deseaba saber si había algún progreso reciente que señalar para las pruebas de diagnóstico de esta enfermedad. La Comisión de Normas Sanitarias respondió que seguía habiendo problemas, pero que se solicitaría a un experto australiano en paratuberculosis que comunicase más informaciones sobre los métodos de diagnóstico. El método de PCR recientemente desarrollado parece prometedor, pero hay que compararlo con técnicas conocidas. El problema no estriba en la prueba misma, sino en la estrategia de muestreo y en la interpretación de los resultados.

9.2. Transporte de agentes patógenos

A un País Miembro le preocupaba que, si se suprimen las Directrices para laboratorios relativas a los distintos grupos de contención, que figuran en el *Código Sanitario para los Animales Terrestres (Código Terrestre)*, para añadirlas al *Manual Terrestre* sin sincronizar las operaciones, esta valiosa información puede quedar indisponible temporalmente. Ambas comisiones convinieron en que no se modificaría el *Código* mientras el *Manual* no haya sido aprobado y pueda ser consultado por vía electrónica, para evitar toda pérdida temporal de información.

La Comisión comentó el diálogo que se mantiene con la Comisión de expertos de la ONU en transporte de mercancías peligrosas. La OIE sigue insistiendo en que se adopte un enfoque proporcionado para el transporte de material de diagnóstico de la influenza aviar y para el transporte de animales muertos.

9.3. Enfermedad de la frontera

La Comisión del Código comunicó que el Anexo 3.2.1 relativo al semen de pequeños rumiantes había sido enmendado este año como consecuencia de los comentarios de los Países Miembros y que ya no es necesario analizar a los donantes de semen para detectar esta enfermedad. El *Manual Terrestre* sigue recomendando tal prueba para los carneros reproductores. La Comisión manifestó su sorpresa ante tal cambio en el *Código Terrestre* pero consultará a los expertos para saber si es probable que el virus de la enfermedad de la frontera se encuentre en el semen.

9.4. Vacunas recombinantes contra la rabia para el comercio internacional

Como consecuencia de una recomendación de la Conferencia de la OIE sobre la Rabia en Europa, celebrada en junio de 2005 en Kiev, Ucrania, la Comisión reiteró su opinión (cf. Informe de septiembre de 2005), según la cual, la vacunación por vía parenteral de los animales domésticos recurriendo a vacunas recombinantes que expresen la glicoproteína del virus de la rabia en un sector viral vivo, como la viruela del canario, no puede ser considerada como vacunación con virus vivo de la rabia. El capítulo del *Manual Terrestre* ha sido modificado en este sentido y se ha facilitado un texto apropiado a la Comisión del Código destinado al capítulo correspondiente del *Código Terrestre*.

• COMISIÓN CIENTÍFICA PARA LAS ENFERMEDADES DE LOS ANIMALES

9.5. Lengua azul

En el artículo 2.2.13.2, párrafo 3a del capítulo del *Código Terrestre* relativo a la enfermedad de la lengua azul, se recomienda dejar pasar 60 días antes de trasladar a los rumiantes vacunados y otros herbívoros susceptibles a un país o zona libres del virus de la enfermedad. Tras consultar a un experto, la Comisión recomienda que se modifique el texto para dejar claro que este período de 60 días se aplica únicamente a las vacunas vivas. En caso de vacunación con vacunas inactivadas, no es necesario esperar 60 días.

9.6. Vacunas contra la influenza aviar

Tras el debate en la Sesión General (párr. 338) la Comisión observó que el capítulo del *Manual Terrestre* relativo a la influenza aviar (versión en línea actualizada en 2005) incluye normas y disposiciones generales sobre la producción y el uso de vacunas. Si se requiere más información sobre la utilización de los distintos tipos de vacunas en circunstancias epidemiológicas particulares, la Comisión Científica puede facilitarla. Un proyecto de documento de la OIE sobre la vacunación contra esta enfermedad presenta la información esencial, pero la Comisión recomendó que fuese revisado y corregido.

10. Asuntos varios

10.1. OFFLU⁸

El Comité Director se reunió en el VLA de Weybridge, Reino Unido, el 19 de julio de 2006, con los doctores Vallat y Domenech. Se decidió que OFFLU no se encargaría de organizar las misiones a los países afectados, sino que comunicaría listas de expertos del Centro de Gestión de Crisis de la FAO y la OIE basado en Roma. Se está progresando mucho en lo relativo a convencer a los laboratorios de todo el mundo para que compartan las cepas de virus o los datos secuenciales con la comunidad científica mundial y OFFLU ha firmado la GISAID (Iniciativa mundial para compartir datos sobre la influenza aviar). Sigue habiendo problemas para que los miembros de la red cumplan sus obligaciones y se progresa muy poco en la adquisición de recursos y contratación de personal para alcanzar los objetivos de la red.

10.2. Programa del Seminario de la OIE sobre biotecnología, paralelo al Simposio de WAVLD⁹

El Dr. Edwards solicitó a los miembros de la Comisión que propongan temas y oradores para el Seminario sobre Biotecnología, que se celebrará conjuntamente con el Simposio de WAVLD en Melbourne, Australia, en 2007. De esto hablará también el Grupo *ad hoc* encargado de biotecnología y el Dr. Edwards se pondrá en contacto con los organizadores en Melbourne.

10.3. La OMS¹⁰ solicita que se oriente a los países que desean transferir prototipos de cepas en caso de pandemia de influenza aviar

La OMS envió una carta sobre sus recomendaciones y las de la OIE relativas a la transferencia de prototipos de cepas en caso de pandemia de influenza aviar. La Comisión se hace cargo de la preocupación de la OMS. Esta organización preguntaba si se podrían realizar pruebas *in vitro* para

⁸ OFFLU: Red de la OIE y la FAO para la influenza aviar

⁹ WAVLD: Asociación mundial de diagnosticadores de laboratorios veterinarios

¹⁰ OMS: Organización Mundial de la Salud

determinar la inocuidad de los prototipos de cepas de vacuna antes de su transporte, lo que permitiría efectuar la evaluación sin tener que recurrir a una contención de bioseguridad. La comisión convino en que, en situación de urgencia, las pruebas *in vitro* son suficientes y no hace falta efectuar pruebas de inoculación *in vivo*. La OMS podría preparar un texto con instrucciones para sus miembros.

10.4. VICH¹¹: Estudio de las vacunas veterinarias vivas en animales diana para verificar la ausencia de reversión a la virulencia

VICH había enviado un proyecto de guía sobre este tema. El representante de la OIE ante VICH la comparará con las normas de la OIE para cerciorarse de que coinciden y no se contradicen. Se cotejará asimismo el glosario de VICH con el del *Manual Terrestre*.

10.5. Respuesta a las preguntas planteadas en la Sesión General: gripe equina en perros en Estados Unidos

Para responder a una pregunta planteada en la Sesión General de mayo de 2006 (párrafo 337 del Informe Final), Estados Unidos había comunicado a la Comisión información sobre la influenza canina. Los casos de esta enfermedad son muy numerosos en este país y afectan tanto a los galgos de carreras como a los perros de compañía. La cepa ha sido caracterizada como H3N8, estrechamente relacionada con la influenza equina del mismo subtipo (*Science* [2005], **310**, p. 482). En la ciberpágina de la Universidad Cornell, en septiembre de 2006, figuran 715 muestras positivas sobre las 4 306 analizadas (<http://diaglab.vet.cornell.edu/issues/civ.asp>). También hay información al respecto en www.avma.org/public_health/influenza/default.asp#canine

La Comisión entiende que son los perros los que se transmiten la enfermedad entre ellos, pero todavía no hay pruebas de que la transmitan a los caballos o a otras especies.

10.6. Reunión de consultores sobre “Normas, referencias y validación” en la sede de la OIEA, en Viena, Austria, del 21 al 24 de noviembre de 2006

El Dr. Adama Diallo, representante del centro colaborador de la OIE para ELISA y otras técnicas moleculares para el diagnóstico de las enfermedades animales, presentó los temas que serán tratados en esta reunión. La Comisión recomienda encarecidamente que la OIE envíe a ella a un miembro de su personal.

10.7. Fechas de la próxima reunión de la Comisión de Normas Biológicas

La próxima reunión de la Comisión está prevista para los días 23 a 25 de enero de 2007 y la siguiente tendrá lugar los días 25 a 27 de septiembre de 2007.

.../Anexos

¹¹ VICH: Cooperación internacional para la armonización de los requisitos técnicos del registro de medicamentos veterinarios

REUNIÓN DE LA COMISIÓN DE NORMAS BIOLÓGICAS DE LA OIE

París, 13–15 de septiembre de 2006

Temario

1. Laboratorios de referencia y centros colaboradores de la OIE
2. Normalización internacional de las pruebas de diagnóstico y las vacunas
3. Lista de pruebas prescritas y de sustitución
4. Grupos *ad hoc*
5. Revisión de las directrices de la OIE
6. *Manual de la OIE de pruebas de diagnóstico y vacunas para los animales terrestres*
7. Registro de pruebas de diagnóstico de la OIE
8. Revisión de las ciberpáginas de la OIE que conciernen a la Comisión
9. Relaciones con las demás comisiones
10. Asuntos varios

REUNIÓN DE LA COMISIÓN DE NORMAS BIOLÓGICAS
París, 13–15 de septiembre de 2006

Lista de participantes

MIEMBROS

Prof. Steven Edwards (*Presidente*)
 VLA Weybridge
 New Haw, Addlestone
 Surrey KT15 3NB
 REINO UNIDO
 Tel.: (44-1932) 34.11.11
 Fax: (44-1932) 34.70.46
 s.edwards@vla.defra.gsi.gov.uk

Dra. Beverly Schmitt
(Vicepresidenta)
 National Veterinary Services
 Laboratories, Diagnostic Virology
 Laboratory, P.O. Box 844, Ames,
 IA 50010
 ESTADOS UNIDOS
 Tel.: (1-515) 663.75.51
 Fax: (1-515) 663.73.48
 beverly.j.schmitt@aphis.usda.gov

Dr. Mehdi El Harrak
(Secretario general)
 Chef Département Virologie, BP 4569,
 Avenue Hassan II, km2, Rabat-Akkari
 MARRUECOS
 Tel.: (212-37) 69.04.54
 Fax: (212-37) 69.36.32
 elharrak_m@hotmail.com

Dr. Santanu K. Bandhopadhyay
 Department of Animal Husbandry and
 Dairying, Ministry of Agriculture,
 Dr Rajendra Prasad Road, Room No
 234, Krishi Bhavan, New Delhi 110001
 INDIA
 Tel.: (91-11) 233.84.146
 Fax: (91-11) 233.82.192
 skbandy@email.com

Dr. Vladimir Drygin
(no pudo asistir)
 Federal Service for Veterinary &
 Phytosanitary Surveillance, Federal
 Government Institution, FGI ARRIAH,
 600901 Yur'evets, Vladimir
 RUSIA
 Tel.: (4922) 26 38.77/06.14/19.14
 Fax: (4922) 26 38.77/06.14/19.14
 vdrygin@yandex.ru

EXPERTO

Dr. Peter Wright
 Fisheries and Oceans Canada,
 343 University Avenue, Moncton,
 New Brunswick, NB E1C 9B6
 CANADA
 Tel.: (1-506) 851.29.48
 Fax: (1-506) 851.20.79
 WrightPf@DFO-MPO.GC.CA

CENTRO COLABORADOR DE LA OIE

Dr. Adama Diallo
 FAO/IAEA Centre for ELISA and
 Molecular Techniques in Animal
 Disease Diagnosis International Atomic
 Energy Agency Wagramerstrasse 5,
 P.O. Box 100, A-1400 Vienna
 AUSTRIA
 Tel.: (43-1) 2600.28355
 Fax: (43-1) 2600.28222
 a.diallo@iaea.org

**REDACTOR CONSULTOR DEL
 MANUAL TERRESTRE**

Dr. James E. Pearson
 4016 Phoenix
 Ames, Iowa 50014
 ESTADOS UNIDOS
 Tel.: (1-515) 292.94.35
 jpearson34@aol.com

OFICINA CENTRAL DE LA OIE

Dr. Bernard Vallat
 Director General
 OIE 12 rue de Prony
 75017 Paris, FRANCIA
 Tel.: (33-1) 44.15.18.88
 Fax: (33-1) 42.67.09.87
 oie@oie.int

Dr. Gideon Brückner
 Jefe del departamento
 científico y técnico
 g.bruckner@oie.int

Dra. Elisabeth Erlacher-Vindel
 Jefa adjunta del departamento científico
 y técnico
 e.erlacher-vindel@oie.int

Sara Linnane
 Redactora científica,
 Departamento científico y técnico
 s.linnane@oie.int

François Diaz
 Secretariat for Validation, Certification
 and Registry of Diagnostic Assays,
 Departamento científico y técnico
 f.diaz@oie.int

**MANUAL DE LA OIE DE PRUEBAS DE DIAGNÓSTICO Y VACUNAS
PARA LOS ANIMALES TERRESTRES
(MAMÍFEROS, AVES Y ABEJAS)**

Propuesta de modificación de la lista de pruebas prescritas y de sustitución

Enfermedad	pruebas prescritas	pruebas de sustitución
Rinotraqueítis infecciosa bovina / Vulvovaginitis pustular infecciosa	NV, ELISA, Id. agente (sólo semen), <u>PCR (sólo semen)</u>	–

- NV = Neutralización viral
 ELISA = Ensayo inmunoenzimático (*Enzyme-linked immunosorbent assay*)
 Id. agente = Identificación del agente etiológico
 PCR = Amplificación en cadena por la polimerasa (*Polymerase chain reaction*)

Doble subrayado = propuesta nueva.

En letra pequeña entre corchetes = supresión propuesta.

Amplificación en cadena por la polimerasa en tiempo real (prueba prescrita para el comercio internacional)

El siguiente método de análisis por PCR en tiempo real ha sido desarrollado para detectar BoHV-1 en extensiones de semen de los bovinos que se destinan a la venta. Este método ha sido validado de conformidad con los capítulos 1.1.3 y 1.1.4 y comprende una comparación general e internacional de seis laboratorios colaboradores especializados en pruebas para la rinotraqueítis infecciosa bovina (siglas en inglés: IBR).

Numerosos estudios han mostrado que los ensayos por PCR son más sensibles que el aislamiento de virus (9, 11, 12, 15). La PCR en tiempo real ha sido empleada para detectar BoHV-1 y BoHV-5 en experimentos de inoculación en bovinos y ratones (1, 4) y numerosos ensayos por PCR ordinaria han sido empleados para detectar el ADN de BoHV-1 en muestras de semen de bovino infectado artificial o naturalmente (2, 3, 5, 10, 15, 16). La detección ordinaria de los productos amplificados de PCR se efectúa mediante análisis por electroforesis en gel. Se han seleccionado cebadores específicos de secuencia para amplificar diferentes partes de gen conservado de glicoproteína de genoma de BHV-1, a saber, el gen de glicoproteína B (gB) (3,8), el gen gC (9,11), el gen gD (9,15), el gen gE (3) y el de la cinasa timidina (6,17).

La diferencia entre la PCR en tiempo real y la ordinaria es que los productos de ésta última se detectan directamente durante el ciclo de amplificación, con una sonda de hibridación, lo que aumenta la especificidad del ensayo. Los ensayos con PCR en tiempo real presentan varias ventajas respecto a la PCR ordinaria: utilizando solamente dos cebadores pueden alcanzar una sensibilidad igual o casi a la de PCR anidada, con mucho menos riesgo de contaminación. La amplificación y detección de la diana se realizan simultáneamente. No hay que manipular productos después de la amplificación, lo que reduce las posibilidades de contaminación, y es posible hacer un análisis cuantitativo con los aparatos de PCR en tiempo real.

La PCR en tiempo real que aquí describimos utiliza un par de cebadores específicos de secuencia para amplificar el ADN diana y una oligosonda (TaqMan) de 5'-nucleasa para detectar los productos amplificados. La oligosonda es un oligonucleótido único, de secuencia específica marcada con dos fluoróforos diferentes: el indicador/donador, 5-carboxifluoresceína (FAM) en el extremo de 5', y el aceptor/extintor, 6-carboxitetrametilrhodamina (TAMRA) en el extremo de 3'. Este ensayo ha sido diseñado para detectar el ADN viral de todas las cepas de BHV-1, inclusive los subtipos 1 y 2, en extensiones de semen bovino. Realiza una amplificación selectiva de una secuencia de 97 pares de base del gen de la glicoproteína B (gB). En el protocolo que se describe más adelante se detallan los cebadores y las sondas.

- **Preparación de la muestra, material y reactivos**

- i) En principio, las muestras que se usan en este tipo de prueba son extensiones de semen de bovino guardado en nitrógeno líquido. Las muestras de semen pueden ser transportadas hasta el laboratorio en nitrógeno líquido o pueden ser transportadas a 4°C y luego almacenadas en nitrógeno líquido o a -70°C (larga duración) o a 4°C (corta duración). No parece que el hecho de guardar el semen a 4°C durante un corto período de tiempo (hasta 7 días) afecte a la calidad del resultado de la prueba por PCR.
- ii) Se analizarán tres pajuelas de cada lote de semen. Habrá que duplicar las amplificaciones por PCR para cada preparado de ADN (seis amplificaciones en total) para cerciorarse de que se detecta ADN en las muestras que contienen pocos virus.
- iii) Se necesita disponer de un aparato de detección por PCR en tiempo real y del *software* de análisis de datos correspondiente para hacer el ensayo. Existen numerosos aparatos de distintos fabricantes. Para el procedimiento que vamos a describir, se utilizó el RotorGene 3000 de Corbett Research Ltd, Australia, pero también pueden utilizarse otros. El resto del material que se necesita es una microcentrifugadora, un bloque calentador, un baño de agua hirviendo, un microvortex, un agitador magnético y microprobetas. Las pruebas por PCR pueden detectar cantidades ínfimas de moléculas del ácido nucleico diana y, por lo tanto, hay que tomar medidas para evitar la contaminación¹.
- iv) La prueba por PCR en tiempo real que vamos a describir consta de dos procedimientos separados. Primero se extrae el ADN de BoHV-1 del semen utilizando resina quelatante Chelex-100, junto con proteinasa K y DL-ditiotreitol (DTT). En segundo lugar, se realiza la amplificación y detección de la plantilla de ADN extraída con un aparato de detección por PCR en tiempo real partiendo de una mezcla de reacción para PCR: Platinum Quantitative PCR SuperMix-UDG, Invitrogen Technologies (existen

1 La contaminación puede provenir de una simple transferencia del producto de muestras positivas o, lo que es más corriente, de productos de PCR de experimentos anteriores. Las muestras y los reactivos serán manipulados en zonas separadas, con equipos para el reactivo separados de los equipos para preparar, amplificar y detectar las muestras.

numerosos kits comerciales para la amplificación con PCR en tiempo real de numerosos fabricantes, el kit elegido debe ser compatible con la plataforma de PCR en tiempo real). Los cebadores y sondas necesarios pueden ser sintetizados por varias empresas. En este protocolo utilizamos los de Sigma-Genosys.

- **Extracción del ADN**

- En tubo con tapa rosca de 1,5 ml, añadir:

Chelex 100 sodium (Sigma) (10% p/v en agua destilada desionizada)	100 µl.
Proteinasa K (10 mg/ml, Sigma)	11.5 µl
DL-Ditiotreitol (1 M, Sigma)	7.5 µl
Agua sin nucleasa	90 µl
Muestra de semen	10 µl

 Mezclar suavemente por pipetado².
- Los tubos se mantienen en incubadora a 56°C durante 30 minutos y a continuación se pasan por el microvórtex a velocidad elevada durante 10 segundos.
- A continuación, se mantienen en agua hirviendo durante 8 minutos y después vuelven a pasar por el microvórtex a velocidad elevada durante 10 segundos.
- Se centrifugan a 10,000 **g** durante 3 minutos.
- El sobrenadante³ se transfiere a un microtubo limpio y puede utilizarse directamente para la PCR o guardarse a -20°C para hacer la prueba más adelante.

- **Preparación de los reactivos**

La mezcla reactiva para PCR en tiempo real (Platinum Quantitative PCR SuperMix-UDG, u otra) suele presentarse en concentración de 2 x, lista para su uso. Síganse las instrucciones del fabricante para su aplicación y almacenado.

Las soluciones para cebadores son de agua sin nucleasas con una concentración de 4.5 µM y 3 µM, respectivamente. La solución de stock para cebadores y sonda se guardan a -20°C y la solución de sonda debe protegerse de la luz. Pueden prepararse alícuotas de uso único para limitar la congelación de los cebadores y sondas y prolongar su vida útil.

- **Procedimiento para la prueba por PCR en tiempo real**

- Secuencias de los cebadores y la sonda

Una selección de cebadores y sonda figura en Abril *et al.* (2004) como se describe a continuación:

Cebador gB-F: 5'-TGT-GGA-CCT-AAA-CCT-CAC-GGT-3' (posición 57499–57519 GenBank®, acceso AJ004801)

Cebador gB-R: 5'-GTA-GTC-GAG-CAG-ACC-CGT-GTC-3' (posición 57595–57575 GenBank®, acceso AJ004801)

Sonda TaqMan: 5'-FAM-AGG-ACC-GCG-AGT-TCT-TGC-CGC-TAMRA-3' (posición 57525–57545 GenBank®, acceso AJ004801)
- Preparación de las mezclas reactivas

Las mezclas reactivas para PCR se preparan en una sala de laboratorio limpia. Todos los reactivos, salvo las muestras de prueba se mezclan antes de ser repartidas en los tubos. Para cada prueba PCR, habrá que incluir controles apropiados: como mínimo, un NTC (no template control, sólo reactivo), controles negativos apropiados, es decir, 1 por cada 10 muestras, y dos controles positivos (fuerte y débil). Cada muestra y cada control se someten a pruebas duplicadas. Las amplificaciones de PCR se efectúan con 25 µl de volumen.

 - Las mezclas reactivas para PCR se incorporan en una sala limpia (sin cultivos víricos, extractos de ADN o productos de amplificación)

2 × Platinum Quantitative PCR SuperMix-UDG	12.5 µl
ROX colorante de referencia (facultativo)	0.5 µl

2 Es importante que el sodio Chelex 100 se distribuya por igual en la disolución al realizar el pipetado, ya que no es soluble. Para ello, se puede poner el recipiente que contiene la solución Chelex-100 en un agitador magnético, durante el pipetado.

3 Las muestras de AND pueden enturbiarse y es posible que se forme una fina membrana blanca después de congelarlas y descongelarlas. No parece que esto influya en absoluto en el resultado de la PCR. No es necesario calentar o volver a centrifugar las muestras.

Cebador directo (<i>forward</i>) (gB-F, 4.5 µM)	1 µl
Cebador inverso (<i>reverse</i>) (gB-R, 4.5 µM)	1 µl
Sonda (3 µM)	1 µl
Agua sin nucleasas	4 µl

- b) Se incorporan 5 µl de la plantilla de AND a la mezcla reactiva hasta alcanzar un volumen final de 25 µl. Las muestras de ADN se preparan e incorporan en una sala separada.

iii) Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (TaqMan)

Los tubos se colocan en el aparato de detección por PCR en tiempo real en una sala separada, destinada a la PCR.

Se programa el aparato para la prueba del siguiente modo:

Parámetros de reacción PCR⁴

Un ciclo:	mantener a 50°C 2 minutos
Un ciclo:	mantener a 95°C 2 minutos ⁵
45 ciclos:	mantener a 95°C 15 segundos
	Mantener a 60°C 45 segundos

iv) Análisis de los datos de la PCR en tiempo real

El umbral suele fijarse de acuerdo con las instrucciones del fabricante para el *software* seleccionado. También se puede efectuar un análisis exhaustivo (por ejemplo, hasta 60 ciclos de amplificación) de aislamientos de virus de semen negativas, de animales seronegativos, para determinar la reacción de fondo asociada con el sistema de detección utilizado.

• Interpretación de los resultados

• Controles

Para cada prueba por PCR, hay que hacer controles positivos y negativos, así como controles del reactivo. Se puede utilizar semen negativo, procedente de aislamiento de virus negativo de animales seronegativos, como control negativo. Para el control positivo, es preferible utilizar semen positivo procedente de animales infectados naturalmente, pero que puede ser difícil de obtener. Como alternativa, los controles positivos pueden derivar de semen negativo inoculado con cantidades conocidas de virus BoHV-1.

• Resultados

Resultado positivo: toda muestra con un valor de umbral de ciclo (Ct) igual o inferior a 45 es considerada positiva. El control positivo debe tener un valor Ct dentro de un horquilla aceptable (± 3 valores Ct), que se habrá determinado previamente mediante pruebas de repetición.

Resultado negativo: toda muestra que no presente valor Ct es considerada negativa. El control negativo y ningún control de plantilla no tendrán valor Ct.

REFERENCIAS

1. ABRIL C., ENGELS M., LIMAN A., HILBE M., ALBINI S., FRANCHINI M., SUTER M. & ACKERMANN M. (2004). Both viral and host factors contribute to neurovirulence of bovine herpesviruses 1 and 5 in interferon receptor-deficient mice. *J. Virol.*, **78**, 3644–3653.
2. DEKA D., MAITI RAMNEEK N.K. & OBEROI M.S. (2005). Detection of bovine herpesvirus-1 infection in breeding bull semen by virus isolation and polymerase chain reaction. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, **24**, 1085–1094.
3. GROM J., HOSTNIK P., TOPLAK I. & BARLIC-MAGANJA D. (2006). Molecular detection of BHV-1 in artificially inoculated semen and in the semen of a latently infected bull treated with dexamethasone. *Vet. J.*, **171**, 539–544.
4. LOVATO L., INMAN M., HENDERSON G., DOSTER A. & JONES C. (2003). Infection of cattle with a bovine Herpesvirus 1 strain that contains a mutation in the latency-related gene leads to increased apoptosis in trigeminal ganglia during the transition from acute infection to latency. *J. Virol.*, **77**, 4848–4857.

4 Estos parámetros de PCR están basados en los más adecuados para RotorGene 3000, Corbett Research Ltd, Australia, y pueden variar con plataformas de PCR diferentes.

5 Otros sistemas de PCR *Taq*, de fabricantes distintos, pueden requerir una desnaturalización inicial (95°C) más larga: hasta 10 minutos. Siga las instrucciones del fabricante.

5. MASRI S.A., OLSON W., NGUYEN P.T., PRINS S. & DEREGT D. (1996). Rapid detection of bovine herpesvirus 1 in the semen of infected bulls by a nested polymerase chain reaction assay. *Can. J. Vet. Res.*, **60**, 100–107.
6. MOORE S., GUNN M. & WALLS D. (2000). A rapid and sensitive PCR-based diagnostic assay to detect bovine herpesvirus 1 in routine diagnostic submissions. *Vet. Microbiol.*, **75**, 145–153.
7. ROLA J., POLAK M. & ZMUDZINSKI J. (2003). Amplification of DNA of BHV 1 isolated from semen of naturally infected bulls. *Bull. Vet. Inst. Pulaway*, **47**, 71–75.
8. SANTURDE G., SILVA N.D., VILLARES R., TABARES E., SOLANA A., BAUTISTA J.M., CASTRO J.M. & DA SILVA N. (1996). Rapid and high sensitivity test for direct detection of bovine herpesvirus-1 genome in clinical samples. *Vet. Microbiol.*, **49**, 81–92.
9. SMITS C.B., VAN MAANEN C., GLAS R.D., DE GEE A.L., DIJKSTRAB T, VAN OIRSCHOT J.T. & RIJSEWIJK F.A. (2000). Comparison of three polymerase chain reaction methods for routine detection of bovine herpesvirus 1 DNA in fresh bull semen. *J. Virol. Methods*, **85**, 65–73.
10. VAN ENGELENBURG F.A.C., MAES R.K., OIRSCHOT J.T., RIJSEWIJK F.A.M. & VAN ENGELENBURG F.A.C. (1993). Development of a rapid and sensitive polymerase chain reaction assay for detection of bovine herpesvirus type 1 in bovine serum. *J. Clin. Microbiol.*, **31**, 3129–3135.
11. VAN ENGELENBURG F.A.C., VAN SCHIE F.W., RIJSEWIJK F.A.M. & VAN OIRSCHOT J.T. (1995). Excretion of bovine herpesvirus 1 in semen is detected much longer by PCR than by virus isolation. *J. Clin. Microbiol.*, **33**, 308–312.
12. VILCEK S., NETTLETON P.F., HERRING J.A. & HERRING A.J. (1994). Rapid detection of bovine herpesvirus 1 (BHV 1) using the polymerase chain reaction. *Vet. Microbiol.*, **42**, 53–64.
13. WAGTER L.H.A., GLAS R.D., BLEUMINK PLUYM N., VAN ENGELENBURG F.A.C., RIJSEWIJK F.A.M. & HOUWERS D.J. (1996). A polymerase chain reaction (PCR) assay for the detection of bovine herpesvirus 1 (BHV1) in selectively digested whole bovine semen. *Vet. Res. Comm.*, **20**, 401–408.
14. WEIBLEN R., KREUTZ L., CANABOROO T.F., SCHUCH L.C. & REBELATTO M.C. (1992). Isolation of bovine herpesvirus 1 from preputial swabs and semen of bulls with balanoposthitis. *J. Vet. Diag. Invest.*, **4**, 341–343.
15. WIEDMANN M., BRANDON R., WAGNER P., DUBOVI E.J. & BATT C.A. (1993). Detection of bovine herpesvirus-1 in bovine semen by a nested PCR assay. *J. Virol. Methods*, **44**, 129–140.
16. XIA J.Q., YASON C.V. & KIBENAGE F.S.B. (1995). Comparison of dot blot hybridization, polymerase chain reaction, and virus isolation for detection of bovine herpesvirus-1 (BHV-1) in artificially infected bovine semen. *Can. J. Vet. Res.*, **59**, 102–109.
17. YASON C.V., HARRIS L.M., MCKENNA P.K., WADOWSKA, D. & KIBENAGE F.S.B. (1995). Establishment of conditions for the detection of bovine herpesvirus-1 by polymerase chain reaction using primers in the thymidine kinase region. *Can. J. Vet. Res.*, **59**, 94–101.

INFORME DE LA REUNIÓN DEL GRUPO AD HOC DE LA OIE ENCARGADO DE BIOTECNOLOGÍA
Sede de la OIE, París, Francia, 3–5 de abril de 2006

El grupo *ad hoc* de la OIE encargado de Biotecnología se reunió en la sede de la organización, en París, del 3 al 5 de abril de 2006. Presidió la reunión el Prof. Paul-Pierre Pastoret. Los doctores Cyril G. Gay y Eric Schoonejans se encargaron de redactar las actas. El temario y la lista de participantes en la reunión figuran, respectivamente, en los Anexos I y II.

El Dr. Bernard Vallat, director general de la OIE, dio la bienvenida al grupo y destacó que el principal mandato de la OIE consiste en mejorar la sanidad animal en todo el mundo aplicando y elaborando normas internacionales. Indicó que la OIE reconoce la necesidad de llegar a un mismo concepto y definición de la biotecnología para los propósitos de la sanidad animal¹. Definió como sigue los principales temas que el grupo deberá tratar:

1. *El papel de la biotecnología:* El Dr. Vallat hizo hincapié en la necesidad de disponer de mejores instrumentos para el fomento de la sanidad y el bienestar de los animales (vacunas, medicamentos, etc.); por ejemplo, el uso de la ingeniería genética y de OVM² para desarrollar nuevas vacunas y nuevos fármacos, que han sido identificados como desafíos para cumplir el mandato de la OIE;
2. *La inocuidad de los animales clonados y transgénicos:* En la 73^a Sesión General de la OIE, en 2005, el Comité Internacional aprobó una Resolución sobre la biotecnología, después de que la Dra. Anne McKenzie presentase su tema técnico, en el que también trató la cuestión de la inocuidad de los OMG³ y los animales clonados. El Dr. Vallat subrayó que la resolución debe ser considerada dentro del contexto de la salud pública y animal, no dentro del contexto de la salubridad de los alimentos, en la medida en que corresponde al mandato del Codex Alimentarius y de otro grupo de expertos de la OIE.
3. La necesidad de elaborar directrices para las prioridades en materia de investigación biotecnológica en relación con la sanidad y el bienestar animales, que serán trasladadas a los políticos y los organismos financiadores.

En el transcurso del debate con el Dr. Vallat, fueron abordados otros puntos:

1. Cuestiones relativas a la protección de los animales o la ecología, como son la consideración del uso de la biotecnología en la lucha biológica contra especies nocivas y la conservación de los recursos genéticos animales;
2. La inocuidad de los alimentos para animales, lo que incluye los piensos MG⁴, y su relación con la sanidad animal corresponde claramente al mandato de la OIE.
3. La validación de las pruebas de diagnóstico, así como la determinación de la OIE para desarrollar normas y procedimientos de certificación de dichas pruebas y de la calidad de las vacunas.

¹ El proyecto de tabla comparativa de “términos” de las organizaciones internacionales, preparada por la consulta de la FAO sobre *Biosafety within a Biosecurity Framework*, fue uno de los documentos de información que ilustraron la necesidad de armonizar mejor las definiciones y la terminología de las organizaciones internacionales.

² OVM: organismos vivos modificados

³ OMG: organismos modificados genéticamente

⁴ MG: modificado genéticamente

4. El mandato de la OIE incluye a los insectos, pero no se tratará la utilización de la biotecnología para luchar contra los vectores de enfermedades (enfermedades transmitidas por vector) antes de atender las principales prioridades.
5. Fue planteada la cuestión de los animales de compañía al hablar de la existencia de mascotas MG, como los peces. El grupo fue informado que la OIE tratará los riesgos para la sanidad animal asociados con el comercio internacional de mascotas, con arreglo a su programa de actividades.

1. Proyecto de términos de referencia

El proyecto de términos y la organización del trabajo fueron objeto de un debate y se decidió formar subgrupos dentro del grupo *ad hoc* para tratar temas específicos. Se confirmó que el grupo *ad hoc* ayudará a la OIE a desarrollar directrices generales que se podrán adaptar a las circunstancias de cada país.

El grupo se concentrará primero en la identificación de cuestiones que deberán ser tomadas en cuenta al desarrollar todo tipo de directrices para las biotecnologías aplicadas a las vacunas y los animales reproductores.

El grupo convino en evitar repetir el trabajo ya realizado en otras instancias (como VICH⁵, IETS⁶, Codex Alimentarius). Se reconoció el trabajo de otras organizaciones internacionales que tiene relación con los términos del grupo, como:

- directrices de EMEA⁷ para las vacunas de ADN;
- las actividades en torno a los diagnósticos en Viena, en la OIEA⁸, para evaluar diagnósticos en la etapa de producto final (se opinó que era algo crucial para el comercio internacional y la OIE);
- los trabajos ya realizados por el taller de la OCDE⁹ sobre vacunas recombinantes vivas;
- las deliberaciones del Codex Alimentarius sobre la salubridad de los alimentos derivados de la biotecnología y las vacunas de ADN.

Asimismo, fueron identificadas como cuestiones dignas de consideración el análisis de riesgos y su impacto sobre el medio ambiente y la diversidad biológica y cuestiones horizontales, tales como el bienestar animal, la percepción pública y la ética.

El proyecto de términos de referencia fue ratificado, con una sola corrección en el cuarto párrafo, que consistió en añadir “y desarrollo” después de la referencia a la investigación.

2. Resolución No. XXVIII: debate para definir las áreas prioritarias y elaborar un programa de trabajo

Se comentó la resolución, partiendo del principio de que no sería enmendada.

El grupo llegó a la conclusión de que la “investigación” que se menciona como prioridad en la Resolución XXVIII y en los términos de referencia debe ser entendida como investigación y desarrollo.

La prioridad número 7 (nanociencias/nanotecnología) y la necesidad de empezar a trabajar sobre las nanociencias relacionadas con la sanidad animal, fue objeto de un debate circunstanciado. El grupo identificó la necesidad de definir la nanociencia y la nanotecnología dentro del contexto de la sanidad animal. Se habló de la nanotecnología en la ISO¹⁰ y de las actividades de I+D sobre nanotecnologías en diferentes países, como Canadá y Francia. El grupo recibió varios documentos de información sobre las nanotecnologías^{11,12}.

⁵ VICH: Cooperación internacional para la armonización de los requisitos técnicos del registro de medicamentos veterinarios

⁶ IETS: Sociedad internacional de transferencia de embriones

⁷ EMEA: Organismo europeo de evaluación de productos medicinales

⁸ OIEA: Organización Internacional para la Energía Atómica

⁹ OCDE: Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico

¹⁰ ISO: Organización Internacional de Normalización

¹¹ Colvin V.L. (2003). The potential environmental impact of engineered nanomaterials. *Nature Biotechnology*, **21**, 1166–1170.

¹² Hoet P.H.M., Brüske-Hohlfeld I. & Salata O. (2004). Nanoparticles – known and unknown health risks. *J. Nanobiotechnology*, **2**, 12.

El grupo recomendó que fuese convocado un seminario sobre la nanotecnología, para conocer el estado de la cuestión, en cooperación con otras organizaciones interesadas, como la FAO¹³, la OMS¹⁴, la OIEA y, en particular, tres organismos de normalización: la OIE, el Codex Alimentarius y la CIPF¹⁵.

Se observó que la Resolución no menciona específicamente la salubridad de los alimentos para animales derivados de la biotecnología o de la “biotecnología moderna”, ni habla explícitamente de otros animales más que los de abasto.

Se tomó nota del trabajo de la FAO y la CIPF sobre los insectos MG como agentes plaguicidas, así como del análisis de riesgos de dichos insectos como plaga.

3. Informe sobre la Consulta de expertos de la FAO sobre “Biosafety within a Biosecurity Framework”: temas derivados de esta consulta que podría tratar este grupo *ad hoc*

La Dra. Anne MacKenzie presentó el documento en el que relata su participación en la consulta de la FAO sobre “Biosafety within a Biosecurity”¹⁶ framework” (Roma, Italia, 28 de febrero a 3 de marzo de 2006).

Destacó tres áreas en las que los participantes en la consulta opinaron que la OIE podría actuar como líder de actividades, ya que están relacionadas con la sanidad animal, en lo relativo al establecimiento de normas, directrices y recomendaciones:

1. Animales transgénicos y clonados (inclusive peces e insectos)
2. Vacunas LMO para animales
3. Inocuidad de los alimentos MG

Además del contenido del informe, fueron transmitidos al grupo los siguientes temas:

- La necesidad de cooperación y coordinación interorganismos en este contexto, como se indica en el párrafo 309 del documento de información comunicado a los participantes en la consulta de la FAO y a los miembros del grupo *ad hoc*.
- Llamamiento a la OIE, y necesidad para ella, de tratar la sanidad animal en el contexto de la evaluación del impacto ecológico, en particular porque está relacionada con los ecosistemas integrados, y la evaluación del impacto de las nuevas biotecnologías sobre el estado sanitario de los animales, en la naturaleza y como parte de ecosistemas. Esta área tiene relación con el desarrollo de métodos para restringir o administrar el flujo genético.
- La oportunidad de establecer un vínculo entre la aplicación del instrumento internacional vinculante del Protocolo de Cartagena sobre Bioseguridad y las medidas correspondientes que han sido aprobadas, y los conocimientos técnicos y el trabajo de la OIE en su relación con la sanidad animal o las vacunas vivas en el contexto de la bioseguridad.
- El trabajo en curso para desarrollar marcos nacionales de bioseguridad en más de 120 países, principalmente bajo los auspicios de los ministerios de medio ambiente y la financiación internacional para aplicar los acuerdos ambientales, pero con falta de conocimientos apropiados en materia de sanidad animal, y la necesidad de que la OIE contribuya a orientar dicho trabajo en curso.

Refiriéndose específicamente a estos dos últimos puntos, el grupo observó que los animales MG y las vacunas vivas derivadas de la “biotecnología moderna” son incumbencia de los marcos de bioseguridad que están desarrollando numerosos países, entran dentro del campo de aplicación del protocolo sobre bioseguridad y serán pronto tratados con el programa de trabajo correspondiente.

¹³ FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación

¹⁴ OMS: Organización Mundial de la Salud

¹⁵ CIPF: Convención internacional de protección fitosanitaria

¹⁶ El término “*Biosecurity*” (bioseguridad) alude aquí a la definición de la FAO para la alimentación y la agricultura que se dio en la consulta técnica de la FAO sobre gestión de riesgos biológicos en la alimentación y la agricultura (Bangkok, enero de 2003).

El grupo convino en la necesidad de tratar también lo relativo a las evaluaciones ambientales y a la ecología, ya que están relacionadas con la sanidad animal, por ejemplo, en el caso de las vacunas vivas o los animales transgénicos. Asimismo, fueron mencionados otros temas, como los insectos transgénicos o los peces, ya que estos últimos son uno de los asuntos importantes de que se ocupará en el futuro el grupo *ad hoc*.

Se tomó nota de la cuestión de evaluar la inocuidad de la vacunación y las vacunas para los animales salvajes (medicina conservadora). A este respecto, el grupo concluyó que habrá que recomendar que se tome en cuenta la eficacia, y no sólo la inocuidad, para la fauna salvaje.

4. Futuros trabajos del grupo *ad hoc* encargado de la biotecnología, distribución de tareas entre los subgrupos

Con arreglo a sus términos de referencia, el grupo decidió crear tres subgrupos:

Subgrupos

1 : Biotecnologías para la reproducción de animales (animales clonados y transgénicos, tanto terrestres y como acuáticos)

2 : Vacunas

3 : Nanotecnología

Miembros

Lino Baranao
Wendelyn Jones
Bruce Whitelaw
Michel Thibier
Harpreet Kochhar

Yiseok Joo
Lorne Babiuk
Oscar Burrone
Hiroshi Yoshikura
Sandor Belak
Paul-Pierre Pastoret
Cyril Gay
Anne MacKenzie

Anne MacKenzie
Michel Thibier
Harpreet Kochhar

El grupo decidió pasar por alto de momento los xenotrasplantes porque no se consideró que fuese una prioridad y tampoco es urgente.

Cometidos de los subgrupos 1 y 2

El grupo encomendó las siguientes tareas a los subgrupos 1 y 2: identificar parámetros para el análisis de riesgo (evaluación de riesgos, gestión de riesgos, información sobre los riesgos), así como el análisis riesgos-beneficios, para las siguientes áreas:

1. Sanidad animal;
2. Protección del medio ambiente;
3. Inocuidad de los alimentos para humanos y animales dentro del contexto del mandato de la OIE y habida cuenta de su especificidad.

Las consecuencias para el comercio y las cuestiones horizontales (por ejemplo, bienestar animal, percepción pública, cuestiones éticas) también fueron definidas como cometidos de ambos subgrupos.

Deliberando sobre la necesidad de contar con una guía para tratar las cuestiones éticas racionalmente (con método científico) se llegó a identificar los trabajos y las publicaciones interesantes al respecto^{17, 18}.

¹⁷ Kaiser M. (2005). Assessing ethics and animal welfare in animal biotechnology for farm production. *Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz.*, **24**, 75–85.

¹⁸ FAO/OMS (2003). Inocuidad de los alimentos derivados de animales y peces modificados genéticamente. Informe de la consulta de expertos FAO/OMS. FAO, Roma, Italia, 17–21 de noviembre de 2003, p. 22.

Se tomó nota de la cuestión del análisis de costes/beneficios, entendiéndose que el análisis de riesgos se aplica en un contexto global, lo que incluye los riesgos de no utilizar una tecnología o un producto. Se decidió incluir el análisis riesgos/beneficios en el análisis de riesgos.

El grupo *ad hoc* encargado de la biotecnología se dividió para celebrar dos sesiones paralelas en la tarde del segundo día, para acabar de definir los términos de actuación de los dos subgrupos: biotecnologías para la reproducción de animales y vacunas.

Subgrupo 1: Biotecnologías para la reproducción de animales (animales clonados y transgénicos, tanto terrestres y como acuáticos)

El grupo deliberó sobre el mandato de este subgrupo. Se destacó la colaboración de IETS con la OIE y se señaló que, así como la inseminación, la FIV¹⁹ y el trasplante de embriones son temas que ya están cubiertos, en lo que respecta a la producción de embriones *in vitro* hay trabajo en curso y sobre los animales clonados y transgénicos es necesario trabajar más.

En cuanto a la salubridad de los alimentos para humanos y animales, se habló de los vínculos con el trabajo del Codex Alimentarius relativo a la salubridad de los alimentos derivados de la biotecnología, así como con los trabajos de la OCDE sobre la salubridad de los alimentos MG para animales.

En cuanto a la referencia a “trasplante de núcleos celulares somáticos”, se indicó que las “células madre”, incluidas las derivadas de embriones, no serían cubiertas.

Los temas horizontales, como el bienestar animal y la percepción pública, se tomarán en cuenta.

Por lo que se refiere a las tecnologías reproductivas (clonación, transgénesis y otros tipos de tecnologías nuevas) y el comercio, se debatió sobre el trabajo de IETS. Al hablar de la dimensión comercial se decidió cubrir también el comercio con embriones, con animales y con las crías (y los productos derivados de animales).

Por último, se observó que las nuevas tecnologías, como la genómica, la utilización de marcadores para la selección, etc. deberán ser objeto del mandato del subgrupo 1.

Las recomendaciones del grupo *ad hoc* para desarrollar directrices biotecnológicas especializadas en biotecnologías para la reproducción de animales fueron aprobadas y figuran en el Anexo III.

Subgrupo 2: Vacunas

En cuanto al trabajo sobre vacunas vivas y atenuadas, el grupo decidió que deberá incluir los temas siguientes:

1. Medio ambiente; cuántas y qué especies salvajes serán sometidas a pruebas como especies no específicas;
2. Empleo de la medicina conservadora (seguridad y eficacia);
3. Cómo aplicar la regla de las tres R²⁰.

En cuanto a la evaluación de la inocuidad de las vacunas y la necesidad de emplear pruebas adecuadas, se recomendó aplicar la regla de las tres R.

Al subgrupo de vacunas se le confió también el tema de la medicina conservadora, así como el aspecto de seguridad ambiental del análisis de riesgos. El grupo, además, se ocupará de determinar cómo orientar para aplicar de modo apropiado la regla de las tres R.

Las recomendaciones del grupo *ad hoc* para desarrollar directrices biotecnológicas especializadas en vacunas fueron aprobadas y figuran en el Anexo IV.

¹⁹ FIV: fecundación *in vitro*

²⁰ Regla RRR: reemplazar, reducir, refinar. Asociación internacional de productos biológicos (IABs) (2002). *Advancing Science and Elimination of the Use of Laboratory Animals for Development and Control of Vaccines and Hormones*, Brown F., Hendricksen C., Sesardic D. & Cussler K., eds. *Developments in Biologicals*, vol. 111, Karger, Basel, Switzerland.

Subgrupo 3: Nanotecnología

Para este subgrupo, al que se le encargó la preparación de un seminario sobre nanotecnología para recabar informaciones, se decidió que trabajaría sobre las posibilidades de las nanotecnologías y las nanociencias para la sanidad y el bienestar animales. Se podría organizar un seminario con la FAO, la OIEA, la OMS, el Codex Alimentarius y CIPF. Se consideró que no se dispone todavía de informaciones suficientes para hacer una recomendación y que, por lo tanto, el propósito del seminario consistiría en obtener y evaluar la información existente que, posteriormente, daría lugar a propuestas y recomendaciones relativas al futuro trabajo sobre nanotecnologías en los siguientes organismos internacionales: la OIE, el Codex Alimentarius y la CIPF. El seminario se dedicaría principalmente a:

1. Aplicación de las nanotecnologías a los alimentos, los animales y las plantas (qué habría que resolver);
2. La necesidad de desarrollar normas y la evaluación de riesgos (cómo debe tratarse);
3. Plan de actuación (quién lo hará).

5. Proyecto de capítulo del *Manual Terrestre sobre Principios de la producción de vacunas veterinarias*

El proyecto de texto fue revisado y, en su caso, enmendado. Además de los comentarios específicos sobre el texto, se enunciaron las siguientes recomendaciones:

1. Las directrices abordarán también los principios de seguridad y eficacia de las cepas madre.
2. La OIE estudiará si la definición de “biotecnología moderna” que ofrece el Protocolo de Cartagena y adoptó el Codex Alimentarius, es apropiada y hasta qué punto se puede aplicar. El grupo *ad hoc* encargado de biotecnología concluyó que esta definición no comprende totalmente a las vacunas recombinantes. El texto literal del Protocolo de Cartagena no corresponde a la definición de vacuna recombinante: “*Técnicas in vitro de ácido nucleico, incluidos el ácido desoxirribonucleico (ADN) recombinante y la inyección directa de ácido nucleico en células u orgánulos, o...*”.
3. Cuando sea posible, se utilizarán los datos de los registros vacunales para valorar la eficacia de las vacunas.
4. Se tomará en cuenta la estabilidad genética de la vacuna atenuada.
5. La sección sobre “Clasificación de las vacunas derivadas de biotecnologías” será modificada y las vacunas de ADN de la Categoría III a la I.
6. La Comisión de Normas Biológicas considerará la adopción de directrices para analizar los riesgos de las vacunas recombinantes vivas²¹.
7. Se recomienda aplicar la regla de las tres R (reemplazar, reducir, refinar).
8. El grupo *ad hoc* necesitará más tiempo para hablar de la oportunidad de abordar en las directrices de la OIE la manipulación, el envasado, el transporte y la identificación (etiquetado) de vacunas veterinarias con organismos vivos modificados objeto de movimientos transfronterizos contemplados en el Protocolo de Cartagena (artículo 18), o de cómo deberían ser abordados en otros acuerdos, bilaterales o multilaterales, apoyados por la OIE.

6. Simposio sobre genómica animal

El grupo discutió el propósito y objetivos del Simposio sobre genómica animal previsto para octubre de 2007. Los conocimientos adquiridos gracias a los estudios e iniciativas sobre salud humana y modelos de genoma animal brindan nuevas oportunidades en el ámbito de la sanidad animal y la lucha contra las enfermedades, así como de la selección con marcadores. El principal propósito del simposio consiste en reunir a la comunidad de expertos en enfermedades con la de expertos en genoma para que consideren cómo la nueva genómica puede

²¹ Gay C.G. (1994). A Risk Analysis Model for Experimental Veterinary Vaccines. *Biotechnology*, **11**, 826–827; Gay C.G. (1997). Risk Analysis for Veterinary Biologics. *In: Veterinary Vaccinology*, Pastoret P.-P., Blancou J., Vannier P. & Verschuereen C., eds. Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam, The Netherlands, 718–725; Roth H.J., & Gay C.G. (1997). Specific Safety Requirements for Products Derived from Biotechnology. *In: Veterinary Vaccinology*, Pastoret P.-P., Blancou J., Vannier P. & Verschuereen C., eds. Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam, The Netherlands, 226–239.

servir para estudiar las enfermedades animales. También será ocasión de identificar y consolidar oportunidades de financiar la investigación en esta nueva área y de fomentar la colaboración internacional. Será muy importante poder incorporar la genómica de los patógenos con las respuestas del hospedador a nivel molecular.

El grupo aprobó el programa propuesto para el simposio, que figura en el Anexo V.

El grupo *ad hoc* formuló además las siguientes recomendaciones:

- El simposio debería ser de carácter científico.
- Podría identificarse a miembros adicionales para el comité director, que podrían realizar contribuciones sustanciales.
- El comité científico no debería tener más de ~15 miembros.
- La FAO, la OMS, etc. deberían ser informadas por la oficina central de la OIE.
- Habría que preparar folletos para dar a conocer el simposio.

El grupo será informado de los avances en la organización del simposio.

7. Informe del grupo de trabajo de la OIE sobre la seguridad sanitaria de los alimentos: cuestiones a considerar por el grupo *ad hoc*

El grupo *ad hoc* discutió las recomendaciones relevantes del grupo de trabajo permanente sobre la seguridad sanitaria de los alimentos derivados de la producción animal:

- a) El grupo *ad hoc* encargado de biotecnología discutió sobre la pertinencia de la definición de “biotecnología” y “biotecnología moderna” a efectos de la sanidad animal. Se informó a los miembros del resultado de discusiones similares en el contexto de la reciente consulta de la FAO “*Biosafety within a Biosecurity framework*”. Este asunto se dejó para ser tratado más adelante en el grupo.
- b) La recomendación del grupo de trabajo sobre seguridad sanitaria de los alimentos para separar el tema de “criterios para evaluar el estado sanitario de los embriones y los animales de abasto” del de “desarrollar directrices para excluir a animales no autorizados” también se dejó para el subgrupo 1 (biotecnologías para la reproducción animal).
- c) El grupo *ad hoc* está de acuerdo con la recomendación del grupo de trabajo y señala que ya había aceptado ocuparse de cuestiones horizontales similares por medio de los grupos de trabajo sobre “biotecnologías para la reproducción animal” y “vacunas”.
- d) El grupo *ad hoc* está de acuerdo con esta recomendación del grupo de trabajo y señala especialmente las palabras del director general de la OIE cuando se refiere al mandato de la OIE en lo relativo a la seguridad sanitaria de los alimentos y sus límites respecto al del Codex Alimentarius.
- e) El grupo *ad hoc* aceptó ocuparse de los aspectos éticos de la biotecnología moderna y recomienda que la OIE los considere en su relación con la sanidad y el bienestar animal. Pero para ello, el grupo *ad hoc* necesitaría contar con más expertos en la materia.

8. Recomendaciones para el programa de trabajo del grupo

- En su próxima reunión, el grupo empezará definiendo el alcance y la definición de la biotecnología, en relación con el mandato de la OIE. Los miembros del grupo enviarán sus contribuciones a la OIE antes de la reunión.

Anexo IV (cont.)

- Se propone integrar un seminario sobre nanotecnología al programa de trabajo del grupo. El fundamento de esta propuesta será comunicado a la Comisión de Normas Biológicas.
- Se prepararán directrices para la biotecnología destinada a la reproducción animal que serán objeto de debate en la próxima reunión. Un primer texto, elaborado por dos miembros del grupo, será enviado a todos los demás, a más tardar un mes antes de la próxima reunión.
- Una de las prioridades definidas por el grupo consiste en revisar los textos de la OIE sobre las vacunas para animales, dentro del contexto de las recomendaciones hechas por el grupo *ad hoc*. Los miembros del grupo recibirán un proyecto de propuesta un mes antes de la próxima reunión.
- La próxima reunión del grupo *ad hoc* se celebrará los días 30 y 31 de octubre de 2006.

.../Anexos

Anexo I al informe del grupo *ad hoc* encargado de la biotecnología

REUNIÓN DEL GRUPO *AD HOC* DE LA OIE ENCARGADO DE LA BIOTECNOLOGÍA
Sede de la OIE, París, Francia, 3–5 de abril de 2006

Temario

1. Proyecto de términos de referencia
 2. Resolución No. XXVIII: debate para definir las áreas prioritarias y elaborar un programa de trabajo
 3. Informe sobre la Consulta de expertos de la FAO sobre “Biosafety within a Biosecurity Framework”: temas derivados de esta consulta que podría tratar este grupo *ad hoc*
 4. Futuros trabajos del grupo *ad hoc* encargado de la biotecnología, distribución de tareas entre los subgrupos
 5. Proyecto de capítulo del Manual Terrestre sobre Principios de la producción de vacunas veterinarias
 6. Simposio sobre genómica animal
 7. Informe del grupo de trabajo de la OIE sobre la seguridad sanitaria de los alimentos: cuestiones a considerar por el grupo *ad hoc*
 8. Recomendaciones para el programa de trabajo del grupo
-

Anexo II al informe del grupo *ad hoc* encargado de la biotecnología**REUNIÓN DEL GRUPO AD HOC DE LA OIE ENCARGADO DE LA BIOTECNOLOGÍA****Sede de la OIE, París, Francia, 3–5 de abril de 2006****Lista de participantes****MIEMBROS****Prof. Paul-Pierre Pastoret**

(presidente)
7, rue de la Clissure, B-4130 Fontin
(Esneux)
BELGICA
Tel.: (32-4) 380.30.59
Tel. móvil: (32-496) 95.02.87
Fax: (32-4) 35.51.14.47
E-mail: paul-pierre.pastoret@skynet.be
paul-pierre.pastoret@scarlet.be

Dr. Bruce Whitelaw

Roslin Institute, Division of Gene Function
and Development, Midlothian EH25 9PS,
Scotland
REINO UNIDO
Tel.: (44-131) 527.42.00
Fax: (44-131) 440.04.34
E-mail: bruce.whitelaw@bbsrc.ac.uk

Dr. Lorne A. Babiuk

Director & CEO, Vaccine & Infectious
Disease Organization, 120 Veterinary
Road, Saskatoon, Saskatchewan S7N 5E3
CANADA
Tel.: (1-306) 966.74.75
Fax: (1-306) 966.74.78
E-mail: lorne.babiuk@usask.ca

Dr. Yiseok Joo

Director of Foreign Animal Disease
Division, National Veterinary Research
and Quarantine Service (NVRQS)
Ministry of Agriculture and Forestry
(MAF), 480 Anyang-6-dong
Anyang, # 430-824
REPÚBLICA DE COREA
Tel.: (82-31) 467-1855
Fax (82-31) 449-5882
E-mail: jooys@nvrqs.go.kr

Dr. Lino Baranao

Presidente de la Agencia Nacional de
Promoción Científica y Tecnológica
Av. Córdoba 831, 1º piso, Buenos Aires
ARGENTINA
Tel: (54.11) 43.11.96.50
Fax: (54.1) 43.11.96.50
E-mail: lbaranao@agencia.secyt.gov.ar

Prof. Michel Thibier

Directeur général de l'Enseignement et de la
recherche, Ministère de l'agriculture, de
l'alimentation, de la pêche et des affaires
rurales, 1 ter avenue de Lowendal, 75700
Paris 07 SP
FRANCIA
Tel.: 33 (1) 49.55.42.40
Fax: 33(1) 49.55.46.36
E-mail: michel.thibier@diplomatie.gouv.fr

Dra. Anne MacKenzie

Canadian Food Inspection Agency
59 Camelot Drive, Ottawa,
Ontario K1A 0Y9
CANADA
Tel.: (1-613) 221.70.84
Fax: (1-613) 221.70.10
E-mail: amackenzie@inspection.gc.ca

Dr. Cyril Gerard Gay

National Program Leader, USDA, 5601
Sunnyside Avenue, Beltsville, MD 20705
ESTADOS UNIDOS
Tel.: (1-301) 504.47.86
Fax: (1-301) 504.54.67
E-mail: cgg@ars.usda.gov

Dr. Hiroshi Yoshikura

Chairman, Codex Ad Hoc Intergovernmental
Task Force on Food Derived from
Biotechnology, Food Safety Division,
Ministry of Health Labour and Welfare, 1-2-2
Kasumigaseki Chiyoda-ku, Tokyo 100-8916
JAPÓN
Tel: (81-3) 35.95.21.42/52.53.11.11
Fax: (81-3) 35.03.79.65
E-mail: yoshikura-hiroshi@mhlw.go.jp

Dr. Wendelyn Jones

USDA/APHIS/BRS, International
Biotechnology Policy, 4700 River Road, Unit
146, Riverdale, MD 20737
ESTADOS UNIDOS
Tel.: (1-301) 734.56.89
Fax: (1-301) 734.31.35
E-mail: wendelyn.r.jones@aphis.usda.gov

Prof. Sándor Belak

National Veterinary Institute,
751 89 Uppsala
SUECIA
Tel.: (46-18) 67.41.35
Fax: (46-18) 67.46.69
E-mail: sandor.belak@sva.se

Dr. Harpreet Kochhar

Canadian Food Inspection Agency
Animal Biotechnology Unit
VBS, AHPD 59 Camelot Dr.
Ottawa. K1A 0Y9,
CANADA
Tel.: (1-613) 225-2342 ext. 7568
Fax: (1-613) 228-6612
E-mail: hkochhar@inspection.gc.ca

Dr. Julian B. Jafftha (ausente)

Senior Manager, Genetic Resources
Manager, Department of
Agriculture, 0001 Pretoria
SURÁFRICA
Tel.: (27-12) 319.60.24
Fax: (27-12) 319.63.29
E-mail: smgrm@nda.agric.za

Dr. Oscar Burrone

Head of the Molecular Immunology
Laboratory, International Centre for
Genetic Engineering and
Biotechnology (ICGEB),
Padriciano 99, 34012 Trieste
ITALIA
Tel: (39-040) 375.73.14
Fax: (39-040).22.65.55
E-mail: burrone@icgeb.org

OTRO PARTICIPANTE

Dr. Eric Schoonejans

83 Boulevard Auguste Blanqui
75013 Paris
FRANCIA
Tel.: 06 22 39 95 66
E-mail: ericschoonejans@yahoo.fr ;
eric.schoonejans@paris.inra.fr

OFICINA CENTRAL DE LA OIE

Dr. Bernard Vallat

Director General
12 rue de Prony, 75017 Paris
FRANCIA
Tel: 33 - (0)1 44 15 18 88
Fax: 33 - (0)1 42 67 09 87
E-mail: oie@oie.int

Dr. Gideon Bruckner

jefe del departamento Científico y
Técnico
E-mail: g.bruckner@oie.int

Dra. Elisabeth Erlacher-Vindel

jefa adjunta del departamento Científico y
Técnico
E-mail: e.erlacher-vindel@oie.int

Sara Linnane

redactora científica
departamento Científico y Técnico
E-mail: s.linnane@oie.int

Anexo III al informe del grupo *ad hoc* encargado de biotecnología

Recomendaciones del grupo *Ad hoc* para desarrollar directrices especiales para la biotecnología para la reproducción de animales

1. Habida cuenta de las limitaciones que impone la definición actual de “biotecnología moderna”, ya que incluye a los animales transgénicos, pero no a los clonados, la definición de “Biotecnologías para la reproducción animal” que se propone es la siguiente: “generación de animales mediante el uso de tecnologías de reproducción asistida que suponen recurrir a apareamientos no naturales”.
2. El análisis de riesgo puede aplicar las categorías del ciclo vital:
 - a) embriones
 - b) portadora
 - c) prole
 - d) progenie del clon animal

Estas cuatro entidades formarán la base para considerar los clones y transgénicos (cuando proceda). Además, para cada entidad serán evaluadas por separado las cuestiones relativas a la sanidad animal, el medio ambiente, la alimentación, el comercio y las cuestiones horizontales.
3. Riesgos de sanidad animal asociados con:
 - a) Los embriones: la selección de las células del donante es crucial para la clonación. Por consiguiente, se desarrollarán directrices para dicha selección, de tal modo que el riesgo sea mínimo cuando se trasplanten;
 - b) Portadora: actualmente se sabe que debe efectuarse un seguimiento sanitario activo de la portadora durante toda la gestación y el período de posparto. Un grupo de IETS³⁸ ha empezado un trabajo sobre este tema en distintas especies de mamíferos que facilitará la tarea de desarrollar directrices para el subgrupo;
 - c) Prole: los clones animales deben ser objeto de un seguimiento sanitario activo hasta que alcancen la pubertad. De ser necesario, se prestará una atención veterinaria adicional durante la etapa posnatal;
 - d) Progenie: hasta ahora no han sido observados ni notificados problemas sanitarios en la progenie de los clones animales.
4. Es necesario investigar sobre la selección de las células, las portadoras, la prole, la progenie, etc. en lo relativo a la sanidad y bienestar animal.
5. Se seguirá debatiendo sobre otros temas, como, por ejemplo, el medio ambiente, la alimentación de los animales, el comercio y las cuestiones de carácter horizontal, en las reuniones siguientes y se formularán recomendaciones.

³⁸ IETS: Sociedad internacional de transferencia de embriones (*International Embryo Transfer Society*)

Anexo IV al informe del grupo *ad hoc* encargado de la biotecnología**Recomendaciones del grupo *ad hoc*
para desarrollar directrices biotecnológicas especializadas en vacunas**

El grupo consideró las nuevas herramientas disponibles para mejorar la eficacia y la seguridad de las vacunas, así como la manera en que las vacunas podrían mejorar la sanidad animal y evitar que las enfermedades animales se transmitan a los humanos. Estas tecnologías podrían evitar en muchos casos que se tenga que recurrir a sacrificar y desechar animales sanos. Son progresos que también pueden tener ventajas para el seguimiento del avance y la erradicación de enfermedades en un país, al tiempo que presentan una buena relación riesgo/beneficios. Por último, empleando mejores tecnologías, debería ser posible reducir el número de animales, por ejemplo, pruebas iniciales de vacunas, estudios de interferencia y pruebas de potencia (regla RRR: reemplazar, reducir y refinar³⁹). Como ya existen numerosas normativas para autorizar y supervisar las vacunas veterinarias que han sido aceptadas por la comunidad internacional, tampoco es necesario modificarlas todas. El grupo reconoce, asimismo, que las vacunas derivadas de la biotecnología son potencialmente más seguras que las convencionales, por lo tanto, la legislación actual parece ser adecuada para desarrollar, regular y realizar el seguimiento post-comercial de los dos tipos.

Al preparar las directrices, habrá que tomar en cuenta:

1. Las directrices para evaluar las vacunas vivas, obtenidas del modo que sea, deberán ser congruentes.
2. Deberán ser identificados mecanismos para efectuar el análisis coste/beneficios. Así se alentaría a los países a utilizar las vacunas derivadas de la biotecnología, cuando resulte apropiado.
3. Al desarrollar las directrices para todas las vacunas, se recurrirá a la patogenómica, la epidemiología, la vacunología inversa y la inmunología. A largo plazo, resultará más económico y completará la aplicación de la regla RRR.
4. Debería considerarse el desarrollo de diagnósticos acompañantes que posibiliten la diferenciación entre los animales vacunados y los animales que pueden estar infectados, lo que reduciría la necesidad de sacrificar y desechar animales sanos.
5. Los veterinarios oficiales del mundo entero deberán ser alentados a tomar medidas que puedan reducir rápidamente el número de casos y la transmisión de enfermedades de las cabañas ganaderas nacionales, por medio de las vacunas derivadas de la biotecnología.
6. Debería reconocerse la importancia de la fauna salvaje como fuente infecciosa del ganado y viceversa, ya que ambos son fuente de enfermedades humanas, por lo tanto, es importante desarrollar vacunas en esta área crítica.
7. Debería fomentarse el uso de las directrices⁴⁰ existentes para la importación de vacunas, con el fin de llegar a la armonización.
8. El uso de las nuevas tecnologías para aumentar la vida útil de las vacunas y evitar el uso de sistemas de refrigeración en los países tropicales debería ser considerado.
9. Las ventajas de las vacunas derivadas de la biotecnología respecto a las convencionales deberían ser consideradas ya que pueden ser más seguras, más eficaces, proporcionar un producto más uniforme y permitir que se controle la estabilidad.
10. El uso de métodos modernos de detección e identificación vírica, como el secuenciado, para identificar las cepas víricas en todos los tipos de vacunas víricas, debería ser alentado.
11. La cooperación de VICH con la OIE y otras organizaciones internacionales relevantes debería ser alentada para agilizar la armonización internacional en el área de la biología veterinaria, especialmente en el área de las vacunas derivadas de la biotecnología.

³⁹ Regla RRR: reemplazar, reducir, refinar. Asociación internacional de productos biológicos (IABs) (2002). *Advancing Science and Elimination of the Use of Laboratory Animals for Development and Control of Vaccines and Hormones*, Brown F., Hendricksen C., Sesardic D. & Cussler K., eds. *Developments in Biologicals*, vol. 111, Karger, Basel, Switzerland.

⁴⁰ Roth H.J., Gay C.G. & Espeseth D.A. (1994). *Models used in the U.S.A in risk assessments for biologicals or related products*. World Organisation for Animal Health (OIE). *First International Symposium on Risk Assessment for Veterinary Biologicals: The Next Step in International Harmonization*. Washington D.C

**Simposio de genómica animal para la sanidad animal
octubre de 2007, sede de la OIE, París, Francia**

Proyecto de programa

Comité director: OIE, ARS-USDA, INRA, BBSRC, IABs, otros por determinar

Instituciones colaboradoras: OIE, FAO, OMS, BBSRC, IABs, ARS-USDA, EADGENE, (por contactar: OIEA, CBD, CGIAR-ILRI, etc.)

Financiadores: por determinar

Objetivo del simposio: identificar las principales necesidades y oportunidades para hacer progresar el uso de la genómica animal con el fin de resolver problemas sanitarios animales.

Tema del primer día – ¿De qué manera será la genómica animal una revolución para la investigación sobre sanidad animal?

1^{er} día – Mañana

8:00 a.m. **Bienvenida**
Dr. Vallat

1^a parte

Objetivo 1 – ¿Qué ha logrado el genoma humano?

La primera parte de la mañana estará dedicada a lo que se ha logrado con el genoma humano. ¿Cuáles son las herramientas genómicas más importantes que han sido desarrolladas (como Hapmap)? ¿Cuáles son sus aplicaciones a la salud humana? ¿Cuáles de los resultados obtenidos eran esperados y cuáles no?

Conferenciante

El genoma humano – Resultados e impacto sobre la investigación biomédica

Grandes adelantos en lo que sabemos de las enfermedades humanas: dos ponencias

Objetivo 2 – Breve presentación sobre la situación actual de los genomas animales. ¿De qué instrumentos disponemos ahora (tutoriales)? ¿De qué manera están integrados estos instrumentos en los programas de investigación?

El comité científico seleccionará a los conferenciantes y los temas.

- *Secuencia y anotación del genoma*
- *Hapmaps y otros marcadores genéticos*
- *Transcriptómica; por ejemplo, ESTs para arrays*
- *Proteómica*
- *Consortios de genómica animal*
- *Especies: aves de corral, ganado vacuno, porcino y ovino, acuicultura, perros, caballos*

1^{er} día – tarde

Objetivo 3 – ¿Cómo podemos utilizar las herramientas genómicas para que avancen los programas de investigación sobre sanidad animal (tutoriales)?

El comité científico seleccionará a los conferenciantes y los temas.

- Desarrollo de fenotipos para identificar la genética que afecta a la salud
Utilizar la genética y la genómica para identificar genes que afectan a la salud
- Análisis de datos de expresión del gen/Genómica funcional/Interacción hospedador-patógeno
- Genómica animal comparada para impulsar la investigación biomédica sobre la salud humana y animal
- Aplicaciones al diagnóstico, las vacunas y el descubrimiento de medicamentos
- Genómica animal para mantener la biodiversidad
- Genómica animal para entender el comportamiento animal y mejorar el bienestar de los animales

Tema del segundo día – Reforzar la utilidad del enfoque de genómica animal.

Objetivo 4 – Ejemplos de proyectos de investigación que recurren a la genómica animal para entender las enfermedades de los animales, la susceptibilidad a las enfermedades y las características sanitarias deseables

El comité científico seleccionará a los conferenciantes y los temas.

Objetivo 5 – Ejemplos de proyectos de investigación que recurren a la genómica animal para descubrir nuevas herramientas destinadas a prevenir las enfermedades animales y luchar contra ellas

El comité científico seleccionará a los conferenciantes y los temas.

Tema del tercer día – ¿Cuáles son las áreas de investigación prioritarias y qué se debe hacer para que la genómica animal pueda mejorar la sanidad animal?

Objetivo 6 – ¿Cuáles son las principales necesidades y aplicaciones futuras para la sanidad animal?

- Comprender la influencia de la genética de poblaciones sobre la epidemiología
- Comprender las variaciones del sistema inmunitario en su relación con la resistencia y susceptibilidad a las enfermedades
- Comprender los determinantes genéticos y biológicos que influyen en la resistencia y susceptibilidad a las enfermedades
- Utilización de la genómica para inventar vacunas, selección de respondedores (Vaccinogenetics)
- Utilización de la genómica para desarrollar diagnósticos
- Desarrollo de medicamentos/farmacogenética
- ¿Necesitamos instrumentos adicionales: transcriptomas de más tejidos?
- Bioinformática
- Selección asistida con marcadores /selección de genoma/Selección de robustez
- Transgénica para resolver problemas agrarios

Objetivo 7 - Conclusiones y recomendaciones

**INFORME DELGRUPO AD HOC DE LA OIE
ENCARGADO DE REVISAR LAS DIRECTRICES DE LA OIE
PARA ESTÁNDARES DE REFERENCIA INTERNACIONAL
PARA ENSAYOS CON ANTICUERPOS**

Septiembre de 2006

1. Introducción

La Organización Mundial para la Sanidad Animal (OIE) ha elaborado directrices para la preparación de sueros estándar de referencia que se utilizan en pruebas de serodiagnóstico de las enfermedades animales. Dichas directrices están publicadas en un folleto titulado “*Norma de calidad y directrices de la OIE para los laboratorios veterinarios: enfermedades infecciosas*”. Como tanto la sangre como los productos sanguíneos pueden vehicular agentes patógenos, las directrices de la OIE recomiendan que sean tratados por radiación gamma para inactivar los principales agentes patógenos potenciales. Ahora bien, está cada vez más claro que la radiación gamma altera el comportamiento del suero en algunas pruebas serológicas, como la de fijación del complemento. Por lo tanto, la Comisión de Normas Biológicas de la OIE consideró que las directrices debían ser revisadas para tomar en cuenta los inconvenientes de la radiación gamma si se utiliza para la inactivación de los agentes patógenos al preparar sueros estándar de la OIE. El director general de la organización invitó a cuatro expertos a formar un grupo *ad hoc* encargado de revisar las directrices. Los miembros del grupo estuvieron en contacto por vía electrónica (en el [Anexo I](#) figura la lista de miembros). Se les envió el texto de las directrices, así como un documento sobre el mismo tema que el Dr. Adama Diallo, de FAO/OIEA en Austria (Centro colaborador de la OIE), había elaborado para la reunión de la Comisión en enero de 2006. El presente informe resume las deliberaciones electrónicas del grupo.

2. Título de las directrices

Ya que solamente tratan sobre el suero, y no sobre antígenos, el grupo consideró que el título apropiado sería “Directrices de la OIE para anticuerpos estándar de referencia internacional para ensayos con anticuerpos” en lugar de “Directrices de la OIE para estándares de referencia internacionales para ensayos con anticuerpos”.

3. Tratamiento del suero para inactivar los agentes adventicios

Se han mencionado tres técnicas:

a) *Inactivación térmica*

Se recomienda la inactivación térmica a 56°C durante 30 minutos cuando el riesgo de infección se considera bajo. En general, el tratamiento térmico debe efectuarse a 65°C durante 20 minutos o a 56°C durante 2 horas.

b) *Radiación gamma*

Para las muestras húmedas, la OIE recomienda actualmente una dosis de rayos gamma de 25–30 kilogray (kGy), pero la radiación debe ser aplicada a –78°C para preservar las características del suero tratado. No es una dosis suficiente si la muestra ha sido liofilizada antes de ser irradiada, en ese caso, se requiere una dosis superior a 40 kGy para eliminar el virus de la fiebre aftosa. Asimismo, se ha observado en algunos casos que la liofilización del suero después de irradiarlo afecta a su actividad biológica (por ejemplo, sueros contra el virus de la enfermedad de Newcastle o influenza aviar).

c) *Tratamiento por BEI (bromoetilenimina)*

La bromoetilenimina es un reactivo químico que resulta muy eficaz para inactivar los virus de la fiebre aftosa, la enfermedad vesicular porcina y la estomatitis vesicular. Actualmente es la mejor alternativa a los rayos gamma. En el Anexo II figura el protocolo que se sigue en el *Institute for Animal Health*, en el Reino Unido.

4. Prueba de inocuidad

Las muestras de suero que han sido sometidas a un tratamiento de inactivación de los patógenos potenciales deberían pasar pruebas de inocuidad apropiadas. En el Anexo II figura un ejemplo de protocolo para comprobar la presencia de virus vivo de la fiebre aftosa o de estomatitis vesicular.

5. Almacenamiento

El párrafo 4.2 de las Directrices de la OIE para los estándares de referencia internacional para las pruebas de detección de anticuerpos recomienda que el suero resultante sea liofilizado en viales sellados y no obturados con tapón de caucho. Otra opción consiste en guardar los reactivos desecados y no congelados en crioprobetas a –80°C, lo que presenta las siguientes ventajas:

- a) Se evita cometer errores al reconstituir el estándar, por ejemplo, volumen erróneo de diluyente, diluyente erróneo, pérdida de la materia seca al destapar la probeta, reconstitución incompleta antes de utilizar el estándar, etc.
- b) Los cierres de las crioprobetas son seguros y no es fácil romperlas aunque no se traten con cuidado o se caigan al suelo.
- c) Con crioprobetas se aprovecha eficientemente el espacio de almacenamiento estándar a máx. –80°C.
- d) Existen etiquetas criogénicas para poder marcar bien las probetas.

El principal inconveniente que tiene esta opción es que no es ideal para expedir las muestras: cabe la posibilidad de que se descongelen y no hay garantías de calidad.

6. Conclusiones

Como conclusión, el grupo sugiere las siguientes modificaciones:

- a) Cambiar el título por ‘*OIE Guidelines for International Reference Antibody Standards for Antibody Assays*’ (Directrices de la OIE para los anticuerpos estándar de referencia internacional para las pruebas de detección de anticuerpos). La OIE podría plantearse desarrollar otras directrices para la preparación de antígenos de referencia.
- b) Incluir tanto la radiación gamma como el tratamiento por BEI como métodos recomendados para inactivar los agentes adventicios en los sueros de referencia.
- c) Indicar claramente que deben efectuarse pruebas de inocuidad con muestras de los sueros de referencia.

Partiendo de estas sugerencias, las Directrices fueron revisadas y corregidas (cf versión corregida en el Anexo III).

Anexo I al informe del grupo *ad hoc* encargado de revisar las directrices de la OIE

GRUPO AD HOC DE LA OIE ENCARGADO DE REVISAR LAS DIRECTRICES PARA ESTÁNDARES DE REFERENCIA INTERNACIONAL PARA ENSAYOS CON ANTICUERPOS

Septiembre de 2006

Lista de los miembros del grupo

Dr. Adama Diallo

(presidente)

Head, Animal Production Unit
FAO/IAEA Agriculture &
Biotechnology Laboratory
Agency's Laboratories
Wagramer Strasse 5, P.O. Box 100, A-
1400 Viena
AUSTRIA
Tel: (+43-1) 2600 28355;
Fax: (+43-1) 2600 28222
E-mail: adama.diallo@iaea.org

Dr. Peter J. Cairns

National Co-ordinator, Safety and
Biosecurity, National Aquatic Animal
Health, Laboratory System, Science
Branch, Department of Fisheries and
Oceans
CANADA
Tel: (1-506) 851.21.55
Fax: (1-506)
E-mail: CairnsP@DFO-MPO.GC.CA

Peter Le Blanc Smith

Biocontainment Microbiologist, CSIRO
Livestock Industries, Australian
Animal Health Laboratory (AAHL),
Private Bag 24, Geelong Victoria 3220
AUSTRALIA
Tel: (61-3) 52.27.54.51
Fax: (61-3) 52.27.55.55
E-mail: Peter.LeBlancSmith@csiro.au

Dr. Nigel Ferris

Institute for Animal Health,
Pirbright Laboratory, Pirbright, Surrey,
GU 24 0NF
REINO UNIDO
Tel.: (44-1483) 23.11.09
Fax: (44-1483) 23.74.48
E-mail: nigel.ferris@bbsrc.ac.uk

PROTOCOLO PARA INACTIVAR EL SUERO CON BEI

1. Procedimiento

- i) Preparar 0.1 M de BEI (bromoetilenimina) pesando primero 0.205 g de 2-Bromoetilamina hidrobromida (BEA) y vertiéndola después en un vaso bajo una campana extractora que cumpla las normas ISO de inocuidad.
- ii) Agregar 10 ml de 0.2 M de hidróxido de sodio para disolver la BEA.
- iii) Poner el vaso al baño maría o en incubadora a 35–39°C durante 1 hora para obtener BEI.
- iv) En una campana de flujo regular, pasar cuidadosamente el suero que se va a inactivar a un frasco con tapa de rosca (por ejemplo, un frasco estéril de plástico de 1 litro con tapa) que contenga una barra magnética estéril y evitese contaminar el borde del frasco, donde al poner la tapa, se impide que la BEI entre en contacto con el suero.
- v) Agregar 10 ml de BEI por cada 1000 ml de suero (se obtendrá una concentración final de BEI de 0,001 M). Desechar las boquillas y las pipetas que hayan estado en contacto con la BEI sumergiéndolos en una disolución al 1% de ácido sulfúrico para inactivar la contaminación de BEI.
- vi) Asegurarse de que el frasco está bien tapado y darle la vuelta varias veces para mezclar bien el suero con la disolución BEI.
- vii) Mantener el preparado a 35–39°C durante 24 horas en incubadora o sala caliente (o al baño maría). Asegurarse de que todo el suero está en contacto con la BEI revolviendo con la vara magnética por medio de un agitador magnético. Periódicamente, invertir el recipiente para mezclar el suero con la disolución BEI en el transcurso del día. Medir la temperatura con frecuencia apropiada e indicarla en un registro.
- viii) Al cabo de 24 horas, neutralizar la BEI restante en la disolución de suero agregando una concentración al 10% de una disolución al 20% de tiosulfato de sodio (hasta alcanzar una concentración final al 2%).

NOTA:

Es facultativo añadir tiosulfato de sodio en esta fase. No es una operación esencial, pero puede ser necesaria si el proceso de inactivación forma parte de un acuerdo contractual para preparar material inactivado por cuenta de un tercero y, por lo tanto, figura por escrito en un protocolo.

Sino, se puede obviar esta fase, ya que se considera que es imposible que una sustancia química BEI se mantenga intacta tras 24 horas a temperaturas comprendidas entre 35 y 39°C.

2. Prueba de inocuidad

- i) Colectar el número de probetas requerido (o matraces, por ejemplo de 25 cm²) con monocapas confluentes de células primarias de tiroides de ternera (para el virus de la fiebre aftosa), células IB-RS-2 (para la enfermedad vesicular porcina) o células BHK-21 (para la estomatitis vesicular), de tal modo que se pueda comprobar en parte (por ejemplo, el 5%) del suero “inactivado” si quedan virus vivos (infecciosos).
- ii) Lavar las monocapas celulares vertiendo el medio en un vaso de precipitado (con técnica aséptica) y añadiendo un volumen apropiado de solución salina de fosfato tamponada (PBS) (2 ml/probeta, 5–10 ml por matraz). Verter la PBS en el matraz.
- iii) Agregar 0.2 ml (200 µl) del suero inactivado en cada probeta (o 1 ml del suero inactivado por matraz de

25 cm²).

- iv) Incubar los cultivos celulares en posición estacionaria a 35–39°C (con la monocapa celular boca abajo) durante 1 hora en una sala caliente o incubadora.
- v) Al cabo de 1 hora de incubación, volver a llevar los cultivos a la campana de flujo regular y verter el suero en una disolución desinfectante en el hervidor y lavar las probetas con 2 ml de PBS (o 10 ml por matraz de 25 cm²) y desechar los medios. Repetir este lavado con PBS dos veces más y después añadir 2 o 15 ml de medio de cultivo celular completo por probeta o matraz.
- vi) Incubar las probetas (rodando) o los matraces (estacionarios) a 35–39°C durante 3 días, observando cada día al microscopio en la monocapa celular un eventual efecto citopático (ECP). Registrar los resultados diarios en una ficha.
- vii) La presencia de ECP puede indicar que los virus se replican, pero habrá que confirmarlo mediante una prueba adecuada de detección de antígeno (como ELISA antígeno) en una alícuota de fluido sobrenadante clarificado del cultivo celular colectado cuando el ECP haya avanzado lo suficiente.
- viii) Si, al cabo de 3 días, no hay indicaciones de ECP, congelar las probetas a –30 a –5°C o a –90 a –50°C.
- ix) Descongelar las probetas o matraces y trasladar su contenido a un recipiente estéril y clarificar por centrifugado a aproximadamente 2000 *g* (por ejemplo, 4,500 rpm en centrifugadora de banco) durante 10 minutos. Pasar el sobrenadante a un recipiente limpio y almacenar a 1–8°C hasta que se necesite.
- x) Colectar cultivos nuevos y repetir las **etapas 1 a 6**, pero en esta ocasión, inocular un volumen mayor del sobrenadante almacenado obtenido en el primer pase, es decir, 1 ml por probeta o 5 ml por matraz, que el utilizado en el primer pase, descrito en la **etapa 3**.
- xi) Controlar los cultivos celulares como antes durante los tres días siguientes y tomar nota del resultado en una ficha. Si no se observa ECP pasados tres días, las probetas serán congeladas y el sobrenadante recolectado después de descongelarlas de modo similar al que se describe en las **etapas 8 y 9**. El sobrenadante será entonces analizado con una prueba de detección adecuada. Si los resultados son negativos, se considerará que el suero es inactivo.
- xii) El suero inactivo podrá ser almacenado en un congelador a –30 to –5°C en recipientes etiquetados o a granel.

REFERENCIA

BAHNEMANN H.G. (1975). Bromine ethyleneimine as an inactivant for foot and mouth disease virus and its application for vaccine production. *Arch. Virol.*, **47**, 47–56.

DIRECTRICES DE LA OIE PARA LOS **ANTICUERPOS** ESTÁNDAR DE REFERENCIA INTERNACIONAL PARA PRUEBAS DE ANTICUERPOS

1. Introducción

1.1. Propósito

Este documento recoge las directrices para la preparación, validación y distribución de **anticuerpos** Estándar de Referencia Internacional para las pruebas de detección de anticuerpos de las enfermedades infecciosas de los animales. **En el texto de las presentes directrices, el término “estándares” se refiere a los anticuerpos, a no ser que se indique otra cosa.** Estos estándares son designados por la OIE como estándares de referencia primarios para ser usados junto con las pruebas descritas en el *Manual de Pruebas de Diagnóstico y Vacunas para los Animales Terrestres* de la OIE.

1.2. Definiciones

1.2.1. Protocolo de prueba estándar

Se trata de un procedimiento validado e internacionalmente aceptado, suele ser una “Prueba prescrita por la OIE para el comercio internacional”, descrita en el *Manual de Pruebas de Diagnóstico y Vacunas para los Animales Terrestres* de la OIE.

1.2.2. Estándar de referencia internacional

El término "estándar de referencia internacional" es sinónimo de estándar de referencia primario. Representa el estándar de referencia respecto del cual se comparan y calibran todos los demás.

1.2.3. Estándares secundarios y de trabajo

Los estándares secundarios se preparan comparándolos directamente con el estándar de referencia internacional y, en la medida de lo posible, tendrán las características del estándar primario si van a ser utilizados para el protocolo de prueba estándar. En principio, el estándar secundario será preparado por un laboratorio nacional de referencia y será designado como estándar nacional o local.

Los estándares de trabajo pueden ser estándares secundarios o estándares terciarios calibrados respecto al secundario. Los estándares de trabajo estarán disponibles en cantidad suficiente para que los laboratorios de diagnóstico puedan usarlos a fin de normalizar las pruebas cotidianas rutinarias.

1.3. Campo de aplicación

Los estándares de referencia internacional son necesarios para asegurarse de que una prueba determinada puede medir la actividad de los anticuerpos con un nivel específico de sensibilidad de diagnóstico. La sensibilidad de diagnóstico está relacionada con el riesgo de que la prueba dé una falsa reacción negativa cuando, en realidad, el animal está, o ha estado, infectado. Los estándares de referencia internacional suelen ser utilizados por los laboratorios internacionales, nacionales o de referencia para calibrar las pruebas estándar como plantillas para obtener estándares secundarios. El estándar secundario o de trabajo será el que se utilice diariamente para normalizar las pruebas, no el estándar internacional.

Para un número limitado de enfermedades, se ha convenido internacionalmente en un sistema de “unidades internacionales” de actividad de anticuerpos y los estándares de referencia internacional definen, para ellas, la escala de unidad. Para la gran mayoría de las enfermedades animales no existe tal sistema y las pruebas, normas de trabajo y muestras se definen en base a los estándares de referencia internacional.

1.4. Procedimiento

Para la mayoría de las pruebas, habrá que establecer tres estándares primarios de referencia: un positivo fuerte, un positivo débil y uno negativo. Serán seleccionados y caracterizados por un laboratorio de referencia designado que utilice un protocolo de prueba estándar internacionalmente aceptado y reactivos internacionalmente aceptados.

El estándar positivo débil es fundamental para garantizar la sensibilidad de diagnóstico de la prueba. Para las pruebas no cuantitativas (como las de inmunodifusión) puede ser el único estándar positivo requerido.

Para las pruebas cuantitativas, sin titulación, como el ELISA indirecto, el estándar positivo fuerte definirá un nivel arbitrario de positividad al 100%. Se asignará entonces a los estándares negativo y positivo débil un porcentaje proporcional de positividad que corresponda a su reactividad al ser sometidos al protocolo estándar.

2. Selección del material que se utilizará como estándar

2.1. Tipo de material

La mayoría de los estándares de referencia internacional serán preparados a partir de suero sanguíneo, que estará libre de hemólisis y de lipemia excesiva. Los antisueros, de ser posible, serán obtenidos en animales libres de patógenos específicos o gnotobióticos de una especie apropiada para la prueba que se va a normalizar. Otro tipo de material, como la leche desnatada o los anticuerpos monoclonales, podrá ser utilizado si resulta apropiado para la prueba en cuestión.

2.2. Inocuidad

Los estándares de referencia se prepararán de tal modo que no contengan materia infecciosa. Para facilitar el transporte de un país a otro, se recomienda que los estándares que estén húmedos sean tratados con BEI (bromoetilenimina) o irradiados a 25–30 kilogray (2.5–3.0 Mrad) al tiempo que las muestras se mantienen a –78°C. No se recomienda irradiar muestras liofilizadas, ya que la dosis recomendada puede no bastar para obtener una inactivación completa del agente patógeno. Después del tratamiento, las muestras pasarán pruebas de inocuidad apropiadas para verificar que están libres de agentes vivos detectables. Los sueros de bovino provendrán de una fuente libre de EEB.

2.3. Estándares de referencia positivos

Los estándares de referencia positivos se seleccionarán a partir de animales que presenten una respuesta inmune humoral (o sea, de anticuerpos) típica al organismo en cuestión. Los animales hiperinmunes no son considerados como típicos y deberán ser evitados. La respuesta inmune puede ser inducida por infección experimental o con vacuna. Se medirá la respuesta del animal de acuerdo con el protocolo de prueba estándar para decidir en qué momento se procede a coleccionar el material tras la inmunización. Todo dependerá de la naturaleza de la enfermedad y de la prueba. Habrá que facilitar todos los detalles sobre los plazos de inmunización y la naturaleza del inmunogen para que los estándares secundarios puedan ser preparados con métodos equivalentes. Los estándares estarán libres de todo anticuerpo a organismos que podrían provocar una reacción cruzada en la prueba estándar o se facilitará la información relativa a esa reacción cruzada. El estándar podrá derivar de un solo animal o de muestras agregadas de distintos animales. Excepcionalmente, los animales infectados naturalmente podrán ser utilizados como fuente del estándar cuando no sea posible efectuar una inmunización o infección controlada.

2.4. Estándares de referencia negativos

Los estándares de referencia negativos se seleccionarán a partir de animales que nunca hayan estado expuestos al organismo en cuestión o vacunados contra él. Estarán libres de todo anticuerpo a organismos que podrían provocar una reacción cruzada en la prueba estándar. El estándar negativo podrá derivar de un solo suero o de varios sueros agregados.

3. Características de los estándares de referencia internacional

3.1. Estándar positivo fuerte de referencia

Para pruebas tales como la fijación del complemento, la neutralización vírica o ELISA indirecto, que demuestran curvas sigmoideas típicas de dosis/respuesta, el estándar positivo fuerte presentará una actividad de anticuerpos que se encuentre en la porción lineal de la curva justo antes de la fase de meseta. En otras pruebas, contendrá anticuerpos suficientes para producir la reacción máxima que corresponda a los límites seleccionados para la prueba, por ejemplo, una línea clara de corte de identidad en una prueba por inmunodifusión o un 100% de inhibición en un ELISA de competencia o inhibición.

3.2. Estándar positivo débil de referencia

El estándar positivo débil presentará una actividad de anticuerpos que se encuentre también en la porción lineal de la curva justo después del umbral positivo/negativo. La reacción obtenida nunca será equívoca. En otras pruebas, el estándar de referencia positivo débil contendrá anticuerpos suficientes para producir de modo congruente la reacción detectable mínima, por ejemplo, una línea de identidad débil pero inequívoca en una prueba por inmunodifusión. Para las pruebas de competencia o inhibición que frecuentemente muestran una transición abrupta de positivo a negativo, la selección del estándar positivo débil puede ser especialmente difícil. Se aplican los mismos principios: el estándar debe dar una respuesta positiva congruente, justo por encima del umbral positivo/negativo, con el protocolo de prueba estándar.

3.3. Estándar negativo de referencia

Este dará siempre una reacción por debajo del umbral positivo/negativo con el protocolo de prueba estándar. La reacción obtenida nunca será equívoca.

4. Preparación de los estándares de referencia

4.1. Constitución de los estándares

Siempre que sea posible, los estándares de referencia positivos se prepararán con materiales que presenten el nivel de reactividad deseado sin tener que diluir más. Pero en muchos casos puede ser necesario que el laboratorio de referencia realice una disolución una sola vez de un suero positivo en un suero negativo para alcanzar el nivel de reactividad que se indica en (3). En tales casos, el estándar de referencia positivo débil puede derivarse del mismo stock de suero positivo que el estándar de referencia positivo fuerte.

Un estándar de referencia internacional no requerirá que el laboratorio destinatario efectúe manipulaciones especiales (como la predisolución) antes de usarlo para la prueba en cuestión. El estándar será puesto a prueba como cualquier muestra de campo, en condiciones de diagnóstico rutinario (lo que incluye las fases de dilución que forman parte normalmente del procedimiento). Así se evitan errores o sesgos debidos a una manipulación o preparación especiales. Por consiguiente, la actividad de anticuerpos en un estándar de referencia positivo corresponderá a los límites de detección exactos de la prueba de diagnóstico.

4.2. Estabilidad y almacenamiento

Todos los materiales serán congelados o refrigerados en espera de la evaluación. Se evitará repetir los ciclos de congelación y descongelado. Para asegurar la estabilidad, se recomienda que el estándar final, después de que la muestra haya sido tratada para inactivar los agentes adventicios, sea liofilizado y lo mejor sería proporcionar el diluyente estéril para reconstituir el material junto con el estándar liofilizado. Es preferible recurrir a viales sellados, y no con tapa de goma, para el almacenamiento a largo plazo. Los stocks liofilizados se guardarán a 4°C, aunque no les perjudique pasar un poco de tiempo a temperatura ambiente (por ejemplo, durante el transporte). El proceso de liofilizado puede alterar la calidad biológica de los sueros, por lo que se recomienda como alternativa que se guarden en crioprobetas a -78°C.

Después del liofilizado, se reconstituirán y reevaluarán varios frascos de suero estándar. No deberá poder ser observado signo alguno de reacciones cruzadas a los anticuerpos o cualquier otro factor no específico que interfiera con la interpretación de los resultados de la prueba. Si existe una posibilidad de reacción cruzada con agentes estrechamente relacionados, esta información deberá ser indicada.

4.3. Control de los lotes

El material de referencia original empezará como stock único que será suficiente para durar al menos 5 años. Puede mantenerse congelado (preferentemente a -70°C como máximo) y puede ser liofilizado un lote suficiente para 2 años (unas 500 pruebas). Se asignará a cada lote, congelado o liofilizado, una referencia y se llevará un registro completo de los datos de control de la calidad de cada lote.

Cada lote liofilizado será calibrado de nuevo. Cada frasco o vial contendrá 0.5–1 ml.

4.4. Etiquetado

En la etiqueta figurará como mínimo la siguiente información: logotipo de la OIE; estándar de referencia internacional de la OIE para (enfermedad) (prueba); especificar si se trata de positivo fuerte, positivo débil o negativo; nombre del laboratorio de referencia; método de reconstitución y condiciones de almacenamiento. Si no hay sitio suficiente en la etiqueta para que figuren todos estos datos, se podrá recurrir al uso de abreviaturas y algunos deberán figurar en la ficha de datos, no en la etiqueta.

4.5. Fichas de datos

Los laboratorios de referencia de la OIE que elaboren sueros estándar de referencia internacional se cerciorarán de que todas las alícuotas van acompañadas por una ficha de datos apropiada. Se dejará claro a los laboratorios solicitantes que lo que está previsto es que los estándares de referencia internacional sean utilizados para que calibren su propia prueba y para promover la armonización internacional.

Para que un laboratorio de diagnóstico prepare un estándar de referencia secundario para su propio uso, será necesario que el laboratorio de referencia de la OIE le facilite los datos específicos para la selección o preparación de los estándares de referencia primarios. Sobre todo si éstos han sido preparados por dilución de positivos fuertes o hiperinmunes en sueros negativos.

4.5.1. Datos requeridos

En la ficha figurarán todas las informaciones especificadas para la etiqueta (cf 4.4). Además, podrán figurar las informaciones siguientes, para facilitar la selección o preparación de los estándares secundarios que, en la medida de lo posible, serán una copia exacta de los primarios.

- i) Descripción del animal donante del suero positivo y negativo que indique la especie, la edad, el estatus reproductivo y el origen (producción natural, libre de patógenos específicos, gnotobiótico, etc.).
- ii) Naturaleza de la respuesta de anticuerpos: a la infección natural, infección experimental, inmunización.
- iii) Detalles del organismo utilizado para inducir la respuesta inmune: fuente, cepa, serotipo, etc.
- iv) Detalles de la infección experimental o los protocolos de inmunización: ruta, dosis, calendario de inmunización, método y momento de la recolección de la muestra, etc.
- v) Pruebas de referencia empleadas para seleccionar los sueros candidatos positivos y negativos de referencia y para caracterizar la respuesta de anticuerpos: ELISA, inmunodifusión en gel de agar, neutralización del virus, etc.
- vi) Muestra de perfiles de titulación de sueros hiperinmunes y criterios de selección de diluciones apropiadas con actividad definida.
- vii) Presencia de anticuerpos heterólogos, si se conocen, y pruebas usadas para la detección.
- viii) Detalles de las pruebas de inocuidad que se hayan realizado con los materiales.
- ix) Declaración según la cual el estándar se destina únicamente a ser utilizado *in vitro*.

- x) Descripción de los métodos de esterilización que mencione el tipo de irradiación y dosis y el estado de la muestra en el momento de la esterilización (líquida, congelada, liofilizada, etc.).
- xi) Número de lote y fecha de producción.
- xii) Reconstitución recomendada (tipo de fluido reconstituyente y volumen), condiciones de manipulación y almacenamiento.
- xiii) Dirección completa, número de fax y dirección electrónica del laboratorio de referencia para obtener más informaciones.

5. Aprobación por la OIE de los estándares de referencia

Ningún estándar de referencia internacional podrá llevar el nombre de la OIE si no ha sido ratificado por la Comisión de Normas de la OIE con la autorización del Comité Internacional de la OIE.

Todos los datos técnicos y estadísticos relativos a la evaluación de los estándares de referencia candidatos, junto con todos los datos para la ficha que se especifican anteriormente, serán sometidos a la OIE. La Comisión de Normas de la OIE estudiará la información. Si la Comisión de Normas da su aprobación, el estándar de referencia será incorporado a la lista de estándares de referencia internacional disponibles. Esta lista será comunicada a los Países Miembros de la OIE que la soliciten y también podrá ser consultada en las ciberpáginas de la OIE (<http://www.oie.int>).

6. Referencias

BAHNEMANN H.G. (1975). Bromine ethyleneimine as an inactivant for foot and mouth disease virus and its application for vaccine production. *Arch. Virol.*, **47**, 47–56.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (2002). Guidelines on viral inactivation and removal procedures intended to assure the viral safety of human blood plasma products. WHO Expert Committee on Biological Standardization. WHO, Geneva, Switzerland.

WRIGHT P.F. (1998). International standards for test methods and reference sera for diagnostic tests or antibody detection. *In: Veterinary Laboratories for Infectious Diseases*, Pearson J.E., ed. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, **17** (2), 527–533.

© **Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), 2006**

El presente documento fue preparado por especialistas a solicitud de la OIE. Excepto en el caso de su adopción por el Comité Internacional de la OIE, lo expresado refleja únicamente las opiniones de dichos especialistas. Este documento no podrá ser reproducido, bajo ninguna forma, sin la autorización previa y por escrito de la OIE.

Todas las publicaciones de la OIE (Organización mundial de sanidad animal) están protegidas por un Copyright internacional. Extractos pueden copiarse, reproducirse, adaptarse o publicarse en publicaciones periódicas, documentos, libros o medios electrónicos, y en cualquier otro medio destinado al público, con intención informativa, didáctica o comercial, siempre y cuando se obtenga previamente una autorización escrita por parte de la OIE.

Las designaciones y nombres utilizados y la presentación de los datos que figuran en esta publicación no constituyen de ningún modo el reflejo de cualquier opinión por parte de la OIE sobre el estatuto legal de los países, territorios, ciudades o zonas ni de sus autoridades, fronteras o limitaciones territoriales.

La responsabilidad de las opiniones profesadas en los artículos firmados incumbe exclusivamente a sus autores. La mención de empresas particulares o de productos manufacturados, sean o no patentados, no implica de ningún modo que éstos se beneficien del apoyo o de la recomendación de la OIE, en comparación con otros similares que no hayan sido mencionados.