



NAPPO

North American Plant Protection Organization
Organización Norteamericana de Protección a las Plantas

Informe sobre conferencia telefónica de la NAPPO

| | | |
|---|---|--|
| Grupo de expertos: | Semillas -ToBRFV | |
| Lugar: | Videoconferencia (plataforma en Zoom) | |
| Fecha: | 19 de marzo del 2021 | |
| Presidente | Ed Podleckis (APHIS – PPQ) | |
| Participantes: | | |
| Pamela Ross (ACIA) | Nancy Osterbauer (APHIS – PPQ) | Vessela Mavrodieva (APHIS – PPQ) |
| Geoffrey Dennis (APHIS – PPQ) | Kevin Ong (TA&MU) | José Manuel Cambrón Crisantos (SENASICA) |
| Jessica Berenice Valencia Luna (SENASICA) | Daniela Alejandra Bocanegra Flores (SENASICA) | Ángel Ramírez Flores Suárez (SENASICA) |
| Rick Dunkle (industria de EE. UU.) | Samantha Thomas (industria de EE. UU.) | Mario Puente Raya (industria de México) |
| Huimin Xu (ACIA) | Patricia Abad (APHIS – PPQ) | Stephanie Bloem (NAPPO) |
| Nedelka Marín-Martínez (NAPPO) | Alonso Suazo (NAPPO) | Patricia McAllister (ACIA) |

Resumen

| | |
|------------------------|---|
| Proyecto | Proyecto piloto para la armonización de protocolos de diagnóstico para plagas de semillas centrado en el virus del fruto rugoso café del tomate (ToBRFV). |
| Comentarios generales: | <ul style="list-style-type: none">• El presidente y el DT de la NAPPO dieron la bienvenida y agradecieron a todos los miembros del GE por unirse a la conferencia telefónica.• Se aprobó la agenda tal como se presentó.• El DT convino tomar las notas y preparar el informe de la conferencia telefónica. |
| Asunto 1: | Actualizaciones del subgrupo 1 – Vessela Mavrodieva (APHIS-PPQ) |
| Decisiones: | Se ofrecieron las siguientes actualizaciones: <ul style="list-style-type: none">• El subgrupo revisó los 5 protocolos existentes, incluidos 3 con PCR convencional y 2 con RT-PCR.• Todos los laboratorios participantes realizarán los cinco protocolos seleccionados.• Todos los ensayos de la prueba del anillo serán pruebas directas de semillas y no en tejidos vegetales a partir de semillas germinadas.• El GE necesitará preparar una lista del equipo necesario para realizar las pruebas.• El grupo necesita presentar información adicional acerca |

| | |
|-------------|--|
| | <p>de las pruebas del anillo a los laboratorios participantes antes de que estos confirmen su interés en participar en dichas pruebas.</p> <ul style="list-style-type: none"> • El subgrupo está discutiendo los costos relacionados con los ensayos y la posibilidad de compartirlos para disminuir el costo que le corresponda a cada laboratorio. • Cada país necesita presentar el costo de cada reacción por prueba. |
| Asunto 2 | Actualizaciones del subgrupo 2 – Geoffrey Dennis (APHIS-PPQ) |
| Decisiones: | <p>Se ofrecieron las siguientes actualizaciones:</p> <ul style="list-style-type: none"> • El subgrupo discutió los «materiales» que se utilizarán para las pruebas, entre ellos: <ul style="list-style-type: none"> ○ dos muestras analíticas utilizando blancos sintetizados ○ un lote de semilla con diagnóstico positivo ○ controles negativos de semilla de tomate y chile ○ control positivo para el proceso ○ dos controles negativos para el proceso ○ controles sin molde ○ calibrador de ARN para RT-PCR • Un laboratorio ha podido realizar los blancos sintetizados. • El subgrupo continúa trabajando en los detalles del diseño de validación. <p>Aspectos sobresalientes y notas adicionales:</p> <ul style="list-style-type: none"> • El presidente indicó que todo el grupo debería estar de acuerdo con todos los parámetros que presentaron ambos subgrupos. • El grupo convino que cada laboratorio participante que se seleccione realizará pruebas con los cinco protocolos seleccionados. • México informó que los laboratorios de su país con buena reputación en el ámbito internacional han confirmado su interés en participar en las pruebas del anillo, pero indicaron que se necesitaría asistencia financiera. • La DE indicó que la NAPPO puede brindar alguna ayuda financiera para las pruebas del anillo. La industria (ASTA y AMSAC) también indicó que tal vez ella pueda contribuir económicamente. • La DE solicitó un cálculo del financiamiento que se necesita para determinar con cuánto puede contribuir la NAPPO. • Muestras (materiales de prueba): <ol style="list-style-type: none"> 1. Muestra analítica con la adición del blanco y sin material de semillas; sin extracción ni trituración de semilla. Esto se necesitará para establecer una línea base y es lo que se denomina «muestra A». Esta muestra es ARN control de una semilla sana |

- en un plásmido o transcrito de ARN.
 - 2. Semilla de tomate positiva.
 - 3. Similar a la «muestra» pero en lugar de normalizarse con la secuencia blanco, se normalizará con una especie con reacción cruzada.
 - 4. Semilla de tomate negativa.
 - 5. Semilla de chile negativa.
- Tipos de controles según el ensayo que se utilice:
 - 1. Control positivo para el proceso – semilla positiva.
 - 2. Dos controles negativos para el proceso: uno con semillas de tomate y el otro con semillas de chile.
 - 3. Controles sin moldes.
 - 4. Calibrador para el ensayo de RT-PCR. Este consiste en ARN purificado y un amortiguador para mantener al ARN estabilizado.
- Números de muestras
 - 1. Tomando en cuenta que participarán 8 laboratorios y cada uno de ellos realizará pruebas con cada uno de los 5 ensayos, el total aproximado por laboratorio es de 299 reacciones o cinco placas de 96 pozos. Esto lo realizarán dos técnicos por laboratorio.
 - 2. El número de muestras es importante para calcular los costos para realizar las pruebas.
 - 3. El número de extracciones del ARN es mucho menor que el número de reacciones de PCR.
 - 4. Geoffrey Dennis compartirá una hoja de cálculo con el GE con información detallada sobre los números y tipos de muestras.
- Número de laboratorios y técnicos necesarios por laboratorio. Geoffrey Dennis indicó que:
 - 1. Ocho laboratorios es el número mínimo que se espera según las normas internacionales. El número es importante para calcular la reproducibilidad y selectividad de la prueba.
 - 2. Cualquier cantidad inferior a 8 disminuye el poder estadístico.
- Laboratorios en cada país
 - 1. **EE. UU.:** se identificaron dos laboratorios públicos interesados en participar, pero también hay interés de los laboratorios privados. EE. UU. puede tener de 3 a 5 laboratorios.
 - 2. **México:** Confirmó dos laboratorios de investigación y el laboratorio del Centro Nacional de Referencia, con un total de 3 laboratorios.
 - 3. **Canadá:** Confirmó tres laboratorios: dos laboratorios de la ACIA y uno de la Universidad de Guelph.
 - 4. Canadá indicó que cabe resaltar que si un

| | |
|-----------|---|
| | <p>laboratorio privado participa en las pruebas del anillo, este debería estar acreditado según las normas de la ISO.</p> <ol style="list-style-type: none"> 5. México indicó que es preferible si el GE no considera a los laboratorios privados en la primera etapa de este proyecto, pero está de acuerdo que en el futuro, cuando se puedan considerar a los laboratorios privados, es esencial que estén acreditados conforme a la norma de la ISO. 6. Todos los laboratorios de EE. UU. están acreditados y forman parte del Sistema Nacional de Sanidad de las Semillas (National Seed Health System), ya sean laboratorios privados o del gobierno. <ul style="list-style-type: none"> • Participación de laboratorios que se encuentren fuera de la región de la NAPPO <ol style="list-style-type: none"> 1. EE. UU. indicó que los laboratorios en Australia y Nueva Zelanda también podrían participar si los países de la NAPPO los aceptan. Si los laboratorios de estos países participan en las pruebas del anillo, ellos no necesitarían financiamiento de la NAPPO. 2. Los miembros del GE acordaron que debería permitirse la participación de un laboratorio privado acreditado por la ONPF en las pruebas del anillo. 3. Canadá no tiene objeción con la participación de laboratorios que se encuentren fuera de la región de la NAPPO. La participación de otros laboratorios beneficiará la confiabilidad de las pruebas del anillo, pero los aspectos logísticos relacionados con esta presentarían un problema, por ejemplo, la preparación y distribución de muestras. La inclusión de otros laboratorios también aumentaría los costos. 4. México no tiene objeción con la participación de laboratorios que se encuentren fuera de la región de la NAPPO, pero indicó que es importante que los laboratorios estén acreditados por las entidades correspondientes (ONPF). 5. La participación de laboratorios que se encuentren fuera de la región de la NAPPO puede dar lugar a una colaboración multirregional. 6. Se necesitará un comunicado oficial si van a participar otros laboratorios fuera de la región. El GE presentará una recomendación para consideración del Comité Ejecutivo de la NAPPO. |
| Asunto 3: | Próxima reunión |

| | | |
|---------------------------|--|--------------|
| Decisiones: | El GE convino en que la próxima reunión será una reunión conjunta de los subgrupos 1 y 2. Se programará una reunión con todo el grupo posterior a la reunión del SG1 y del SG2. | |
| Otros asuntos: | Consenso del GE | |
| Decisiones: | <p>Los miembros del GE estuvieron de acuerdo con los siguientes puntos:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Protocolos seleccionados (5). 2. Las muestras y los controles que se han de utilizar para los 5 protocolos seleccionados. 3. Los laboratorios que se seleccionen realizarán pruebas con los cinco protocolos. 4. Los laboratorios participantes deberían estar acreditados por la entidad fitosanitaria respectiva. 5. Los laboratorios que se encuentren fuera de la región de la NAPPO pueden participar en las pruebas del anillo pero necesitan estar acreditados por la ONPF. 6. El GE debería proponer la participación de laboratorios que se encuentren fuera de la región de la NAPPO y estar autorizada por el CE de la NAPPO. 7. Una vez autorizada la participación por el CE de la NAPPO, los laboratorios participantes que se encuentren fuera de la región de la NAPPO recibirán un comunicado de la NAPPO. | |
| Próximos pasos | | |
| Responsable | Acciones | Fecha |
| | | |
| Próxima reunión | | |
| Lugar: | Video conferencia en la plataforma Zoom | |
| Fecha: | 14 de abril de 1:00 a 2:00 p. m. hora del Este | |
| Asuntos propuestos | | |
| 1. | | |