



Organisation  
Mondiale  
de la Santé  
Animale

World  
Organisation  
for Animal  
Health

Organización  
Mundial  
de Sanidad  
Animal

Original: inglés  
Septiembre de 2011

## INFORME DE LA REUNIÓN DE LA COMISIÓN DE NORMAS BIOLÓGICAS DE LA OIE París, 14–16 de septiembre de 2011

La Comisión de Normas Biológicas (en adelante, Comisión de Laboratorios) se reunió en la Sede de la OIE del 14 al 16 de septiembre del 2011. El Dr. Kazuaki Miyagishima, Jefe del Departamento científico y técnico de la OIE, dio la bienvenida a los Miembros de la Comisión: Prof. Vincenzo Caporale, Presidente, Dr. Beverly Schmitt, Vicepresidente, Dr. Mehdi El Harrak, Vicepresidente, y Dr. Hualan Chen, miembro de la Comisión. Los otros dos miembros: Dr. Paul Townsend y Dr. Alejandro Schudel, no pudieron asistir.

El Dr. Miyagishima informó a la Comisión de Laboratorios sobre la versión actualizada de los Textos Fundamentales de la OIE, adoptados por la Asamblea Mundial de Delegados (la Asamblea) en mayo del 2011. Los textos incluían la actualización del Mandato para los Laboratorios de Referencia y Centros Colaboradores de la OIE (en adelante, Centros de Referencia) y para las Comisiones especializadas de la OIE. Próximamente, se implementarán nuevos textos referentes a la confidencialidad y los conflictos de interés. Todos los integrantes de dichas Comisiones, Grupos de trabajo o *ad hoc*, directores y expertos de los Centros de Referencia de la OIE deberán firmar los documentos pertinentes una vez finalizados.

De acuerdo con el mandato actualizado para las cuatro Comisiones Especializadas de la OIE, las nuevas solicitudes para obtener la designación de Centro Colaborador se presentarán a una de las cuatro Comisiones para su aprobación, de acuerdo a la especialidad propuesta y a las competencias de cada Comisión. Esto implica distanciarse del sistema anterior, ya que la Comisión de Laboratorios supervisaba todas las candidaturas (salvo la de los animales acuáticos), incluso cuando las solicitudes requerían asesoramiento de otras Comisiones Especializadas y de sus Grupos de trabajo. La Comisión de Laboratorios se opuso claramente al nuevo sistema y requirió la urgente reconsideración del cambio al Director General y al Consejo. La Comisión de Laboratorios estimó que no quedaba claro quién tenía la responsabilidad completa de los Centros de Referencia, incluso su designación, en el caso de una superposición de competencias, para asegurar el cumplimiento de sus mandatos, así como todas las etapas de seguimiento, administrativas, etc.

El Dr. Bernard Vallat, Director general de la OIE, se sumó al encuentro el día miércoles e informó a la Comisión de Laboratorios que el Consejo se reuniría la semana siguiente y que vería con agrado cualquier propuesta de mejora de los Textos Fundamentales. Además, reiteró que todas las solicitudes de designación como Laboratorio de Referencia (para las enfermedades de los animales terrestres) seguirían siendo responsabilidad de la Comisión de Laboratorios. Subrayó que, en su parecer, no había una gran diferencia entre solicitar la opinión de la Comisión de Laboratorios sobre una candidatura a Centro Colaborador de la OIE en un tema no vinculado con las pruebas de diagnóstico y las vacunas, y buscar el asesoramiento directo de otra Comisión Especializada, dado que, en estos casos, la Comisión de Laboratorios recurría a la asesoría de otra Comisión Especializada. Aceptó transmitir al Consejo las inquietudes de la Comisión<sup>1</sup>.

El Dr. Vallat felicitó a la Comisión de Laboratorios por su trabajo, en particular sobre la calidad de las vacunas que cada día cobra mayor importancia, y por su compromiso a la hora de garantizar que las normas internacionales formen parte integral del *Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres (Manual Terrestre)*, tal y como se especifica en el Acuerdo sobre la aplicación de medidas sanitarias y fitosanitarias de la OMS (Acuerdo MSF).

El temario y la lista de participantes figuran respectivamente en los [Anexos I y II](#).

<sup>1</sup> El Consejo, reunido entre el 20 y el 22 de septiembre de 2011, consideró este tema y reafirmó que las disposiciones de los Textos Fundamentales, revisados en mayo del 2011, eran apropiadas en lo que concernía el mandato de las Comisiones Especializadas.

## 1. Centros de Referencia de la OIE

### 1.1. Candidaturas para la designación como Centros de Referencia de la OIE

Tras la adopción por parte de la Asamblea en mayo de 2011 del nuevo mandato para los Centros Colaboradores de la OIE y, en particular, la exigencia de limitar el mandato de cada Centro a un área específica y definida de competencia, se recibió del Centro Colaborador de la OIE en Teramo, Italia, junto con la documentación pertinente, una solicitud de división en cuatro centros con una especialización en las siguientes áreas: bienestar animal, inocuidad de los alimentos, epidemiología y formación veterinaria. La Comisión de Laboratorios aceptó esta propuesta. De acuerdo con el nuevo procedimiento, la Comisión de Normas Sanitarias para los Animales Terrestres (Comisión del Código) analizará la propuesta en lo que toca el bienestar animal, la inocuidad de los alimentos y la formación veterinaria; por su parte, la Comisión Científica para las Enfermedades de los Animales (Comisión Científica) la estudiará para los aspectos de epidemiología.

La Comisión recomendó la aceptación de las nueve solicitudes siguientes para obtener la designación como Laboratorio de Referencia de la OIE:

#### *Laboratorio de Referencia de la OIE para la enfermedad epizootica hemorrágica*

French Agency for Food, Environmental and Occupational Health and Safety (Anses), Laboratoire de santé animale de Maisons-Alfort, National Reference Laboratory for BT/EHD and AHS Diseases, UMR 1161 Virology, 23 Avenue de Général De Gaulle, 94703 Maisons-Alfort, FRANCIA  
Tel: (+33[0]1) 43.96.72.82; Fax: (+33[0]1) 43.96.73.96; E-mail: s.zientara@vet-alfort.fr; stephan.zientara@anses.fr  
Experto de referencia designado: Dr. Stephan Zientara.

#### *Laboratorio de Referencia de la OIE para el síndrome respiratorio y reproductivo porcino*

Veterinary Diagnostic Laboratory, China Animal Disease Control Center, No. 2 Yuanmingyuan West Road, Haidian District, Beijing, CHINA (República Democrática) 100193  
Tel: (+86-010) 62.89.12.57 / 58; Tel: (+86-010) 62.89.35.07; E-mail: cadzhen@agri.gov.cn  
Experto de referencia designado: Dr. Kegong Tian.

#### *Laboratorio de Referencia de la OIE para la enfermedad de Newcastle*

National Diagnostic Center for Exotic Animal Diseases, China Animal Health and Epidemiology Center, Ministry of agriculture, No. 369Nanjing Road, Qingdao 266032, CHINA (República Democrática)  
Tel: (+86-532) 87.83.91.88; Tel: (+86-532) 87.83.99.22; E-mail: zlwang111@yahoo.com.cn  
Experto de referencia designado: Dr. Zhiliang Wang.

#### *Laboratorio de Referencia de la OIE para la fiebre aftosa*

National Veterinary Services Laboratories, USDA-APHIS-VS, Foreign Animal Disease Diagnostic Laboratory, Plum Island Animal Disease Center, P.O. Box 848, Greenport, NY 11944, ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA  
Tel: (+1-631) 323.32.56; Tel: (+1-631) 323.33.66; E-mail: Consuelo.Carrillo@aphis.usda.gov  
Experto de referencia designado: Dra. Consuelo Carrillo.

#### *Laboratorio de referencia de la OIE para la gripe porcina*

National Reference Laboratory for Animal Influenza, Viral Disease and Epidemiology Research Division, National Institute of Animal Health, National Agriculture and Food Research Organization, Kannondai, Tsukuba, Ibaraki, 305-0856, JAPÓN  
Tel: (+81-29) 838.79.14; Tel: (+81-29) 838.79.14; E-mail: taksaito@affrc.go.jp  
Experto de referencia designado: Dr. Takehiko Saito.

#### *Laboratorio de Referencia de la OIE para la gripe porcina*

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Via Antonio Bianchi No. 9, 25124 Brescia, ITALIA  
Tel: (+39-[0]521) 29.37.33; Fax: (+39-[0]521) 29.35.38  
Email: emanuela.foni@izsler.it  
Experto de referencia designado: Dra. Emanuela Foni.

*Laboratorio de Referencia de la OIE para la leucosis bovina enzoótica*  
Institute of Virology, Centre for Infectious Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Leipzig University, An den Tierkliniken 29, 04103 Leipzig, ALEMANIA  
Tel: (+49-341) 97.38.201; Fax: (+49-341) 97.38.219  
Email: Thomas.vahlenkamp@uni-leipzig.de  
Experto de referencia designado: Prof. Thomas Vahlenkamp.

*Laboratorio de referencia de la OIE para la enfermedad de la caquexia crónica*  
Prion Disease Research Laboratory, Division of Foreign Animal Disease, Animal, Plant and Fisheries Quarantine and Inspection Agency (QIA), 335 Anyang-ro, Manan-gu, Anyang, Gyeonggi, 430-757, COREA (REPÚBLICA DE)  
Tel: (+82-31) 467.18.67; Fax: (+82-31) 467.18.30  
Email: shonhj@korea.kr; shonhjoo@hanmail.net  
Experto de referencia designado: Dr. Hyun-Joo Sohn.

*Laboratorio de referencia de la OIE para la micoplasmosis aviar*  
MYCOLAB (Laboratorio para diagnóstico de micoplasmas), Centro nacional de sanidad Agropecuaria, CENSA, San José de las Lajas, Provincia Mayabeque, CUBA  
Tel: (+53-47) 86.33.14 ext. 153; Fax: (+53-47) 86.38.97  
Email: elobo@censa.edu.cu; evelynlobo68@hotmail.com  
Experto de referencia designado: Dra. Evelin Lobo Riveroi.

Un laboratorio en Europa envió una solicitud para transferir su Laboratorio de Referencia para la paratuberculosis a otra parte del país. A pesar de que el nuevo laboratorio propuesto demuestra un alto grado de capacidad y experiencia, la solicitud no incluía ninguna información sobre sus actividades a nivel internacional. Dado que la función principal de un Laboratorio de Referencia de la OIE es brindar servicios a escala mundial, se pedirá mayor información sobre sus actividades internacionales y su experiencia de acuerdo con el mandato de los Laboratorios de Referencia de la OIE.

En su reunión de febrero de 2011, la Comisión de Laboratorios examinó la solicitud de un laboratorio en Europa para su designación como Laboratorio de Referencia para la fiebre Q y le solicitó ampliar la información sobre sus actividades internacionales. La Comisión analizó la información adicional recibida, pero reiteró su postura expresando que el laboratorio no demostraba el nivel de colaboración internacional ni la pericia que se esperaba de un Laboratorio de Referencia de la OIE. Por lo tanto, se rechazó esta solicitud<sup>2</sup>.

En Europa, un laboratorio que ya había finalizado un proyecto de hermanamiento sobre la influenza aviar y la enfermedad de Newcastle presentó su candidatura como Laboratorio de Referencia. En su última reunión, la Comisión de Laboratorios decidió reunir más información que indicara si el laboratorio estaba en situación de cumplir el mandato de los Laboratorios de Referencia. A partir de la recomendación recibida tras el estudio de los aspectos técnicos de la solicitud, la Comisión estipuló que era prematuro otorgar la categoría de Laboratorio de Referencia de la OIE.

## **1.2 Cambios de expertos en la lista de Laboratorios de Referencia**

La OIE ha sido notificada de los siguientes cambios de expertos en los Laboratorios de Referencia de la OIE. La Comisión recomendó su aceptación.

---

<sup>2</sup> El Consejo, reunido del 20 al 22 de septiembre de 2011, expresó que se deberían alentar las solicitudes de Laboratorios de Referencia para la fiebre Q, ya que no existía ninguno por el momento y que los Estados Miembros necesitaban con urgencia un apoyo internacional experto para tratar esta enfermedad.

### *Influenza aviar*

El Dr. Chakradhar Tosh reemplaza al Dr. Shiv Chandra Dubey en el “Laboratorio de alta seguridad de enfermedades animales”, del Instituto de investigación veterinaria de India. Concejo de investigación agrícola de India, Bhopal, INDIA.

### **1.3. Nuevos mandatos y reglamentos para los Centros de Referencia de la OIE**

La Comisión indicó con satisfacción que los nuevos mandatos y reglamentos para los Centros de Referencia de la OIE recientemente adoptados incluían muchas de las propuestas del Grupo *ad hoc* sobre colaboraciones científicas, sobre todo la exigencia de cumplir con la sostenibilidad del Centro.

### **1.4. Actualización del modelo de informe anual**

Tras la adopción del nuevo mandato y del reglamento interno para los Centros de Referencia, la Comisión de Laboratorios recomendó que se añadiera al informe anual una referencia a la sostenibilidad y que se modificase el apartado sobre la producción y el suministro de reactivos de referencia para obtener respuestas más exactas y útiles.

### **1.5. Revisión de las solicitudes, nuevas y pendientes, para el hermanamiento de laboratorios**

El Dr. Keith Hamilton informó a la Comisión de Laboratorios sobre la situación actual del programa de hermanamiento. La Comisión se mostró satisfecha con el contenido técnico de las siguientes propuestas y aclaró que no se necesitaban mayores explicaciones: Italia con Turquía para el virus del Nilo Occidental; Reino Unido con India para la gripe equina; y Francia con Marruecos para el virus de la peste de pequeños rumiantes. Igualmente, se analizó una propuesta de hermanamiento entre Etiopía y el Reino Unido para la fiebre aftosa y, a pesar de estar satisfecha con el principio de la propuesta, la Comisión de Laboratorios convino en que debería volver a remitírsele en febrero de 2012 con más detalles acerca de las actividades. Asimismo, reiteró que los laboratorios candidatos deberían focalizarse en una solicitud al mismo tiempo.

### **1.6. Actualización de la Guía de hermanamiento**

El Dr. Keith Hamilton informó a la Comisión sobre las mejoras en el documento sobre hermanamiento (“Guía para los proyectos de hermanamiento entre laboratorios”) que reflejan las recomendaciones de las auditorias de los proyectos de hermanamiento y del taller celebrado en París, en marzo de 2011; la Comisión apoyó los cambios introducidos a la Guía.

## **2. Grupos *ad hoc***

### **■ Reuniones pasadas de los Grupos *ad hoc***

#### **2.1. Informe de las tres reuniones del Grupo *ad hoc* sobre la calidad de las vacunas contra la fiebre aftosa (29-31 de marzo de 2011; 8-9 de junio de 2011; 5-6 de septiembre de 2011)**

El Prof. Caporale presentó los informes de las tres reuniones del Grupo *ad hoc*, en las que se sentaron las bases de la información necesaria que debía incluirse y que se aplicaba a la sección sobre las vacunas del actual capítulo relativo a la fiebre aftosa. Se espera que estos puntos básicos puedan utilizarse como modelo para todos los capítulos sobre enfermedades para las que existen vacunas. El Prof. Caporale pidió que la referencia a las estrategias DIVA (detección de la infección en animales vacunados) se suprimiera del texto.

Las consultas posteriores revelaron que el Grupo *ad hoc* no había tenido tiempo suficiente para desarrollar un texto completo referido a las estrategias DIVA. Por lo tanto, se prevé convocar un Grupo *ad hoc* con el fin de redactar un proyecto de texto, ya sea para el capítulo sobre la fiebre aftosa o como un capítulo independiente sobre este tema.

La Comisión aprobó todos los informes; el último de ellos se encuentra en el [Anexo III](#) de este documento. La Comisión decidió hacer circular el capítulo propuesto revisado, para recabar los comentarios de los Países Miembros hasta el 8 de enero de 2012.

## **2.2. Informe de la Reunión del Grupo *ad hoc* sobre la validez de las pruebas de diagnóstico para la fauna silvestre (27-28 de abril de 2011)**

El Dr. François Díaz presentó el informe de la reunión del Grupo *ad hoc*. Resultó de particular interés la propuesta de crear una categoría de pruebas que fueran “aceptadas provisoriamente”, una vez que la validación haya alcanzado el inicio del nivel 2 de las fases de validación. La Comisión aprobó el informe, que figura en el Anexo IV de este documento.

### **■ Grupos *ad hoc* planeados**

## **2.3. Grupo *ad hoc* sobre bioseguridad y biocontención en los laboratorios veterinarios**

La Comisión tomó nota del mandato para esta reunión. El Grupo *ad hoc* se reunió en la Sede de la OIE del 19 al 21 de septiembre del 2011.

### **■ Grupos *ad hoc* propuestos**

## **2.4. Grupo *ad hoc* sobre la fiebre del Valle del Rift (capítulo del *Manual terrestre*)**

La Comisión ha tomado nota de que la sección sobre vacunas del capítulo del *Manual Terrestre* relativo a la fiebre del Valle del Rift necesitaba actualizarse y considera el tema como de máxima prioridad. La reunión de este Grupo *ad hoc* se podría celebrar entre el 6 y el 8 de diciembre de 2011.

## **2.5. Grupo *ad hoc* sobre calidad de las vacunas contra la rabia**

Una vez completado el trabajo del Grupo *ad hoc* sobre la calidad de las vacunas contra la fiebre aftosa (ver punto anterior 2.1.), la próxima enfermedad identificada como prioritaria es la rabia. La reunión de este Grupo *ad hoc* se podría celebrar entre el 10 y el 12 de enero de 2012.

## **2.6. Grupo *ad hoc* sobre la calidad de la vacuna contra la peste porcina clásica**

La peste porcina clásica es la tercera enfermedad prioritaria para la revisión de la calidad de sus vacunas. Pese a que la reunión no podrá celebrarse antes de la próxima reunión de la Comisión de Laboratorios, se esperaba que un Grupo *ad hoc* se reúna después de febrero del 2012.

## **2.7. Grupo *ad hoc* sobre la colaboración científica entre los Centros de Referencia de la OIE: trabajo en red**

Este Grupo ya transmitió sus observaciones a la Comisión de Laboratorios y, a través de ella, al Consejo, lo que condujo, en mayo de 2011, a la adopción del mandato revisado para los Centros de Referencia. La tarea restante de este Grupo *ad hoc* fue evaluar la necesidad y los enfoques de una colaboración científica entre laboratorios (objetivos, resultados esperados e incentivos); proveer directrices para la gestión de tales colaboraciones (liderazgo, reglas sobre los informes y procedimientos, composición y buenas prácticas). La reunión de este Grupo *ad hoc* podría realizarse entre el 17 y el 19 de enero de 2012.

## **2.8. Grupo *ad hoc* sobre cómo incluir la secuenciación genómica en el sistema de información de la OIE**

Se propuso diferir los debates relativos a este tema hasta la próxima reunión de la Comisión de Laboratorios. Mientras tanto, el asunto se discutirá internamente en la OIE, en particular, se solicitará la opinión del Departamento de información sanitaria.

### **3. Normalización y armonización internacionales**

#### **■ Pruebas de diagnóstico**

##### **3.1. Avance de los programas de normalización en curso sobre reactivos (para la armonización de las pruebas de diagnóstico)**

La Comisión reiteró su pedido al Laboratorio de Referencia de la OIE para la rabia de Nancy, Francia (Experto de la OIE: Dra. Florence Cliquet) para que produjera un nuevo y segundo lote de suero para la rabia según las normas de la OIE, usando el protocolo revisado por la Comisión en su última reunión. El lote de suero deberá incluir: uno positivo fuerte, uno positivo débil y uno negativo. Si la producción del débil resultara problemática, se podría solicitar la colaboración de otro Laboratorio de Referencia.

La Comisión revisó y aprobó el informe final y la ficha informativa de un antisuero positivo estándar para *Brucella suis*.

##### **3.2. Nuevos mandatos y reglas: estudio sobre los reactivos producidos**

Ver punto anterior 1.4.

##### **3.3. Pruebas prescritas y pruebas alternativas – actualización de la solicitud de Canadá**

Hace algún tiempo, la Canadian Food Inspection Agency, Ottawa Laboratory, presentó un expediente titulado “Solicitud de certificación para una prueba ELISA de captura de antígenos basada en anticuerpos monoclonales para detectar *Campylobacter fetus* en lavados prepuciales y otras muestras”, que fuese examinado por un experto en validación y por el experto designado por la OIE sobre la enfermedad. Considerando que la prueba se ha desarrollado como un nuevo método y no en forma de kit, se solicitó al experto de la OIE y autor del capítulo del *Manual Terrestre* relativo a la campilobacteriosis genital bovina que considerara su inclusión. El experto manifestó nuevos interrogantes para transmitir a los responsables del desarrollo de esta prueba. La Comisión de Laboratorios revisará el documento en su próxima reunión.

##### **3.4. Registro de pruebas de diagnóstico de la OIE: examen de solicitudes**

El Dr. François Díaz informó a la Comisión de Laboratorios sobre la situación actual de los procedimientos de la OIE de validación y certificación de las pruebas de diagnóstico: solicitudes en espera, número de kits aprobados e inscritos en el registro, etc.

Recordó que el kit de confirmación y tipificación de *Salmonella* spp. había sido aprobado por la Asamblea en la última Sesión General. La Comisión de Laboratorios aprobó un resumen de estudios de validación llevados a cabo para el kit. Dicho resumen, una vez aprobado por el fabricante del kit, estará disponible en la página web de registro de la OIE.

Asimismo, el Sr. Díaz propuso algunas enmiendas al Procedimiento armonizado de trabajo (SOP) para clarificar el proceso, orientar la actualización del procedimiento y armonizarlo con la política de edición vigente de la OIE. La Comisión aprobó los cambios propuestos; el SOP revisado será enviado al Director General de la OIE para su aprobación.

### **4. Manual de pruebas de diagnóstico y vacunas para los animales terrestres**

Para la consideración de este punto del temario, la Comisión se reunió con el redactor del *Manual Terrestre*, el Prof. Steven Edwards.

#### **4.1. Seguimiento de la reunión de intercambio de ideas para la modernización del *Manual Terrestre***

El Dr. Beverly Schmitt informó a la Comisión sobre los debates que tuvieron lugar durante la reunión de intercambio de ideas para la modernización del *Manual Terrestre* (París, 12-13 de septiembre de 2011). Uno de los principales resultados fue reconocer que el *Manual Terrestre* era una publicación normativa entera, por lo tanto, las directrices u otras recomendaciones generales deberán suprimirse del *Manual Terrestre* o situarse al final, en una sección claramente separada. La Comisión aprobó el informe de esta reunión, que incluye una serie de ideas y recomendaciones de cómo mejorar el *Manual Terrestre*. El informe se presenta en el Anexo V y se convino que se necesitaría un debate más profundo del mismo en la próxima reunión de la Comisión. Más que implementar el informe y sus recomendaciones inmediatamente, se usará como guía y sus recomendaciones se instaurarán por etapas.

#### **4.2. Revisión de los capítulos propuestos para adopción en mayo de 2012**

*Capítulos ya enviados: revisión de la primera ronda de comentarios*

En marzo de 2011, se enviaron trece capítulos para comentario de los Países Miembros y el redactor-consultor los modificó en función de los comentarios recibidos. Para los comentarios relativos a temas de política y de principios, el redactor solicitó el consejo de la Comisión de Laboratorios. Una vez analizados todos los comentarios, se marcarán los cambios en los capítulos y se enviarán nuevamente a los Países Miembros, esta vez como textos finales para su aprobación en la próxima reunión de la Comisión.

La Comisión convino en que el glosario del *Manual Terrestre* no requería actualización, ya que no generaba ningún conflicto con el glosario del *Código Terrestre*.

En la reunión de febrero, la Comisión de Laboratorios tomó nota de que se necesitarían ciertos cambios en el capítulo del *Manual Terrestre* sobre la peste bovina, tras la declaración de su erradicación mundial. Los autores del capítulo, quienes participaron en el trabajo del Comité conjunto de la FAO/OIE sobre la erradicación mundial de la peste bovina, conocedores de las modificaciones necesarias, entregaron un capítulo actualizado. El Presidente de la Comisión hubiera deseado recibir directamente de los autores explicaciones sobre algunas de las correcciones propuestas. Por lo tanto, el capítulo se ha puesto en espera hasta la próxima reunión, a la que se invitará a los expertos para tratar este punto del temario.

*Capítulos listos para la primera ronda de comentarios*

La Comisión de Laboratorios señaló que se había actualizado un número reducido de capítulos que pronto estarían listos para una primera difusión a los Países Miembros. Si el calendario lo permite, podrían enviarse a una segunda ronda de comentarios y presentarse para adopción de la Asamblea en mayo de 2012.

#### **4.3. Debate sobre el capítulo de validación y anexos**

Se debatió el proyecto de capítulo sobre los Principios y métodos de validación y certificación de las pruebas de diagnóstico sobre enfermedades infecciosas y los siete anexos referidos a las “mejores prácticas”, recibidos durante la última reunión. Se convino enviar el capítulo y los anexos a los Países Miembros para comentario, con el fin de determinar si los documentos son claros, si pueden mejorarse y de qué modo. Se enviarán a los autores todos los comentarios recibidos, junto con el informe del Grupo *ad hoc* sobre la validación de las pruebas de diagnóstico para la fauna silvestre (ver punto 2.2.) y los comentarios brindados por el Presidente de la Comisión de laboratorios. La respuesta de los autores a los comentarios se analizará en la próxima reunión de la Comisión que decidirá posteriormente si presenta para adopción de la Asamblea el capítulo y los anexos.

La Comisión estipuló que podría resultar útil añadir un párrafo sobre validación interna al capítulo. La Comisión consideró que las inquietudes expresadas por el Delegado de Cuba sobre la complejidad del procedimiento de validación habían sido tratadas en el capítulo, lo que permitía aceptar provisionalmente una prueba como válida al comienzo del nivel 2.

## **5. Seguimiento de la Sesión General**

### **5.1. Actualización de la situación de los dos Centros Colaboradores aprobados en la Sesión General**

La Comisión destacó el extracto del Informe final de la Sesión General explicando la aprobación, por parte de la Asamblea, de dos Centros Colaboradores en la región de las Américas, pese a que sus mandatos ya estaban parcialmente cubiertos por los Centros Colaboradores existentes en la misma región y que su designación debería reconsiderarse según el principio de no designar más de un Centro Colaborador por región y por especialidad y, excepcionalmente, por subregión. El Consejo recomendó y la Asamblea estuvo de acuerdo con que ambos solicitantes buscaran la conformidad con las disposiciones de los Textos Fundamentales revisados. Se solicitó a los Centros remitir los documentos revisados para diciembre de 2011.

## **6. Conferencias, talleres y reuniones**

### **6.1. Tecnologías nuevas y emergentes para un diagnóstico precoz y rápido de enfermedades infecciosas, IAEA, Viena, Austria, del 18 al 20 de mayo de 2011**

El Prof. Caporale informó a la Comisión que había representado a la OIE y a la Comisión en esta reunión.

### **6.2. Perspectivas de un sistema mundial de identificación genómica microbiológica en tiempo real – Implicaciones para la detección y el control nacional y mundial de enfermedades infecciosas, Bruselas, Bélgica, 1-2 de septiembre de 2011**

El Prof. Caporale representó a la OIE y a la Comisión en esta reunión. Expresó la importancia de esta área y recalcó que la OIE debería seguir el desarrollo de la secuenciación genómica. El Prof. Caporale expresó su inquietud acerca del control de los datos de la secuencia: subrayó que se debería alentar a los Laboratorios de Referencia para que efectúen la secuenciación genómica completa y registren los datos resultantes en una base de datos, como es el caso del banco de datos del sistema de información de la OIE (ver punto 2.8).

### **6.3. Conferencia Mundial de la OIE/FAO/OMS sobre el control de la rabia, Incheon-Seúl, Corea, 7-9 de septiembre de 2011**

La Comisión manifestó su satisfacción por el éxito de esta Conferencia. El tema de las vacunas ocupó un lugar central, en particular la creación de una vacuna recombinante genéticamente modificada que protege contra la rabia y que constituye un medio contraceptivo destinado a controlar la población de los perros vagabundos.

### **6.4. Talleres sobre métodos alternativos para las pruebas de vacunas antirrábica humana y veterinaria: situación de la ciencia y planeación futura, Ames, Iowa, 11-13 de octubre de 2011**

El Prof. Caporale informó a la Comisión que representaría a la OIE y a la Comisión en esta reunión<sup>3</sup>.

### **6.5. Vacunas veterinarias, Bruselas, Bélgica, 30 de noviembre - 1 de diciembre de 2011**

El Prof. Caporale representará a la OIE y a la Comisión en esta reunión.

### **6.6. Misión a América del Sur (Ecuador y Brasil) para investigar la compatibilidad de la vacuna**

La Comisión recordó que la FAO había estado supervisando un programa de control y erradicación de fiebre aftosa en Ecuador. Según las recomendaciones de la OIE, se han organizado y llevado a cabo campañas de vacunación, pero los resultados no han sido satisfactorios y continúan los brotes de la enfermedad. En respuesta al efecto aparentemente limitado de las campañas de vacunación, la FAO envió lotes aislados a cuatro laboratorios: tres Laboratorios de Referencia de la OIE y un Centro de Referencia de la FAO. Tres de los cuatro laboratorios observaron que la vacuna no protegía con eficacia contra la cepa que circulaba en la región (cobertura inmunogenética o compatibilidad de la vacuna), y el cuarto no registró tales problemas. Se consideró problemático para la OIE que existiese una diferencia de opinión entre los laboratorios más importantes del mundo, especialmente los laboratorios de Referencia de la OIE.

---

<sup>3</sup> Desde la reunión de la Comisión el Prof. Caporale tuvo que cancelar su participación en este taller.

Por lo tanto, se decidió proveer y publicar una versión *oficial* de la OIE sobre el problema. A dichos efectos, se organizará una misión de expertos a América del Sur (Ecuador) bajo los auspicios de la Comisión de Laboratorios. La misión de los expertos visitará laboratorios y realizará una visita de campo de tres días a los Servicios veterinarios de Ecuador, centrada en la cuestión de la compatibilidad de la vacuna, seguida de dos días de discusiones en Brasil en la sede de la Panaftosa. Se propuso como fecha de la misión el mes de noviembre de 2011, bajo la dirección del Prof. Caporale<sup>4</sup>.

## 6.7. Actualización sobre OFFLU

En su calidad de presidente del Comité directivo, el Prof. Edwards, presentó a la Comisión las actividades de OFFLU, la red de expertos OIE-FAO sobre la gripe animal. Tanto la OIE como la FAO han reafirmado su compromiso de respaldar esta red; y se destacan los vínculos estrechos que mantiene con la OMS. Después de la reunión técnica celebrada el año pasado en Roma, Italia, la OFFLU espera albergar un simposio satélite durante el Simposio internacional sobre la gripe que se celebrará en el Reino Unido en abril de 2012.

## 7. Relación con otras Comisiones

### 7.1. Comisión Científica para las Enfermedades de los Animales

*Actualización desde la última Reunión de la Comisión de Laboratorios:*

Peste equina: El capítulo actualizado del *Código Terrestre* se ha finalizado para su adopción por la Asamblea. Se solicitará a los expertos del Laboratorio de Referencia de la OIE revisar el capítulo del *Manual Terrestre*.

Surra: El capítulo del *Manual Terrestre* circulará pronto para una primera ronda de comentario de los Países Miembros.

Fiebre hemorrágica de Crimea-Congo - necesidad de métodos de diagnóstico: la Comisión de Laboratorios ha identificado a un autor que ha aceptado entregar un capítulo destinado al *Manual Terrestre* para finales de año.

Rabia- sección vacunas: el Grupo *ad hoc* tratará este tema (ver punto 2.5).

Peste porcina clásica – problemas con las vacunas: el Grupo *ad hoc* tratará este tema (ver punto 2.6.).

Peste bovina - directrices para la retención: ver punto 4.2.

Enfermedad epizootica hemorrágica: los expertos del Laboratorio de Referencia sobre la enfermedad de la lengua azul reconocieron la necesidad de un capítulo de *Manual Terrestre* sobre la enfermedad epizootica hemorrágica y propusieron la revisión del proyecto en colaboración con expertos en esta enfermedad.

*Solicitudes para consideración de la Comisión de Laboratorios:*

Informe del Grupo *ad hoc* sobre la peste de los pequeños rumiantes: el Dr. Joseph Domenech presentó el informe de este Grupo e hizo notar que la Comisión no había sido consultada cuando se redactó el mandato. Afirmó que la Comisión participaría en toda reunión futura del Grupo relacionada con diagnósticos y vacunas. Entretanto, la Comisión aceptó el capítulo revisado del *Manual Terrestre*.

Grupo de trabajo sobre las enfermedades de los animales salvajes - necesidad de actualizar el capítulo del *Manual Terrestre* sobre zoonosis transmisibles de primates no humanos: La Comisión de Laboratorios convino en que se trataba de un área altamente especializada que necesitaría ser examinada por un grupo de especialistas en una fecha por determinar.

---

<sup>4</sup> Esta misión se llevó finalmente a cabo a través de una reunión de expertos que tuvo lugar los días 17 y 18 de noviembre en la sede de la OIE, en París

## **7.2. Comisión de Normas Sanitarias para los Animales Terrestres**

La Comisión de Laboratorios solicitó que la Comisión del Código aclarara su pregunta sobre la vacuna contra la enfermedad de Aujeszky.

## **8. Temas de interés para información**

### **8.1. Necesidad de una declaración oficial de la OIE sobre el uso de thiomersal en las vacunas de animales**

Se pedirá a los Centros Colaboradores que tratan con vacunas si poseen y si pueden proveer información sobre la utilización de thiomersal en las vacunas animales y si existen datos de toxicidad.

### **8.2. 19.ª Conferencia de la Comisión Regional de la OIE para África, 14–18 de febrero de 2011. Recomendación tema técnico II: Principales enfermedades de los camélidos y cría de camélidos, restricciones, ventajas y perspectivas**

La primera reunión de una red de expertos de camélidos se celebrará en Teramo, Italia, en octubre de 2011.

### **8.3. Necesidad de actualizar el documento “Norma de calidad y directrices de la OIE para los laboratorios veterinarios”**

Este tema se discutirá en la reunión de febrero de 2012.

### **8.4. Actualización sobre VICH y CAMEVET**

Este tema se discutirá en la reunión de febrero de 2012.

## **9. Otros asuntos**

### **9.1. Programa de trabajo y actividades (a partir de septiembre de 2011)**

Ver Anexo VI.

### **9.2. Fechas de la próxima reunión de la Comisión de Laboratorios**

La Comisión estableció las fechas para su próxima reunión: 7-9 de febrero de 2012.

### **9.3. Otros temas**

Esta reunión se consideró como la primera reunión de una Comisión Especializada de la OIE “sin ningún documento impreso”, ya que toda la documentación se había enviado por correo electrónico a los miembros de la Comisión.

---

.../Anexos

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

## París, 14–16 de septiembre de 2011

---

### Temario

#### 1. Centros de Referencia de la OIE

- 1.1. Candidaturas para la designación como Centros de Referencia de la OIE
- 1.2. Cambios de expertos en la lista de Laboratorios de Referencia de la OIE
- 1.3. Nuevos mandatos y reglamentos para los Centros de Referencia de la OIE
- 1.4. Actualización del modelo del informe anual
- 1.5. Revisión de las solicitudes, nuevas y pendientes, para el hermanamiento de laboratorios
- 1.6. Actualización de la Guía de hermanamiento

#### 2. Grupos *ad hoc*

##### Reuniones pasadas de los Grupos *ad hoc*: informes para adopción

- 2.1. Informe de las tres reuniones del Grupo *ad hoc* sobre la calidad de las vacunas contra la fiebre aftosa (29-31 de marzo de 2011; 8-9 de junio de 2011; 5-6 de septiembre de 2011)
- 2.2. Informe de la Reunión del Grupo *ad hoc* sobre la validez de las pruebas de diagnóstico para la fauna silvestre (27-28 de abril de 2011)

##### Grupos *ad hoc* planeados

- 2.3. Grupo *ad hoc* sobre bioseguridad y biocontención en los laboratorios veterinarios (19–21 de septiembre de 2011)

##### Grupos *ad hoc* propuestos: trabajo prioritario y mandato

- 2.4. Grupo *ad hoc* sobre la fiebre del Valle del Rift (capítulo del *Manual terrestre*)
- 2.5. Grupo *ad hoc* sobre la calidad de las vacunas contra la rabia
- 2.6. Grupo *ad hoc* sobre la calidad de la vacuna contra la peste porcina clásica
- 2.7. Grupo *ad hoc* sobre la colaboración científica entre los Centros de Referencia de la OIE: trabajo en red

#### 3 Normalización y armonización internacionales

##### a) Pruebas de diagnóstico

- 3.1. Avance de los programas de normalización en curso sobre reactivos (para la armonización de las pruebas de diagnóstico)
- 3.2. Nuevos mandatos y reglas: estudio sobre los reactivos producidos
- 3.3. Pruebas prescritas y pruebas alternativas –actualización de la solicitud de Canadá
- 3.4. Registro de pruebas de diagnóstico de la OIE: análisis de solicitudes

#### 4. *Manual de pruebas de diagnóstico y vacunas para los animales terrestres*

- 4.1. Seguimiento de la reunión de intercambio de ideas para la modernización del *Manual Terrestre*
- 4.2. Revisión de los capítulos propuestos para adopción en mayo de 2012  
Capítulos ya enviados: revisión de la primera ronda de comentarios  
Capítulos listos para la primera ronda de comentarios
- 4.3. Debate sobre el capítulo de validación y anexos (incluyendo seguimiento de la carta del Delegado de Cuba ante la OIE [con fecha del 10 de enero de 2011] sobre la validación interna de los métodos de pruebas de diagnóstico en los laboratorios de veterinaria descritos en el *Manual Terrestre*).

## 5. Seguimiento de la Sesión General

- 5.1. Actualización de la situación de los dos Centros Colaboradores aprobados en la Sesión General

## 6. Conferencias, talleres y reuniones

- 6.1. Tecnologías nuevas y emergentes para un diagnóstico precoz y rápido de enfermedades infecciosas, IAEA, Viena, Austria, del 18 al 20 de mayo de 2011
- 6.2. Perspectivas de un sistema mundial de identificación genómica microbiológica en tiempo real – Implicaciones para la detección y el control nacional y mundial de enfermedades infecciosas, Bruselas, Bélgica, 1-2 de septiembre de 2011
- 6.3. Conferencia Mundial de la OIE/FAO/OMS sobre el control de la rabia, Incheon-Seúl, Corea, 7-9 de septiembre de 2011
- 6.4. Talleres sobre métodos alternativos para las pruebas de vacunas antirrábica humana y veterinaria: situación de la ciencia y planeación futura, Ames, Iowa, 11-13 de octubre de 2011
- 6.5. Vacunas veterinarias, Bruselas, Bélgica, 30 de noviembre - 1 de diciembre de 2011
- 6.6. Misión a América del Sur (Ecuador y Brasil) para investigar la compatibilidad de la vacuna
- 6.7. Actualización sobre OFFLU

## 7. Relación con otras Comisiones

### 7.1. Comisión Científica para las Enfermedades de los Animales

*Actualización desde la última Reunión de la Comisión de Laboratorios:*

- Peste equina: validación de las nuevas pruebas de diagnóstico propuestas
- Surra: diagnóstico diferencial
- Fiebre hemorrágica de Crimea-Congo: necesidad de métodos de diagnóstico
- Rabia: sección vacunas
- Peste porcina clásica: problema con vacunas
- Peste bovina: directrices de retención
- Enfermedad epizootica hemorrágica

*Solicitudes para consideración de la Comisión de Laboratorios*

- Informe del Grupo *ad hoc* sobre la peste de pequeños rumiantes
- Grupo de trabajo sobre las enfermedades de los animales salvajes: necesidad de actualizar el capítulo del *Manual Terrestre* sobre zoonosis transmisibles de primates no humanos

### 7.2. Comisión de Normas Sanitarias para los Animales Terrestres

Pregunta sobre la enfermedad de Aujeszky

## 8. Temas de interés para información

- 8.1. Necesidad de una declaración oficial de la OIE sobre el uso de thiomersal en las vacunas de animales
- 8.2. 19ª Conferencia de la Comisión Regional de la OIE para África, 14 - 18 de febrero de 2011.  
Recomendación tema técnico II: Principales enfermedades de los camélidos y cría de camélidos, restricciones, ventajas y perspectivas.
- 8.3. Necesidad de actualizar el documento “Norma de calidad y directrices de la OIE para los laboratorios veterinarios”
- 8.4. Actualización sobre VICH y CAMEVET

## 9. Otros asuntos

- 9.1. Programa de trabajo y actividades (a partir de septiembre de 2011)
- 9.2. Fechas de la próxima reunión de la Comisión de Laboratorios: 7-9 de febrero de 2012
- 9.3. Otros temas

**INFORME DE LA REUNIÓN DE LA COMISIÓN DE NORMAS BIOLÓGICAS DE LA OIE**  
**París, 14–16 de septiembre de 2011**

**Lista de participantes**

**MIEMBROS**

**Prof. Vincenzo Caporale**

*(Presidente)*

Director, Istituto Zooprofilattico  
Sperimentale dell'Abruzzo  
e del Molise 'G. Caporale'  
Via Campo Boario, 64100 Teramo  
ITALIA  
Tel: (39.0861) 33 22 33  
Fax: (39.0861) 33 22 51  
[direttore@izs.it](mailto:direttore@izs.it)

**Dr. Paul Townsend**

*(Miembro) (Invitado, no asistió)*

Veterinary Laboratories Agency  
New Haw  
Addlestone  
Surrey KT15 3NB  
REINO UNIDO  
Tel.: (44 1932) 341 111  
Fax: (44 1932) 357 838  
[p.townsend@vla.defra.gsi.gov.uk](mailto:p.townsend@vla.defra.gsi.gov.uk)

**Dr. Beverly Schmitt**

*(Vicepresidente)*

National Veterinary Services  
Laboratories, Diagnostic Virology  
Laboratory, P.O. Box 844, Ames,  
IA 50010  
ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA  
Tel.: (1-515) 663.75.51  
Fax: (1-515) 663.73.48  
[beverly.j.schmitt@aphis.usda.gov](mailto:beverly.j.schmitt@aphis.usda.gov)

**Dr. Alejandro Schudel**

*(Member) (Invitado, no asistió)*

Urraca 1366  
Carilo (7167)  
Partido de Pinamar  
Provincia de Buenos Aires  
ARGENTINA  
Tel: (54) 2254 571563  
Fax: (54) 2254 571563  
[alejandro.schudel@gmail.com](mailto:alejandro.schudel@gmail.com)

**Dr. Mehdi El Harrak**

*(Vicepresidente)*

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](mailto:elharrak_m@hotmail.com)

**Dr. Hualan Chen**

*(Miembro)*

National Avian Influenza Reference  
Laboratory, Animal Influenza  
Laboratory of the Ministry of  
Agriculture, Harbin Veterinary  
Research Institute, CAAS  
427 Maduan Street, Harbin 150001  
CHINA (REPÚBLICA POPULAR DE)  
Tel.: (+86-451) 8593.5079  
Fax: (+86-451) 8273.3132  
[hlchen1@yahoo.com](mailto:hlchen1@yahoo.com)

**REDACTOR ASESOR DEL MANUAL TERRESTRE**

**Prof. Steven Edwards**

c/o OIE 12 rue de Prony  
75017 Paris, FRANCIA  
Tel.: (33-1) 44.15.18.88  
Fax: (33-1) 42.67.09.87  
[steve-oie@cabanass.waitrose.com](mailto:steve-oie@cabanass.waitrose.com)

**SEDE 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  
[oiel@oie.int](mailto:oiel@oie.int)

**Dr. Kazuaki Miyagishima**

Director General Adjunto  
Departamento científico y técnico  
[k.miyagishima@oie.int](mailto:k.miyagishima@oie.int)

**Dra. Elisabeth Erlacher-Vindel**

Jefa Adjunta  
Departamento científico y técnico  
[e.erlacher-vindel@oie.int](mailto:e.erlacher-vindel@oie.int)

**Sra. Sara Linnane**

Redactora científica  
Departamento científico y técnico  
[s.linnane@oie.int](mailto:s.linnane@oie.int)

**Dr. François Diaz**

Responsable de validación de procesos  
de reconocimiento de pruebas de  
diagnóstico  
Departamento científico y técnico  
[f.diaz@oie.int](mailto:f.diaz@oie.int)

**Dr. Keith Hamilton**

Coordinador OFFLU  
Departamento científico y técnico  
[k.hamilton@oie.int](mailto:k.hamilton@oie.int)

**Dra. Susanne Munstermann**

Comisionada  
Departamento científico y técnico  
[s.munstermann@oie.int](mailto:s.munstermann@oie.int)



## **GRUPO AD HOC DE LA OIE SOBRE LA CALIDAD DE LAS VACUNAS CONTRA LA FIEBRE AFTOSA**

**París, 5–6 de septiembre de 2011**

---

La tercera reunión del Grupo *ad hoc* sobre la calidad de las vacunas contra la fiebre aftosa se celebró en la sede de la OIE, en París, los días 5 y 6 de septiembre de 2011. Este encuentro se programó con el fin de completar la revisión de las Secciones C y D del Capítulo 2.15. del *Manual Terrestre* relativo a la fiebre aftosa, iniciada en las reuniones del 29 al 31 de marzo de 2011 y del 8 al 9 de junio de 2011.

### **1. Bienvenida y propósito de la reunión**

El Dr. Kazuaki Miyagishima, Director general adjunto, dio la bienvenida a los participantes en nombre del Dr. Bernard Vallat, Director general de la OIE. Destacó la importancia de este Grupo *ad hoc* haciendo referencia a la iniciativa de la OIE de establecer un banco de vacunas contra la fiebre aftosa para Asia, el desarrollo de la estrategia mundial OIE/FAO para el control de la fiebre aftosa y los recientes brotes de la enfermedad en África y Asia.

### **2. Aprobación del temario y designación del presidente y del relator**

La reunión fue presidida por el Dr. Michel Lombard y, por su parte, el Dr. Alf-Eckbert Füssel se encargó de redactar las actas. El temario que fue aprobado por el Grupo figura en el Anexo I. La lista de participantes se encuentra en el Anexo II.

### **3. Actualización y revisión de la Sección C (Pruebas para la concordancia viral) y la Sección D (Requisitos para las vacunas y el material de diagnóstico) del Capítulo 2.1.5. sobre la fiebre aftosa del *Manual Terrestre***

En su primera reunión, el Grupo *ad hoc* había desarrollado un “esquema” para una sección revisada consagrada a las vacunas en el capítulo sobre la fiebre aftosa (ver Anexo III del presente informe). El Grupo aplicó este modelo a su revisión que, de resultar exitoso para la fiebre aftosa, se usará como plan rector para la sección de vacunas de otros capítulos de enfermedades, empezando por la rabia.

Se tomó nota de que el orden de las Secciones C y D se había invertido tras la discusión de la primera reunión. El Dr. Lombard propuso finalizar la revisión de las últimas subsecciones de la “nueva” Sección C relativa a los “Requisitos para las vacunas” antes de seguir trabajando en la revisión de la primera subsección de la Sección D.

El Grupo *ad hoc* empezó su trabajo con una breve revisión de los comentarios hechos por los participantes sobre las modificaciones de las dos primeras partes de la nueva Sección C durante la reunión de junio de 2011. Tras un debate, se acordó que una dosis protectora de 50% (PD<sub>50</sub>) de la prueba de potencia, no era aceptable para utilizarse en animales que resultaron seropositivos a los anticuerpos de cualquiera de los siete tipos de virus de la fiebre aftosa.

Se discutió ampliamente el párrafo C.5.c. sobre la “Pureza” y las pruebas para los anticuerpos frente a las proteínas no estructurales (PNE).

El Grupo *ad hoc* acordó que las pruebas de pureza deberían efectuarse en al menos ocho cabezas de ganado del mismo rebaño utilizado para las pruebas de seguridad descritos en C.5.b. Las reses seronegativas deberán recibir dosis individuales de vacuna de 3 a 4 semanas de intervalo. La vacuna debería contener el número máximo de cepas y cantidades de antígenos permitidos en la autorización. Debería realizarse un muestreo con las reses para las pruebas de anticuerpos frente a las PNE antes de cada nueva vacunación y entre 30 y 60 días después de la última administración de la vacuna.

A partir del número de inyecciones controladas el Grupo *ad hoc* consideró que el esquema de prueba era lo suficientemente sensible como para establecer que la vacuna no inducirá anticuerpos frente a las PNE.

Al respecto, también se discutió la sensibilidad y especificidad de las pruebas prescritas para la detección de anticuerpos en las PNE. El Dr. Onkabetse George Mathlo resaltó la importancia creciente de las PNE en los virus tipo SAT y solicitó que un grupo de expertos de la OIE analizara los resultados disponibles. La Dra. Susanne Münstermann evocó la revisión de la literatura científica realizada por el Dr. P. Roeder en el marco del proyecto de subvención UE/SADC<sup>1</sup> para la fiebre aftosa que indicaba que los resultados de los kits disponibles de pruebas PNE eran menos sensibles y específicos después de la infección con virus SAT, en comparación con la infección con virus de serotipos A, O y Asia.

El Grupo *ad hoc* acordó que la *Duración de la inmunidad* (C5.d.) era un criterio importante para la selección de una vacuna y que, por lo tanto, para registrar una vacuna se necesitaba información adecuada basada en estudios apropiados que justifiquen el esquema de vacunación recomendado por el fabricante. Con respecto a la interferencia con los anticuerpos maternos, el Grupo también reconoció la necesidad de brindar información sobre la dinámica de este tipo de anticuerpos, ya que dichos datos reflejan mejor la situación epidemiológica.

Para mayor coherencia, se revisaron los requisitos de *Estabilidad* del párrafo C.5.e.

El Grupo *ad hoc* estimó que sería más lógico integrar el punto C.5.f. sobre *Conservantes* en la Sección C.2. sobre *Método de producción*, lo que se hizo para su posterior revisión.

Con respecto a la Sección C.6. sobre *Almacenamiento y control de los concentrados de antígeno*, se decidió vincular este producto intermedio (“antígenos concentrados”) al texto a la Sección C.2. sobre *Método de producción*. El Grupo introdujo una referencia al Capítulo 1.1.10., referido a las Directrices para las normas internacionales de los bancos de vacunas, que además brinda orientación sobre el almacenamiento de antígenos del virus de la fiebre aftosa.

Se decidió suprimir todo el párrafo C.6.a. sobre *Criterios de pre-almacenamiento* eliminando algunas redundancias e introduciendo el texto sobre “los procedimientos de emergencia para la aceptación provisional/ de los nuevos virus del inóculo primario (MSV) y la posterior difusión de vacunas formuladas” como un nuevo párrafo (d) en la Sección C.1. sobre *Control del inóculo*.

La parte restante de la Sección C.6. se dividió en *Criterios de almacenamiento* (C.6.a) y en un punto simplificado sobre *Supervisión* (C.6.b), en el que se incluyeron requisitos para las muestras representativas de los antígenos almacenados.

Además, se añadió una nueva sección C.7. relativa a la Difusión de emergencia de vacunas preparadas a partir de antígenos concentrados, que incluye las disposiciones basadas en los requisitos de la Farmacopeia Europea la hora de difundir vacunas de emergencia reconstituidas a partir de concentrados de antígenos previamente probados.

Dado que en el párrafo a) de la Sección C.1. *Características del inóculo*, el texto referido al uso de una nomenclatura oficial recomendada no existe como tal, el Grupo aceptó una nomenclatura “única” en su lugar.

Como consecuencia de la redacción final introducida, el Grupo recomendó a la OIE examinar la necesidad de una nomenclatura aceptada para todos los virus mencionados en el *Manual Terrestre* y el *Código Terrestre*.

---

1 SADC: Comunidad de Desarrollo de África Austral

En relación con el párrafo c) de la Sección C.1. *Validación como cepa vacunal*, el Grupo recordó lo concluido en su reunión de junio de 2011:

“Se discutió ampliamente los requisitos para la caracterización de los virus del inóculo primario (antigénica y/o genéticamente). Mientras los observadores de la Federación Internacional de Sanidad Animal (IFAH) subrayaron que la caracterización genética no añadía ventajas significativas, mientras otros participantes estimaron que esta información podría facilitar la selección de cepas vacunales y el rastreo de las cepas de los virus de las vacunas. No se llegó a una conclusión definitiva y se postergó la decisión final”.

Siguiendo esta recomendación, el Grupo discutió la necesidad de una caracterización genética como un requisito previo para la selección de un inóculo primario y concluyó que los aislados deberán caracterizarse claramente, sin indicación particular de una caracterización antigénica y genética. De preferencia, los aislados para la selección del inóculo primario deberían provenir de un Laboratorio de Referencia de la OIE y contar con la caracterización genética que los mismos otorgan.

El párrafo c) de la Sección C.3. sobre *Control de las proteínas no capsidales* señala que en la actualidad no existe una prueba validada por la OIE para las proteínas no capsidales en antígenos industriales inactivados, aunque se utilizan en la práctica varias pruebas disponibles comercialmente. Dado que esta afirmación no contenía ninguna obligación o requisito, el Grupo acordó suprimir el párrafo C.3.c.

En el párrafo C.4., *Pruebas de los lotes finales*, el Grupo concordó borrar la frase introductoria: “tanto el antígeno inactivado como la vacuna formulada pueden ser considerados como productos finales”, ya que no ofrecía ninguna información adicional. En su lugar, se introdujo una referencia a los *antígenos concentrados* para mantener la coherencia terminológica.

El Grupo tomó nota del problema general que representa el que no existan referencias a las “buenas prácticas de fabricación”, puesto que no se trata de una norma necesariamente aceptada a nivel mundial. Acordó introducir, cuando fuera apropiado, ciertas referencias a los requisitos normativos mencionados en el Capítulo 1.1.8. del *Manual Terrestre* como, por ejemplo, en el párrafo C.4.c. *Pruebas de proteínas virales no estructurales*:

Las proteínas no estructurales hacen referencia a las proteínas que no están presentes en las cápsides del virus de la fiebre aftosa. Sólo los productos que reivindican haber superado las pruebas PNE tienen que demostrar su nivel de purificación. A menos que se demuestre la coherencia de purificación y se apruebe tanto en el expediente de registro como en el proceso de producción con fines de consistencia en concordancia con los requisitos estándar, del Capítulo 1.1.8., la falta de reactividad de las PNE debe demostrarse en el producto final (ver Sección C.5. *Requisitos para el registro de vacunas*).

Por otra parte, se introdujeron cambios menores en cuanto a la seguridad de las pruebas, en particular, el reemplazo de la administración de una dosis doble por una dosis *recomendada*.

Tras discutir el párrafo C.4.c. relativo a la *Potencia*, el Grupo concluyó que el método del Porcentaje de protección esperada no debía figurar en el párrafo C.5.iv. sobre *Eficacia*, dado que no se había incluido en los registros, sino que debía añadirse a la Sección C.4. relativa a las pruebas en los lotes de producto final, ya que así se utiliza en Suramérica. Por consiguiente, el Grupo validó el párrafo C.4.e sobre *Potencia* con una corta descripción del método del Porcentaje de protección esperada.

El Grupo revisó la Sección C.5. sobre los *Requisitos para el registro de vacunas* e introdujo modificaciones editoriales menores. El Grupo aceptó modificar la definición de DIVA como la “detección de infección en animales vacunados”.

El Grupo finalizó el anteproyecto de texto para la Sección C sobre *Requisitos para las vacunas* y la nueva Sección D sobre *Pruebas para la concordancia viral*, que figuran en el Anexo IV del presente informe para comentario de los Países Miembros antes del **8 de enero de 2012**.

El Prof. Vincenzo Caporale señaló que se requería una revisión del Capítulo 1.1.2. del *Manual Terrestre* – Bioprotección y seguridad humana en los laboratorios veterinarios de microbiología y en las instalaciones de los animales–.

#### **4. Otros asuntos**

El Grupo *ad hoc* revisó el modelo para las licitaciones referentes a la producción de vacunas contra la fiebre aftosa y finalizó una propuesta modificada.

#### **5. Finalización y adopción del proyecto de informe**

El Grupo *ad hoc* revisó el anteproyecto de informe entregado por el relator y acordó que el informe y las partes revisadas del capítulo sobre la fiebre aftosa circularían durante un tiempo limitado dentro del Grupo para comentarios y aprobación final de los participantes.

---

.../ Anexos

**GRUPO AD HOC DE LA OIE SOBRE LA CALIDAD DE LAS VACUNAS CONTRA LA FIEBRE AFTOSA**

**París, 5–6 de septiembre de 2011**

---

**Temario**

1. Bienvenida y propósito de la reunión
2. Aprobación del temario y designación del presidente y del relator
3. Actualización y revisión de la Sección C (Pruebas para la concordancia viral) y la Sección D (Requisitos para las vacunas y el material de diagnóstico) del Capítulo 2.1.5. sobre la fiebre aftosa del *Manual Terrestre*
4. Otros asuntos
5. Finalización y adopción del proyecto de informe

---

Anexo II**GRUPO AD HOC DE LA OIE SOBRE LA CALIDAD DE LAS VACUNAS CONTRA LA FIEBRE AFTOSA****París, 5–6 de septiembre de 2011****Lista de participantes****MIEMBROS**

**Dr. Michel Lombard**  
22 rue Crillon, 69006 Lyon  
FRANCIA  
Tel: 33 (0) 4 78 93 90 89  
lombard.family@wanadoo.fr

**Dr. Ralph Woodland**  
Immunologicals Assessment Team Veterinary  
Medicines Directorate, Woodham Lane, New Haw,  
Addlestone, Surrey KT15 3LS  
REINO UNIDO  
Tel: 44 (0) 1932336911  
Fax: 44 (0) 1932336618  
r.woodland@vmd.defra.gsi.gov.uk

**Dr. Lawrence Elskén**  
Global Vaccine Manager, Center for Veterinary  
Biologics, APHIS, USDA, 510S, 17<sup>th</sup> Street, Suite  
104, Ames, Iowa 50010  
ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA  
Tel: 1-800-752-6255  
Fax: 515 232 7120  
Lawrence.A.Elsken@aphis.usda.gov

**Dr. Alf-Eckbert Füssel**  
Director adjunto de unidad, DG SANCO/G2  
Rue Froissart 101-3/67  
B-1040 Bruselas  
BÉLGICA  
Tel: (32) 2 295 08 70  
Fax: (32) 2 295 3144  
alf-eckbert.fuessel@ec.europa.eu

**Dra. Ingrid Bergmann**  
Centro de Virología Animal  
Instituto de Ciencia y Tecnología  
'Dr César Milstein' CONICET  
Saladillo 2468, 1440 Buenos Aires  
ARGENTINA  
Tel : 54 (11) 46866225/46872542  
Fax: 54 (0) 1147858037  
ibergmanncevan@centromilstein.org.ar

**Dr. Onkabetse George Mathlo**  
Botswana Vaccine Institute, Department of Animal  
Health and Production, Broadhurst Industrial Site,  
Lejara Road, Private Bag 0031, Gaborone  
BOTSUANA  
Tel.: (267) 3912711  
Fax: (267) 3956798  
gmathlo@bvi.co.bw

**Dr. Jong Hyun Park**  
Head of FMD Lab., National Veterinary Research  
and Quarantine Services  
Anyang 6 dong 480, An Yang City  
Gyeonggi-do  
REPÚBLICA DE COREA  
Tel: (82) 31 467 1719  
Fax: (82) 31 449 5882  
parkjhvet@korea.kr

**REPRESENTANTES DE LA COMISIÓN DE NORMAS BIOLÓGICAS**

**Prof. Vincenzo Caporale** (*Presidente de la Comisión de Normas Biológicas de la OIE*)  
Director, Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise 'G. Caporale', Via Campo Boario, 64100 Teramo, ITALIA  
Tel: (39.0861) 33 22 33  
Fax: (39.0861) 33 22 51  
direttore@izs.it

**OBSERVADORES** (designados por la Federación Internacional de Sanidad Animal)

**Dr. Peter Pepels**  
Scientific Editor  
Global Regulatory Affairs Immunological Department  
Intervet International bv  
Wim de Körverstraat 35  
P.O. Box 31  
5830 AA Boxmeer  
PAISES BAJOS  
Tel: 31 (0) 485 585480  
Fax: 31 (0) 485 587604  
peter.pepels@merck.com

**Dr. Philippe Dubourget**  
FMD operations Director, Veterinary Public Health Division  
Merial, 29 avenue Tony Garnier, B.P. 7123  
69348 Lyon Cedex 07  
FRANCIA  
Tel: 33 (0) 4 72723072  
Fax: 33 (0) 4 72723181  
philippe.dubourget@merial.com

**SEDE 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  
oie@oie.int

**Dr. Kazuaki Miyagishima**  
Director general adjunto  
Jefe, Departamento científico y técnico  
k.miyagishima@oie.int

**Dra. Susanne Munstermann**  
Comisionada  
Departamento científico y técnico  
s.munstermann@oie.int

Anexo III**“Esquema” para la revisión de la sección sobre las vacunas del capítulo sobre la fiebre aftosa<sup>2</sup>****C. REQUISITOS PARA LAS VACUNAS****1. Introducción**

Política general de la OIE

Corta introducción sobre el nuevo programa de validación de la OIE

Selección apropiada de las cepas

Cumplimiento con el *Manual Terrestre* (Capítulo 1.1.8.) + bioseguridad

Vacunas para una vacunación periódica

Vacunas para una vacunación de emergencia

Vacunas para nuevas cepas ≠ cepas vacunales actuales

Antígenos para bancos de vacunas (prueba como vacuna), consideración de las diferentes combinaciones

Aspecto multicepa

(Pureza), interferencia de las proteínas no estructurales (PNE)

**2. Breve presentación de la producción y de los requisitos mínimos para las vacunas y los antígenos antiaftosa**

Generalidades en materia de bioseguridad de las instalaciones (FAO) + versión anterior + capítulo de la OIE

Etapas básicas para la producción de vacunas con un interés particular en el control y aseguramiento de calidad (CC/AC) – líneas celulares aprobadas + problemas de explantes

Preferencia por los ingredientes, sueros y productos orgánicos

**a) Características del inóculo**

Lista de la OIE sobre encefalopatías espongiiformes transmisibles + texto anterior

i) Características de los productos orgánicos

*Características biológicas*

Referencia a la vacuna/ concordancia cepa de campo

Texto anterior

ii) *Criterios de calidad (esterilidad, pureza y ausencia de agentes extraños)*

Mantener el texto anterior

**b) Método de producción**

Texto anterior sin cultivo primario

Una frase al final para explicar el método

i) Procedimiento

Texto anterior

ii) Requisitos para los sustratos y medios

Sales – grado de calidad farmacológica

Productos biológicos – ver capítulo 1.1.9. (deberá revisarse y actualizarse)

2 Este “esquema” presenta la sección revisada del capítulo de la fiebre aftosa que ha sido desarrollada por el Grupo *ad hoc* e integrada a la sección referente a la vacuna antiaftosa. Si su aplicación da los resultados esperados, se utilizará como una base para las demás secciones de los capítulos sobre vacunas, empezando por la rabia.

Antibióticos – ver capítulo 1.1.8. (deberá revisarse y actualizarse)

Conservantes – ver capítulo 1.1.8. (deberá revisarse y actualizarse)

Células – ver capítulo 1.1.8. sobre stocks de células primarias (deberá revisarse)

- Frase sobre el método Frenkel

iii) *Control interno*

Texto anterior

iv) Pruebas de lotes sobre el producto final

*Pruebas de los lotes de producto final*

Antígeno considerado + vacuna

- Esterilidad/pureza

Esterilidad: considerada en el capítulo en general, pero no en los capítulos 1.1.8. y 1.1.9. – se necesita un nuevo párrafo sobre la esterilidad en el 1.1.8. y en los protocolos en 1.1.9.

Pureza: pruebas en el producto final, C) pureza

*Compromiso*

*Esquema de control y garantía de calidad (QA/QC) + registro*

*Control de lote con pruebas PNE / riesgo bajo*

*En ausencia de las pruebas de detección PNE en antígeno a granel*

*Sin esquema de control y garantía de calidad*

*Control de lote con pruebas PNE / riesgo alto*

*90 días*

- Seguridad (p. 211 del *Manual Terrestre*)

- Potencia del lote

*Pruebas in-vivo: animales diana*

*Pruebas in vitro: método serológico ELISA, prueba de neutralización del virus (VNT)*

**c) Requisitos para la obtención de la autorización y la licencia (texto anterior: pruebas sobre el producto final)**

Beneficios de la garantía y el control de calidad y del esquema de buenas prácticas de fabricación

Tres lotes consecutivos, más de 1/3 del volumen producido

i) *Requisitos en materia de seguridad*

Inocuidad

Inocuidad - animales objetivo, una dosis, ocho animales (normal, preñada, edad mínima)

Max 146s + valencias max

Dosis posvacunales + booster 1 + booster 2

Consideraciones medioambientales - No

Residuos / problema de animales destinados al consumo

ii) *Requisitos en materia de eficacia*

- Eficacia en T<sub>0</sub> –test de potencia, test de vacunación desafío, ¿por cepa?, ¿por tipo?, ¿por animales objetivo?

- Duración de la eficacia - indirecto

iii) *Estabilidad = tiempo de validez = prueba de liberación del lote*

Tres lotes diferentes

**d) Vacuna combinada de fiebre aftosa: los componentes deben verificarse punto por punto según los requisitos explicitados anteriormente**

## D. PRUEBAS PARA LA CONCORDANCIA VACUNAL

### 1. Introducción

Mención de los Laboratorios de Referencia de la OIE para la fiebre aftosa

Actualización de la literatura

Definición potencia/eficacia

Modificación antigénica del virus de la fiebre aftosa

Presentación general de los métodos (inmunológico, serológico)

Texto anterior

### 2. Selección de los virus para la concordancia vacunal

De acuerdo con:

    Capítulo 2.1.5. Sección B, Técnicas de diagnóstico

    Capítulo 1.1.1. Recogida y envío de muestras para el diagnóstico

En el terreno

En el laboratorio (nivel 4 de la OIE)

### 3. Selección de las cepas vacunales

Texto anterior

### 4. Pruebas de concordancia de las vacunas

Introducción, norma de oro, laboratorio

a) Caracterización de la cepa

    valor  $r_1$

    Mantener el orden del texto anterior

    ELISA (ref. literatura)

    VNT (ref. literatura)

b) Aplicabilidad de la vacuna

    Desafío

    PPE (ref. literatura)

---

Appendix IV

.....

Draft Text Chapter 2.1.5 (Sections A and B of the Chapter remain unchanged)

## CHAPTER 2.1.5.

**FOOT AND MOUTH DISEASE**

...

**C. D REQUIREMENTS FOR VACCINES AND DIAGNOSTIC BIOLOGICALS**

The control of FMD is usually a national responsibility and, in many countries, the vaccine may be used only under the control of the Competent Authority.

Guidelines for the production of veterinary vaccines are given in Chapter 1.1.8 Principles of veterinary vaccine production. The guidelines given here and in Chapter 1.1.8 are intended to be general in nature and may be supplemented by national and regional requirements. Varying requirements relating to quality, safety and efficacy apply in particular countries or regions in order for manufacturers to obtain an authorisation or licence for a veterinary vaccine. Where possible, manufacturers should seek to obtain such a license or authorisation for their FMD vaccines as independent verification of the quality of their product.

Virulent FMDV must be used to produce FMD vaccine; consequently, the FMD vaccine production facility should operate under the appropriate biosecurity procedures and practices. The facility should meet the requirements for Containment Group 4 pathogens as outlined in Chapter 1.1.2 of this *Terrestrial Manual*.

Routine vaccination against FMD is used in many countries or zones recognised as free from foot and mouth disease with vaccination and in countries where the disease is endemic. In contrast, a number of disease-free countries have never vaccinated their livestock but have preferred the use of strict movement controls and culling of infected and contact animals when outbreaks have occurred. Nevertheless, many disease-free countries maintain the option to vaccinate and have their own strategic reserves of highly concentrated inactivated virus preparations. Such antigen reserves offer the potential of supplying formulated vaccine in an 'emergency' at short notice (Doel *et al.*, 1994). Chapter 1.1.10 of this *Terrestrial Manual* provides Guidelines for international standards for vaccine banks.

FMD vaccines may be defined as a fixed formulation containing defined amounts (limits) of one or more chemically inactivated cell-culture-derived preparations of a seed virus strain blended with a suitable adjuvant/s and excipients.

Antigen banks may be defined as stockpiles of antigen components, registered or licensed according to the finished vaccine, and which can be stored for a very long time for subsequent formulation into vaccine as and when required.

The vaccines are formulated for their specific purpose and in the case of vaccines destined for use in cattle, both aluminium hydroxide saponin adjuvanted and oil adjuvanted vaccines may be used. For use in swine, double oil emulsions are preferred due to their efficacy. ~~Oil-adjuvanted vaccines in ruminants can also be used in ruminants and may have advantages in terms of less interference from maternal antibody and a longer duration of immunity.~~

FMD vaccines may be classified as either 'standard' or 'higher' potency vaccines. Standard potency vaccines are formulated to contain sufficient antigen to ensure that they meet the minimum potency level required (recommended at Section D.4.b as 3 PD<sub>50</sub> [50% protective dose]) for the duration of the shelf life claimed by the manufacturer. This kind of vaccine is usually suitable for use in routine vaccination campaigns. For vaccination in naïve populations to control FMD outbreaks, higher potency vaccines (e.g. > 6 PD<sub>50</sub> for the duration of the shelf life claimed by the manufacturer) are recommended for their wider spectrum of immunity as well as their rapid onset of protection.

~~Higher potency vaccines are formulated with an increased amount of antigen such that the potency is in excess of the minimum requirement to provide particular features such as a more rapid onset of immunity, and a wider spectrum of immunity against relevant field viruses. Higher potency vaccines are thus well suited for emergency use. Live FMD vaccines are not acceptable due to the danger of reversion to virulence and as their use would prevent the differentiation of infected from vaccinated animals.~~

Conventional live FMD vaccines are not acceptable due to the danger of reversion to virulence and as their use would prevent the detection of infection in vaccinated animals.

Because of the presence of multiple serotypes of the virus many FMD vaccines are multivalent and it is common practice to prepare vaccines from two or more different virus serotypes strains. In certain areas, it may be advisable to include more than one virus strain per serotype to ensure broad antigenic coverage against prevailing viruses.

## 1. Seed virus management

### a) Characteristics of the seed virus

Selection of master seed viruses (MSVs) should ideally be based on their ease of growth in cell culture, virus yield, stability and broad antigenic spectrum (Samuel *et al.*, 1990). Isolates to prepare MSVs should be characterised and distributed, preferably by the official control OIE FMD Reference laboratories in regions where such laboratories exist; they should be selected in accordance with the epidemiological importance of each variant.

The exact source of the isolate should be recorded and should include details such as the location, species and the type of material from which the virus was derived. Unique nomenclature should be used to identify the FMDV strain. The *in-vitro* passage history of the virus and details of main components should be recorded in accordance with Chapter 1.1.8. of this *Terrestrial Manual*.

### b) Method of culture

Methods of culture shall comply with the Chapter 1.1.8 of this *Terrestrial Manual*. Where no suitable established vaccine strain exists, new vaccine strains are derived through the establishment of MSVs from local field isolates by adapting them to growth in suspension or monolayer cells by serial passage. In order to remove the risk of contaminating lipid-enveloped viruses, it is recommended that putative MSVs undergo a validated organic solvent treatment prior to, or during, adaptation. ~~It is preferable to keep the number of passages in cell culture to a minimum as there is evidence of antigenic 'drift' of FMDV during this procedure.~~

### c) Validation as a vaccine strain

MSVs must be ~~antigenically and, if possible genetically,~~ well characterised and proven to be pure and free from all extraneous agents in accordance with Chapter 1.1.9 and those listed by the appropriate licensing authorities. Homology should be established with the original candidate isolates and effectiveness against the circulating strains from which they were developed should be proven. This often encompasses a number of methods, the most reliable being *in-vivo* ~~cross~~ protection assays. Alternatively, *in-vitro* tests (preferably virus neutralisation) can also be used, which require the availability of post-vaccination sera against these master seeds (see Section D of this chapter).

Seed viruses may be stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  if glycerinated or at a lower low temperature (e.g.  $-70^{\circ}\text{C}$ ) if ~~not glycerinated or freeze-dried~~. Working seed viruses may be expanded in one or a few more passages from the master seed stock and used to infect the final cell culture at an approximate rate of 1 PFU (plaque forming unit) per 100 cells. ~~Whenever possible, the exact source of the isolate should be recorded and should include details such as the location, species and the type of material from which the virus was derived. The *in-vitro* passage history of the virus should be recorded.~~

Consideration should also be given to minimising the risk of transmission of transmissible spongiform encephalopathy agents (TSEs) by ensuring that TSE risk materials are not used as the source of the virus or in any of the media used in virus propagation

### d) Emergency procedures for provisional acceptance of new MSV, and subsequent release of formulated vaccines

In the case of incursion in a region of a new strain that is antigenically distinct from existing vaccine strains, it may be necessary to develop a new vaccine strain from a representative field isolate. Before the new MSV can be accepted, full compliance should be demonstrated with the relevant guidelines to demonstrate freedom from all extraneous agents listed by the appropriate licensing authorities using both general and specific tests, and to establish homology to the original candidate isolates. The time taken to raise the specific antisera necessary to neutralise the new strain for use in the general tests for detection of extraneous agents and to conduct other specific tests that require specialised techniques may be lengthy. Therefore, in emergency situations where there is insufficient time to complete full testing of the MSV, provisional acceptance of the new strain should be based on a risk analysis of the possibility of contamination of the antigen produced from the new MSV with extraneous agents. This risk assessment should take into account that a validated procedure to inactivate enveloped viruses must be used when establishing the MSV and that the virus is inactivated using a chemical inactivant with first order kinetics. Further assurance is provided by the requirement for the kinetics of inactivation to be monitored and recorded for each production batch.

In order to accelerate the release of batches of vaccine formulated to contain new vaccine strains, it may be acceptable for batch potency testing to be carried out using a vaccine formulated using an intermediate antigen lot pending production of all of the batches of antigen that are intended to constitute the final antigen lot. This will allow the potency of antigen derived from a new MSV to be determined whilst the manufacturer continues to build up stocks of this new antigen.

## 2. Method of manufacture

The recommended method of virus propagation for antigen production is the growth of FMDV in large-scale suspension cultures or monolayers using cell lines under sterile conditions.

Cattle tongue epithelium in surviving conditions in medium with salts but without products of biological origin, may be acceptable for vaccine production but only if the method of production is entirely compliant with the standard requirements referred to in Chapter 1.1.8 of the *Terrestrial Manual*. In addition, in order to remove the risk of contaminating lipid-enveloped viruses, the harvested virus suspension must undergo a validated organic solvent treatment prior to BEI/EI inactivation. A validated procedure is applied to ensure inactivation of all possible extraneous agents and each batch is independently tested in an official laboratory for absence of extraneous agents. Adequate in-process and final products tests are in place to ensure consistency and safety of the final product. Consideration should also be given to minimising the risk of transmission of transmissible spongiform encephalopathy agents (i.e. BSE) by ensuring safe sourcing of the epithelium.

~~Primary cell culture may be acceptable for vaccine production in some countries but only if the method of production is entirely compliant with Good Manufacturing Practice, a validated procedure is applied to ensure inactivation of all possible extraneous agents and adequate in-process and final products tests are in place to ensure consistency and safety of the final product. It is essential that all pipework and vessels be thoroughly sterilised ensuring that no areas in the system harbour microorganisms. In addition to general considerations of sterility, it is important to note that the virus is vulnerable to attack by proteolytic enzymes, such as those produced by microorganisms (Doel & Collen, 1982). Control of pH and temperature are also critical because of the acid and temperature lability of the virus (Doel & Baccarini, 1981). Optimum temperature for cell, virus growth and inactivation, normally around 37°C and 26°C, respectively, should be precisely controlled. During other stages of manufacture, the temperature should be reduced to 4–6°C. Virus should be maintained at approximately pH 7.6 and should never be below pH 7.0.~~

A suitable strain of the virus is used to infect a suspension or monolayers of an established cell line, such as BHK. Such cell cultures should be proven to be free from contaminating microorganisms.

It is common practice to keep stocks of BHK cells over liquid nitrogen and revive as necessary. On revival, they are expanded in nutrient medium to a volume and cell density appropriate to seeding the main culture. ~~As an approximation, the main culture is seeded to give an initial density of  $0.2-0.5 \times 10^6$  cells/ml, which is allowed to multiply to  $2-5 \times 10^6$  cells/ml before being infected with virus.~~

~~When the virus has is expected to have reached its maximum titre, which is variously determined by infectivity, CF or other tests yield, the culture is clarified, often by chloroform treatment followed by centrifugation and/or filtration. The virus is subsequently inactivated by addition of an inactivant of first order, usually ethyleneimine (EI) in the form of binary ethyleneimine (BEI). This is usually prepared by dissolving, to a concentration of 0.1 M, 2-bromoethylamine hydrobromide in 0.2 N sodium hydroxide solution, and incubating at 37°C for 1 hour (Bahnmann, 1975; 1990). It is important that the necessary safety precautions for working with BEI/EI are fully observed.~~

~~The BEI ~~formed~~ is then added to a virus suspension held at 26°C, to give a predetermined final concentration of 3 mM. Inactivation is usually continued for 24 hours, followed by a second dose of BEI for a further 24 hours must be duly validated and documented to show the inactivation kinetic and the results of the inactivation controls. The time period for BEI treatment and temperature used for inactivation must be validated for the actual conditions and equipment used. After inactivation any residual BEI in the harvest can be neutralised by adding sodium thiosulphate solution to a final concentration of 2%.~~

~~To decrease the likelihood of live virus failing to contact the EI at the second application inactivant, e.g. EI/BEI, it is essential to transfer the vessel contents immediately to a second sterile vessel where inactivation is allowed to go to completion at 48 hours according to the validated inactivation kinetic and taking into account possible regulatory requirements for additional waiting times.~~

~~During inactivation, the virus titre is monitored by a sensitive and reproducible technique. The inactivation procedure is not satisfactory unless the decrease in virus titre, plotted logarithmically, is linear and extrapolation indicates that there is less than 1 infectious virus unit per  $10^4$  litres of liquid preparation at the end of inactivation.~~

~~After inactivation any residual EI/BEI in the harvest can be removed, or neutralised, for example by adding excess sodium thiosulphate solution to a final concentration of 2%.~~

The inactivated virus may be concentrated/purified by procedures such as ultrafiltration, polyethylene glycol ~~precipitation~~ precipitation or polyethylene oxide adsorption (Adamowicz *et al.*, 1974; Wagner *et al.*, 1970). Concentrated inactivated virus may be purified further by procedures such as chromatography. These concentrated and purified antigens can be

kept at  $-70^{\circ}\text{C}$  or lower formulated into vaccines or stored at low temperatures for many years if necessary, and made into vaccine when required by dilution in a suitable buffer and addition of adjuvants (Doel & Pullen, 1990).

Conventional FMD vaccines are usually formulated as oil adjuvanted or aqueous. ~~The aqueous vaccine, which is most commonly used for cattle is prepared by adsorbing the virus on to aluminium hydroxide gel, one of the adjuvant constituents of the final vaccine blend. Other components of the final blend include antifoam, phenol red dye (if permitted by the country requiring vaccine), lactalbumin hydrolysate, tryptose phosphate broth, amino acids, vitamins and buffer salts. A second adjuvant, saponin, derived from the South American tree *Quillaja saponaria mollina*, is also incorporated, as well as a preservative such as merthiolate or chloroform.~~

Oil-adjuvanted vaccines are usually formulated as water-in-oil emulsion using mineral oils, such as Marcol and Drakeol as adjuvants. ~~These preparations offer a number of advantages over the standard aluminium hydroxide/saponin vaccine, not least of which is their efficacy in pigs. They are widely used for vaccinating cattle in South America because of the longer duration of immunity. The mineral oil is usually premixed with an emulsifying agent such as mannide monooleate, before the addition of a proportion, or all, of the aqueous phase of the vaccine, and emulsified by use of a colloid mill or continuous mechanical or flow ultrasonic emulsifier.~~

More complex double emulsions (water/oil/water) may be produced by emulsifying once more in an aqueous phase containing a small amount of detergent such as Tween 80 (Barnett *et al.*, 1996, Doel *et al.*, 1994; Herbert, 1965).

The aqueous vaccine is prepared by adsorbing the virus on to aluminium hydroxide gel, one of the adjuvant constituents of the final vaccine blend.

The final blend of the vaccine can include other components, such as antifoam, phenol red dye, lactalbumin hydrolysate, tryptose phosphate broth, amino acids, vitamins, buffer salts and other substances. An adjuvant, such as saponins, can also be incorporated, as well as preservatives.

~~The most commonly used preservatives are chloroform. Preservatives may be used as long as their usefulness as a preservative and absence of interference with FMDV antigen has been properly demonstrated, and merthiolate. The latter is used at a final concentration of 1/30,000 (w/v).~~

~~A further alternative are the 'ready to use' oil adjuvants. Oils containing esters of octadecenoic acid and 2,5 anhydro d-mannitol, for example, readily form double or mixed emulsions (water/oil/water) that are both stable and of low viscosity, without the requirement of sophisticated emulsification equipment (Barnett *et al.*, 1996, Doel *et al.*, 1994). When using novel components, including adjuvants or preservatives, in any vaccine it is important to take into account that its status with regard to residues in products derived from food-producing species must be assessed to ensure that adequate assurance can be giving to licensing authorities in relation to safety for consumers. This requirement limits considerably the choice of adjuvants and preservatives for use in food-producing species.~~

### 3. In-process control

In general, virus titres reach optimum levels within about 24 hours of the cell culture being infected. The time chosen to harvest the culture may be based on a number of assays; for instance cell death. Virus concentration may be assessed by an infectivity test, sucrose density gradient (Bartelling & Meloen, 1974; Fayet *et al.*, 1971; Doel *et al.*, 1982) or serological techniques. It is preferable to use a method for measuring antigenic mass, such as sucrose density gradient analysis, as well as one that measures infectivity, as the two properties do not necessarily coincide and the different methods may complement one another.

#### a) Inactivation kinetics

During inactivation of the virus, timed samples should be taken at regular intervals for the purpose of monitoring the rate and linearity of the inactivation process. Virus titres in the samples are determined by inoculation of cell cultures proven to be highly susceptible to FMDV, e.g. BHK ~~or bovine thyroid cells~~. Such cultures permit the testing of statistically meaningful samples under reproducible conditions. The  $\log_{10}$  infectivities of the timed samples are plotted against time, and the inactivation procedure is not considered to be satisfactory unless at least the latter part of the slope of the line is linear and extrapolation indicates that there would be less than one infectious particle per  $10^4$  litres of liquid preparation at the end of the inactivation period.

#### **4. Tests on the final product**

##### **b) Inactivation control**

The test for innocuity is an in-process test that should be carried out for every batch of antigen. Cells used to test for absence of residual live virus are not suitable if use of an amount of virus corresponding to 1 µg of 146S antigen gives a titre of less than 10<sup>6</sup> TCID<sub>50</sub> (European Pharmacopoeia, 2008). Following inactivation, a sample of each batch of inactivated antigen representing at least 200 doses should be tested for freedom from infectious virus by inoculation of sensitive monolayer cell cultures, preferably of the same origin as those used for the production of antigen. It may be preferable to concentrate the antigen to do this, in which case it must be shown that the concentrated material does not interfere with the sensitivity or reading of the assay. The cell sheets are examined daily over a period of 3 days, after which the spent medium is transferred to fresh monolayers and the original monolayers are replenished with fresh medium. Using this method, traces of live virus can be amplified by the passage procedure and detected on the basis of CPE observed. Two to three passages of the original virus preparation are commonly used. A variant on this method is to freeze-thaw the old monolayers to release intracellular virus, which can be detected by further passage.

#### **4. Final product batch tests**

##### **a) Sterility**

The bulk inactivated antigen, concentrated antigen and the final formulated product should undergo sterility testing. The preferred method is to collect any contaminating microorganisms by membrane filtration of the material to be examined and to detect any organisms present by incubation of the membranes with culture media. This procedure allows the removal of preservatives, etc., which may inhibit the detection of microorganisms. Guidelines on techniques and culture media, which allow the detection of a wide range of organisms, are described in the European Pharmacopoeia (2008) (also refer to Chapter 1.1.9 Tests for sterility and freedom from contamination of biological materials).

##### **b) Identity testing**

The bulk inactivated antigen, concentrated antigen and the final formulated product should undergo identity testing to demonstrate that the relevant strains are present. No other FMD virus serotype registered on the manufacturing site should be present in the vaccine, to be assured by adequate tests.

##### **c) Viral nonstructural protein testing**

Non structural proteins refer to proteins not present in the FMD viral capsid. Only products claiming to be purified from NSPs have to demonstrate their level of purification. Unless consistency of purification is demonstrated and approved in the registration dossier, and the production process is approved for consistency in accordance with the standard requirements referred to in Chapter 1.1.8 of the *Terrestrial Manual*, NSP lack of reactivity has to be demonstrated in the final product (see Section C.5. Requirements for registration of vaccine).

Confirmation of vaccine purity may be shown by testing sera from animals vaccinated at least twice with the batch for absence of antibodies to non structural proteins.

##### **d) Safety**

Unless consistent safety of the product is demonstrated and approved in the registration dossier and the production process is approved for consistency in accordance with the standard requirements referred to in Chapter 1.1.8 of the *Terrestrial Manual*, batch safety testing is to be performed.

This final product batch safety test is conducted to detect any abnormal local or systemic adverse reactions.

For the purposes of batch release, each of at least two healthy sero-negative target animals is inoculated by the recommended route of administration with the recommended dose of vaccine. The animals are observed for local and systemic reactions to vaccination for no fewer than 14 days. Any undue reaction attributable to the vaccine should be assessed and may prevent acceptance of the batch. If the potency test is performed in the target species, observation of the safety during this test can also be considered as an alternative to the batch safety test described above.

##### **e) Potency**

Potency is examined on the final formulated product, or alternatively for antigen banks on a representative batch of vaccine prepared from the same bulk inactivated antigen.

The potency testing standard is the vaccination challenge test. However, for batch release indirect tests can also be used for practicability and animal welfare considerations, as long as correlation has been validated to percentage of protection in the target animal. Frequently indirect potency tests include antibody titration after vaccination of target species. Alternative methods could be used if suitably validated.

Ideally, indirect tests are carried out for each strain for one species and each formulation of vaccine to establish correlation between the indirect test results and the vaccine efficacy.

i) *Expected percentage of protection (EPP)*

The EPP estimates the likelihood that cattle would be protected against a challenge of 10,000 infective doses after a single vaccination.

- Individual sera collected 30–60 days post-vaccination using a full dose of the vaccine are required from a group of either 16 or 30 18–24 month-old cattle.
- This panel of sera and sera of two control cattle are tested for antibody titres to the homologous FMD vaccine strain a strongly correlated LPB-ELISA (see Sections B.2.a and B.2.c).
- The antigens used in the ELISA may be inactivated using BEI.
- The EPP is determined by reference to predetermined tables of correlation between serological titres and clinical protection.
- Batches with at least 75% EPP (with 16 vaccinated cattle) or at least 70% EPP (with 30 vaccinated cattle) are satisfactory for potency.

The presence of more than one serotype in a vaccine does not diminish the induction of antibodies against another serotype or the correlation of antibody titre with protection.

ii) *Other methods for evaluating protection*

Other tests were published using different ELISA methods and VNT methods to indirectly evaluate the protection given by vaccines. Their results could be accepted only if a strong correlation with protection in relation to the vaccine strain being tested and the serological method being used has been scientifically demonstrated and published in a peer reviewed journal (Ahl *et al.*, 1990)

## **5. Requirements for registration of vaccine**

### **a) Manufacturing process**

For registration of vaccine, all relevant details concerning manufacture of the vaccine and quality control testing (see Sections C.1–4) should be submitted to the authorities. This information shall be provided from three consecutive vaccine batches with a volume not less than 1/3 of the typical industrial batch volume.

### **a)b) Safety**

~~Tests for innocuity (non infectivity) are most effectively carried out on the bulk, concentrated, inactivated viral harvest (see Sections D.3 and D.5.b, below). Although it may be possible to confirm innocuity by testing virus eluted from the vaccine, this is not universally applicable to all formulations and is not as reliable as testing concentrated antigens. For example, saponin influences greatly the elution of FMDV from aluminium hydroxide/saponin vaccines (Doel & Staple, 1982). If the elution procedure is appropriate to a particular formulation, then it may be validated by seeding parallel samples of vaccine with trace amounts of live virus (Barteling & Vreeswijk, 1991).~~

For the purposes of gaining regulatory approval, a trial batch of vaccine should be tested for local and systemic toxicity by each recommended route of administration in an *in-vivo* test in an appropriate number of eight animals of each target species cattle (European Pharmacopoeia, 2008). ~~Double~~ Single dose and repeat dose tests using vaccines formulated to contain the maximum permitted amount payload and number of antigens should be conducted. The repeat dose test should correspond to the primary vaccination schedule (e.g. two injections) plus the first revaccination (i.e. a total of three injections). The animals are observed for local and systemic reactions to vaccination for no fewer than 14 days after each injection. Any undue reaction attributable to the vaccine should be assessed and may prevent acceptance of the vaccine.

### **b)c) Potency Efficacy**

Vaccine ~~potency~~ efficacy is estimated in vaccinated animals either directly, by evaluating their resistance to live virus challenge, or indirectly, by inference from the levels of specific antibody induced by vaccination. The uncertainty of measurement in ~~these~~ this tests should be taken into account when interpreting ~~their~~ its significance (Goris *et al.*, 2007; 2008). Vaccine efficacy should be established for every strain to be authorised for use in the vaccine.

i) *PD<sub>50</sub> test:*

The number of protective doses in a vaccine is estimated from the resistance to live virus challenge of animal groups receiving different amounts of vaccine. Cattle of at least 6 months of age, obtained from areas free from FMD that have not previously been vaccinated against FMD and are free from antibodies to the different types of FMDV should be used. Three groups of no fewer than five cattle per group should be vaccinated by the route recommended by the manufacturer. The vaccine should be administered at different doses per group by injecting different volumes of the vaccine. For example, if the label states that the injection of 2 ml corresponds to the administration of 1 dose of vaccine, a 1/4 dose of vaccine would be obtained by injecting 0.5 ml, and a 1/10 dose would be obtained by injecting 0.2 ml. These animals and a control group of two non-vaccinated animals are challenged either 3 weeks (aqueous) or up to 4 weeks (oil) after vaccination with a suspension of bovine virus that is fully virulent and appropriate to the virus types in the vaccine under test by inoculating the equivalent of a total of 10,000 BID<sub>50</sub> (50% bovine infectious dose) intradermally into two sites on the upper surface of the tongue (0.1 ml per site). Animals are observed for at least 8 days. Unprotected animals show lesions at sites other than the tongue. Control animals must develop lesions on at least three feet. From the number of animals protected in each group, the PD<sub>50</sub> content of the vaccine is calculated. There are a variety of methods for calculating PD<sub>50</sub> (FAO, 1997), but procedures based on the Kärber (1931) method are generally preferred when interpreting PD<sub>50</sub> estimates calculated in this way. The vaccine should contain at least 3 PD<sub>50</sub> per dose for cattle. ~~when employed for routine prophylactic use, although 6 PD<sub>50</sub> per dose is more commonly preferred. In some cases, vaccine of high potency will prevent the development of local tongue lesions at the site of challenge.~~

ii) *PGP test (percentage of protection against generalised foot infection)*

For this method, a group of 16 FMD-seronegative cattle of at least 6 months of age, with the same characteristics described for the PD<sub>50</sub> test, are vaccinated with a bovine dose by the route and in the volume recommended by the manufacturer. These animals and a control group of two non-vaccinated animals are challenged 4 weeks or more after vaccination with the challenge strain, which is a suspension of bovine virus that is fully virulent and appropriate to the virus types in the vaccine under test by inoculating a total of 10,000 BID<sub>50</sub> intradermally into at least two sites on the upper surface of the tongue. Unprotected animals show lesions ~~at sites other than the tongue~~ on the feet within 7 days after inoculation. Control animals must develop lesions on at least three feet; for routine prophylactic use, the vaccine should protect at least 12 animals out of 16 vaccinated. Animals are observed at 7–8 days after challenge (Vianna Filho *et al.*, 1993). This test does not provide an estimate of how many protective doses are in a single vaccine dose but gives a certain measure of the protection following the injection of single commercial bovine doses of vaccine in a limited cattle population (50–60).

iii) *Efficacy in other species*

~~Potency~~ Efficacy tests in other target species, such as sheep, goats, pigs or buffalo are either different or not yet standardised. In general, a successful test in cattle is considered to be sufficient evidence of the quality of a vaccine to endorse its use in other species. Under circumstances where a vaccine is produced for use primarily in a species other than cattle, it may be more appropriate to potency test the vaccine in that same species. With respect to sheep, goats and African (*Syncerus caffer*) or Asiatic buffalo (*Bubalus bubalis*) and sheep, due to the often inapparent nature of the disease in these species, potency results from a cattle test may be a more reliable indicator of vaccine quality than attempting a potency test reliant on the detection of clinical signs in these other species.

~~A similar protocol to the cattle PD<sub>50</sub> test can be adopted for potency testing FMD vaccines in pigs using three groups of five pigs, not less than 2 months old and free from antibodies neutralising the different serotypes of FMDV. One group is vaccinated with the full pig dose recommended by the manufacturer, one group receives a reduced dose, e.g. 1/4 dose, and a third group receives a further reduced dose, e.g. 1/16 dose of the vaccine. Traditionally, the response to oil vaccine is allowed longer to develop, and not until day 28 after vaccination are the three groups, plus two unvaccinated control pigs challenged. However, depending on the formulation, this interval could be reduced to that used in the cattle test. It is important that the different dose groups are individually separated from each other during the trial and that animals are removed as soon as they appear to be developing generalised FMD to avoid excessive challenge to those remaining. Challenge is by intradermal injection into the heel bulbs of one foot with 10,000 TCID<sub>50</sub> (0.2 ml), as calculated by growth in a suitable pig cell culture, of a virulent challenge virus homologous to a strain used in the vaccine and that normally results in generalised disease in the pig. Alternatively, the challenge virus may be administered into one site in the muscular part of the neck behind the ear, using a dose of virus known to cause generalised disease by this route. The animals are observed daily for 10 days after challenge for clinical signs of FMD. Both control animals should develop clinical signs on more than one foot. From the number of animals protected in each group, the PD<sub>50</sub> content of the vaccine is calculated. There are a variety of methods for calculating PD<sub>50</sub> (FAO, 1997), including procedures based on Kärber. The vaccine should contain at least 3 PD<sub>50</sub> per dose for pigs. Likewise, a similar protocol to the PGP test in cattle can be adopted for pigs using a group of 16 animals vaccinated with a full vaccine dose and two non-vaccinated controls. Challenge is by intradermal injection into the heel bulb of one foot with 10,000 TCID<sub>50</sub> (0.2 ml) of a virulent challenge virus homologous to the strain used in the vaccine and that is known to induce clinical signs in pigs.~~

~~Indirect tests, including measurement following vaccination of virus neutralising antibodies in cell culture, or ELISA, or LP-ELISA antibodies (Maradei *et al.*, 2008; Periolo *et al.*, 1993), or serum protecting antibodies in suckling mice, may be used to assess the potency of a vaccine provided that a statistical evaluation has established a satisfactory correlation between the results obtained by the test on the relevant vaccine serotype and the potency test in cattle (Neizert *et al.*, 1991). For example, the expected percentage of protection is used to analyse the sera of a group of at least 16 vaccinated cattle and to express the probability of an animal being protected by measuring neutralising, ELISA or LP-ELISA or the serum protecting antibodies in suckling mice. In a single group of animals given a full dose of vaccine, the mean individual expected percentage protection should be equal to or greater than 75% when 16 animals are used or 70% when 30 animals are used in the experimental group.~~

~~The presence of more than one serotype in a vaccine does not diminish the induction of antibodies against another serotype or the correlation of antibody titre with protection.~~

#### **e)d) Purity: testing for antibody against nonstructural proteins**

The OIE *Terrestrial Animal Health Code* stipulates that a criterion for regaining FMD free status following an outbreak, if vaccine is used, is to test the vaccinated animals for antibody against NSP. Likewise, countries wishing to be recognised as FMD free with vaccination must demonstrate the absence of virus circulation by showing that vaccinated animals are free from antibody to NSPs arising as a result of infection. Consequently, FMD antigens used to formulate vaccines that may be used in these circumstances should be purified to reduce the NSP content. With current manufacturing techniques it is possible to exclude the majority of NSPs so that they induce little, if any, NSP-specific antibody. Under these circumstances, detection of NSP antibodies can provide evidence that vaccinated animals have been exposed to FMDV. Vaccine manufacturers may wish to exploit this potential by including a claim that their vaccines do not induce antibody to one or more NSPs and can be used in conjunction with an appropriate diagnostic test. In addition to providing supporting documentation on the processes involved in such purification, manufacturers should demonstrate lack of immunogenicity against NSPs as part of the licensing procedure in order to make such a claim on their product literature. A recommended test method that can be used is to vaccinate an appropriate number not less than 8 of calves naïve cattle, preferably with at least a double dose of a trial blend of the vaccine containing the maximum number of strains and amounts of antigen permitted on the authorisation (these calves may be the same as those used for the safety test described in Section D.4.a of this chapter). Calves Cattle should be vaccinated at least three times at 21- to 30-day intervals over a period of 3–6 months and then tested before each revaccination and 30–60 days after the last vaccination for the presence of antibody to NSPs using the tests described in Section B.2.d of this chapter. Negative results in these NSP assays support claims that the vaccine does not induce antibody to NSPs for the number of injections tested. These cattle may be the same as those used for the safety test described in Section C.5.b of this chapter

~~At the batch level, confirmation of vaccine purity can be shown by demonstrating a lack of increase in reactivity against NSPs of the sera from the animals used in the potency test obtained 30 days after primovaccination and before challenge, when compared with the sera of the same animals prior to vaccination.~~

#### **d)e) Duration of immunity**

The duration of immunity (D.O.I) of an FMD vaccine will depend on the efficacy (formulation and antigen payload). As part of the authorisation procedure the manufacturer should be required to demonstrate the D.O.I. of a given vaccine by either challenge or the use of a validated alternative test, such as serology at the end of the claimed period of protection, in compliance with Section 5.c. D.O.I. studies should be conducted in each species for which the vaccine is indicated or the manufacturer should indicate that the D.O.I. for that species is not known. Likewise, the manufacturer should demonstrate the effectiveness of the recommended booster regime in line with these guidelines, usually by measuring the magnitude and kinetics of the serological response observed.

~~In order to establish a satisfactory level of immunity It In endemic or outbreak situations, vaccine is usually to given as a primary course consisting of one or two inoculations doses of vaccine 3-4 weeks apart (based on animal population immunological status, vaccine potency, virus-vaccine matching, virus challenge levels, and other factors), 2-4 weeks apart, followed by revaccination every 4-6-12 months. The frequency of revaccination will depend on the epidemiological situation and the type and quality of vaccine used. Where access to the animals is difficult, it is preferable to use oil adjuvanted vaccine at 4 months and 1 year of age, followed by annual revaccination. Wherever possible, vaccine manufacturers should demonstrate the duration of immunity for their specific formulation in each species for which it is indicated.~~

For target animals born to vaccinated dams, vaccination should be delayed to allow decline of maternally derived antibodies. Primary vaccination of offspring to non-vaccinated dams can occur as early as 1 week of age (Auge De Mello *et al.*, 1989). Pigs from vaccinated dams are usually vaccinated at 8–10 weeks of age. Calves are usually vaccinated at about 4 months of age.

Information should be provided by manufacturers to indicate the appropriate vaccination programme(s) to minimize interference with maternally derived antibodies in target species.

For calves born of vaccinated dams, the first vaccination should be delayed as long as possible to allow decline of maternal antibody. This period should not be extended beyond 4 months, as by this age a high proportion can be expected to respond effectively to vaccination. For calves born to non-vaccinated dams, the first vaccination may be administered from as early as 1 week of age for some vaccines (Auge De Mello *et al.*, 1989).

#### e) Stability

The shelf life of conventional FMD vaccines is usually 1–2 years at 4°C (maximum range 2–8°C), but they are temperature labile and should never be frozen or stored above a target temperature of 4°C. The stability of all vaccines, but particularly including oil emulsion vaccines, should be demonstrated as part of the shelf-life determination studies for authorisation.

The shelf life of conventional FMD vaccines is usually 1–2 years at 2–8°C. Vaccines should never be frozen or stored above the target temperature.

#### f) Preservatives

The most commonly used preservatives are chloroform and merthiolate. The latter is used at a final concentration of 1/30,000 (w/v).

#### g) Precautions (hazards)

Current FMD vaccines are innocuous and present no toxic hazard to the user vaccinators. Care must be taken to avoid self-injection with oil emulsion vaccines. Manufacturers should provide adequate warnings that medical advice should be sought in case of self-injection of an oil-emulsion vaccine.

### 5. Batch control

#### a) Sterility

The bulk inactivated antigen, the adjuvants, the dilution buffers and the final formulated product should all undergo sterility testing. This may be carried out directly with components of the vaccine and the final product, but the preferred method is to collect any contaminating microorganisms by membrane filtration of the material to be examined and to detect any organisms present by incubation of the membranes with culture media. The latter procedure allows the removal of preservatives, etc., which may inhibit the detection of microorganisms. Guidelines on techniques and culture media, which allow the detection of a wide range of organisms, are described in the European Pharmacopoeia (2008) (see also refer to Chapter 1.1.9 Tests for sterility and freedom from contamination of biological materials).

#### b) Innocuity

The test for innocuity is an in-process test that should be carried out for every batch of antigen. Following inactivation, a sample of each batch of inactivated antigen representing at least 200 doses should be tested for freedom from infectious virus by inoculation of sensitive monolayer cell cultures, preferably of the same origin as those used for the production of antigen. It may be preferable to concentrate the antigen to do this, in which case it must be shown that the concentrated material does not interfere with the sensitivity or reading of the assay. The cell sheets are examined daily over a period of 3 days, after which the spent medium is transferred to fresh monolayers and the original monolayers are replenished with fresh medium. Using this method, traces of live virus can be amplified by the passage procedure and detected on the basis of CPE observed. Two to three passages of the original virus preparation are commonly used. A variant on this method is to freeze thaw the old monolayers to release intracellular virus, which can be detected by further passage.

#### e) Safety

This final product batch safety test is conducted to detect any abnormal local or systemic adverse reactions. The test may also confirm innocuity but is not as sensitive as the *in vitro* tests described above. For the purposes of batch release, each of at least two healthy seronegative cattle is inoculated by the recommended route of administration with double the recommended dose of vaccine. The animals are observed for local and systemic reactions to vaccination for no fewer than 14 days. Should any of the animals develop clinical signs of FMD, the vaccine fails the safety test. Equally, any undue toxicity attributable to the vaccine should be assessed and may prevent acceptance of the batch. Ideally, vaccines prepared for species other than cattle should also be safety tested in the species for which they are intended, administering a double dose of vaccine according to the manufacturer's recommended route and dose volume. The animals should be examined daily for a minimum of 14 days for evidence of toxicity or signs of FMD.

#### d) Potency

Potency is only examined on the final formulated product (see Section D.5.b). Antigen load can be used as an indirect indicator of potency, provided that

- i) ~~Good Manufacturing Practice ensures that the method of manufacture and formulation of the antigen/vaccine remains the same,~~
- ii) ~~A correlation has previously been established between antigen load, serological response and protection against challenge, and~~
- iii) ~~A suitable alternative test measuring the serological response to immunisation has been carried out with satisfactory results.~~

## 6. Storage and monitoring of concentrated antigens

Chapter 1.1.10 of the *Terrestrial Manual* provides guidelines for international standards for vaccine/antigen banks.

The process of storing concentrated antigens at ultra-low temperature for later formulation into FMD vaccine as described in Section C 2, is a well-established procedure for building stocks of immunogenic material ready to be formulated into vaccines in case of need, becoming an increasingly popular option for vaccine manufacture. It not only forms the basis for the storage of antigens in a strategic reserve for emergency purposes (see Chapter 1.1.40 Guidelines for International Standards for Vaccine Banks), but allows the manufacturer immediate access to many different antigen strains that can be rapidly formulated and dispatched to the customer (Lombard & Fussel, 2007). Such stockpiling minimises delays subsequent to an order, particularly where a multivalent vaccine is requested. Another advantage of this procedure is that much of the quality testing can be completed well in advance of shipment. It is necessary to state that the concentrated antigens have to be controlled using standards indicated in Sections D.1-4 C.1-4.

### a) ~~Prestorage criteria~~

~~Special attention should be paid to the following:~~

~~— freedom from extraneous agents;~~

~~antigens should be proven free from all extraneous agents listed by the appropriate licensing authorities.~~

~~— sensitivity of the cell line used to detect residual virus;~~

~~Cells used to test for absence of residual live virus are not suitable if use of an amount of virus corresponding to 1 µg of 146S antigen gives a titre of less than 10<sup>6</sup> TCID<sub>50</sub> (European Pharmacopoeia, 2008).~~

~~- emergency procedures for provisional acceptance of new MSV, and subsequent release of formulated vaccines.~~

~~In the case of incursion in a region of a new strain that is antigenically distinct from existing vaccine strains, it may be necessary to develop a new vaccine strain from a representative field isolate. Before the new MSV can be accepted, full compliance should be demonstrated with the relevant guidelines to demonstrate freedom from all extraneous agents listed by the appropriate licensing authorities using both general and specific tests, and to establish homology to the original candidate isolates. The time taken to raise the specific antisera necessary to neutralise the new strain for use in the general tests for detection of extraneous agents and to conduct other specific tests that require specialised techniques may be lengthy. Therefore, in emergency situations where there is insufficient time to complete full testing of the MSV, provisional acceptance of the new strain should be based on a risk analysis of the possibility of contamination of the antigen produced from the new MSV with extraneous agents. This risk assessment should take into account that a validated procedure to inactivate enveloped viruses must be used when establishing the MSV and that the virus is inactivated using a chemical inactivant with first order kinetics. Further assurance is provided by the requirement for the kinetics of inactivation to be monitored and recorded for each production batch.~~

~~In order to accelerate the release of batches of vaccine formulated to contain new vaccine strains, it may be acceptable for batch potency testing to be carried out using a vaccine formulated using an intermediate antigen lot pending production of all of the batches of antigen that are intended to constitute the final antigen lot. This will allow the potency of antigen derived from a new MSV to be determined whilst the manufacturer continues to build up stocks of this new antigen.~~

### b) a) Storage criteria conditions

#### • Facilities

It is important that all aspects of the storage of concentrated antigens conform fully to internationally accepted standards requirements such as those referred to in Chapter 1.1.8. of the *Terrestrial Manual*, of Good Manufacturing Practice. Housing, facilities and procedures should ensure the security of the stored antigen and prevent tampering, contamination or damage.

- **Containment of stored antigens**

The dose numbers or volumes stored are an important consideration, particularly where a reserve is shared between OIE Members and there is variation in number of doses perceived to be needed by each Member in an emergency. It may be advisable to store antigen concentrates in user friendly units to allow better use of storage space and capability in producing smaller vaccine batches. One to two litre sized containers can accommodate in excess of 30,000 bovine doses. Where the requirement is for a large stockpile of a particular vaccine strain that can only be produced from several separate production runs, vaccine bank managers must consider the need to either formulate each lot into a representative final blend for testing purposes or mixing the individual batches, at some convenient point, for ease of formulating and/or testing.

The type of container used to hold antigen concentrate is important. Under ultra-low temperature conditions it is important to use containers made from materials that do not become brittle and or fragile a good example being fluoropolymer based moulded bottles. Polyfluoro alkoxy (PFA) based bottles, for example, have at a temperature resistance range allowing for heat sterilisation and cold storage of between -270°C and +250°C.

- **Labelling of stored antigens**

The concentrated antigens do not need to be labelled according to final or finished vaccine requirements and may be labelled as "in process" materials. Although there are national and international guidelines on the required labelling of veterinary medical products, there are no such guidelines for emergency stored materials such as the antigen component of a vaccine, as these are essentially regarded in regulatory terms as 'in process' materials. Under ultra-low temperature conditions, the method of labelling must be of a durable nature. From experience, wire tagging bottles is the most preferred option using a metal/plastic tag sizeable enough to allow the necessary detail. Such detail should include the antigen/vaccine strain, batch number, date received and should also include an individual container or stock number. This information should be clear to read and marked on the tag using an indelible marker pen. Storage records and positions of containers should be carefully maintained. Aluminium metal tags have been used for such purpose and these can be obtained with different colour coatings to allow better identification and accessibility, particularly when different antigen strains are housed in the same container. Metal tags also allow information to be permanently engraved.

**b) Monitoring of stored concentrated antigens**

It is vitally important that antigen concentrates are optimally maintained and routinely monitored in order to have some assurance that they will be efficacious when needed. Therefore arrangements should be made to monitor these antigen concentrates on a routine basis and to include where necessary, and at appropriate time intervals, a testing regime to ensure integrity of the antigen component or acceptable potency of the final product. For example, Storage temperature monitoring is normally undertaken and recorded in FMD vaccine banks, as well as periodic inspection of the bottles containing the antigen for cracks or leakage. Depending on type, volume and how they are stored, there may also be value in weighing antigen deposits annually to ensure they have not lyophilised. Some FMD vaccine banks have incorporated physico-chemical tests like sucrose density gradient analyses to monitor virus integrity and hence stability and some have also carried out *in vivo* tests. However, as it has been shown that the shelf life of FMD antigen concentrates are likely to be well in excess of 15 years when stored at ultra-low temperature, a physico-chemical approach would appear sufficient (Barnett & Statham, 1990).

146S quantification, vaccination serology or vaccination challenge studies can be used for monitoring FMD antigen banks (Barnett & Statham, 1990; Doel *et al.*, 1982; Doel & Pullen, 1990; Bartelling & Meloen, 1974; Fayet *et al.*, 1971). It is recommended to carry out these tests on receipt (year 0) and every 5 years thereafter.

The following timetable of tests is proposed as suitable for validation and revalidation of stored antigens.

Time	Test
On receipt (year 0) and every 5 years thereafter	146S quantification Potency test in cattle that may rely on serological techniques where potency has been adequately correlated with immunogenicity for the antigen concerned or, at the discretion of the bank holder, may be a 'truncated' test** to demonstrate that the minimum potency of the vaccine remains greater than the minimum requirement; however, truncation may underestimate vaccine potency
Years 2 and 4, and Immediately before formulation if the need arises	146S quantification
Every 5 years	Evaluation of all data for the preceding 5 years to assess need to replace antigen

\*— Other physicochemical tests such as SDS-PAGE have been used to evaluate integrity of VP1 but are not sufficiently validated for routine use.

\*\*— In a truncated test all animals in the next lower volume group are assumed to have not been protected. The test therefore gives an artificially low PD<sub>50</sub> value but reduces the number of animals required.

To support these testing requirements for depositories of antigen, concentrates should include a number of small samples that are representative of the larger stock. Small aliquots/stocks of FMD antigen have usually consisted of a volume representing approximately one milligram of antigen. These aliquots should be stored side by side with the bulk antigen.

## 7. Emergency release of vaccines prepared from concentrated antigens

In situations of extreme urgency and subject to agreement by the competent authority, a batch of vaccine may be released before completion of the tests and the determination of potency if a test for sterility has been carried out on the bulk inactivated antigen and all other components of the vaccine and if the test for safety and the determination of potency have been carried out on a representative batch of vaccine prepared from the same bulk inactivated antigen. In this context, a batch is not considered to be representative unless it has been prepared with not more than the amount of antigen or antigens and with the same formulation as the batch to be released (European Pharmacopoeia, 2008).

## D C. VACCINE MATCHING TESTS

### **1. Introduction**

~~The selection of vaccine strains has been reviewed (Paton *et al.*, 2005).~~

Appropriate vaccine strain selection is an important element in the control of FMD and is necessary for the application of vaccination programmes in FMD-affected regions as well as for the establishment and maintenance of vaccine antigen reserves to be used in the event of new FMD incursions.

Vaccination against one serotype of FMDV does not cross-protect against other serotypes and may also fail to protect fully or at all against other strains of the same serotype. The most direct and reliable method to measure cross-protection is to vaccinate relevant target species and then to challenge them by exposure to the virus isolate against which protection is required. This will take account of both potency and cross-reactivity.

However, such an approach requires the use of live FMDV and appropriate biosecurity procedures and practices must be used. The facility should meet the requirements for Containment Group 4 pathogens as outlined in Chapter 1.1.2 of this *Terrestrial Manual*. In addition to the safety concerns, this procedure is slow and expensive and requires specific expertise that is best available in OIE Reference laboratories. The use of animals for such studies should be avoided where possible by the use of *in vitro* alternatives.

A variety of *in vitro* serological methods can be used to quantify antigenic differences between FMDV strains and thereby estimate the likely cross-protection between a vaccine strain and a field isolate. Genetic characterisation and antigenic profiling can also reveal the emergence of new strains for which vaccine matching may be required and, conversely, may indicate that an isolate is similar to one for which vaccine matching information is already available. Such tests should be carried out in laboratories that work according to the standard specified in Chapters 1.1.2 and 1.1.3 of the *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*, preferably OIE Reference Laboratories for FMD.

Shipping of samples should be in accordance with Chapter 1.1.2 Sections H and I and Chapter 1.1.1 of this *Terrestrial Manual*.

~~Appropriate vaccine strain selection is an important element in the control of FMD and is necessary for the application of vaccination programmes in FMD-affected regions as well as for the establishment and maintenance of vaccine antigen reserves to be used in the event of new FMD incursions.~~

Vaccine potency also contributes to the range of antigenic cover provided by a vaccine. A highly potent vaccine that stimulates a strong immune response may give greater protection against a heterologous virus than an equally cross-reactive vaccine that stimulates a weaker immune response (Brehm *et al.*, 2008). Furthermore, booster doses of vaccine can increase efficacy and the subsequent breadth of antigenic cover provided by a given vaccine, although the onset of full protection may be delayed (Pay, 1984).

### **2. Selection of field viruses for vaccine matching**

For vaccine matching, preferably, more than one representative isolate should be evaluated from any outbreak.

Viruses should be selected based on epidemiological information, for instance isolation at different stages of an outbreak, from different geographical locations, or from different hosts (Alonso *et al.*, 1987). Field evidence for a suspected lack of vaccine efficacy, as shown by reduced apparent protection, is an important criterion for vaccine matching.

The serotype of the field isolate is usually determined by ELISA or CFT using type-specific serological reagents, although methods based on MAbs or genetic typing may also be used. If the number of viruses exceeds the capacity of the laboratory to carry out methods described in Section D.4-Vaccine matching tests, a pre-selection of isolates should be done.

In order to minimise the risk of missing a relevant sample, the pre-selection should be carried out using all the isolates received by the laboratory. The recommended approach is to engage in serological validated antigenic profiling methods using ELISA. The performance of VP1 sequencing could be used to verify the homogeneity of the virus isolate population.

Only isolates showing Important differences with vaccine strains are selected for vaccine matching tests.

~~Serological matching of field isolates to vaccine strains requires that isolates have been serotyped and adapted to growth in cell cultures. The serotype is usually determined by ELISA or CFT using type-specific serological reagents, although methods based on MAbs or genetic typing may also be used. BHK or IB-RS 2 cell cultures are usually used for *in vitro* virus replication. For vaccine matching, preferably, at least two isolates should be evaluated from any outbreak and inconsistent results should be followed up to determine whether this is due to genuine antigenic differences or is an artefact of testing.~~

~~Viruses can be selected based on epidemiological information, for instance isolation at different stages of an epidemic, from different geographical locations or from different hosts (Alonso *et al.*, 1987). Field evidence for a suspected lack of vaccine efficacy, as shown by reduced apparent protection, is an important criterion for vaccine matching.~~

~~Antigenic profiling by CFT or ELISA, or sequence analysis of the VP1 gene, are suitable approaches for selecting representative virus isolates for vaccine matching. Antigenic profiling is performed by CFT using panels of hyperimmune guinea pig sera raised against epidemiologically relevant field isolates (Bergmann *et al.*, 1988) or by ELISA using panels of well-characterised MAbs (Alonso *et al.*, 1993).~~

### 3. Selection of vaccine strains to be matched

~~The serotype of the virus, the region of origin and any information on the characteristics of the field isolate and, as appropriate, the vaccine strain used in the region of origin, may give indications as to the vaccine strains to be selected for vaccine matching tests most likely to provide an antigenic match. The availability of reagents for matching to particular vaccine strains may limit the extent of testing that is possible. Antigenic characterisation has two purposes; first, to choose the most effective vaccine strain for use in a particular circumstance and, second, to monitor, on an ongoing basis, the suitability of vaccine strains maintained in strategic antigen reserves.~~

### 4. Choice of Vaccine matching test

~~The serological relationship between a field isolate and a vaccine virus ('r' value) can be determined by CFT, VNT or ELISA (Kitching *et al.*, 1988; Mattion *et al.*, 2009; Pereira, 1977; Rweyemamu *et al.*, 1978). One way testing is recommended ( $r_1$ ) with a vaccine antiserum, rather than two way testing ( $r_2$ ), which also requires an antiserum against the field isolate to be matched. VNT using chequer-board titration method will give more accuracy to the results obtained. ~~Because of the inherently low repeatability of the assays used, tests need to be repeated to have confidence in the results (Rweyemamu *et al.*, 1978). *In-vitro* neutralisation may be more relevant to predict *in-vivo* protection by the vaccine than other measures of virus-antibody interaction, although non neutralising antibodies may also contribute to protection (McCullough *et al.*, 1992). Advantages of ELISA are that the test is rapid and uses smaller volumes of post-vaccination sera, which are often available in only limited quantities. ELISA and CFT are recommended to be used as screening methods,~~~~

VNT is the method of choice (Mattion *et al.*, 2009) compared with ELISA which can be used only as screening method for vaccine matching.

~~Whereas VNT or the expected percentage of protection (EPP) method provides more definitive results. For either VNT or ELISA, post-vaccination sera should be derived from at least five cattle 21–30 days after immunisation inoculation. The titre of antibody to the vaccine strain is established for each serum. Sera are used individually or pooled, after excluding low responders. The CFT method uses guinea pig sera raised against vaccine strains.~~

A more thorough evaluation is provided by the EPP method (Alonso *et al.*, 1987), which measures the reactivity of a panel of post-vaccination antisera using either VNT or ELISA and relates the serological titres to the probability of protection, established through correlation tables associating antibody titres with protection against the relevant vaccine strain. These correlation tables derive from previously performed vaccine-specific challenge tests. However, the requirement for a panel of antisera and accompanying challenge test data for the vaccine in question currently cannot be met for a wide range of vaccine strains.

#### a) Vaccine matching by ELISA

This test uses an antiserum raised against a vaccine strain. The blocking ELISA titres of this reference serum against antigens prepared from the homologous vaccine strain are compared with the corresponding titres of the serum against a field isolate to determine how antigenically 'similar' the field virus is to the vaccine virus.

The test procedure is similar to that of the liquid-phase blocking ELISA (see Section B.2.c). Additional biological reagents are: 21-30 day post-vaccination bovine vaccine sera (inactivated at 56°C for 45-60 minutes); the homologous vaccine strain; and the test virus, a field isolate of the same serotype as the vaccine strain.

##### • Test procedure

- i) Grow the field isolate and the vaccine strain in BHK or IB-RS-2 cells. The number of cell culture passages should be kept to a minimum (normally less than four) to avoid selection of antigenic variants unrepresentative of those in the original material. A sufficient quantity of virus should be present if cell cultures show CPE within 24 hours of inoculation.
- ii) Harvest and titrate the vaccine and field viruses using a panel of trapping rabbit antisera and detector guinea-pig antisera raised against the same or closely related vaccine strains. If necessary, the virus antigens may be inactivated prior to use using binary ethyleneimine (BEI).
- iii) Select the optimum trapper/detector combination and the working dilution of the field virus. This should not be less than 1/6. If there is no suitable trapper/detector combination then a back-titration of the antigen stock must be performed to confirm that sufficient virus is present. If it is confirmed that the field virus is present at high titre, this indicates that none of the available vaccine strains is suitable.
- iv) Titrate 21-30 day post-vaccination serum of a chosen vaccine strain against the field isolate and the homologous vaccine strain. The titre against the vaccine strain should not fluctuate more than twofold either side of the running mean value for the virus stock.
- v) To determine the serum titre, calculate the average optical density (OD) of 24 antigen control wells without blocking serum. This represents the maximum OD value for the test, i.e. the 100% control value. Divide this by 2 to determine the 50% inhibition value. Score wells with blocking serum positive if the OD is less than or equal to 50% and negative if the OD value is greater than this. The end point is defined as the dilution at which half of the wells show 50% inhibition or more (i.e. identify the dilution at which one out of the two duplicate wells has an OD less than 50% of the antigen control). If the end point falls between two dilutions, it is taken as the mid-point between these dilutions as estimated by the Spearman-Kärber method.

Derive the 'r' value, the relationship between the field and the vaccine strain, as:

$$r_1 = \frac{\text{reciprocal arithmetic titre of reference serum against field virus}}{\text{reciprocal arithmetic titre of reference serum against vaccine virus}}$$

At least two consistent results are needed for acceptance.

- vi) *Interpretation of the results:* for  $r_1$  values derived by ELISA the following guidelines are used for interpretation (Ferris & Donaldson, 1992):

0.4-1.0: Close relationship between field isolate and vaccine strain. A potent vaccine containing the vaccine strain is likely to confer protection.

0.2-0.39: The field isolate is antigenically related to the vaccine strain. The vaccine strain might be suitable for use if no closer match can be found provided that a potent vaccine is used and animals are preferably immunised more than once.

<0.2: The field isolate is only distantly related to the vaccine strain and the vaccine strain is unlikely to protect against challenge with the field isolate.

**a) Relationship between the field isolate and the vaccine strain**

The recommended standard test is the VNT. The ELISA can be used as a screening method.

**ⓑ) Vaccine matching by two-dimensional (chequerboard) neutralisation test**

This test uses antiserum raised against a vaccine strain. The titres of this serum against 100 TCID<sub>50</sub> of the homologous vaccine strain and the same dose of a field isolate are compared to determine how antigenically 'similar' the field virus is to the vaccine strain.

~~The procedure is similar to that of the microtitre plate VNT (see Section B.2.a). Additional biological reagents are: 21–30 day post-vaccination bovine vaccine sera (inactivated at 56°C for 45–60 minutes); the homologous vaccine strain; and the test virus, a field isolate of the same serotype as the vaccine strain.~~

**• Test procedure**

The procedure is similar to that of the VNT (see Section B.2.a).

Additional biological reagents are: monovalent 21–30 day post-vaccination bovine sera (inactivated at 56°C for 45–60 minutes), the homologous vaccine strain; and the test virus, a field isolate of the same serotype as the vaccine strain.

- i) a) Field isolates are passaged on cell cultures until adapted to give 100% CPE in 24 hours. Passages should be kept to a minimum. When adapted, determine the virus titre ( $\log_{10}$  TCID<sub>50</sub>/ml) by end-point titration.
- ii) b) For each test and vaccine virus a chequerboard titration is performed of virus against vaccine serum along with a back-titration of virus. Cells are added and incubated at 37°C for 48–72 hours after which time CPE is assessed.
- iii) c) Antibody titres of the vaccine serum against the vaccine strain and field isolate for each virus dose used are calculated using the Spearman–Kärber method. The titre of the vaccine serum against 100 TCID<sub>50</sub> of each virus can then be estimated by regression. The relationship between the field isolate and the vaccine strain is then expressed as an 'r' value as ~~for vaccine matching by ELISA:~~

$$r_1 = \frac{\text{reciprocal arithmetic titre of reference serum against field virus}}{\text{reciprocal arithmetic titre of reference serum against vaccine virus}}$$

**iv) • Interpretation**

~~Interpretation of the results: in the case of neutralisation~~ It is generally accepted that in the case of neutralisation,  $r_1$  values greater than 0.3 indicate that the field isolate is sufficiently similar to the vaccine strain that use of a vaccine based on this strain is likely to confer protection against challenge with the field isolate (Rweyemamu, 1984).

Conversely, values less than 0.3 suggest that the field isolate is sufficiently different from the vaccine strains tested that a vaccine based on these strains is less likely to protect. In this case, either the field isolate should be examined against other vaccine strains or the field isolate could be tested against existing vaccines in a heterologous cross protection challenge test. Alternatively, a suitable field isolate could be adapted to become a new vaccine strain.

↯ Tests should always be repeated more than once. The confidence with which 'r' values can be taken to indicate differences between strains is related to the number of times that the examination is repeated (Rweyemamu & Hingley, 1984). In practice, a minimum of at least three repetitions is advised.

**ii) Vaccine matching by ELISA**

The use of the Liquid-phase blocking ELISA for vaccine matching has been reported (Ferris & Donaldson, 1992).

**b) Testing the fitness for purpose of a vaccine**

Only when the r-value suggests an insufficient match of a certain vaccine strain, the suitability of a vaccine based on such a vaccine strain could be demonstrated by a heterologous cross-protection challenge test carried out as described in Section C.4.b. in animals vaccinated with a known vaccine and challenged with the (heterologous) field virus. If the r value is under 0.3, the following differences in the previously described test are recommended respecting the instructions for vaccination. Vaccinate at least seven cattle without FMD antibodies, with a commercial dose of the current vaccine to be used in the region. Between 28 to 30 days later, boost all these

animals with a second commercial dose in the same conditions and vaccinate a second group of at least 7 animals with the same vaccine dosage and same route. 30 days later, challenge the two groups plus two control animals (not vaccinated) with the equivalent of a total of 10,000 BID 50% (50% bovine infective dose) of the new field strain duly titrated. The results are valid if each of the two control animal shows podal lesions. Final results are reported either as the number of protected animals (without podal lesion) over the total number of animal per group, or by percentage of protection where 100% is the total number of animals used per group. If results in the group of once vaccinated cattle indicate a protection level under 75%, and in the group of twice vaccinated cattle, protection under 100%, the change for a more appropriate vaccine strain is recommended (Henderson, 1949).

The use of the Expected Percentage of Protection (EPP) method (Alonso *et al.*, 1987) is not recommended under heterologous conditions. This method measures the reactivity of a panel of post-vaccination antisera using either VNT or ELISA and relates the serological titres to the probability of protection, established through correlation tables associating antibody titres with protection against the homologous vaccine strain. Consequently the correlation from the panels of antisera and accompanying challenge tests cannot be extrapolated to any other strain (Robiolo *et al.*, 2010).

#### e) ~~Vaccine matching by complement fixation test~~

~~The relationship between a field isolate and a vaccine strain can also be determined by CFT using a guinea pig antiserum raised against the relevant vaccine strain.~~

~~CFT 50% titres of this reference serum against antigens prepared from the homologous vaccine strain and a field isolate are compared to determine how antigenically 'similar' the field virus is to the homologous vaccine virus.~~

- ~~i) Field isolates are passaged on cell cultures until adapted to give 100% CPE in 24 hours. Passages should be kept to a minimum. When adapted, the virus titre that fixes 2.5 CFU<sub>50</sub> (50% complement fixing units) is determined.~~
- ~~ii) A relationship is established by titration of the guinea pig antisera through a twofold dilution series against 2.5 CFU<sub>50</sub> of the homologous and heterologous antigens in veronal buffer diluent (VBD) or borate saline solution (BSS) placed in separate tubes. Four haemolysis units of complement are then added to each reaction.~~
- ~~iii) The test system is incubated at 37°C for 30 minutes prior to the addition of 2% of standardised sheep red blood cells (SRBC) in VBD or BSS sensitised with rabbit anti SRBC. Reagents are incubated at 37°C for a further 30 minutes and the tubes are subsequently centrifuged and read.~~
- ~~iv) The CFT 50% titres are calculated by the Spearman-Kärber method and an 'r' value is derived from the relationship between the reactivity of the field isolate and the vaccine strain, as:~~

$$r_1 = \frac{\text{reciprocal arithmetic titre of hyperimmune serum against field virus}}{\text{reciprocal arithmetic titre of hyperimmune serum against vaccine virus}}$$

- ~~v) *Interpretation of the results:* in the case of CFT,  $r_1$  values greater than 0.25 indicate that the field isolate is sufficiently similar to the vaccine strain and that use of the vaccine is likely to confer protection against challenge with the field strain (2).~~

#### d) ~~Expected percentage of protection~~

~~The EPP estimates the likelihood that cattle would be protected against a challenge of 10,000 infective doses after a single or boosted vaccination.~~

- ~~i) Individual sera are required from 16 or 30 18-24 month old cattle at 30 days post vaccination and 30 days post revaccination, using a full dose of the vaccine strain to be matched.~~
- ~~ii) This panel of sera is tested for antibody titres to the homologous FMD vaccine strain and the field isolate to be matched using VNT or LPB-ELISA (see Sections B.2.a and B.2.c).~~
- ~~iii) If necessary, the antigens used in the ELISA may be inactivated prior to using BEI.~~
- ~~iv) The EPP is determined from the serological titre obtained, for each individual serum, by reference to predetermined tables of correlation between serological titres and clinical protection. The mean EPP is then calculated from the EPP for each individual serum.~~
- ~~v) The clinical protection data are derived from previously performed experiments carried out on hundreds of cattle that have been immunised using the vaccine strain in question and challenged with a homologous virus (similar to the PGP potency tests described in Section D.4.b). Each animal is scored as protected or not, and tables of correlation based on logistic regression models are established between antibody titre and clinical protection.~~

- vi) ~~An EPP <75% (when sera from a group of 16 revaccinated animals are used) and <70% (when sera from a group of 30 revaccinated animals are used) is an indication that the vaccines will give a low protection against the field strain (56).~~

## REFERENCES

1. ADAMOWICZ PH., LEGRAND B., GUERCHE J. & PRUNET P. (1974). Un nouveau procedé de concentration et de purification du virus. Application du virus de la fièvre aphteuse produit sur cellules BHK21 pour l'obtention des vaccins hautement purifiés. *Bull. OIE*, **81**, 1125–1150.
83. AHL R., HAAS B., LORENZ R.J. & WITTMANN G. (1990). Alternative potency test of FMD vaccines and results of comparative antibody assays in different cell systems and ELISA. Session of the Research Group of the Standing Technical Committee. European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease, 51–60. Lindholm, Denmark. FAO, Rome.
2. ~~ALONSO F.A. (1986). Manual de Diagnostico de Laboratorio de las Enfermedades Vesiculares, Panaftosa.~~
3. ALONSO F.A., CASAS OLASCOAGA R.C., ASTUDILLO V.M., SONDAHL M.S., GOMES I. & VIANNA FILHO Y.L. (1987). Updating of foot-and-mouth disease virus strains of epidemiological importance in South America. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, **53**, 11–18.
4. ALONSO A., GOMES M.D., RAMALHO A.K., ALLENDE R., BARAHONA H., SONDAHL M. & OSÓRIO F. (1993). Characterization of foot-and-mouth disease virus by monoclonal antibodies. *Viral Immunol.*, **6** (3), 219–228.
5. ALONSO A., MARTINS M.A., GOMES D.M.P., ALLENDE R. & SONDAHL M.S. (1992). Foot-and-mouth disease virus typing by complement fixation and enzyme-linked immunosorbent assay using monovalent and polyvalent antisera. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **4**, 249–253.
6. AUGE DE MELLO P., GOMES I. & BAHNEMANN H.G. (1989). The vaccination of young cattle with an oil adjuvant foot-and-mouth disease vaccine. *Bol. Centr. Panam. Fiebre Aftosa*, **55**, 3–14.
7. BAHNEMANN H.G. (1975). Binary ethyleneimine as an inactivant for foot-and-mouth disease virus and its application for vaccine production. *Arch. Virol.*, **47**, 47–56.
8. BAHNEMANN H.G. (1990). Inactivation of viral antigens for vaccine preparation with particular reference to the application of binary ethyleneimine. *Vaccine*, **8**, 299–303.
9. BARNETT P.V., PULLEN L., WILLIAMS L. & DOEL T.R. (1996). International bank for foot-and-mouth disease vaccine: assessment of Montanide ISA 25 and ISA 206, two commercially available oil adjuvants. *Vaccine*, **14**, 1187–1198.
10. BARNETT P.V. & STATHAM R.J. (1990). Long-term stability and potency of antigen concentrates held by the International Vaccine Bank. Report, Session of the Research Group of the Standing Technical Committee of the European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease and the Foot-and-Mouth Disease Subgroup of the Scientific Veterinary Committee of the Commission of the European Community, United Kingdom (1998), Appendix 38, pages 272–275.
82. BARTELLING S.J. & MELOEN R.H. (1974). A simple method for quantification of 140S particules of foot and mouth disease virus. *Archiv. Für die gesamte Virusforschung*, **45**, 362.
11. BARTELING S.Z. & VREESWIJK Z. (1991). Developments in foot-and-mouth disease vaccines. *Vaccine*, **9**, 75–88.
12. BERGMANN I.E., MALIRAT V., NEIZERT E., PANIZUTTI N., SANCHEZ C. & FALCZUK A. (2000). Improvement of serodiagnostic strategy for foot and mouth disease virus surveillance in cattle under systematic vaccination: a combined system of an indirect ELISA-3ABC with an enzyme-linked immunoelectrotransfer blot. *Arch. Virol.*, **145**, 473–489.
13. BERGMANN I.E., NEIZERT E., MALIRAT V., ORTIZ S., COLLING A., SANCHEZ C. & CORREA MELO E. (2003). Rapid serological profiling by enzyme-linked immunosorbent assay and its use as an epidemiological indicator of foot-and-mouth disease viral activity. *Arch. Virol.*, **148**, 891–901.
14. ~~BERGMANN I.E., TIRABOSCHI B., MAZZUCA G., FERNANDEZ E., MICHAILHOFF C.A., SCODELER E. & LA TORRE J.L. (1988). Serological and biochemical analysis of foot-and-mouth disease virus (serotype C3) isolated in Argentina between 1981 and 1986. *Vaccine*, **6**, 245.~~
78. BREHM K.E., KUMAR N., THULKE H.-H. & HAAS B. (2008). High potency vaccines induce protection against heterologous challenge with foot-and-mouth disease virus. *Vaccine*, **26** (13), 1681–1687.

15. BROCCHI E., BERGMANN I.E., DEKKER A., PATON D.J., SAMMIN D.J., GREINER M., GRAZIOLI S., DE SIMONE F., YADIN H., HAAS B., BULUT N., MALIRAT V., NEITZERT E., GORIS N., PARIDA S., SORENSEN K. & DE CLERCQ K. (2006). Comparative evaluation of six ELISAs for the detection of antibodies to the non-structural proteins of foot-and-mouth disease virus. *Vaccine* **24**, 6966-79.
16. BROCCHI E., DE SIMONE F., BUGNETTI M., GAMBA D. & CAPUCCI L. (1990). Application of a monoclonal antibody-based competition ELISA to the measurement of anti-FMDV antibodies in animal sera. Report, Session of the Research Group of the Standing Technical Committee of the European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease, Lindholm, Denmark, 24–25 June, 1990, Appendix 14.
17. CALLAHAN J.D., BROWN F., CSORIO F.A., SUR J.H., KRAMER E., LONG G.W., LUBROTH J., ELLIS S.J., SHOULARS K.S., GAFFNEY K.L., ROCK D.L. & NELSON W.M. (2002). Use of a portable real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction assay for rapid detection of foot-and-mouth disease virus *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **220** (11), 1636–1642.
18. CAMPOS R. M., MALIRAT, V., NEITZERT, E., GRAZIOLI, S., BROCCHI, E., SANCHEZ, C., FALCZUK, A.J., ORTIZ, S., REBELLO, M.A. & BERGMANN, I.E. (2008) *J. Virol. Methods* **151**, 15-23
19. CHENARD G., MIEDEMA K., MOONEN P., SCHRIJVER R.S. & DEKKER A. (2003). A solid-phase blocking ELISA for detection of type O foot-and-mouth disease virus antibodies suitable for mass serology *J. Virol. Methods*, **107**, 89–98.
20. COTTAM E.M., WADSWORTH J., SHAW A.E., ROWLANDS R.J., GOATLEY L., MAAN S., MAAN N.S., MERTENS P.P.C., EBERT K., LI Y., RYAN E.D., JULEFF N., FERRIS N.P., WILESMITH J.W., HAYDON D.T., KING D.P., PATON D.J. & KNOWLES N.J. (2008). Transmission pathways of foot-and-mouth disease virus in the United Kingdom in 2007. *PLoS Pathog.*, **4**, 1–8.
21. DE DIEGO M., BROCCHI E., MACKAY D. & DE SIMONE F. (1997). The use of the non-structural polyprotein 3ABC of FMD virus as a diagnostic antigen in ELISA to differentiate infected from vaccinated cattle. *Arch. Virol.*, **142**, 2021–2033.
- ~~22. DOEL T.R. & BACCARINI P.J. (1981). Thermal stability of FMDV. *Arch. Virol.*, **70**, 21–32.~~
- ~~23. DOEL T.R. & COLLEN T. (1982). Qualitative assessment of 146S particles of FMDV in preparations destined for vaccines. *J. Biol. Stand.*, **10**, 69–81.~~
- ~~24. DOEL T.R., FLETTON B. & STAPLE R.F. (1982). Further developments in the quantification of small RNA viruses by UV photometry of sucrose density gradients. *Dev. Biol. Stand.*, **50**, 209–219.~~
25. DOEL T.R. & PULLEN L. (1990). International bank for foot-and-mouth disease vaccines: stability studies with virus concentrates and vaccines prepared from them. *Vaccine*, **8**, 473–478.
- ~~26. DOEL T.R. & STAPLE R.F. (1982). The elution of FMDV from vaccines adjuvanted with aluminium hydroxide and with saponin. *J. Biol. Stand.*, **10**, 185–195.~~
27. DOEL T.R., WILLIAMS L. & BARNETT P.V. (1994). Emergency vaccination against foot-and-mouth disease. The rate of development of immunity and its implications for the carrier state. *Vaccine*, **12**, 592–600.
28. EUROPEAN PHARMACOPOEIA (2008). Version 6.4 7.2. Monograph No. 63. Editions of the Council of Europe, Strasbourg, France.
- ~~81. FAYET M.T., FARGEAUD D., LOUISOT P., STELLMANN C. & ROUMIANTZEFF M. (1971). Mesures physico-chimiques des particules 140S du virus de la fièvre aphteuse. *Ann. Inst. Pasteur*, **121**, 107–118.~~
29. FERRIS N.P. & DAWSON M. (1988). Routine application of enzyme-linked immunosorbent assay in comparison with complement fixation for the diagnosis of foot-and-mouth and swine vesicular disease. *Vet. Microbiol.*, **16**, 201–209.
30. FERRIS N.P. & DONALDSON A.I. (1992). The World Reference Laboratory for Foot and Mouth Disease: a review of thirty-three years of activity (1958–1991). *Rev. sci. tech. Off. int. epiz.*, **11** (3), 657–684.
31. FERRIS N.P., NORDENGRAHN A., HUTCHINGS G.H., REID S.M., KING D.P., EBERT K., PATON D.J., KRISTERSSON T., BROCCHI E., GRAZIOLI S. & MERZA M. (2009). Development and laboratory validation of a lateral flow device for the detection of foot-and-mouth disease virus in clinical samples. *J. Virol. Methods*, **155** (1), 10–17.
32. FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO) (1984). Emerging Diseases of Livestock. Vol. 1. The Diseases and their Diagnosis, Geering W.A., ed. FAO, Rome, Italy, 43–51.

33. FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO) (1997). Potency assessment of inactivated viral vaccines. *In: FAO Animal Production and Health Series No 35. Vaccine Manual. The Production and Quality Control of Veterinary Vaccines for use in Developing Countries*, Mowat N. & Rweyemamu M., eds. FAO, Rome, Italy, 395–409.
34. GOLDING S.M., HEDGER R.S., TALBOT P. & WATSON J. (1976). Radial immunodiffusions and serum neutralisation techniques for the assay of antibodies to swine vesicular disease. *Res. Vet. Sci.*, **20**, 142–147.
35. GORIS N. & DE CLERCQ K. (2005). Quality assurance/quality control of foot and mouth disease solid phase competition enzyme-linked immunosorbent assay – Part I. Quality assurance: development of secondary and working standards. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, **24** (3), 995–1004.
36. GORIS N. & DE CLERCQ K. (2005). Quality assurance/quality control of foot and mouth disease solid phase competition enzyme-linked immunosorbent assay – Part II. Quality control: comparison of two charting methods to monitor assay performance. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, **24** (3), 1005–1016.
37. GORIS N., MARADEI E., D'ALOIA R., FONDEVILA N., MATTION N., PEREZ A., SMITSAART E., NAUWYNCK H.J., LA TORRE J., PALMA E. & DE CLERCQ K. (2008). Foot-and-mouth disease vaccine potency testing in cattle using homologous and heterologous challenge strains: precision of the “Protection against Podal Generalisation” test. *Vaccine*, **26**, 3432–3437.
38. GORIS N., MERKELBACH-PETERS P., DIEV V.I., VERLOO D., ZAKHAROV V.M., KRAFT H.P. & DE CLERCQ K. (2007). European Pharmacopoeia foot-and-mouth disease vaccine potency testing in cattle: between test variability and its consequences. *Vaccine*, **25**, 3373–3379.
39. HAMBLIN C., BARNETT I.T.R. & HEDGER R.S. (1986). A new enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus. I. Development and method of ELISA. *J. Immunol. Methods*, **93**, 115–121.
40. HAMBLIN C., KITCHING R.P., DONALDSON A.I., CROWTHER J.R. & BARNETT I.T.R. (1987). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus. 3. Evaluation of antibodies after infection and vaccination. *Epidemiol. Infect.*, **99**, 733–744.
79. HENDERSON W. M. (1949). The quantitative study of foot and mouth disease virus. Agric. Res. Council Report Ser.n°8, HMSO, London, UK, page 5.
41. HERBERT W.J. (1965). Multiple emulsions. A new form of mineral-oil antigen adjuvant. *Lancet*, **II**, 771.
42. JULEFF N, WINDSOR M, REID E, SEAGO J, ZHANG Z, MONAGHAN P, MORRISON IW, CHARLESTON B (2008) Foot-and-mouth disease virus persists in the light zone of germinal centres (PLoS ONE 3, e3434)
43. KÄRBER G. (1931). Beitrag zur kollektiven behandlung pharmakologischer reihenversuche. *Archiv für Experimentelle Pathologie Pharmakologie*, **162**, 480–483.
44. KITCHING R.P. & DONALDSON A.I. (1987). Collection and transportation of specimens for vesicular virus investigation. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, **6**, 263–272.
45. KITCHING R.P., RENDLE R. & FERRIS N.P. (1988). Rapid correlation between field isolates and vaccine strains of foot-and-mouth disease virus. *Vaccine*, **6**, 403–408.
46. KNOWLES N.J. & SAMUEL A.R. (2003). Molecular epidemiology of foot-and-mouth disease virus. *Virus Res.*, **91** (1), 65–80.
47. LARSKA M., WERNERY U., KINNE J., SCHUSTER R., ALEXANDERSEN G. & ALEXANDERSEN S. (2008). Differences in the susceptibility of dromedary and Bactrian camels to foot-and-mouth disease virus. *Epidemiol. Infect.*, 2008 Aug 8, 1–6. [Epub ahead of print].
80. LOMBARD M. & FUESSEL A.E. (2007). Antigen and vaccine banks: technical requirements and the role of the European antigen bank in emergency foot and mouth disease vaccination. Rev. sci. tech. Off.int. Epiz., 26 (1), 117–134.
48. MACKAY D.K., BULUT A.N., RENDLE T., DAVIDSON F. & FERRIS N.P. (2001). A solid-phase competition ELISA for measuring antibody to foot-and-mouth disease virus. *J. Virol. Methods*, **97** (1–2), 33–48.
49. MACKAY D.K.J, FORSYTH M.A., DAVIES P.R., BERLINZANI, A., BELSHAM G.J., FLINT M. & RYAN M.D. (1997). Differentiating infection from vaccination in foot-and-mouth disease using a panel of recombinant, non-structural proteins in ELISA. *Vaccine*, **16**, 446–459.
50. MARADEI E, LA TORRE J, ROBIOLO B, ESTEVES J, SEKI C, PEDEMONTE A, IGLESIAS M, D'ALOIA R, MATTION N. (2008). Updating of the correlation between IpELISA titers and protection from virus challenge for the assessment of the potency of polyvalent aphthovirus vaccines in Argentina. *Vaccine*. 26(51), 6577-6586.

51. MATTION N, GORIS N, WILLEMS T, ROBILOLO B, MARADEI E, BEASCOECHEA CP, PEREZ A, SMITSAART E, FONDEVILA N, PALMA E, DE CLERCQ K, LA TORRE J. (2008 2009). Some guidelines for determining foot-and-mouth disease vaccine strain matching by serology. *Vaccine*. 27, 741-747 2008 Nov 25. [Epub ahead of print]
- ~~52. McCULLOUGH K.C., DE SIMONE F., BROCCHI E., CAPUCCI L., CROWTHER J.R. & KIHIM U. (1992). Protective immune response against foot and mouth disease. *J. Virol.*, **66** (4), 1835–1840.~~
53. MINISTRY OF AGRICULTURE, FISHERIES AND FOOD (1986). Foot-and-mouth disease. Ageing of lesions. Her Majesty's Stationery Office, London, UK.
54. NEIZERT E., BECK E., AUGE DE MELLO P., GOMES I. & BERGMANN I.E. (1991). Expression of the aphthovirus RNA polymerase gene in Escherichia coli and its use together with other bioengineered non-structural antigens in detection of lager persistent infections. *Virology*, **184**, 799–804.
55. PAIBA G.A., ANDERSON J., PATON D.J., SOLDAN A.W., ALEXANDERSEN S., CORTEYN M., WILSDEN G., HAMBLIN P., MACKAY D.K. & DONALDSON A.I. (2004). Validation of a foot-and-mouth disease antibody screening solid-phase competition ELISA (SPCE). *J. Virol. Methods*, **115**, 145–158.
- ~~56. PANAFIOSA (PAN AMERICAN FOOT AND MOUTH DISEASE CENTER) (2001). Final recommendations of the Seminario internacional de Control de Vacuna Antiaftosa, Panafiosa, Rio de Janeiro, Brazil, 10–14 September.~~
57. PARIDA S., FLEMING L., GIBSON D., HAMBLIN P.A., GRAZIOLI S., BROCCHI E. & PATON D.J. (2007). Bovine serum panel for evaluating foot-and-mouth disease virus non-structural protein antibody tests. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **19** (5), 539–544.
- ~~58. PATON D.J., VALARCHER J.F., BERGMANN I., MATLHO O.G., ZAKHAROV V.M., PALMA E.L. & THOMSON G.R. (2005). Selection of foot and mouth disease vaccine strains—a review. *Rev. sci. tech. Off. int. epiz.*, **24**, 981–993.~~
76. PAY T.W.F (1984). Factors influencing the performance of foot-and-mouth disease vaccines under field conditions. In: Applied Virology, Kurstak E. ed., Academic Press Inc., 73–86.
59. PEREIRA H.G. (1977). Subtyping of foot and mouth disease virus. *Dev. Biol. Stand.*, **35**, 167–174.
60. PERIOLO O, SEKI C, GRIGERA P, ROBILOLO B, FERNANDEZ G, MARADEI E, D'ALOIA, R, LA TORRE JL (1993). Large-scale use of liquid-phase blocking sandwich ELISA for the evaluation of protective immunity against aphthovirus in cattle vaccinated with oil adjuvanted vaccines in Argentina. *Vaccine*, **11** (7), 754–776.
61. REID S., FERRIS N.P., HUTCHINGS G.H., SAMUEL A.R & KNOWLES N.J. (2000). Primary diagnosis of foot-and-mouth disease by reverse transcription polymerase chain reaction. *J. Virol. Methods*, **89**, 167–176.
62. REID S., FERRIS N.P., HUTCHINGS G.H., ZHANG Z., BELSHAM G.J., ALEXANDERSEN S. (2001). Diagnosis of foot-and-mouth disease by real-time fluorogenic PCR assay. *Vet. Rec.*, **149**, 621–623.
63. REID S. M., GRIERSON S.S., FERRIS N.P., HUTCHINGS G H. & ALEXANDERSEN S. (2003). Evaluation of automated RT-PCR to accelerate the laboratory diagnosis of foot-and-mouth disease virus. *J. Virol. Methods*, **107** (2), 129–139.
77. ROBILOLO B., LA TORRE J., MARADEI E., PEREZ BEASCOECHEA C., PEREZ A., SEKI C., SMITSAART E., FONDEVILA N., PALMA E., GORIS N., DE CLERCQ K. & MATTION N. (2010). Confidence in indirect assessment of foot-and-mouth disease vaccine potency and vaccine matching carried out by liquid phase ELISA and virus neutralization tests. *Vaccine*, **28**, 6235–6241.
64. ROEDER P.L. & LE BLANC SMITH P.M. (1987). The detection and typing of foot-and-mouth disease virus by enzyme-linked immunosorbent assay: a sensitive, rapid and reliable technique for primary diagnosis. *Res. Vet. Sci.*, **43**, 225–232.
65. RWEYEMAMU M.M. (1984). Antigenic variation in foot-and-mouth disease: studies based on the virus neutralization reaction. *J. Biol. Standards*, **12** (3), 323–337.
- ~~66. RWEYEMAMU M.M., BOOTH J.C., HEAD M.M. & PAY T.W.F. (1978). Microneutralisation tests for serological typing of foot and mouth disease virus strains. *J. Hyg.*, **8**, 107–102.~~
67. RWEYEMAMU M.M. & HINGLEY P.J. (1984). Foot and mouth disease virus strain differentiation: analysis of the serological data. *J. Biol. Stand.*, **12**, 225–229.

68. SAMUEL A.R., OULDRIDGE E.J., ARROWSMITH A.E.M., KITCHING R.P. & KNOWLES N.J. (1990). Serological analysis of type O isolates of FMD from the Middle East 1981–88. *Vaccine*, **8**, 390–395.
69. SHAW A.E., REID S.M., EBERT K., HUTCHINGS G.H., FERRIS N.P. & KING, D.P. (2007). Protocol: Implementation of a one-step real-time RT-PCR protocol for diagnosis of foot-and-mouth disease. *J. Virol. Methods*, **143**, 81–85.
70. SKINNER H.H. (1960). Some techniques for producing and studying attenuated strains of the virus of foot and mouth disease. *Bull. OIE*, **53**, 634–650.
71. SORENSEN K.J., MADSEN K.G., MADSEN E.S., SALT J.S., NQUINDI J. & MACKAY D.K.J. (1998). Differentiation of infection from vaccination in foot-and-mouth disease by the detection of antibodies to the non-structural proteins 3D, 3AB and 3ABC in ELISA using antigens expressed in baculovirus. *Arch. Virol.*, **143**, 1461–1476.
72. STREBEL K., BECK E., STROHMAIER D. & SCHALLER H. (1986). Characterisation of foot-and-mouth disease virus gene products with antisera against bacterially synthesised fusion proteins. *J. Virol.*, **57**, 983–991.
73. VANGRYSPPERRE W. & DE CLERCQ K. (1996). Rapid and sensitive polymerase chain reaction based detection and typing of foot-and-mouth disease virus in clinical samples and cell culture isolates, combined with a simultaneous differentiation with other genomically and/or symptomatically related viruses. *Arch. Virol.*, **141** (2), 331–344.
74. VIANNA FILHO Y.L., ASTUDILLO V., GOMES I., FERNANDEZ G., ROZAS C.E.E., RAVISON J.A. & ALONSO A. (1993). Potency control of foot-and-mouth disease vaccine in cattle. Comparison of the 50% protective dose and protection against generalisation. *Vaccine*, **11–14**, 1424–1428.
75. WAGNER G.G., CARD J.L. & COWAN K.M. (1970). Immunochemical studies of foot-and-mouth disease virus. VII. Characterization of foot-and-mouth disease virus concentrated by polyethylene glycol precipitation. *Arch. Ges. Virusforsch.*, **30**, 343–352.

\*

\* \*

**NB:** There are OIE Reference Laboratories for Foot and mouth disease (see Table in Part 3 of this *Terrestrial Manual* or consult the OIE Web site for the most up-to-date list: [www.oie.int](http://www.oie.int)).

**INFORME DE LA REUNIÓN DEL GRUPO AD HOC DE LA OIE  
SOBRE LA VALIDACIÓN DE PRUEBAS DE DIAGNÓSTICO EN LOS ANIMALES SALVAJES**

**París, 27–29 de abril de 2011**

---

La reunión del Grupo *ad hoc* de la OIE sobre la validación de pruebas de diagnóstico en los animales salvajes se celebró en la sede de la OIE, en París, del 27 al 29 de abril de 2011.

**1. Apertura y objeto de la reunión**

El Dr. Kazuaki Miyagishima, Director General adjunto, dio la bienvenida a los participantes en la reunión en nombre del Dr. Bernard Vallat, Director General de la OIE. A continuación, presentó las diferentes actividades que lleva a cabo la OIE en el área de los animales salvajes y explicó brevemente los objetivos del Grupo *ad hoc* según el proyecto de mandato.

**2. Aprobación del orden del día y designación del presidente y del relator**

La reunión fue presidida por el Dr. John Fischer, y la Prof. Anita L. Michel fue designada para redactar el informe. El Dr. Fischer presentó el temario provisional, que recibió la aprobación del Grupo. El temario aprobado y la lista de participantes se adjuntan como Anexos I y II, respectivamente.

**3. Aprobación del proyecto de Mandato del Grupo *ad hoc***

El Grupo aceptó el proyecto de Mandato preparado por la Comisión de Normas Biológicas de la OIE para esta reunión y que se adjunta como Anexo III.

**4. Información sobre los documentos e iniciativas existentes**

El Dr. Fischer, en calidad de miembro del Grupo de trabajo de la OIE sobre las enfermedades de los animales salvajes, presentó el trabajo y la información acerca de la validación de pruebas de diagnóstico en los animales salvajes que dicho Grupo de trabajo había recolectado.

El Prof. Ian Gardner, miembro del Grupo *ad hoc* sobre la validación de pruebas de diagnóstico, que se reunió tres veces entre 2008 y 2010, hizo una rápida presentación de los proyectos de la versión actualizada del Capítulo 1.1.4./5. del *Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres (Manual Terrestre)* y de los siete anexos desarrollados por el Grupo *ad hoc*. Esta versión del capítulo así como los siete anexos se sometió a consideración de la Comisión de Normas Biológicas en su reunión de febrero de 2011. Sin embargo, el tiempo limitado no permitió a los miembros de la Comisión examinar los textos detenidamente. Por consiguiente, los documentos siguen en estado de proyecto y su discusión se ha postergado hasta la próxima reunión de la Comisión en septiembre de 2011.

**5. Información en el contexto de la Comisión de Normas Biológicas**

El Prof. Vincenzo Caporale, representante de la Comisión de Normas Biológicas, explicó por su parte la petición de la Comisión en lo que respecta a la validación de pruebas de diagnóstico y su aplicación a los animales salvajes.

El Grupo discutió a fondo las necesidades y dificultades específicas en relación con la validación de pruebas de diagnóstico en los animales salvajes. En primer lugar, el Grupo destacó la pertinencia del proyecto de Capítulo 1.1.4./5., que abarcaba todos los aspectos de validación de pruebas, por lo que era un punto de partida adecuado para adaptar los principios a una amplia gama de especies salvajes. Después pasó a identificar los desafíos y necesidades específicos que implica la validación y uso de pruebas de diagnóstico en los animales salvajes. Las principales dificultades que se plantean son: (i) La amplia gama de especies animales; (ii) La patobiología o las patologías diferentes; (iii) Las especies raras y en peligro de extinción (escaso número de animales, consideraciones éticas); (iv) Los animales pequeños (pequeño volumen o peso de la muestra); (v) Las condiciones de accesibilidad, inmovilización o caza que supone la recogida de muestras; (vi) Los costes del muestreo y de la realización de pruebas (en algunos casos no hay propietarios); (vii) La epidemiología de la enfermedad (distribución desigual de la enfermedad en las poblaciones, factores estacionales, epidemiología desconocida); (viii) La historia natural del hospedador y del vector; (ix) Los recursos limitados para tratar las enfermedades de los animales salvajes que no son zoonóticas o no afectan a los animales domésticos; (x) La logística: transporte y conservación de las muestras procedentes de zonas lejanas; (xi) La calidad de las muestras, autólisis incluida; y (xii) La escasez o falta de muestras de referencia.

El Grupo decidió redactar una capítulo práctico y autónomo que aborde las cuestiones identificadas para que se inclusión en el *Manual Terrestre*.

## 6. Redacción de directrices según el mandato

El Grupo consideró que el enfoque por etapas adoptado en el proyecto de Capítulo 1.1.4./5. podría ser adecuado para los animales salvajes con ciertas modificaciones. En particular, el Grupo propuso sustituir el “reconocimiento provisional” al final de la etapa 1 por el concepto de “aceptación provisional”, que engloba el cumplimiento parcial de la etapa 2. La etapa 2 se dividió en dos niveles (2a y 2b) para dar cabida a este concepto. Para que haya aceptación provisional, las etapas 1 y 2 tienen que completarse. La aceptación provisional de una prueba confirma que el proceso se ha basado hasta ese punto en principios científicos sólidos, que apoyan su utilización en los animales salvajes con un fin determinado de detección a escala local o regional.

En el desarrollo de las directrices, el Grupo intentó hacer que el enfoque completo de validación fuese práctico y viable para quienes trabajan en el diagnóstico en animales salvajes. Para articular la reflexión sobre este enfoque lógico por etapas, el Grupo elaboró un diagrama, en el que se incorporaron las etapas 2a y 2b a fin de poder implementar los principios de validación para la fauna silvestre esbozados en el proyecto de Capítulo 1.1.4./5. En el desarrollo del diagrama, prestó particular atención a la disponibilidad de las muestras procedentes de especies raras y en peligro de extinción. En lo que respecta al cumplimiento de la etapa 2 de la validación, el Grupo confirmó que debían reunirse los requisitos indicados en el cuadro 1 del proyecto de Capítulo 1.1.4./5.

Durante la reunión, se plantearon varias cuestiones en relación con puntos concretos del proyecto de Capítulo 1.1.4./5 y los anexos en su forma actual. El profesor Caporale, en representación de la Comisión de Normas Biológicas, tomó nota de las preguntas planteadas y sugirió al Grupo *ad hoc* que, al término de su trabajo, hiciese una lista de los puntos problemáticos encontrados. Dicha lista sería útil para decidir si sería necesario revisar el capítulo y los anexos para finalizarlos y qué tipo de revisión habría que hacer.

El Grupo consideró que el documento abarcaba los contextos más comunes, si bien no podían abordarse adecuadamente todos los detalles pertinentes, debido a limitaciones de tiempo, e identificó varias cuestiones importantes que debían tenerse en cuenta para mejorar la calidad del proyecto de directrices:

- Afinidad de las especies en relación con el tipo de prueba (pruebas directas frente a pruebas indirectas);
- Influjo del tipo de prueba en el diagrama (¿contextos paralelos con modificaciones necesarias?);
- Guía sobre cómo tener en cuenta las muestras autolisadas en el proceso de validación;
- Plantilla para documentar la fuente y características de las muestras de referencia;
- Falta de prueba estándar de comparación para algunas enfermedades;
- Mantenimiento de pruebas existentes que han sido utilizadas con éxito históricamente por los laboratorios de referencia.

El proyecto de directrices se distribuyó a los miembros para su examen final y se adjunta como Anexo IV.

## **7. Otros asuntos**

De aceptarse este proyecto de directrices como un capítulo autónomo del *Manual Terrestre*, sería provechosos incluir material esencial del proyecto de Capítulo 1.1.4./5. y parte de los anexos. Sería necesario también que hubiese congruencia entre ambos documentos, en particular entre la etapa 2 y el concepto de aceptación provisional (de la validación).

El Grupo decidió reunirse una vez más para ultimar el proyecto de directrices.

## **8. Aprobación del informe**

El Grupo examinó el borrador previo del informe suministrado por el relator, y examinó y comentó el proyecto de directrices elaborado. Finalmente decidió hacer circular el informe y el proyecto de directrices durante un corto periodo a fin de que sus miembros formularan comentarios menores con vistas a su aprobación final.

---

.../Anexos

**REUNIÓN DEL GRUPO *AD HOC* DE LA OIE  
SOBRE LA VALIDACIÓN DE PRUEBAS DE DIAGNÓSTICO EN LOS ANIMALES SILVESTRES  
París, 27 - 29 de abril de 2011**

---

**Temario**

1. Apertura y objeto de la reunión
  2. Aprobación del temario y designación del presidente y del relator
  3. Aprobación del proyecto de mandato del Grupo *ad hoc*
  4. Información sobre los documentos e iniciativas existentes
  5. Proyecto de directrices según el mandato
  6. Otros asuntos
  7. Aprobación del informe borrador
-

**REUNIÓN DEL GRUPO AD HOC DE LA OIE  
SOBRE LA VALIDACIÓN DE PRUEBAS DE DIAGNÓSTICO EN LOS ANIMALES SILVESTRES  
París, 27 - 29 de abril de 2011**

**Lista de participantes**

**MIEMBROS**

---

**Prof. John Fischer**

*(Miembro del Grupo de trabajo de la OIE sobre las enfermedades de los animales salvajes)*  
Southeastern Cooperative Wildlife Disease Study  
College of Veterinary Medicine  
University of Georgia, Athens - GA 30602  
EE.UU.  
Tel.: (1-706) 542 1741  
Fax: (1-706) 542 5865  
E-mail: jfischer@uga.edu

**Prof. Ian Gardner**

Dept of Medicine and Epidemiology  
2415A Tupper Hall  
One Shields Avenue  
University of California  
Davis, CA 95616  
EE. UU.  
Tel.: (1) 530-752-6992  
Fax: (1) 530-752-0414  
iagardner@ucdavis.edu

**Prof. Dolores Gavier-Widén**

Dept of Pathology and Wildlife Diseases  
National Veterinary Institute (SVA)  
SE-75189 Uppsala  
SUECIA  
Tel.: (46) 18 674215  
Fax: (46) 18 309162  
dolores@sva.se

**Prof. F.A. Leighton**

*(Invitado pero no pudo asistir)*  
Canadian Cooperative Wildlife Health Centre,  
Department of Veterinary Pathology, University  
of Saskatchewan  
Saskatoon, Saskatchewan S7N 5B4  
CANADÁ  
Tel.: (1,306) 966 7281  
Fax: (1. 306) 966 7387  
E-mail: ted.leighton@usask.ca

**Prof. Anita L. Michel**

Dept Veterinary Tropical Diseases Faculty of  
Veterinary Science University of Pretoria Private  
Bag X4 Onderstepoort 0110  
SUDÁFRICA  
Tel.: (27) 12 5298426  
Fax: (27) 12 5298312  
Anita.Michel@up.ac.za

**Prof. Toshio Tsubota**

Laboratory of Wildlife Biology and Medicine  
Department of Environmental Veterinary  
Sciences  
Graduate School of Veterinary Medicine  
Hokkaido University  
Sapporo, 060-0818 Hokkaido  
JAPÓN  
Tel.: 81-(0)11-706-5101  
Fax: -81-(0)11-706-5569  
tsubota@vetmed.hokudai.ac.jp

**REPRESENTANTE DE LA COMISIÓN DE NORMAS BIOLÓGICAS**

---

**Prof. Vincenzo Caporale**

*(Presidente de la Comisión de Normas Biológicas de la OIE)*  
Director, Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise 'G. Caporale'  
Via Campo Boario, 64100 Teramo  
ITALIA  
Tel.: (39.0861) 33 22 33  
Fax: (39.0861) 33 22 51  
direttore@izs.it

**SEDE 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  
oie@oie.int

**Dr. Kazuaki Miyagishima**

Director General adjunto  
Jefe del Departamento Científico y Técnico  
k.miyagishima@oie.int

**Dra. Elisabeth Erlacher-Vindel**

Jefa adjunta del Departamento Científico y Técnico  
e.erlacher-vindel@oie.int

**Dr. François Diaz**

Secretaría de Validación, Certificación y Registro de Ensayos de  
Diagnóstico,  
Departamento Científico y Técnico  
f.diaz@oie.int

Anexo III

**REUNIÓN DEL GRUPO AD HOC DE LA OIE  
SOBRE LA VALIDACIÓN DE PRUEBAS DE DIAGNÓSTICO EN LOS ANIMALES SILVESTRES  
París, 27 - 29 de abril de 2011**

—————

**Mandato**

Elaborar directrices sobre los “Principios y métodos para la validación de pruebas de diagnóstico de enfermedades infecciosas aplicables a los animales salvajes” teniendo en cuenta los capítulos existentes del *Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres* (en particular el Capítulo 1.1.4./5. “Principios y métodos de validación para las pruebas de diagnóstico de enfermedades infecciosas”) y los documentos aportados por el Grupo de trabajo sobre las enfermedades de los animales salvajes sobre el tema mencionado.

—————

## Anexo IV

**Proyecto de directrices sobre “Principios y métodos para la validación de pruebas de diagnóstico de enfermedades infecciosas aplicables a los animales salvajes”****1. Introducción**

La realización de pruebas de diagnóstico de enfermedades infecciosas en los animales salvajes adquiere cada vez más importancia a medida que crece el interés en las enfermedades presentes en la fauna silvestre que pueden tener repercusiones sobre las poblaciones de animales salvajes y la biodiversidad, así como sobre la salud de hombre y de los animales domésticos. A efectos del presente capítulo, “fauna silvestre” designa los animales pertenecientes a al menos uno de los siguientes grupos:

- Animales salvajes: Aquellos animales que no viven bajo la supervisión o el control del hombre y cuyo fenotipo no ha sido seleccionado por el hombre.
- *Animales salvajes cautivos*: Aquellos animales que viven bajo la supervisión o el control del hombre pero cuyo fenotipo no ha sido seleccionado por el hombre.
- Animales asilvestrados: Aquellos animales que no viven bajo la supervisión o el control del hombre pero cuyo fenotipo ha sido seleccionado por el hombre.

Los animales salvajes son en general susceptibles a las infecciones causadas por los mismos agentes patógenos que los animales domésticos, y en algunos casos, las pruebas desarrolladas y validadas en otras especies pueden ser útiles para las especies salvajes. No obstante, los ensayos de diagnóstico en la fauna silvestre pueden plantear más desafíos que en los animales domésticos por diversas razones, que van desde las dificultades de acceso y los costes asociados hasta la pobre calidad de las muestras o el escaso conocimiento de la patogénesis o la epidemiología de la enfermedad en una especie en particular. El carácter asequible de las pruebas es un criterio esencial, porque los animales salvajes no tienen un propietario que puede asumir los costes asociados. De ahí que, un bajo coste puede ser un factor crítico en la selección de pruebas para su uso con un fin determinado.

Se han desarrollado varias pruebas de diagnóstico de rutina que se utilizan actualmente para la detección o confirmación de enfermedades en los animales domésticos, pero que en general no han sido validadas en la fauna silvestre. La cuestión radica en determinar si existen diferencias esenciales en la sensibilidad o especificidad de estas pruebas cuando se aplican a muestras de la fauna silvestre.

Cabe distinguir arbitrariamente dos categorías de pruebas de diagnóstico que pueden coincidir parcialmente: técnicas de identificación del agente, que incluyen diagnósticos visuales directos, detección del antígeno y técnicas moleculares; y técnicas indirectas de identificación. Las técnicas directas de diagnóstico incluyen el examen macroscópico para identificar macroparásitos, vectores de enfermedad y lesiones macroscópicas patognomónicas de necropsia. El examen microscópico puede emplearse para detectar e identificar microparásitos en tipos de muestras que van desde fluidos corporales o frotis/secciones de tejidos hasta exámenes de heces. El aspecto microscópico típico de algunas enfermedades específicas, o sus características microscópicas electrónicas, pueden diagnosticarse. El uso de conjugados fluorescentes, tintes especiales o técnicas inmunohistoquímicas puede servir para identificar agentes etiológicos en los frotis o secciones de tejidos.

Existen diversos métodos directos de detección de agentes infecciosos y del antígeno en los especímenes. Por ejemplo, cultivos *in vitro* o *in vivo*, comúnmente usados para aislar bacterias, virus, hongos y algunos protozoos; y técnicas moleculares, como la amplificación del material genético del agente por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), y sondas específicas de ADN para detectar el antígeno. Lo que es más importante es que estas técnicas directas de identificación del agente no estén afectadas en teoría por la especie del hospedador, es decir, animales domésticos o animales salvajes. Sin embargo, puede haber cierta variación de especies en la tasa de proliferación o amplificación del agente, que esté afectada por la cantidad y distribución del antígeno en los tejidos.

La validación de las pruebas de diagnóstico para especies salvajes individuales plantea varios desafíos, tales como la accesibilidad a un número y un volumen adecuados de muestras que se usarán en el proceso de validación. Los principios subrayados y el enfoque por etapas para la validación de una prueba de diagnóstico se esbozan en el proyecto de capítulo 1.1.4./5. El objeto del presente capítulo es suministrar la información necesaria para validar una prueba de diagnóstico en las especies salvajes que será reconocidas por la OIE (cumplimiento de las etapas 1, 2 y 3). No obstante, reconociendo que tal vez sea innecesario, o hasta imposible, completar este proceso en todas las circunstancias, se facilitan pautas para seguir el procedimiento de validación hasta el punto en que sea posible aceptar provisionalmente que la prueba ofrece confianza en los resultados y puede usarse en aplicaciones específicas en un contexto regional o nacional.

## 2. Principios de validación de las pruebas

La validación es un proceso que determina que un ensayo, desarrollado, optimizado y estandarizado, es apto para el fin perseguido. Idealmente, el proceso de validación de pruebas para los animales salvajes debe llevarse a cabo del mismo modo que el de las pruebas para los animales domésticos (presentado en el proyecto de capítulo 1.1.4/5). Sin embargo, como se ha explicado, los ensayos de diagnóstico en la fauna silvestre con frecuencia plantean dificultades que imponen ciertas limitaciones a la perspectiva de una validación completa. Por consiguiente, en los casos en que el proceso óptimo de validación completa no sea viable, la mejor alternativa puede ser evaluar la idoneidad del ensayo para la fauna silvestre en un número reducido de muestras de referencia. Las estimaciones preliminares del rendimiento de la prueba pueden aportar suficiente información como para que las autoridades gubernamentales decidan que una prueba puede ser aceptada provisionalmente para su uso en animales que se desplazan o trasladan, o para la vigilancia de patógenos en un país.

En varios casos, las pruebas de diagnóstico existentes validadas para una especie pueden ser adaptadas y evaluadas en otra especie. En otros casos, puede ser necesario desarrollar nuevas pruebas para la fauna silvestre sin la ventaja de disponer de una prueba preexistente que tal vez no requiera modificación, o en todo caso mínima. En todos los casos, los fines perseguidos y las aplicaciones de la prueba deben determinarse antes de su desarrollo y validación, ya que pueden tener repercusiones sobre la selección de las muestras de referencia apropiadas y, en última instancia, sobre la extrapolación de los resultados de validación.

### 1.1. Idoneidad para el uso

En el proyecto de capítulo 1.1.4/5 se indica una lista de fines perseguidos con las pruebas de diagnóstico. En lo referente a los ensayos en la fauna silvestre, más concretamente, los principales fines perseguidos en el desarrollo y aplicación de una prueba de diagnóstico son los siguientes:

- 1) Cribado de las poblaciones salvajes para detectar la presencia de agentes infecciosos, por ejemplo:
  - a) para la vigilancia (por ejemplo, detección precoz, evaluación de tendencias en la prevalencia o la incidencia)
  - b) para calcular la prevalencia de la infección o de la exposición
- 2) Cribado o prueba de vectores o de muestras ambientales para detectar la presencia de agentes infecciosos
- 3) Confirmación de un diagnóstico de casos sospechosos o casos clínicos (con confirmación de resultados positivos a partir de una prueba de cribado)
- 4) Certificación del estado libre de infección o presencia del agente en animales individuales o en los productos, para
  - a) movimiento o traslado
  - b) consumo humano
- 5) Monitorización de la distribución geográfica y de las modificaciones de prevalencia debidas a intervenciones de gestión (con determinación del estado inmune de los individuos o de las poblaciones de animales)

- 6) Estudio del agente, del hospedador y de los factores ambientales asociados a la presencia de la enfermedad.

## 2.2. Muestras de referencia y calidad de las muestras

Por definición, todas las muestras de referencia deben estar bien caracterizadas en términos del hospedador y su población de origen, y del agente infeccioso implicado. Aunque sería recomendable contar con el mismo detalle descriptivo para las muestras de referencia de la fauna silvestre en comparación con los animales domésticos, no se suele disponer de la información pertinente. En tales casos, debe registrarse la mayor cantidad de detalles posible. En general, las muestras de referencia deben representar la condición que es el objetivo de interés, por ejemplo, enfermedad clínica, infección subclínica sin signos manifiestos de enfermedad. La experiencia indica que si se efectúa una selección inadecuada de muestras de referencia positivas de animales afectados clínicamente cuando la prueba se utiliza para detectar la infección subclínica, las estimaciones de sensibilidad y especificidad resultantes son excesivamente optimistas. Los animales infectados experimentalmente puede ser la única fuente de las muestras de referencia en algunos casos, pero siempre que sea posible, su uso debe complementarse con muestras de animales infectados naturalmente.

La siguiente información ha sido considerada como requisito mínimo para caracterizar adecuadamente una muestra de referencia: a) la especie precisa del hospedador, b) pruebas usadas para la confirmación de la presencia o ausencia del patógeno, c) situación geográfica en relación con áreas o regiones reconocidas libres de enfermedad o infectadas, y d) la fecha de recogida de la muestra. Siempre que sea posible, la información sobre el sexo y la categoría de edad (juvenil, subadulto, adulto) aportará un dato valioso, ya que algunos infecciones están asociadas al sexo o a la edad específicos.

### a) Fondo de muestras de referencia

Idealmente, las muestras de referencia deben obtenerse a partir de los individuos y dividirse en alícuotas en volúmenes (pesos) más pequeños para los ensayos subsecuentes. Sin embargo, cuando las muestras de referencia proceden de animales de baja masa corporal o cuando muy pocos animales fueron infectados con el agente particular de interés, la reunión de muestras se considera como un enfoque aceptable para obtener una muestra de referencia. Será preferible conocer la etapa de infección de los animales individuales para estimar si el fondo de muestras contendrá una concentración baja, media o alta de un analito. Una muestra altamente positiva de buena calidad puede diluirse con la misma matriz de muestra, por ejemplo, heces o suero, de la misma especie hospedadora para generar una serie de muestras con concentraciones decrecientes del agente o productos de la respuesta inmune. Si algunas etapas de infección no están disponibles, debe registrarse la información.

En los casos en que solo se disponga de un volumen limitado de muestra adecuada de buena calidad, podrá usarse como muestra de referencia en apoyo de un conjunto bien definido de series de prueba (por ejemplo, un estudio de repetibilidad).

### b) Muestras de referencia negativas y muestras de estado de infección desconocido

Si no se dispone de muestras de referencia para determinar la especificidad diagnóstica en términos de ciertos agentes conocidos que causan una reactividad cruzada, debe registrarse la información.

Los modelos estadísticos de clases latentes para la estimación de la sensibilidad y especificidad diagnósticas a falta de un estándar de referencia perfecto (a veces denominado “estándar de oro”) necesitan la validación de ensayos de diagnóstico para la fauna silvestre (véase el proyecto de capítulo XXX y el anexo estadístico para más detalles). Sin embargo, estos enfoques están basados en una descripción exhaustiva de las poblaciones de referencia que es muy difícil o incluso imposible en el caso de la fauna silvestre libre.

### c) Calidad de las muestras

El entorno de muestreo para la fauna silvestre con frecuencia es subóptimo y puede conducir a una contaminación cruzada. Por añadidura, un muestreo oportunista constituye un aspecto importante en el cribado y monitorización de las poblaciones salvajes para detectar agentes infecciosos. El resultado puede ser que se recojan muestras de integridad comprometida (por ejemplo, contaminación, autólisis avanzada, etc.). Por consiguiente, los investigadores son responsables de determinar el grado de adecuación de tales muestras para la validación de pruebas; sin embargo, dada la escasez general de muestras para ciertas condiciones o a partir de ciertas especies hospedadoras (por ejemplo, especies en peligro de extinción),

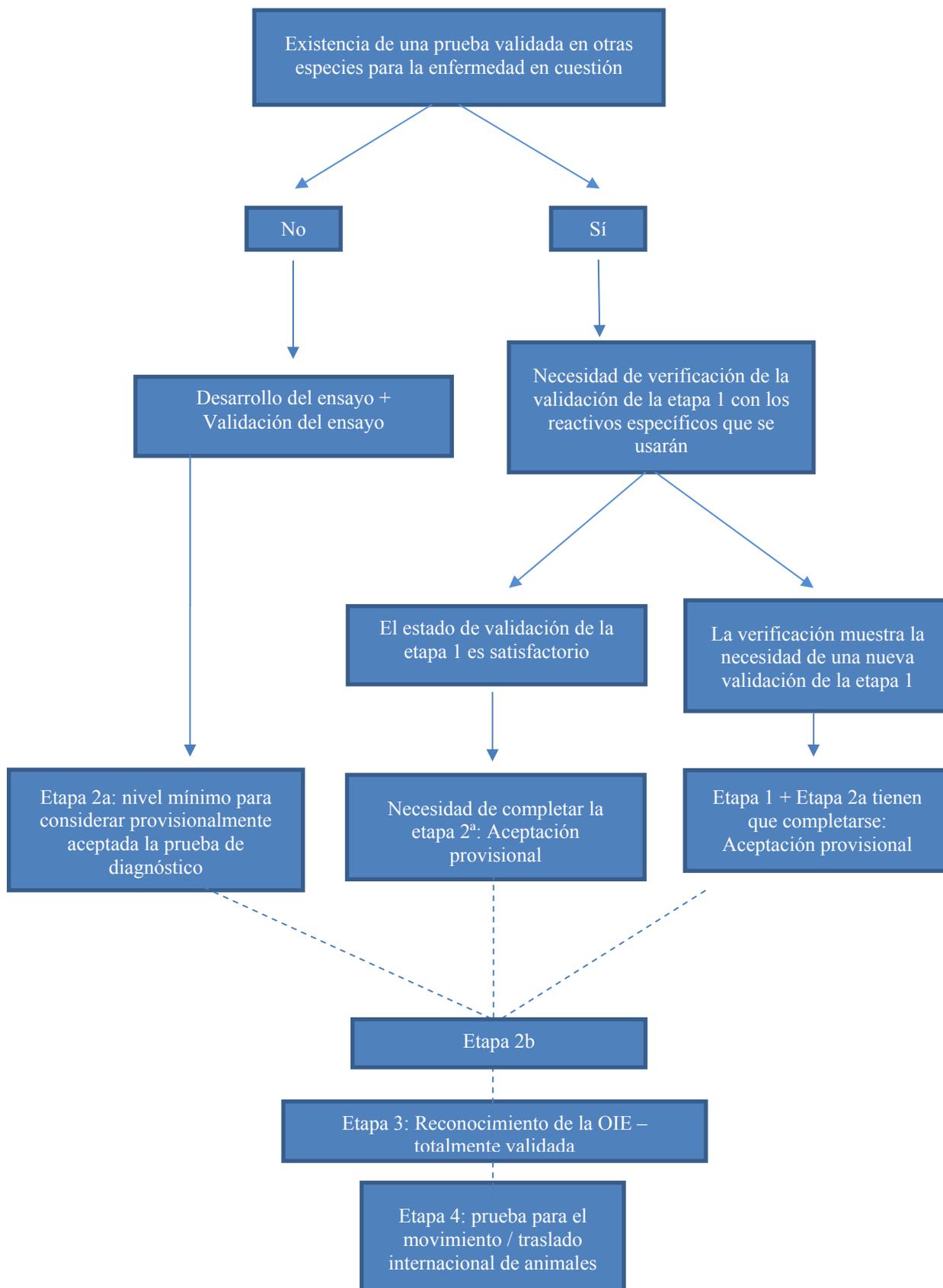
deben tomarse las precauciones necesarias para garantizar el aprovechamiento máximo de muestras de calidad subóptima. En las bases de datos donde constan las características de las muestras de referencia debe registrarse una evaluación cualitativa de la calidad de la muestra (por ejemplo, buena, baja, autolisada).

Por tanto, se considera útil y necesario validar pruebas apropiadas para una gama de criterios de condición de las muestras, tales como modificaciones en la detectabilidad con el tiempo, bajo diferentes temperaturas de almacenaje, durante la autólisis, etc. Sin embargo, esta etapa del proceso de validación debe llevarse a cabo después de la aceptación provisional de la prueba.

### **3. Procedimientos y etapas de validación de las pruebas en la fauna silvestre**

Los dos contextos más comunes considerados eran si había, o no, una prueba validada existente en otra especie para la misma enfermedad en cuestión. Se desarrolló un diagrama (figura 1) para mostrar las etapas del proceso. Los requisitos correspondientes para satisfacer los criterios de validación y calcular las características de rendimiento se muestran en el cuadro 1. Los criterios taxonómicos son la principal consideración para definir la afinidad a efectos de los parámetros que necesitan calcularse y los tamaños de muestra apropiados.

**Figura 1:** Diagrama de procedimientos posibles y etapas de la validación de pruebas en los animales salvajes si existe, o no, una prueba previamente validada



**Cuadro 1:** Etapas requeridas para satisfacer los criterios de validación descritos en el proyecto de capítulo 1.1.4/5 y estimar las características de la prueba. Los requisitos de las diferentes etapas tienen que cumplirse con un resultado aceptable.

<i>Procedimiento de validación Capítulo 1.1.4/5</i>	<i>Prueba validada en especies afines*</i>	<i>Prueba no validada en especies afines*</i>
<b>Etapa 1</b>	<b>Etapa 1 verificada en nuevas especies diana</b>	<b>Etapa 1 verificada en nuevas especies diana</b>
Especificidad analítica	Sí	Sí
Sensibilidad analítica	Sí	Sí
Repetibilidad	No	Sí
Reproducibilidad (preliminar)	No	Sí
<b>Etapa 2</b>	<b>Etapa 2a (aceptación provisional)</b>	<b>Etapa 2a (aceptación provisional)</b>
Sensibilidad diagnóstica	Sí (mínimo de 10 muestras infectadas)	Sí (mínimo de 30 muestras infectadas)
Especificidad diagnóstica	Sí (mínimo de 10 muestras no infectadas)	Sí (mínimo de 30 muestras no infectadas)
Determinación del umbral	Sí (total de 20 muestras)	Sí (total de 60 muestras)
Descripción de la muestra de referencia	Sí	Sí
	<b>Etapa 2b</b>	<b>Etapa 2b</b>
Sensibilidad diagnóstica	Sí	Sí
Especificidad diagnóstica	Sí	Sí
Determinación del umbral	Sí	Sí
Descripción de la muestra de referencia	Sí	Sí
<b>Etapa 3</b>	<b>Etapa 3</b>	<b>Etapa 3</b>
Reproducibilidad	Sí	Sí
Resistencia a la variación de factores externos	Sí	Sí
Repetibilidad (aumentada)	Sí	Sí
<b>Etapa 4</b>	<b>Etapa 4</b>	<b>Etapa 4</b>
Valores predictivos (poblaciones)	Sí	Sí
Resistencia (aumentada)	Sí	Sí

\* Las especies taxonómicas afines serían el grupo más apropiado para incluir en la primera columna. Sería preferible el nivel taxonómico de subfamilias, pero si se ha demostrado la eficacia de los reactivos en dos especies diferentes (por ejemplo, publicación revisada por los pares), este criterio de eficacia también sería aceptable.

#### *Número de muestras de campo para la estimación de las características del diagnóstico en la etapa 2*

El tamaño de las muestras seleccionadas para completar la etapa 2 debe basarse en los valores esperados de sensibilidad (DSe) y especificidad (DSp) diagnósticas, nivel de confianza deseado y margen de error tal como se muestra en el cuadro 1 del proyecto de Capítulo 1.1.4/5. Por ejemplo, para una DSe prevista del 90%, se requiere un tamaño de 138 muestras para producir un margen de error del 5% con una confianza al 95% (véase la parte derecha del cuadro 1). Sin embargo, se reconoce que puede ser difícil obtener este número de muestras verdaderamente positivas para algunas especies salvajes y solo puede alcanzarse cuando se combinan con el tiempo los datos de los diversos laboratorios de ensayos que usan la misma prueba de manera estandarizada.

Si el número de muestras de referencia (positivas y negativas) es inferior al indicado en el cuadro 1, los márgenes de error calculados sobre las estimaciones (usualmente representadas como intervalos de confianza al 95%) de DSe y DSp, respectivamente, serán más amplios que aquellos en los que está basado el cuadro. En consecuencia, los tamaños pequeños de muestras aumentan la incertidumbre en las características de rendimiento de la prueba. El uso de muestras de referencia que sean representativas de la condición objetivo es crítico para alcanzar una estimación sin sesgo (y prácticamente útil) de DSe y DSp que resistirá un examen con el paso del tiempo. Este punto suele ser de mayor interés que el tamaño de la muestra.

Para fines de diagnóstico en la fauna silvestre, se propone dividir la etapa 2 en las etapas 2a y 2b. La etapa 2a necesita completarse para la “aceptación provisional”, tal como se ha descrito previamente. En la etapa 2a, se supone que el procedimiento basado en una prueba validada existente para una enfermedad en animales domésticos afines (en comparación con la prueba no validada) está basado en al menos 20 muestras de referencia positivas y 20 muestras de referencia negativas, y las estimaciones de DSe y DSP son similares, si no idénticas, en las dos especies. Estas muestras apoyan el uso de un tamaño reducido de muestras (columna del medio comparada con la columna derecha del cuadro). La selección del procedimiento con un tamaño reducido de muestras debe justificarse sobre la base del tamaño de la muestra y la comparabilidad evidenciada (por ejemplo, el mismo valor del umbral de prueba y los mismos reactivos) según las publicaciones revisadas por los pares.

El efecto neto de un tamaño inferior de las muestras aumenta la incertidumbre en las estimaciones a menos que la información previa de DSe y DSP en la especie afin esté formalmente incorporada mediante un análisis bayesiano. El cuadro 2 muestra el efecto del uso de un máximo de 140 muestras positivas conocidas cuando la estimación de DSe (90%) se ha calculado después de que haberse recogido y probado las muestras de campo.

**Cuadro 2:** Márgenes de error aproximados e intervalos de confianza al 95% de sensibilidad diagnóstica (DSe) para números decrecientes de muestras de referencia positivas

Número de muestras de referencia positivas	Número positivas	DSe (%)	Margen de error aproximado sobre la estimación de DSe	Intervalo de confianza al 95% por método binomial exacto para DSe (%)
140	126	90	± 0,05	83,8 – 94,4
100	90	90	± 0,06	82,4 – 95,1
60	54	90	± 0,08	79,5 – 96,2
30	27	90	± 0,10	73,5 – 97,9
10	9	90	± 0,18	55,5 – 99,7

Los cálculos para intervalos de confianza al 95% para DSP son afectados similarmente por el número de muestras de referencia negativas utilizadas.



## REUNIÓN DE INTERCAMBIO DE IDEAS PARA LA MODERNIZACIÓN DEL *MANUAL TERRESTRE*

Sede de la OIE, París, 12–13 de septiembre de 2011

Los días 12 y 13 de septiembre de 2011, en la Sede de la OIE, tuvo lugar una reunión de intercambio de ideas con vistas a modernizar el *Manual para las Pruebas de Diagnóstico y las Vacunas para los Animales Terrestres (Manual Terrestre)*. El Dr. Kazuaki Miyagishima, Jefe del Departamento científico y técnico de la OIE, dio la bienvenida a los participantes en nombre del Director general. Señaló que el encuentro buscaba aportar nuevas ideas para el futuro *Manual Terrestre* de la OIE y que toda mejora, si procedía, también podría aplicarse al *Manual Acuático*, con el fin de mantener la coherencia de propósito, el estilo y contenido de ambos *Manuales*. La reunión fue presidida por la Dra. Beverly Schmitt, Vicepresidente de la Comisión de Normas Biológicas (Comisión de Laboratorios), y la Dra. Ana Nicola se encargó de redactar las actas. Dado que el propósito del encuentro era explorar ideas, posibilidades y orientaciones sobre la manera de mejorar el *Manual Terrestre*, con la meta de formular acciones, no hubo un temario establecido. Por consiguiente, este informe registra las ideas y recomendaciones resultado de las discusiones del grupo.

La lista de participantes y los documentos de la reunión se presentan en los Anexos I y II, respectivamente.

Los expertos de laboratorios invitados a la reunión identificaron los siguientes problemas y cuestiones sobre la actual edición del *Manual Terrestre*.

### Problemas/cuestiones:

1. Las definiciones de bioseguridad (plásmidos incluidos) deberán añadirse a cada capítulo de enfermedad.
2. La mención de los Laboratorios de Referencia de la OIE deberá formar parte integral de los capítulos (o incluirse en una nota, al final de los capítulos sobre enfermedad).
3. La estructura del *Manual*, de sus capítulos y su contenido son difíciles de consultar.
4. Es necesario identificar el propósito de cada uno de los métodos de diagnóstico descritos en los capítulos sobre enfermedad.
5. Los Países Miembros consideran que al procedimiento de actualización del *Manual* le falta claridad.
6. ¿Qué enfermedades deberán tratarse en el *Manual*?
7. Quizá se puedan añadir al *Manual* o al sitio internet más detalles sobre las pruebas, con diagramas y fotografías.
8. ¿Existe un formato definido de instrucciones para los autores? (Sí, pero los autores no siempre lo respetan).
9. ¿Las actualizaciones del *Manual* deberían formatearse de la misma manera que las actualizaciones propuestas por la Comisión del Código?
10. ¿Quiénes son los usuarios finales del *Manual*?
11. Es necesario incluir mayor información en la Sección C (requisitos para las vacunas y el material de diagnóstico) de los capítulos sobre enfermedad.
12. No todos los capítulos introductorios se consideran como normas (algunos son líneas directrices, otros revisiones).

Tras una amplia discusión, el grupo propuso las siguientes ideas y comentarios destinados a mejorar el *Manual*:

#### *Capítulos introductorios*

1. Si bien, en términos generales, los capítulos introductorios son de gran utilidad y objeto de satisfacción, deben redactarse como normas y no como líneas directrices.
2. El Capítulo 1.1.1. deberá dividirse en dos nuevos capítulos: uno sobre el transporte de muestras y, otro, dedicado a la recogida de muestras.
3. Deberá haber capítulos adicionales sobre las vacunas, ya que existen algunas lagunas en los capítulos correspondientes.
4. Se deberá reorganizar el orden de los capítulos de tal forma que se agrupen, por un lado, los relativos a las vacunas, y por el otro, los del diagnóstico de la enfermedad.
5. Se sugirió extraer las directrices del folleto sobre las Normas de calidad y directrices de la OIE para los laboratorios veterinarios (pruebas de aptitud, producción de reactivos de referencia, etc.) y añadirlas al *Manual*, estableciéndolas como normas.

#### *Capítulos sobre enfermedad*

1. Es importante tener información sobre la epidemiología y las estrategias de control de enfermedad en la introducción de los capítulos sobre enfermedad. Se sugirió reiterar las instrucciones actuales a los autores para que la introducción de los capítulos ocupe como máximo una hoja.
2. Pueden resultar de gran interés los cuadros en los capítulos del *Manual Acuático* que indiquen los métodos de diagnóstico junto con el objetivo para el que el análisis se haya validado. Ver punto 10 a continuación.
3. Los Laboratorios de Referencia de la OIE pueden revisar las fichas OIE de enfermedades actuales o desarrollar nuevas fichas.
4. Sobre el tema de la vacunación profiláctica del personal de laboratorio para enfermedades tales como la fiebre del valle del Rift, los participantes estuvieron de acuerdo en añadir dicha información a la introducción de los capítulos sobre cada enfermedad, siempre que fuese apropiado.
5. La información sobre los productos biológicos como los antígenos contenidos en la tuberculina deberá figurar en la sección dedicada a las vacunas en los capítulos sobre enfermedad.
6. Se recomendó dejar la lista de Laboratorios de Referencia de la OIE al final del *Manual* e incluir una declaración al finalizar cada capítulo informando al lector de la existencia de Laboratorios de Referencia para la enfermedad en cuestión y dónde encontrar la lista de los mismos. Igualmente, se propuso añadir un enlace a la lista actualizada de Laboratorios de Referencia en los capítulos en línea del *Manual* y agregar instrucciones para entrar en contacto con el Laboratorios de Referencia en caso de que se requiera una lista de kits, reactivos y/o productores de vacunas.
7. Se alentó la armonización de los métodos de prueba entre los Laboratorios de Referencia, cuando sea posible.
8. Todos los ensayos descritos deberán incluir información sobre los resultados de las pruebas.
9. Se deberá revisar cada capítulo e identificar los ensayos cuya validación ya haya sido confirmada.
10. Los elementos que se han de incluir en los cuadros de los capítulos son:
  - Método
  - Propósito
    - Población libre de la enfermedad
    - Animales individuales indemnes de la enfermedad
    - Eficacia de las políticas de erradicación
    - Confirmación de casos clínicos
    - Prevalencia de la infección - vigilancia
    - Situación sanitaria inmune de animales individuales o de las poblaciones tras la vacunación

11. Se discutió la necesidad de contar con nuevos ensayos, más rápidos, por ejemplo, para las enfermedades emergentes. Se recomendó transmitir estas propuestas a los Laboratorios de Referencia. Se consideró que la OIE necesitaba un protocolo de seguimiento de las modificaciones simplificado, dado que los requisitos para todos los textos normativos de la OIE deben proponerse, en última instancia, para adopción de la Asamblea.
12. Se discutió el procedimiento de revisión de los capítulos y se destacó que existe una segunda revisión por parte de los Países Miembros antes de la adopción. Se sugirió añadir información sobre la metodología de revisión de la versión en línea del *Manual*. El grupo sugirió actualizar los capítulos únicamente cuando exista una justificación científica documentada que haga necesaria dicha actualización. Se pedirá a los autores que brinden documentos y fundamentos que justifiquen las modificaciones propuestas y que se deberán poner a disposición de los Países Miembros, junto con el proyecto de capítulo. Los Laboratorios de Referencia de la OIE deberán revisar y alcanzar un consenso sobre los cambios antes de que el capítulo se presente a la OIE.
13. Se propuso que se entregaran CD-ROM con los capítulos revisados a la Asamblea durante la Sesión General de mayo, para distribución a los laboratorios.
14. Se sugirió mencionar, en el capítulo de introducción, la frase del Capítulo 7.8. del *Código Terrestre* sobre la limitación de la utilización de animales con fines de investigación y educación.
15. Con cierta regularidad, la OIE deberá preguntar a los países cuáles son los capítulos que requieren una revisión y deberá poner en línea una página web para recabar comentarios.
16. Se deberán incluir pocas referencias en los capítulos y limitarse a los ensayos descritos en el capítulo y a artículos esenciales ya revisados.
17. La OIE deberá solicitar a los autores que añadan un párrafo sobre cada método de prueba con una descripción de los puntos de corte e interpretación apropiada.
18. Se recomendó añadir una declaración sobre los niveles de bioseguridad y bioprotección de cada patógeno en la introducción de cada capítulo sobre enfermedad.
19. Se sugirió mantener en el *Manual* los capítulos introductorios sobre las vacunas y la sección C de los capítulos sobre enfermedad. A continuación, se presenta el orden propuesto para los capítulos introductorios:

#### *Normas generales*

- |                   |   |
|-------------------|---|
| Capítulo 1.1.1.   | Recogida de las muestras para diagnóstico   |
| Capítulo          | Transporte de las muestras para diagnóstico   |
| Capítulo 1.1.2.   | Bioprotección y seguridad humana en los laboratorios veterinarios de microbiología y en las instalaciones de los animales |
| Capítulo 1.1.3.   | Gestión de calidad en los laboratorios de pruebas veterinarias  |
| Capítulo 1.1.4/5. | Principios de validación para las pruebas de diagnóstico de enfermedades infecciosas                                      |
| Capítulo 1.1.8.   | Principios de producción de vacunas veterinarias (incluyendo productos biológicos de diagnóstico)                         |
| Capítulo          | Requisitos mínimos para las instalaciones de producción de vacunas  |
| Capítulo 1.1.9.   | Control de calidad de las vacunas   |
| Capítulo 1.1.10.  | Directrices para las normas internacionales de los bancos de vacunas  |

Al final del *Manual*, e indicados claramente como líneas directrices y no como normas:

- |                  |   |
|------------------|---|
| Capítulo 1.1.6.  | Métodos de laboratorio para los ensayos de sensibilidad de las bacterias frente a los antimicrobianos           |
| Capítulo 1.1.7.  | Bioteología en el diagnóstico de enfermedades infecciosas   |
| Capítulo 1.1.7a. | Aplicación de la bioteología en el desarrollo de vacunas veterinarias   |
| Capítulo 1.1.11. | Papel de los organismos oficiales en la regulación internacional de los productos biológicos de uso veterinario |

#### **Resumen**

En términos generales, el grupo estuvo de acuerdo en que el formato y contenido actual del *Manual* era bueno. Agradeció la oportunidad de brindar a la Comisión de Laboratorios su contribución sobre posibles mejoras. Los miembros de la Comisión que asistieron al encuentro expresaron su gratitud por los esfuerzos realizados y esperan poner en práctica mucha de las sugerencias. El grupo no vio la necesidad inmediata de proceder a una encuesta entre los supuestos usuarios del *Manual Terrestre*.

Anexos...

Anexo I**REUNIÓN DE INTERCAMBIO DE IDEAS PARA LA MODERNIZACIÓN DEL *MANUAL TERRESTRE*****Sede de la OIE, París, 12–13 de septiembre de 2011****Lista de participantes****COMISIÓN DE NORMAS BIOLÓGICAS DE LA OIE****Prof. Vincenzo Caporale***(Presidente)*

Director, Istituto Zooprofilattico  
Sperimentale dell'Abruzzo  
e del Molise 'G. Caporale'  
Via Campo Boario, 64100 Teramo  
ITALIA

Tel: (39-0861) 33 22 33

Fax: (39-0861) 33 22 51

direttore@izs.it

**Dra. Beverly Schmitt***(Vicepresidente)*

National Veterinary Services  
Laboratories, Diagnostic Virology  
Laboratory, P.O. Box 844, Ames,  
IA 50010 ESTADOS UNIDOS DE  
AMÉRICA

Tel.: (1-515) 663.75.51

Fax: (1-515) 663.73.48

beverly.j.schmitt@aphis.usda.gov

**Dr Mehdi El Harrak***(Vicepresidente)*

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

**PARTICIPANTES INVITADOS****Prof. Steven Edwards**

Redactor consultor del *Manual  
Terrestre*, c/o OIE 12 rue de Prony  
75017 Paris, FRANCIA

Tel.: (33-1) 44.15.18.88

Fax: (33-1) 42.67.09.87

steve-oie@cabanass.waitrose.com

**Dra. Ana María Nicola**

Gerencia de Laboratorios (GELAB)  
Servicio Nacional de Sanidad y Calidad  
Agroalimentaria (SENASA)  
Av. Alexander Fleming, 1653, 1640  
Martínez, Pcia de Buenos Aires  
ARGENTINA

Tel: (54-11) 48.36.19.92

Fax: (54-11) 48.36.19.92

anicola@senasa.gov.ar

**Dr. Yeun-Kyung Shin,**

Foot and Mouth Disease Division  
Animal, Plant and Fisheries Quarantine  
and Inspection Agency  
Joongangro 175, Manangu, Anyang,  
Gyeonggido,  
REPÚBLICA DE COREA

430-855

Tel: (82-31) 463.4578

Fax: (82-31) 463.4516

shinyk2009@korea.kr

**Dra. Rosa-Stella Mbulu**

Veterinary Diagnostician Specialist  
Head: Biotechnology, Central  
Veterinary Laboratory, Private Bag  
13187, Windhoek  
NAMIBIA

Tel.: (264-61) 237.684

Fax.: (264-61) 221.099

rsmbulu@cvl.com.na

ngendina@gmail.com.na

**Dr. Moritz Klemm,**

Comisión Europea  
Dirección general Sanidad &  
Consumidores, Directorado G Asuntos  
veterinarios e internacionales, Unidad  
G.2 Sanidad animal, 101 Rue Froissart  
B - 1040 Bruselas  
BÉLGICA

Tel: (32-2) 295.10.16

Fax: (32-2) 295.31.44

Moritz.KLEMM@ec.europa.eu

**SEDE 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. Kazuaki Miyagishima**

Director General adjunto  
Jefe,  
Departamento científico y técnico  
k.miyagishima@oie.int

**Dra. Elisabeth Erlacher-Vindel**

Jefa adjunta,  
Departamento científico y técnico  
e.erlacher-vindel@oie.int

**Sta. Sara Linnane**

Secretaria de redacción científica,  
Departamento científico y técnico  
s.linnane@oie.int

**Sr. François Diaz**

Responsable de validación de procesos  
de reconocimiento de pruebas de  
diagnóstico  
Departamento científico y técnico  
f.diaz@oie.int

## REUNIÓN DE INTERCAMBIO DE IDEAS PARA LA MODERNIZACIÓN DEL *MANUAL TERRESTRE*

Sede de la OIE, París, 12–13 de septiembre de 2011

---

### Lista de documentos entregados

- 1 Cuestionario para los usuarios
- 2 Ejemplo cuestionario respuesta 1: usuario final
- 3 Ejemplo cuestionario respuesta 2: País Miembro
- 4 Ejemplo cuestionario respuesta 3 : País Miembro
- 5 Resumen de las buenas respuestas al cuestionario
- 6 Informe sobre la estructura de los capítulos del *Manual Terrestre*, Redactor consultor
- 7 Instrucciones a los autores
- 8 Ejemplo de capítulo problema 1: Rabia + algunos comentarios de Países Miembros
- 9 Ejemplo de capítulo problema 2 : Peste porcina clásica + comentarios de
- 10 Ejemplo de capítulo problema: Peste equina



### Programa de trabajo y actividades (a septiembre de 2011)

Tema	Avances realizados	Acciones
1. Actualización del <i>Manual de pruebas de diagnóstico y vacunas para los animales terrestres</i>	Reunión de intercambio de ideas aprobada por la Comisión	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Prolongar de un día la próxima reunión de la Comisión</li> <li>• El informe sobre la reunión de intercambio de ideas se usará como guía para la implementación futura de las recomendaciones</li> </ul>
2. Capítulos del <i>Manual</i> para adopción en mayo de 2012	Los capítulos ya han circulado una vez y se han modificado de acuerdo con los comentarios recibidos.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Nuevo envío a los Países Miembros como textos finales propuestos</li> </ul>
3. Capítulos del <i>Manual</i> para adopción en mayo de 2012 (si hay tiempo suficiente)	Actualizaciones recibidas de los capítulos que podrían presentarse para adopción en mayo de 2012	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Envío de los capítulos listos para recabar comentarios de los Países Miembros</li> </ul>
4. Designación de Centros de Referencia	En curso	
5. Encuesta a los Laboratorios de Referencia sobre los reactivos		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Adaptar el modelo de informe anual o desarrollar un breve cuestionario independiente</li> </ul>
6. Centros de Referencia que no han respondido a las solicitudes de asesoría, reactivos, etc.	Identificar los laboratorios en cuestión	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Escribir una carta tipo para firma del Dr. Vallat recordando a los laboratorios sus obligaciones hacia la OIE e inquiriendo sobre este problema particular</li> </ul>
7. Seguimiento de las nuevas tecnologías y búsqueda de un consenso para integrarlas en el <i>Manual</i>		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pospuesto para la reunión de febrero de 2012</li> </ul>
8. Posibilidad de incluir la secuenciación genómica en el sistema de información de la OIE	Comunicación con el Departamento de información sanitaria de la OIE + debates dentro de la OIE	

### Grupos ad hoc

Grupos existentes		
Nombre del Grupo ad hoc	Avances para la reunión de septiembre de 2011 de la Comisión de Laboratorios	Acciones para la reunión de febrero de 2012
Reunión de intercambio de ideas para la modernización del <i>Manual Terrestre</i>	Informe aceptado por la Comisión de Laboratorios	Se seguirán discutiendo las recomendaciones y se implementarán por etapas.
Normas de bioseguridad y biocontención para los laboratorios de veterinaria	Proyecto de mandato aprobado. La reunión tendrá lugar del 19 al 21 de septiembre de 2011.	El informe estará disponible para la Comisión de Laboratorios en febrero de 2012.
Futuros Grupos		
Nombre del Grupo ad hoc	Avances hasta la reunión de septiembre de 2012 de la Comisión de Laboratorios	
Fiebre del valle del Rift (vacunas)	Redacción del proyecto de mandato. Fechas: 6–8 de diciembre de 2011.	
Calidad de las vacunas contra la rabia	Redacción del proyecto de mandato. Fechas: 10–12 de enero de 2012.	
Calidad de las vacunas contra la fiebre porcina clásica	Redacción del proyecto de mandato. Fechas: después de febrero de 2012.	
Colaboración científica entre los Centros de referencia – trabajo en red	Fechas: 17–19 de enero de 2012.	



---

© **Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), 2011**

El presente documento fue preparado por especialistas a solicitud de la OIE. Excepto en el caso de su adopción por la Asamblea mundial de los Delegados 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.