

4791
/ OA
RM

**Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria
FONDO DE PROMOCIÓN DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA**

**CONVENIO DE VINCULACION TECNOLÓGICA
Entre INIA y la Universidad de la República**

POR UNA PARTE: el Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, (en adelante INIA), con domicilio a estos efectos en Ruta 50 Km 11, departamento de Colonia, representado en este acto por el Dr. Alvaro Roel en su calidad de Presidente, **y POR OTRA PARTE:** la Universidad de la República, a través de la Facultad de Ciencias (en adelante, el Ejecutor), con domicilio en Iguá 4225, Montevideo, representado en este acto por el Dr. Rodrigo Arocena, acuerdan en celebrar el presente Convenio:

1°. Antecedentes

I.- El INIA realizó un llamado a interesados en presentar propuestas de investigación, relativas al sector agropecuario, a ser financiado a través del Fondo de Promoción de Tecnología Agropecuaria (en adelante, FPTA) de dicho Instituto.

II.- El Ejecutor, en respuesta a dicho Llamado, presentó su Propuesta.

III.- Por resolución de la Junta Directiva de INIA N° 4203/13, de fecha 6 de noviembre de 2013, luego de realizar un análisis exhaustivo de la pertinencia y calidad de las propuestas formuladas para el llamado FPTA 2012, se resolvió aprobar el financiamiento del Proyecto del Ejecutor.

IV.- En su mérito, procede formalizar el presente Convenio de Vinculación Tecnológica.

2°. Objeto

El INIA y el Ejecutor se vinculan con el propósito de llevar a cabo el Proyecto conjunto cuyo título es ***"Incorporación de técnicas moleculares y bioinformáticas en avicultura para la investigación epidemiológica y el diseño de estrategias de control y prevención de Gumboro y Bronquitis Infecciosa"***, (en adelante "el proyecto") conforme a la Propuesta presentada (Anexo 1) y ajustado a lo expresado en el presente Convenio. Los Términos de Referencia del Técnico Responsable del Proyecto (Anexo 2) y el Acuerdo con Terceros (Anexo 3), se adjuntan y forman parte de este Convenio.

3°. Monto total del Proyecto

El INIA aportará la suma de **U\$S 183.222** (dólares americanos ciento ochenta y tres mil, doscientos veintidós), con recursos provenientes del Fondo de Promoción de Tecnología Agropecuaria, creado por el artículo 18 de la ley 16.065 de 6 de octubre de 1989 y en la Resolución N° 89/91 de 30 de julio de 1991 de la Junta Directiva del INIA. Un 10 % (diez por ciento) de este monto, se destinará al financiamiento de gastos de análisis, supervisión y seguimiento del Proyecto.

4. Plazo

El presente Convenio tendrá una vigencia de **36** meses a partir del día **1° de Marzo de 2014**. En caso de no finalizar el proyecto en el período estipulado, la posibilidad de su prórroga será prerrogativa del INIA. A los efectos, el INIA evaluará la ejecución global técnico- financiera del mismo una vez finalizado el plazo previamente establecido. La prórroga que eventualmente pueda disponerse por parte de INIA no excederá el término de seis meses.

5°. Contraparte técnica del INIA

El INIA integrará una Contraparte constituida por:

- La Gerencia Programática-Operativa, que nucleará la información y documentación respecto al avance y logros del Proyecto, y coordinará la ejecución técnica con la financiera.
- La Gerencia de Administración y Finanzas, que analizará y evaluará la administración y ejecución financiera del Proyecto.
- Uno o más especialistas en el área de investigación objeto de este Convenio, que supervisarán y evaluarán la marcha e informes técnicos del Proyecto.

6°. Obligaciones del Ejecutor

El Ejecutor declara conocer y aceptar todas condiciones, requisitos y procedimientos del Fondo de Promoción de Tecnología Agropecuaria y, en particular, se obliga a:

- I. Cumplir el objetivo general y los objetivos específicos, desarrollar las actividades programadas y alcanzar sus resultados esperados, de acuerdo al documento del Proyecto y cronograma de ejecución técnico y presupuestal del mismo.
- II. Tomar los recaudos necesarios y ponerlos a disposición de INIA para que éste pueda proceder al registro o protección de los productos y o procesos susceptibles de amparo jurídicos, que eventualmente puedan resultar de la investigación o estudio objeto de este Convenio.
- III. Preparar y entregar a INIA los documentos que a continuación se indican, los que serán analizados para su aprobación por la Contraparte técnica mencionada en la cláusula 5ta:
 - a) Un informe de avance semestral al 30 de Junio y 31 de Diciembre de cada año, donde se detallará el estado de ejecución del proyecto. Deberán incluirse en el mismo los avances obtenidos hasta ese momento, con las observaciones que se consideren pertinentes.
 - b) Un Informe Final del Proyecto, según pautas fijadas por INIA, que recoja toda la información científica generada y los resultados del Proyecto, sin perjuicio de los datos e informes parciales que durante la ejecución del mismo se recaben.
 - c) Preparar y entregar a INIA toda la información requerida para ejercer los derechos de propiedad intelectual y proceder al registro o protección de los productos y o procesos que puedan resultar de la investigación o estudio objeto de este convenio.
 - d) Un documento para publicar, de acuerdo al formato propuesto por INIA. El mismo deberá ser presentado en forma conjunta con el Informe Final. La entrega de este artículo y el Informe Final serán condición previa para el último desembolso del proyecto. El INIA podrá publicar el mencionado documento con cargo al Fondo de Promoción de Tecnología Agropecuaria.
- IV. Rendir cuentas por los fondos recibidos de INIA, de conformidad con lo previsto en la cláusula 8ª.

3
mm

- V. Recabar el compromiso de los terceros previstos en su propuesta (instituciones, tesis, evaluadores de tesis, consultores u otras figuras vinculados al Proyecto), mediante la firma del Compromiso que se adjunta al presente Convenio como Anexo 3, debiéndolo entregar a INIA a efectos de habilitar los desembolsos.
- VI. En caso de requerir la participación de un tercero no previsto en la propuesta, el Ejecutor deberá recabar la previa aceptación expresa de INIA. Una vez aprobado, el Ejecutor deberá recabarle su compromiso mediante la firma del Anexo 3. El incumplimiento de alguno de estos requisitos habilita a INIA a suspender los desembolsos hasta tanto los mismos sean subsanados.

7°. Seguimiento del Proyecto

El INIA queda expresamente facultado para:

- A. Reunir periódicamente a los responsables de la ejecución de la o las organizaciones intervinientes en el Proyecto, para que presenten y examinen los trabajos en marcha o cuya ejecución se propone.
- B. Efectuar el seguimiento, control y evaluación de las actividades previstas y establecer el grado de avance del Proyecto. Para ello, podrá solicitar información referida a resultados alcanzados y objetivos cumplidos, ejecución financiera y cumplimiento del programa presupuestal, disponibilidad de fondos, así como cualquier otra información que considere pertinente sobre el desarrollo del mismo.

8°. Administración y ejecución financiera

Constituyen el marco financiero del Convenio, los procedimientos que con relación al programa presupuestal, a continuación se mencionan.

- A. Administrador. Previo a efectuarse los desembolsos por parte de INIA, el ejecutor deberá identificar a la persona o entidad responsable de la administración de los fondos que le sean otorgados como consecuencia del presente Convenio.
- B. Desembolsos
- En oportunidad de cada desembolso que efectúe el INIA, las contrapartes librarán el recibo oficial correspondiente.
 - El INIA desembolsará un 85% del monto total aprobado al Proyecto. Constituirá un Fondo Rotatorio para cubrir los gastos relacionados con la ejecución del Proyecto. El mismo no excederá del 15% sobre el monto aprobado. Para obtener el desembolso de los recursos remanentes, el Ejecutor deberá presentar las correspondientes rendiciones finales de la utilización del Fondo Rotatorio. El INIA desembolsará hasta la suma debidamente rendida presentada en tal instancia. La fecha límite correspondiente a este último desembolso será determinada por I.N.I.A..
 - El INIA podrá ampliar o renovar el Fondo Rotatorio si así se le solicita justificadamente, a medida que se utilicen los recursos; asimismo podrá reducirlo o cancelarlo en el caso que determine que los recursos suministrados exceden las necesidades del Proyecto.
 - Tanto la constitución como la renovación del Fondo Rotatorio se considerarán desembolsos para los efectos de este Contrato.
 - En los proyectos en donde se requiera la participación de terceros, INIA se reserva el derecho a no efectuar los desembolsos hasta tanto el Ejecutor no remita el Compromiso firmado por esos terceros (Anexo 3). Del mismo modo, en caso de que el Ejecutor requiera la participación de terceros no previstos en la Propuesta, INIA

40A
mm

podrá suspender los desembolsos hasta tanto no se cuenta con la aprobación expresa y con la firma del Compromiso (Anexo 3).

- Se podrá suspender los desembolsos al Ejecutor, hasta tanto no se dé cumplimiento a lo dispuesto con relación a las obligaciones del mismo, establecidas en las cláusulas 6ª y en la presente, de este Convenio, incluyendo la justificación en forma razonable del uso de fondos de este financiamiento. Asimismo, será causal de suspensión de desembolsos, el surgimiento de circunstancias extraordinarias que a juicio de INIA, hagan improbable que el Ejecutor pueda cumplir las obligaciones contraídas en dicho Convenio, o que no permitan satisfacer los propósitos que se tuvieron en cuenta al celebrarlo.
- A menos que se haya acordado con el Ejecutor, expresamente y por escrito prorrogar los plazos para efectuar los desembolsos, la porción del Fondo que no hubiere sido comprometida o desembolsada, según sea el caso, dentro del correspondiente plazo, quedará automáticamente cancelada.
- El INIA podrá efectuar desembolsos a su vez, mediante pagos por cuenta de los Ejecutores y de acuerdo con él, por sumas no inferiores a U\$S 5.000 (dólares americanos cinco mil), o mediante otro método que las partes acuerden por escrito.

C. Rendiciones de cuentas

- Las rendiciones de cuentas de los fondos provistos por el Financiamiento y los Ejecutores, que se presenten durante la ejecución del Proyecto, deberán cumplir con las formalidades establecidas.
- Al 30 de Junio y 31 de Diciembre de cada año, el ejecutor deberá presentar un estado financiero, donde se detallará la ejecución presupuestal, conjuntamente con la rendición de cuentas completa a esa fecha. El plazo para la presentación de este informe, que resulta indispensable para el trabajo de evaluación de la auditoría externa, será de 20 días corridos.
- Los eventuales cambios de rubros en el presupuesto originalmente aprobado, deben ser debidamente justificados y obtener aprobación por la Contraparte, previamente a su consideración en la rendición de cuentas respectiva.

D. Auditorías

El INIA podrá disponer la realización de auditorías financiero - contables y de gestión de los proyectos, si así lo entendiere conveniente.

E. Responsabilidad administrativa en materia financiero - contable.

El Ejecutor declara que para la implementación de las actividades en materia financiero-contable que conlleva el presente Convenio de vinculación tecnológica observará las disposiciones legales y reglamentarias vigentes en la materia, particularmente el Texto Ordenado de Contabilidad y Administración Financiera (TOCAF) y Normas de Conducta en la Función Pública (Decreto 30/003). Cualquier apartamiento a estas disposiciones que pudiera eventualmente producirse será de exclusiva responsabilidad del Ejecutor

F. Bienes adquiridos en el marco del Proyecto.

Los bienes que se financien con recursos provenientes de fondo de Promoción de tecnología Agropecuaria, se dedicarán exclusivamente para los fines del Proyecto, y deberán ser adquiridos a nombre de INIA, y serán propiedad de éste. La Junta Directiva del INIA tiene la potestad de transferir los mismos al Ejecutor del Proyecto, a título comodato u otro que convengan, si así lo entendiere conveniente, una vez finalizado y aprobado el informe final y entregado el artículo para publicar referido en la cláusula 6.III.d. y el informe de cierre elaborado por las Contraparte.

9°. Responsabilidades laborales

504
RUI

El presente convenio no implicará, de ninguna manera, el reconocimiento de derechos laborales, sociales, previsionales, de la seguridad social ni ningún otro a favor de los recursos humanos por una de las partes con relación a la otra, de manera que en todo momento los recursos humanos involucrados en la ejecución del Proyecto mantendrán su relación contractual solamente con la entidad signataria del presente con la cual establecieron originalmente su vinculación, aún en caso de desarrollar tareas de investigación en lugares físicos pertenecientes a la otra, por lo cual las partes se comprometen a mantenerse recíprocamente indemnes en estos temas. Para el caso que la persona se desempeñare originalmente en ambas entidades, su relación para con cada una de ellas continuará en forma independiente, no implicando este acuerdo modificación alguna al respecto.

En mérito a lo precedentemente expresado, será obligación exclusiva del Ejecutor, atender los requerimientos de los recursos humanos que por su cuenta implique en la ejecución del Proyecto, ya sean personales o del Banco de Previsión Social, Ministerio de Trabajo y Seguridad Social, Banco de Seguros del Estado o de cualquier otro organismo público y/o privado.

Los recursos humanos que el Ejecutor requiera para la realización del proyecto, deberá ser debidamente documentada a través de los instrumentos legales que correspondan, registrando en términos expresos todas las obligaciones contenidas en el presente Convenio, en especial la confidencialidad y protección de los resultados. Esta documentación deberá acreditarse ante INIA en oportunidad de rendir gastos por este concepto.

El INIA se reserva el derecho de exigir al Ejecutor, antes de efectuar la entrega de cualquier suma que le corresponda bajo el presente Convenio, que justifique que sus integrantes se encuentran al día en el pago de sus obligaciones laborales y de seguridad social. En caso que el Ejecutor no justifique lo antedicho dentro del plazo de cinco días corridos contados desde el pedido formulado por INIA, éste tendrá derecho a retener la suma que corresponda hasta la justificación que deberá hacer el Ejecutor a satisfacción de INIA.

10°. Participación de terceros

Fuera de los casos previstos en la Propuesta, el Ejecutor no podrá subcontratar ni ceder, total ni parcialmente, ninguna de las obligaciones que son puestas a su cargo en virtud del presente contrato, salvo que cuenta con el previo consentimiento expreso de INIA.

En todos los casos en que el Ejecutor requiera la participación de un tercero (ya sea por estar previsto en la propuesta o por ser admitido por INIA posteriormente), será obligación del Ejecutor recabarle la ratificación del presente Convenio, mediante la firma del Compromiso que se adjunta como Anexo 3. La omisión de dicho requisito habilita a INIA a retener los desembolsos al Ejecutor, hasta tanto se cumpla en formalizar dicha ratificación.

11°. Rescisión

El presente Convenio podrá ser rescindido de común acuerdo entre las partes.

El INIA podrá rescindir, en forma administrativa y sin necesidad de declaración judicial, el convenio de vinculación tecnológica cuando se hubieren constatado incumplimientos o violaciones de cualquiera de las cláusulas establecidas, previa comunicación escrita y luego que la otra parte no hubiere remediado dicho incumplimiento dentro de los treinta días de recibida la comunicación del mismo por medio fehaciente.

60
mu

En caso de verificarse la rescisión del presente Convenio de Vinculación Tecnológica los árbitros (clausula 18) previstos en el presente Convenio, analizará y laudará respecto a las compensaciones, daños y perjuicios, así como respecto a cualquiera otra situación no prevista en el Convenio que amerite ser laudada a consecuencia de la rescisión.

12°. Propiedad intelectual

Los resultados, productos y/o procesos que puedan obtenerse en el Proyecto objeto de este Convenio, susceptibles del amparo jurídico como tales, así como la titularidad, distribución y gastos, ha sido acordada entre las partes de la siguiente forma: 50% (cincuenta por ciento) para cada parte.

13°. Difusión de la información

El INIA tendrá derecho a una licencia sin cargo, no exclusiva e irrevocable en todos los países para traducir, reproducir y distribuir públicamente artículos científicos, informes y libros técnicos que resulten directamente del proyecto al que refiere el presente Acuerdo. Las copias distribuidas públicamente de los trabajos protegidos por derechos de autor y elaborados conforme a la presente disposición incluirán los nombres de los autores de dicho trabajo y demás participantes del proyecto, a menos que éstos expresamente soliciten no ser nombrados.

En el caso que el Ejecutor realice la difusión de la investigación a través de cualquier medio tanto oral como escrito (conferencias, docencia, ponencias en congresos, publicaciones, etc.) deberá mencionar en forma expresa la identificación de las fuentes de financiamiento del proyecto. La información a difundir deberá ser previamente revisada por el INIA, el cual si no estuviere de acuerdo con su contenido, podrá solicitar las modificaciones o aclaraciones necesarias y exigir que se mencionen las fuentes de financiamiento en forma destacada.

14°. Confidencialidad

Las Partes se obligan a manejar con absoluta reserva toda la información referida al Proyecto y aquella de propiedad de cada Parte que sea entregada en calidad de confidencialidad. A tal efecto, el Ejecutor exigirá las mismas condiciones a terceros participantes como ser instituciones, tesis, evaluadores de tesis, consultores u otras figuras vinculados al Proyecto, mediante la firma del Compromiso adjunto al presente convenio (Anexo 3).

Durante la vigencia de este Convenio de Vinculación Tecnológica y luego de la terminación del mismo, el Ejecutor se compromete a mantener en reserva y no divulgar por cualquier medio (oral u escrito), la existencia de productos, subproductos o procesos que puedan ser apropiados, patentados o comercializados, con valor económico surgidos de la actividad del Proyecto, salvo que INIA expresamente lo autorice.

15°. Exoneración de responsabilidad

El Ejecutor se obliga a indemnizar y mantener indemne a INIA, así como a sus directores y empleados, de cualquier y toda acción, amenaza de acción, demanda o procedimiento, de cualquier naturaleza, que pueda efectuar cualquier persona física o jurídica, pública o privada, que surja como resultado de su actuación bajo el presente convenio y de la realización del Proyecto, contra cualquier y todo reclamo, gastos, pérdidas o daños

(incluido los honorarios razonables de los abogados) que puedan resultar en virtud de acciones u omisiones del Ejecutor. La presente obligación comprende -principalmente y sin que signifique limitación alguna-, todo reclamo de índole laboral de parte de los que participen en las actividades del Proyecto, como de cualquier otra persona física o jurídica vinculada o no al Proyecto, así como de cualquier reclamo que pudiera resultar a consecuencia de cualquier controversia sobre la titularidad de las innovaciones.

En tal hipótesis el INIA deberá: (i) enviar inmediatamente una notificación por escrito al Ejecutor en la que se indica la existencia del evento objeto de indemnización, (ii) proporcionar toda la información necesaria así como cooperar y asistir en la medida que ello sea razonablemente necesario para la defensa en dicha acción o reclamo, y (iii) autorizar al Ejecutor a defender o contestar dicha acción o reclamo, si lo entiende adecuado.

16°. Alcance

En cualquier circunstancia o hecho que tenga relación con este Convenio, las partes mantendrán la individualidad y autonomía de sus respectivas estructuras técnicas y administrativas y asumirán particularmente, en consecuencia, las responsabilidades consiguientes.

17°. Sanciones.

En caso de inobservancia de las obligaciones contraídas por parte de la entidad Ejecutora y/o del Técnico Responsable del Proyecto y/o de cualquier recurso humano del que se valga para la ejecución del proyecto, determinará la suspensión inmediata de los desembolsos (Cláusula 8ª literal B) y la rescisión del convenio prevista en la Cláusula 11ª. Todo ello sin perjuicio de las demás indemnizaciones que procedan de acuerdo con la normativa general y al Reglamento del FPTA

18°. Arbitraje

Toda cuestión o divergencia, reclamación o duda que surja entre las partes, referida a la interpretación, ejecución, resolución de este contrato, o que en cualquier forma se relacione con él, directa o indirectamente, será solucionada por medio de árbitros, amigables componedores, de acuerdo al procedimiento establecido en el Libro II Título VII del Código General del Proceso.

19°. Fuerza Mayor

Ninguna de las partes será responsable frente a la otra por retrasos o incumplimientos en cualquiera de las obligaciones impuestas por el presente Convenio, cuando estos incumplimientos se hubieren originados por causa de fuerza mayor fuera del control razonable y sin que medie omisión o negligencia de alguna de ellas.

20°. Comunicaciones

Todas las comunicaciones entre las partes referentes a este Convenio se efectuarán por escrito, por correo electrónico, telegrama colacionado, o carta certificada con aviso de retorno, tomándose por cumplidas cuando su destinatario las haya recibido en los domicilios denunciados en el exhorto. Las comunicaciones por fax se considerarán cumplidas si son legibles y la máquina receptora ha acusado su recibo.

BOE
PM

21°. Competencia

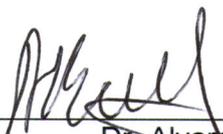
En caso de controversias judiciales, las partes acuerdan quedar sometidas a la competencia de los Tribunales y Jueces del departamento de Montevideo.

22°. Contenido del Convenio

En todo lo no previsto en el presente Convenio, primará lo previsto en el Reglamento Operativo para el FPTA 2012 y las Bases del Llamado FPTA 2012 y, en su defecto, lo previsto en las Propuesta del Ejecutor, documentos que las partes admiten conocer. Existiendo contradicciones entre lo dispuesto en dichos instrumentos, primará lo previsto en el presente Contrato, en el Reglamento, en las Bases y en las Propuestas, conforme a dicho orden de prelación

23°. Otorgamiento

Para constancia se firman dos ejemplares de igual tenor en Montevideo, a los 12 días del mes de mayo de 2014.-



Dr. Alvaro Roel
Presidente
I.N.I.A.



Dr. Rodrigo Arocena
Rector
UDELAR



Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria
URUGUAY

Handwritten signature

FONDO DE PROMOCIÓN DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (FPTA)

10.102

Identificación del Proyecto

Convocatoria	Llamado FPTA 2012
Código Técnico	FPTA_319
Título del Proyecto	Incorporación de técnicas moleculares y bioinformáticas en avicultura para la investigación epidemiológica y el diseño de estrategias de control y prevención de Gumboro y Bronquitis Infecciosa
Resumen Publicable del Proyecto	Gumboro y bronquitis son enfermedades virales que generan graves pérdidas en la industria avícola mundial. Ambas patologías están presentes en Uruguay por lo que es necesario conocer su estado de situación local y diseñar planes de control y prevención ajustados a la realidad nacional. Durante este proyecto se obtendrá información epidemiológica para el control de estas enfermedades mediante el desarrollo y aplicación de herramientas de análisis (genéticas, serológica y bioinformáticas) de los virus de Gumboro (IBDV) y bronquitis (IBV). Las actividades se realizarán en el laboratorio de la Sección Genética Evolutiva (Facultad de Ciencias-Uruguay) y en el Poultry Diagnostic and Research Laboratory (Mississippi State University-USA). Para determinar el escenario epidemiológico actual, las muestras serán inicialmente analizadas con métodos moleculares ya estandarizados por el grupo de investigación (RT-PCR y secuenciación, RT-PCR/RFLP, múltiplex RT-PCR/RFLP y PCR en tiempo real). Estas técnicas se ajustarán para las variantes que se detecten durante la investigación y se seleccionarán cepas para su secuenciación genómica completa. Los resultados serán analizados para deducciones epidemiológicas y evolutivas. Los estudios antígenicos se realizarán utilizando paneles de anticuerpos monoclonales y ensayos de virus neutralización para obtener una caracterización más detallada de los virus y establecer si existe protección cruzada con las vacunas existentes en el mercado. Se realizará el diseño, desarrollo e implementación de un servidor web con herramientas bioinformáticas (alineamientos, reconstrucciones filogenéticas, comparaciones de cepas de campo y vacunas mediante matrices de similitud, correlaciones genéticas y fenotípicas) orientadas a la gestión de información y al análisis de datos de nuevos brotes. La disponibilidad de este tipo de conocimiento y tecnologías brindará ventajas competitivas a la industria avícola nacional y colaborará en el proceso de acceso a los mercados internacionales cada vez más exigentes.
Líder del Proyecto	Ruben Gustavo Pérez Crossa
Fecha de Inicio	01/01/2014
Fecha de Fin	31/12/2016
Presupuesto FPTA (US\$)	164.900,00

Institución Ejecutora

Institución	Facultad de Ciencias
Dirección	Iguá 4225
Teléfono	25258618
E-mail	rperez@fcien.edu.uy
Celular	098910840
Aporte Financiero del Ejecutor (US\$)	0.00

Aporte Valorizado del Ejecutor	Valor Estimado (US\$)

Instituciones Asociadas

Institución	MSU
Tipo	Participante
Aporte Financiero del Asociado (US\$)	0,00

Aporte Valorizado del Asociado	Valor Estimado (US\$)
Durante el proyecto, un integrante de nuestro grupo de investigación realizará un pasantía en el Poultry Research and Diagnostic laboratory de la Universidad de Mississippi, Estados Unidos. Este laboratorio cubrirá los gastos de fungibles, uso de equipos y personal técnico que se requiera durante la pasantía (se incluye carta de aceptación de pasantía y gastos implicados).	7.000,00

INIA Dirección Nacional
INIA La Estanzuela
INIA Las Brujas
INIA Salto Grande
INIA Tacuarembó
INIA Treinta y Tres

Andes 1365 P. 12, Montevideo
Ruta 50 Km. 11, Colonia
Ruta 48 Km. 10, Canelones
Camino a l Terrible, Salto
Ruta 5 Km. 386, Tacuarembó
Ruta 8 Km. 281, Treinta y Tres

Tel: 598 2902 0550
Tel: 598 4574 8000
Tel: 598 2367 7641
Tel: 598 4733 5156
Tel: 598 4632 2407
Tel: 598 4452 2023

Fax: 598 2902 3633
Fax: 598 4574 8012
Fax: 598 2367 7609
Fax: 598 4732 9624
Fax: 598 4632 3969
Fax: 598 4452 5701

iniadn@dn.inia.org.uy
iniate@te.inia.org.uy
inia_lb@lb.inia.org.uy
inia_sg@sg.inia.org.uy
iniatbo@tb.inia.org.uy
iniatt@tyt.inia.org.uy

FONDO DE PROMOCIÓN DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (FPTA)**Equipo Técnico**

Investigador	Institución	Especialidad
Martín Hernández	Facultad de Ciencias	Enfermedades de los animales
Gonzalo Tomás	Facultad de Ciencias	Enfermedades de los animales
Ana Marandino	Facultad de Ciencias	Enfermedades de los animales
Yanina Panzera	Facultad de Ciencias	Enfermedades de los animales
Diego Hernández	Facultad de Ciencias	Enfermedades de los animales
Gregorio Iraola	Facultad de Ciencias	Enfermedades de los animales
Pedro Villegas	Facultad de Ciencias	Enfermedades de los animales
Alejandro Banda	MSU	Enfermedades de los animales

INIA Dirección Nacional
INIA La Estanzuela
INIA Las Brujas
INIA Salto Grande
INIA Tacuarembó
INIA Treinta y Tres

Andes 1365 P. 12, Montevideo
Ruta 50 Km. 11, Colonia
Ruta 48 Km. 10, Canelones
Camino a I Terrible, Salto
Ruta 5 Km. 386, Tacuarembó
Ruta 8 Km. 281, Treinta y Tres

Tel: 598 2902 0550
Tel: 598 4574 8000
Tel: 598 2367 7641
Tel: 598 4733 5156
Tel: 598 4632 2407
Tel: 598 4452 2023

Fax: 598 2902 3633
Fax: 598 4574 8012
Fax: 598 2367 7609
Fax: 598 4732 9624
Fax: 598 4632 3969
Fax: 598 4452 5701

iniadn@dn.inia.org.uy
iniale@e.inia.org.uy
inia_lb@lb.inia.org.uy
inia_sg@sg.inia.org.uy
iniatbo@t.inia.org.uy
iniatt@tyt.inia.org.uy

FONDO DE PROMOCIÓN DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (FPTA)

10

Verificables Generales del Proyecto (Productos 1, 2, 4 Y 5)

Producto:	Se generarán metodologías específicas para la caracterización serológica de las variantes virales identificadas en Uruguay.
Tipo:	1-Producción Científico-Técnica
Categoría:	1.6-Producción Técnica
Indicador:	1.6.2-Informes
Año:	2016
Semestre:	2

Componentes Relacionados:

2. Desarrollo de metodologías de caracterización genética y antigénica para cepas y variantes de IB

Producto:	Se creará un manual de las técnicas estandarizadas y validadas en el laboratorio de Uruguay y en un laboratorio extranjero (Estados Unidos)
Tipo:	2-Comunicación y Transferencia de Tecnología
Categoría:	2.4-Publicaciones de Divulgación
Indicador:	2.4.6-Hola de divulgación
Año:	2016
Semestre:	2

Componentes Relacionados:

3. Metodología integral, estandarizada y validada, de diagnóstico y caracterización genética y anti

Producto:	Se creará un servidor web (web server) que estará disponible on line. Esta plataforma permitirá el análisis automático de secuencias de los virus IBDV e IBV. Proporcionará resultados sobre la clasificación del virus, similitud con cepas vacunales, sugerencia de tratamientos, bibliografía, etc.
Tipo:	2-Comunicación y Transferencia de Tecnología
Categoría:	2.5-Espacios interactivos al público
Indicador:	2.5.1-Stand
Año:	2016
Semestre:	2

Componentes Relacionados:

4. Creación de un servidor web para la gestión de la información y el análisis de datos de epidemio

Producto:	Se determinará cuales vacunas generan mejor protección ante las variantes de campo de IBDV e IBV circulantes en Uruguay. Esta información integrará los conocimientos obtenidos a partir de la caracterización molecular (genética y antigénica).
Tipo:	1-Producción Científico-Técnica
Categoría:	1.5-Artículos técnicos de difusión
Indicador:	1.5.1-Publicaciones Técnicas
Año:	2016
Semestre:	2

Componentes Relacionados:

5. Propuesta de planes de control y prevención adaptados a las características genéticas/antigénica

6. Consolidación de un laboratorio de investigación y desarrollo biotecnológico de enfermedades avi

Producto:	Se formarán recursos humanos a nivel de grado, en técnicas moleculares aplicadas a la industria avícola.
Tipo:	4-Desarrollo del Capital Intelectual
Categoría:	4.4-Tesis / Monografías / Proyectos
Indicador:	4.4.1-De grado
Año:	2015
Semestre:	2

Componentes Relacionados:

1. Información actualizada del escenario epidemiológico de los virus de Gumboro y Bronquitis infec

2. Desarrollo de metodologías de caracterización genética y antigénica para cepas y variantes de IB

INIA Dirección Nacional
 INIA La Estanzuela
 INIA Las Brujas
 INIA Salto Grande
 INIA Tacuarembó
 INIA Treinta y Tres

Andes 1365 P. 12, Montevideo
 Ruta 50 Km. 11, Colonia
 Ruta 48 Km. 10, Canelones
 Camino a l Terrible, Salto
 Ruta 5 Km. 386, Tacuarembó
 Ruta 8 Km. 281, Treinta y Tres

Tel: 598 2902 0550
 Tel: 598 4574 8000
 Tel: 598 2367 7641
 Tel: 598 4733 5156
 Tel: 598 4632 2407
 Tel: 598 4452 2023

Fax: 598 2902 3633
 Fax: 598 4574 8012
 Fax: 598 2367 7609
 Fax: 598 4732 9624
 Fax: 598 4632 3969
 Fax: 598 4452 5701

iniadn@dn.inia.org.uy
iniale@le.inia.org.uy
inia_lb@lb.inia.org.uy
inia_sq@sq.inia.org.uy
iniatbo@tb.inia.org.uy
iniatt@tyt.inia.org.uy

FONDO DE PROMOCIÓN DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (FPTA)

4. Creación de un servidor web para la gestión de la información y el análisis de datos de epidemio

Producto:	Se formarán recursos a nivel de posgrado (Maestría con énfasis en técnicas moleculares aplicadas a Avicultura).
Tipo:	4-Desarrollo del Capital Intelectual
Categoría:	4.4-Tesis / Monografías / Proyectos
Indicador:	4.4.4-De doctorado
Año:	2016
Semestre:	1

Componentes Relacionados:

1. Información actualizada del escenario epidemiológico de los virus de Gumboro y Bronquitis infecc
2. Desarrollo de metodologías de caracterización genética y antigénica para cepas y variantes de IB
5. Propuesta de planes de control y prevención adaptados a las características genéticas/antigénica

Rubros y Códigos Agriscaris

	AE	Total
L73	100,00	100,00
Total	100,00	100,00

Contribución a la Resolución del Problema Identificado

Este Proyecto contribuirá a mejorar la sanidad de la industria avícola uruguaya mediante la obtención de un mayor conocimiento de los virus involucrados en la Enfermedad de Gumboro y en la Bronquitis Infecciosa, ambas de alto impacto en avicultura. La información recabada de estos virus se utilizará para diseñar planes de control adecuados a las cepas y variantes circulantes con el fin de disminuir su incidencia en la producción. Al finalizar el Proyecto se obtendrá una información amplia de los virus circulantes, de las vacunas más adecuadas para controlarlos, y se sugerirán metodologías diagnósticas y planes de control ajustados a la realidad uruguaya, y se creará un sistema informático de gestión y análisis de la información epidemiológica (servidor web). Este conocimiento será transferido a los diferentes sectores que integran la industria avícola para mejorar su eficiencia e incrementar la productividad. Creemos que la ejecución del Proyecto consolidará el acercamiento de la cadena productiva avícola a la utilización de tecnología actualizada para vigilancia, prevención, y mitigación de compromisos sanitarios generados por Gumboro y Bronquitis Infecciosa. Contribuir en la mejora sanitaria de la industria, generará un impacto económico y social positivo, y ratificará en el plano internacional a Uruguay como país inversor en políticas sanitarias y en el desarrollo de tecnología agropecuaria.

INIA Dirección Nacional
 INIA La Estanzuela
 INIA Las Brujas
 INIA Salto Grande
 INIA Tacuarembó
 INIA Treinta y Tres

Andes 1365 P. 12, Montevideo
 Ruta 50 Km. 11, Colonia
 Ruta 48 Km. 10, Canelones
 Camino a l Terrible, Salto
 Ruta 5 Km. 386, Tacuarembó
 Ruta 8 Km. 281, Treinta y Tres

Tel: 598 2902 0550
 Tel: 598 4574 8000
 Tel: 598 2367 7641
 Tel: 598 4733 5156
 Tel: 598 4632 2407
 Tel: 598 4452 2023

Fax: 598 2902 3633
 Fax: 598 4574 8012
 Fax: 598 2367 7609
 Fax: 598 4732 9624
 Fax: 598 4632 3969
 Fax: 598 4452 5701

iniadn@dn.inia.org.uy
iniale@le.inia.org.uy
inia_lb@lb.inia.org.uy
inia_sg@sg.inia.org.uy
iniatbo@t.inia.org.uy
iniatt@tyt.inia.org.uy

Descripción del Problema Identificado

Desde mediados del siglo pasado la producción mundial de proteína de origen animal para consumo humano se ha acelerado notoriamente, en particular las carnes provenientes de especies de ciclo productivo corto como cerdos y aves. De acuerdo al último informe incluido en la edición n° 55 del Statistical Yearbook-2010 elaborado por el departamento de estadísticas de la FAO (<http://unstats.un.org/unsd/syb/default.htm>), en la primer década del 2000 la producción de carne de ave experimentó un incremento muy superior al resto de las carnes, logrando un aumento de 37,19 % en este período respecto a un 17,67 % de la de cerdo, y un 10,83 % de la carne vacuna. El liderazgo en el comercio mundial alcanzado por la industria avícola se explica esencialmente por la creciente demanda de sus productos y el poderoso impulso productivo de esta cadena de valor (USDA, Informe Aves de Corral 2011). El desarrollo y la transferencia de tecnologías de producción, faena y elaboración han mejorado la inocuidad y eficiencia de los productos avícolas, satisfaciendo las exigencias de la demanda y estimulando el ensamble de unidades productivas a gran escala.

Durante los últimos siete años, el mayor crecimiento en la producción de aves se concentró principalmente en el continente Americano. El último ranking publicado de los mayores países productores de pollo revela que el 44 % de la producción mundial se centra en solo siete países de América que producen 38 millones de toneladas de carne de ave al año. El cono sur, formado por Brasil, Argentina, y Uruguay, representa el 33 % de esa producción, siendo Brasil el mayor exportador mundial de carne de pollo de los últimos años. El crecimiento de la industria avícola en los países sudamericanos se debe principalmente a los extraordinarios rendimientos de su producción agrícola que los suple de materias primas de excelente calidad a bajo costo, y a una mayor exportación por el gran incremento de la demanda mundial. Para enfrentar el constante crecimiento en la producción, la industria ha intensificado su incorporación de tecnología y promovido una integración vertical eficiente. De particular importancia ha sido el mejoramiento continuo de los sistemas de vigilancia sanitaria que permite mantener el buen estatus sanitario que ostentan varios países sudamericanos.

En los últimos años, Uruguay presentó un incremento en la producción avícola que acompaña el desarrollo de la región. De acuerdo a datos brindados por el Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (MGAP), a través de la Oficina de Programación y Política Agropecuaria (OPYPA) en su informe del Anuario 2012, la industria percibió un crecimiento de producción de casi 30 % en los últimos tres años (Errea, 2012). Aunque han aumentado las exportaciones en casi un 85 % en el período 2010-2012, el mercado interno aún absorbe más del 80 % de la producción nacional. Este mercado interno continúa creciendo y presenta un amplio margen de crecimiento potencial si se comparan los valores de consumo que se registran en los países vecinos; el consumo per cápita de pollo en Argentina es de 34.4 kg/habitante/año, en Brasil de 45,40 kg/habitante/año y en Uruguay de tan solo 22.6 kg/habitante/año (2012).

El crecimiento de la producción avícola uruguaya a través del aumento gradual en la colocación de sus productos en el mercado externo y por un estímulo en el consumo del mercado interno, sugiere que esta industria se encuentra frente a un importante momento de desarrollo que se debe acompañar con organización e incorporación tecnológica en el sector para aprovechar eficientemente las oportunidades que se presenten.

Problema identificado: sanidad, aspecto esencial para adquirir competitividad

Mantener y mejorar la competitividad de la cadena de producción avícola se presenta como una prioridad para continuar ofreciendo al mercado interno una fuente de proteína barata y de alta calidad, sustituta natural de la carne vacuna que cada vez abre más frentes de exportación. Agregar eficiencia a la cadena productiva también es importante para continuar desarrollando el perfil exportador de la industria avícola. Para acceder a mercados internacionales no se deben descuidar factores excluyentes relacionados a la competitividad de la cadena productiva y al sistema de reglamentaciones internacionales. El aspecto sanitario es considerado uno de los puntos de mayor impacto para la avicultura ya que no solo incide sobre los parámetros zootécnicos, sino que también puede convertirse en un fundamento de restricciones comerciales en el mercado internacional. Basta con ver cómo enfermedades zoonóticas causan distorsiones económicas y sociales a escala global. La epizootia de Influenza Aviar Altamente Patógena en el Sur de Asia, África y Europa, es un claro ejemplo de cómo un compromiso sanitario genera consecuencias directas en la economía mundial, especialmente por sus derivaciones en la salud pública. Además de los problemas sanitarios que generan restricciones comerciales inmediatas, como el de Influenza Aviar o la enfermedad de Newcastle, existen dolencias que provocan anualmente enormes pérdidas económicas. Enfermedades que están presentes persistentemente en la mayoría de los lugares del mundo en donde se practica la cría intensiva de aves, que no afectan la salud humana pero sí golpean constante y gravemente la productividad y economía de la industria avícola, son sin duda el mayor problema de la cadena de producción aviar. Esto fue expresado en la 63ra Sesión General de la Organización Mundial de Salud Animal (OIE), donde las enfermedades de Gumboro (IBD) y Bronquitis Infecciosa (IB) fueron declaradas como dos de las afecciones más problemáticas en la avicultura industrial (Etterdossi 1995). Los fundamentos principales de esta declaratoria se basan en que ambas enfermedades, una inmunodepresora (IBD) y otra respiratoria (IB), tienen distribución mundial y requieren un control permanente mediante el diseño de planes específicos para las cepas y variantes locales. Las pérdidas ocasionadas por estas enfermedades deben minimizarse en los costos productivos, siendo su control una oportunidad para incorporar ventajas comparativas en la producción nacional. Es necesario conocer el estado de situación local de ambas enfermedades y, mediante el desarrollo e implementación de metodologías que permitan la identificación y caracterización integral de los virus que la generan, diseñar planes de control y prevención ajustados a la realidad nacional.

Descripción técnica de los virus a ser investigados

El virus de Gumboro o de la Enfermedad Infecciosa de la Bursa (IBDV) es un virus desnudo del género Avibirnavirus de la familia Birnaviridae que presenta como blanco principal el tejido linfóide, especialmente la bursa de Fabricius. Es allí donde el virus se replica y destruye los linfocitos B inmaduros provocando estados de inmunodepresión e inmunosupresión en las aves (Hirai et al., 1981). El genoma viral posee dos segmentos de RNA doble hebra. El segmento genómico A (3,3 Kb) codifica la proteína no estructural VP5, y una poliproteína que genera la proteína de cápside VP2 – quien contiene los principales epítopos generadores de anticuerpos neutralizantes –, la proteasa viral VP4, y la proteína interna de la cápside VP3. El segmento genómico B (2,9 Kb) codifica la RNA polimerasa RNA dependiente VP1.

Se considera que existen tres cepas de IBDV, clásicas (cIBDV), variantes (valBDV), e hipervirulentas (vvIBDV), que circulan a nivel mundial. Las cepas clásicas y variantes generalmente provocan cuadros sub-clínicos de inmunodepresión en los que la enfermedad difícilmente se manifiesta pero permite la entrada de patógenos oportunistas que provocan su propio cuadro infeccioso. Este es el principal inconveniente que estas cepas ocasionan; es difícil establecer su presencia por medio de diagnóstico clínico ya que generalmente se camuflan bajo síntomas de otra enfermedad. Las pérdidas que causan son difíciles de estimar, dado que influyen constantemente en los parámetros zootécnicos durante mucho tiempo sin ser detectadas hasta que no se realizan los análisis específicos. Los vvIBDV causan graves estados de inmunodepresión y frecuentemente inmunosupresión con tasas de mortalidad por encima de 20 % y altos niveles de morbilidad en lotes de aves jóvenes. La velocidad de detección e identificación de estas cepas es crítica para evitar los daños productivos que generan. Desde su emergencia en 1987 han sido motivo de gran preocupación para la industria, causado pérdidas millonarias a través de su rápida dispersión mundial (van den Berg et al. 1991).

La clasificación de las cepas puede ser compleja ya que existen criterios patogénicos, antigénicos y genéticos para su caracterización (van den Berg et al., 2004). El criterio patogénico es poco utilizado porque, además de requerir análisis muy laboriosos y costosos, la patogenicidad es un carácter multifactorial que complica la interpretación de los resultados. La clasificación antigénica se realiza principalmente a través de ensayos de antígeno-captura enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA de captura de antígenos o AC-ELISA) utilizando diferentes paneles de anticuerpos monoclonales (Etterdossi et al., 1997; Fahey et al., 1991; Snyder et al., 1992). Según la reacción de los virus con los diferentes anticuerpos se logra una clasificación en grupos antigénicos, los cuales se corresponden con diferentes cepas de referencia, clásicas, variantes e hipervirulentas. Aunque estas metodologías se siguen utilizando, hay una clara tendencia hacia la utilización de criterios genéticos para la clasificación de IBDV. Las metodologías genéticas suelen ser rápidas, sensibles y fáciles de estandarizar. Además, brindan información de secuencias que permite analizar la epidemiología y evolución de los patógenos. La clasificación genética se realiza generalmente a través de la amplificación por RT-PCR de la región hipervariable de VP2 y su posterior secuenciación y análisis filogenéticos para

INIA Dirección Nacional	Andes 1365 P. 12, Montevideo	Tel: 598 2902 0550	Fax: 598 2902 3633	iniadn@dn.inia.org.uy
INIA La Estanzuela	Ruta 50 Km. 11, Colonia	Tel: 598 4574 8000	Fax: 598 4574 8012	iniiale@le.inia.org.uy
INIA Las Brujas	Ruta 48 Km. 10, Canelones	Tel: 598 2367 7641	Fax: 598 2367 7609	inia_lb@lb.inia.org.uy
INIA Salto Grande	Camino a l Terrible, Salto	Tel: 598 4733 5156	Fax: 598 4732 9624	inia_sg@sg.inia.org.uy
INIA Tacuarembó	Ruta 5 Km. 386, Tacuarembó	Tel: 598 4632 2407	Fax: 598 4632 3969	iniatbo@tb.inia.org.uy
INIA Treinta y Tres	Ruta 8 Km. 281, Treinta y Tres	Tel: 598 4452 2023	Fax: 598 4452 5701	iniatt@tyt.inia.org.uy

FONDO DE PROMOCIÓN DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (FPTA)

establecer las relaciones de parentesco entre las diferentes muestras aisladas en el mundo. Sin embargo, una clasificación genética no necesariamente guarda relación con las características serológicas o patológicas de una cepa. Por esta razón, ante una cepa que muestre características genéticas singulares es aconsejable realizar estudios adicionales con otras metodologías, por ejemplo serológicas, para su adecuada caracterización.

En el momento de la clasificación se debe considerar también que a mediados de la pasada década se realizó la descripción de virus de campo con reordenamiento de los segmentos genómicos A y B entre cepas hipervirulentas y clásicas (Le Nouën et al. 2006) e incluso entre cepas hipervirulentas y cepas vacunales. En esta nueva forma de virus de Gumboro se ha reportado una mezcla entre caracteres moleculares, estructurales y funcionales, producto de la combinación de los segmentos de las cepas involucradas.

IBDV en Uruguay

Nuestro grupo de investigación comenzó los estudios moleculares de este virus en Uruguay en el año 2004 al detectar cepas hipervirulentas en una granja con aves severamente inmunodeprimidas (Hernández et al., 2006; Hernández et al., 2010). A partir de esa fecha hemos caracterizado también varios casos de IBDV de baja patogenicidad. Estas cepas de baja patogenicidad presentan características genéticas particulares. El análisis de las secuencias aminoacídicas de la región hipervariable de la proteína VP2 indica que contienen algunos cambios exclusivos con respecto al resto de las cepas de IBDV conocidas hasta el momento. Los análisis filogenéticos de las secuencias nucleotídicas disponibles muestran que estas cepas se agrupan con un alto soporte estadístico en un grupo independiente del resto de las cepas. Estos resultados sugieren la presencia de un linaje diferente de IBDV de baja patogenicidad en Uruguay que probablemente se encuentre en otros países de la región. Hasta la fecha, este linaje no ha sido analizado en detalle, lo que sería importante para determinar eventuales diferencias genómicas y fenotípicas, y establecer niveles de prevalencia en los diferentes sistemas de producción local.

Herramientas de control: diagnóstico y vacunación

Debido a la particularidad de los cambios de caracteres antigénicos y patogénicos de IBDV, el diagnóstico genético es la herramienta más utilizada por los centros mundiales de vigilancia sanitaria. La mayoría de las técnicas desarrolladas hasta el momento utilizan el PCR en Tiempo Final, habiéndose incorporado en los últimos años el PCR en Tiempo Real para la detección e identificación genotípica de los virus de campo.

Existen vacunas inactivadas y atenuadas para el control de IBDV. Las primeras son administradas a los reproductores para incrementar la inmunidad pasiva en los pollitos, mientras que las vacunas atenuadas, además de aplicarla en reproductores, se administran a los pollitos para inducir y perpetuar protección luego de la caída de los anticuerpos maternos. Debido a su similitud a nivel antigénico, las cepas clásicas e hipervirulentas son controladas con el mismo tipo de vacuna, hechas a partir de virus semilla de cepa clásica. Por otro lado las cepas variantes, al ser antigénicamente diferentes son controladas con vacunas realizadas a partir de virus semilla de cepa variante. Para mejorar la aplicación y el manejo de las vacunas en el campo, en los últimos años se han desarrollado biológicos de alta tecnología, como vacunas recombinantes y vacunas de complejo antígeno-anticuerpo. Sin embargo, a pesar del mejoramiento en el diseño y efectividad de las vacunas, la presencia de IBDV continúa siendo muy frecuente en las granjas de todo el mundo. La persistencia de IBDV puede deberse a muchas causas, tales como la resistencia del virus, un control deficiente o emergencia de variantes con nuevas propiedades biológicas.

Virus de Bronquitis Infecciosa.

El virus de la Bronquitis Infecciosa Aviar (IBV) es un miembro del género Coronavirus, familia Coronaviridae. IBV posee un genoma de RNA simple hebra, de polaridad positiva y 27,6 kb de longitud. Este genoma codifica para cuatro proteínas estructurales y 15 proteínas no estructurales involucradas en la replicación y transcripción de los genes virales. La espícula de superficie del virus se halla constituida por dos polipéptidos, S1 y S2, que se originan a partir de un mismo precursor proteico codificado por el gen S. La fracción S1 es responsable de la adsorción viral y constituye el principal antígeno del virus; la fracción S2 funciona como anclaje de la proteína a la envoltura viral y es responsable de la fusión de membranas.

El órgano blanco primario de IBV es el tracto respiratorio, en donde se replica provocando elevados índices de mortalidad y morbilidad. Al igual que en el virus de Gumboro, la infección por IBV frecuentemente se acompaña con infecciones secundarias además de presentar una manifestación clínica similar a la de otras enfermedades respiratorias, generando confusión cuando se realiza un diagnóstico clínico.

IBDV se caracteriza por una elevada capacidad de cambio que radica en su alta tasa de mutación y recombinación de su genoma. Esto ha generado decenas de variantes genéticas y antigénicas que se distribuyen por todo el mundo. Desde los años 60 se reportan también casos de IBV que afectan gravemente el sistema renal, conociéndose como bronquitis nefropatógena.

Los virus de IBV pueden ser clasificados en protectotipos, serotipos y genotipos. La clasificación en protectotipos mide la respuesta inmune completa del pollo contra una cepa de IBV y proporciona una información directa y precisa en relación a los niveles de protección cruzada existentes entre dos variantes virales. Esta clasificación brinda información certera sobre la eficacia de una vacuna, o combinaciones de éstas, frente a una variante viral, pero es un método de clasificación laborioso, costoso y que requiere una infraestructura importante.

La clasificación en serotipos es realizada a través de ensayos de virus neutralización en huevos embrionados o en cultivos celulares. Dos variantes de IBV (A y B) se considera que son del mismo serotipo cuando los títulos neutralizantes heterólogos (antisuero A con virus B, y antisuero B con virus A) difieren al menos 20 veces a los títulos homólogos (antisuero A con virus A, antisuero B con virus B) en ambas direcciones (Hesselink, 1991).

La agrupación de las variantes en genotipos se basa en la caracterización del genoma de IBV o una parte de él. La metodología más utilizada y que brinda información más directa es la secuenciación, pero también se realizan metodologías de caracterización indirectas del genoma basadas en cortes con enzimas de restricción (RFLP) y PCR en Tiempo Real. La genotipificación es actualmente la clasificación más utilizada y suele realizarse mediante el análisis de la región codificante de la porción S1 de la glicoproteína de superficie, la región más variable del genoma por codificar para los principales sitios antigénicos del virión.

IBV en Uruguay y la región

Desde fines del año 2009 hasta la actualidad, la circulación de IBV en granjas vacunadas de la industria avícola uruguaya fue detectada por nuestro grupo de trabajo mediante la implementación, por primera vez en nuestro país, de técnicas de genética molecular basadas en PCR en Tiempo Real, en la cual se amplifica un fragmento del 5' UTR del genoma viral (Hernández et al., 2012). La caracterización de estos aislados mediante la secuenciación de S1 indica la existencia de dos genotipos muy divergentes en nuestro territorio que muestran cierta similitud con los genotipos descritos en Argentina (Rimondi et al., 2009). Los genotipos uruguayos son muy divergentes, en base a la secuencia nucleotídica y aminoacídica de S1, con respecto a la única cepa vacunal autorizada en nuestro territorio y en todo Sudamérica (cepa del serotipo Massachusetts) (Hernández et al., 2012).

Herramientas de control: diagnóstico y vacunas

La identificación de los virus de campo resulta imprescindible para comprender la epidemiología y establecer medidas de control para IBV. En la actualidad, uno de los métodos más utilizados es la detección por PCR (a Tiempo Final y Real) y caracterización por sistemas de digestión enzimática, hibridación, o secuenciación (Hernández et al., 2012).

INIA Dirección Nacional
INIA La Estanzuela
INIA Las Brujas
INIA Salto Grande
INIA Tacuarembó
INIA Treinta y Tres

Andes 1365 P. 12, Montevideo
Ruta 50 Km. 11, Colonia
Ruta 48 Km. 10, Canelones
Camino a l Terrible, Salto
Ruta 5 Km. 386, Tacuarembó
Ruta 8 Km. 281, Treinta y Tres

Tel: 598 2902 0550
Tel: 598 4574 8000
Tel: 598 2367 7641
Tel: 598 4733 5156
Tel: 598 4632 2407
Tel: 598 4452 2023

Fax: 598 2902 3633
Fax: 598 4574 8012
Fax: 598 2367 7609
Fax: 598 4732 9624
Fax: 598 4632 3969
Fax: 598 4452 5701

iniadn@dn.inia.org.uy
iniale@le.inia.org.uy
inia_lb@lb.inia.org.uy
inia_sg@sg.inia.org.uy
iniatbo@b.inia.org.uy
iniatt@tvt.inia.org.uy

FONDO DE PROMOCIÓN DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (FPTA)

La gran cantidad de variantes antigénicas y las diferentes manifestaciones de las infecciones por Bronquitis Infecciosa representan un problema continuo en el control de la enfermedad. En la década del 50 se comenzaron a utilizar las primeras vacunas a partir de cepas de campo atenuadas; 20 años después se desarrollaron vacunas inactivadas. El desarrollo y la aplicación de metodologías que permitan seleccionar un plan de vacunación adecuado a las características antigénicas de los virus de campo locales son fundamentales para el control de la Bronquitis Infecciosa. La mejor opción a la hora de controlar la circulación de diferentes variantes de campo es emplear programas de vacunación que combinen estratégicamente las variantes vacunales para cubrir el espectro antigénico de los desafíos de campo. Desde luego, para diseñar el plan de vacunación adecuado se debe realizar un relevamiento genotípico y fenotípico de las variantes de campo prevalentes en cada región. A pesar de la vacunación sistemática, es muy común que surjan brotes de la enfermedad en lotes de aves correctamente vacunados, debido probablemente a que los aislados de campo difieren antigénicamente de los serotipos vacunales (Gelb et al., 1991) y a que la mayoría de las vacunas no proporcionan inmunidad cruzada (Erbeck et al., 1998). Uruguay no escapa a dicha situación ya que los técnicos veterinarios, con los cuales nuestro grupo de investigación mantiene estrecho contacto, reportan continuamente brotes presuntivos de IBV en granjas vacunadas.

INIA Dirección Nacional
INIA La Estanzuela
INIA Las Brujas
INIA Salto Grande
INIA Tacuarembó
INIA Treinta y Tres

Andes 1365 P. 12, Montevideo
Ruta 50 Km. 11, Colonia
Ruta 48 Km. 10, Canelones
Camino a l Terrible, Salto
Ruta 5 Km. 386, Tacuarembó
Ruta 8 Km. 281, Treinta y Tres

Tel: 598 2902 0550
Tel: 598 4574 8000
Tel: 598 2367 7641
Tel: 598 4733 5156
Tel: 598 4632 2407
Tel: 598 4452 2023

Fax: 598 2902 3633
Fax: 598 4574 8012
Fax: 598 2367 7609
Fax: 598 4732 9624
Fax: 598 4632 3969
Fax: 598 4452 5701

iniadn@dn.inia.org.uy
iniale@le.inia.org.uy
inia_lb@lb.inia.org.uy
inia_sq@sq.inia.org.uy
iniatbo@tb.inia.org.uy
iniatt@tyt.inia.org.uy

FONDO DE PROMOCIÓN DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (FPTA)

Antecedentes y Justificación

Desde hace diez años el Laboratorio de la Sección Genética Evolutiva de Facultad de Ciencias mantiene un programa general de investigación vinculado a Sanidad Animal con especial énfasis en problemas que afectan la industria avícola. Mediante el uso de técnicas moleculares se realiza investigación básica y aplicada para entender la epidemiología, evolución, y capacidades funcionales de los patógenos seleccionados, colaborando de esta manera con el desarrollo de planes de control de las enfermedades que afectan al sector productivo.

Los antecedentes del grupo de investigación en relación a las enfermedades aviarias abordadas comienzan a generarse en el año 2004 cuando se presentó la necesidad específica de controlar un problema sanitario que estaba afectando gravemente una empresa de sector avícola. Con recursos proporcionados por la empresa solicitante y parte de recursos propios del laboratorio (reactivos, equipamiento, etc.), se efectuaron los primeros estudios moleculares del virus de la enfermedad de Gumboro (IBDV) en Uruguay, adaptando una metodología de PCR en Tiempo Final previamente publicada para realizar la identificación genética de este virus. Los resultados obtenidos tuvieron una aplicación inmediata para controlar el brote de Gumboro que fuera identificado como una cepa de alta patogenicidad. Se realizaron los análisis descriptivos de regiones específicas del genoma de IBDV y se propusieron marcadores moleculares asociados a las cepas de alta patogenicidad (Hernández et al., 2006).

A partir de dicho momento comenzaron a desarrollarse estudios de caracterización genética de otras regiones genómicas de IBDV, análisis comparativos de secuencias, y estudios de relaciones evolutivas. Estos estudios fueron mayormente financiados con el apoyo otorgado en abril de 2007 por la Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC) en el programa de Proyectos de Inversión para fortalecer las capacidades de investigación universitaria en apoyo a los sectores productivos, y también por fondos del Programa de Desarrollo de Ciencias Básicas - PEDECIBA. Los resultados de esta etapa de la investigación revelaron que los IBDV hipervirulentos uruguayos presentaban un acortamiento del marco de lectura del gen que codifica para una proteína reguladora que interviene en el ciclo replicativo del virus. Los estudios realizados también revelaron que dicho gen se encuentra evolucionando bajo un complejo sistema de presiones selectivas, producto de su superposición con un segundo marco de lectura que codifica para las proteínas estructurales. Además se agregó nueva evidencia a la propuesta de que este gen se habría originado posteriormente en el tiempo respecto al resto de los genes del virus, utilizando un mecanismo de sobreescritura genética. Los detalles de los análisis realizados y los principales avances obtenidos de este estudio pueden observarse en Hernández et al., 2010. Estos resultados representaron un importante avance para nuestro grupo de investigación en el abordaje de aspectos básicos de la evolución de IBDV, y también fueron fundamentales para conocer regiones genómicas y marcadores genéticos de utilidad para el diseño de metodologías de diagnóstico.

A partir de la experiencia adquirida, nos propusimos avanzar en el campo de la biotecnología mediante el desarrollo de metodologías de diagnóstico molecular actualizadas, integrando conceptos epidemiológico-evolutivos que incluyeran los últimos avances en el conocimiento de la enfermedad, para tratar de mejorar las técnicas de diagnóstico existentes. Con el apoyo de financiación de los Fondos para Promoción de Tecnología Agropecuaria (FPTA) otorgados por el Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) en el llamado 2008, bajo el Proyecto n° 264, ejecutamos una propuesta de trabajo de dos años que tenía como objetivo el desarrollo de nuevas metodologías de diagnóstico para el virus de Gumboro y de la Bronquitis Infecciosa de las aves (IBV) con uso de PCR en Tiempo Final y por primera vez en nuestro laboratorio, el desarrollo de metodologías para PCR en Tiempo Real para estos virus. Hoy el laboratorio cuenta con un equipo de última generación para la aplicación de técnicas de PCR en Tiempo Real, que se encuentra disponible para la investigación y desarrollo de tecnología, y para brindar soporte al sector productivo. Habiendo concluido el Proyecto FPTA-264 podemos afirmar que se lograron desarrollar y estandarizar métodos actualizados de diagnóstico molecular para los virus de Gumboro y Bronquitis Infecciosa que utilizan tecnología de PCR en Tiempo Final y PCR en Tiempo Real. Los métodos fueron cuidadosamente diseñados tomando en cuenta características particulares del proceso evolutivo de ambos virus e integrando conceptos de tecnología avanzada en el campo de la biología molecular. Para Gumboro se desarrolló un método de un solo ensayo para PCR en Tiempo Final que permite discriminar los vvIBDV del resto de las cepas, y además, por tratarse de un virus con genoma bisegmentado, permite detectar casos con reordenamiento genómico (Hernández et al., 2011). Para Bronquitis Infecciosa también se desarrolló una prueba para PCR en Tiempo Final para detección y caracterización de variantes virales. Dicha prueba tuvo en cuenta la alta frecuencia de mutación y capacidad de recombinación genómica entre variantes de IBV (publicación en preparación). Como se mencionó anteriormente, también se desarrollaron ensayos de detección y caracterización de IBDV e IBV con uso de la tecnología de PCR en Tiempo Real. Para IBDV se diseñó un ensayo que detecta y discrimina simultáneamente cepas de baja patogenicidad de los vvIBDV (Tomás et al., 2012). Asimismo se estandarizó una metodología diagnóstica para IBV mediante detección genómica por PCR en Tiempo Real. Los ensayos de PCR en Tiempo Real incluyeron el diseño de un método de cuantificación absoluta, lo que resultó ser muy útil a la hora de realizar titulaciones de genoma en muestras de campo o de vacunas.

Es importante destacar que las pruebas de PCR en Tiempo Real desarrolladas fueron validadas en centros de referencia mundial, demostrando ser muy efectivas a la hora de detectar presencia de genoma viral en forma extremadamente rápida y con un altísimo grado de sensibilidad.

Antecedentes en conocimiento epidemiológico de IBDV e IBV en Uruguay

Los resultados epidemiológicos obtenidos por nuestro grupo de investigación mediante la aplicación de las pruebas desarrolladas sugieren realizar una profundización en el relevamiento de muestras de campo, así como de investigar con mayor profundidad los virus detectados, en virtud del impacto que ambas enfermedades estarían teniendo en la producción nacional (revisión de resultados en Hernández et al 2012).

En Gumboro se ha observado una importante variabilidad genética de los virus que circulan en la producción local. Se pudo determinar la existencia de virus de alta y baja patogenicidad, correspondiendo todos ellos a cepas típicas sin segmentos genómicos reordenados. Se determinó la presencia en alta frecuencia de un tipo de IBDV con características genéticas particulares. En todos los casos la manifestación clínica de estos IBDV fue similar a cepas de baja patogenicidad, sin embargo los estudios filogenéticos preliminares revelaron que estos virus se asocian consistentemente en un clado diferente respecto al resto de las variantes. Los análisis de secuencias nucleotídicas y de amino ácidos determinaron una composición particular en su VP2, incluyendo una variación en la fórmula de marcadores aminoacídicos de diferenciación. Estos resultados sugieren la circulación local de un genotipo diferente, al menos en la composición de VP2. Se debe profundizar imperiosamente en la caracterización genética de estos virus ampliando el análisis de nuevas regiones genómicas, y realizar una aproximación de sus características antigénicas mediante estudios inmunológicos. Estos estudios son indispensables para actualizar nuestros métodos de diagnóstico y caracterización y, de esta manera colaborar en el diseño de planes de control específicos.

Los resultados obtenidos con respecto a la situación de Bronquitis en Uruguay no son menos llamativos que para IBDV. Nuestro grupo ha detectado la presencia de al menos dos de las tres variantes que circulan en Sudamérica (Rimondi et al., 2009). Ambas variantes presentaron elevada homología en el gen de la nucleocápside, pero divergen sustancialmente en el gen S codificante de la región antigénica. De acuerdo a las muestras analizadas, habría prevalencia de una de las variantes sobre la otra. Es importante destacar que ambas variantes difieren sustancialmente respecto a la cepa vacunal Massachusetts, única cepa aprobada por el MGAP para su inclusión en programas de control de IBV en el territorio Uruguayo. Claramente esta situación requiere profundizar los estudios de IBV realizando un mayor relevamiento de muestras de campo, identificar genética y antigénicamente las diferentes variantes que circulan, confirmar su prevalencia y evaluar eventuales modificaciones en la política actual de uso de vacunas y control de esta enfermedad. No menos importante es el desarrollo de métodos de identificación y caracterización específicos que faciliten el estudio de las variantes circulantes.

Antecedentes en la difusión y transferencia de resultados

Tan importante como avanzar en la investigación es generar una red de comunicación en la que los desarrollos se apliquen de forma global e inmediata cuando son requeridos. Haber logrado en el transcurso de los años una comunicación directa y fluida con el sector productivo, esencialmente con las principales empresas del mercado, con los productores, gremiales avícolas, asesores, veterinarios, laboratorio de biológicos, etc., ha sido fundamental para cumplir con nuestros objetivos de investigación. El hecho de haber conseguido diagnosticar muestras, caracterizarlas adecuadamente, participar en el diseño

INIA Dirección Nacional
INIA La Estanzuela
INIA Las Brujas
INIA Salto Grande
INIA Tacuarembó
INIA Treinta y Tres

Andes 1365 P. 12, Montevideo
Ruta 50 Km. 11, Colonia
Ruta 48 Km. 10, Canelones
Camino a l Terrible, Salto
Ruta 5 Km. 386, Tacuarembó
Ruta 8 Km. 281, Treinta y Tres

Tel: 598 2902 0550 Fax: 598 2902 3633
Tel: 598 4574 8000 Fax: 598 4574 8012
Tel: 598 2367 7641 Fax: 598 2367 7609
Tel: 598 4733 5156 Fax: 598 4732 9624
Tel: 598 4632 2407 Fax: 598 4632 3969
Tel: 598 4452 2023 Fax: 598 4452 5701

iniadn@dn.inia.org.uy
iniate@e.inia.org.uy
inia_lb@lb.inia.org.uy
inia_sg@sg.inia.org.uy
iniatbo@t.inia.org.uy
iniatt@tyt.inia.org.uy

FONDO DE PROMOCIÓN DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (FPTA)

13
[Handwritten signature]

de planes de control, y finalmente hacer un seguimiento evaluatorio y correctivo del plan diseñado, nos permite evaluar positivamente nuestro desarrollo tecnológico.

Igualmente importante para la consulta, difusión y promoción de resultados ha sido crear redes de comunicación con centros de investigación académicos nacionales e internacionales que se dedican a estas temáticas, y establecer relaciones de colaboración con los organismos oficiales de vigilancia sanitaria del país (MGAP, DILAVE).

Haber generado una red de comunicación con el sector productivo, centros de investigación universitaria, y organismos oficiales de vigilancia sanitaria, promueve de forma natural a que los productos desarrollados sean evaluados y difundidos en el sector productivo, y garantiza que los futuros desarrollos tengan la aplicabilidad necesaria para esta cadena de valor.

Antecedentes académicos

Como ya se mencionó en la sección anterior, desde el año 2004 el Laboratorio de la Sección Genética Evolutiva de Facultad de Ciencias ha trazado un plan de trabajo especialmente dedicado a problemáticas relacionadas a sanidad animal. Para ello se abrió una línea de investigación que como actividad inicial diseñó un programa de formación de profesionales especializados en los modelos biológicos seleccionados. En pocos años se logró conformar el Grupo de Investigación en Genética de Microorganismos (<http://igm.geneticafcienc.com>) formado en la actualidad por 11 investigadores, profesionales y estudiantes universitarios, dedicados a la investigación de virus y bacterias que afectan la salud animal. Una de las sub-áreas de investigación a las que se dedica este grupo la ocupan los problemas sanitarios que afligen al sector productivo avícola. Esta línea de investigación ha ejecutado varios proyectos de investigación nacionales e internacionales, ha publicado varios trabajos sobre virus aviarios en revistas internacionales arbitradas y formado recursos humanos a nivel de grado y posgrado (ver CV del Líder del Proyecto). También hemos establecido colaboraciones con centros nacionales e internacionales que trabajan en la temática de sanidad aviar.

Justificación para la ejecución de la propuesta

Hemos descrito el dinamismo y la tendencia al aumento constante del consumo a nivel mundial que presentan los productos avícolas, básicamente sustentado en sus cortos ciclos productivos y bajo costo de la carne de ave en comparación con el resto de las carnes. También mencionamos el importante desarrollo que la avicultura Uruguaya está experimentando como consecuencia del aumento de la exportación y del consumo interno. Desde el punto de vista social, la producción avícola representa en nuestro país una importante fuente de trabajo y, por el valor alimenticio y el bajo precio de sus productos, un componente esencial de la canasta básica familiar. El costo de producción puede verse muy incrementado por afecciones sanitarias como Gumboro y Bronquitis Infecciosa. En trabajos previos nuestro grupo de investigación ha constatado la presencia de ambos virus en nuestro país, determinado una situación compleja por el grado de variabilidad y las características de los IBDV e IBV que circulan en la producción nacional.

Lo anteriormente expuesto representa la principal justificación para la ejecución del presente Proyecto. En él se propone continuar con la transferencia de tecnología a la industria avícola aplicando las metodologías desarrolladas para generar una base actualizada del estado de situación epidemiológica de IBDV e IBV en la producción nacional. También se pretende diseñar nuevas técnicas de caracterización genética que aporten más información de las características del virus, e incorporar en el laboratorio metodologías de caracterización antigénica poniendo a punto ensayos serológicos. Con esto se persigue desarrollar una metodología integral, estandarizada y validada, de diagnóstico y caracterización genética y fenotípica para IBDV e IBV.

Simultáneamente se propone crear un servidor web para la gestión de la información de casos, realizar el análisis de datos de epidemiología molecular, y generar un resultado ajustado al caso caracterizado que oriente en la selección de vacunas y el diseño de planes de control. De esta manera se colaborará en el desarrollo de políticas globales de control y prevención para IBDV e IBV adaptadas a las características genéticas/antigénicas de las cepas y variantes que circulan en la cadena productiva avícola nacional.

En la actualidad los centros de vigilancia sanitaria del mundo como la OIE son muy rigurosos exigiendo el uso de tecnologías sensibles, rápidas, seguras, y automáticas en las metodologías de detección y caracterización de patógenos. De esta manera se garantiza la legitimidad a la hora de reportar el brote de una enfermedad, y se conoce mejor su epidemiología, estableciendo una descripción lo más completa posible del patógeno responsable. Cumplir con el presente Proyecto representaría un significativo avance para nuestro laboratorio en la oferta de metodologías estandarizadas y validadas para vigilancia y control de IBDV e IBV, posicionándolo como laboratorio de investigación y desarrollo en el plano nacional e internacional.

En cuanto a los efectos de la aplicación práctica de los productos que se pretenden desarrollar, tener disponibles metodologías integrales de identificación de IBDV e IBV, y contar con una plataforma de análisis de la información molecular de los casos, que sugiera y sirva de guía para el diseño de planes de control, proporcionaría una ventaja comparativa de enorme valor para la industria avícola uruguaya. Muchas de las publicaciones que han definido a IBDV e IBV como una de las variables más importantes que afecta la cadena productiva y por lo tanto, la economía de esta industria, señalan que su impacto se ve agravado por lo intensivo de la actividad, esencialmente por los cortos ciclos de recambio de producción. En Uruguay las empresas que se dedican a las líneas de carne generalmente tienen ciclos de recambio de 50 días entre lotes. De acuerdo a su epidemiología, ambas enfermedades provocan sus mayores efectos negativos aproximadamente a partir de la mitad del ciclo productivo, cuando los costos incorporados al producto han llegado a ser muy significativos. Detectar e identificar rápidamente al agente infeccioso, y generar un plan de control ajustado a sus características genotípicas y antigénicas, y por lo tanto aproximado a su epidemiología, podría generar respuestas rápidas que proporcionen un pronto alivio económico para el productor, volviendo de esta manera más competitiva a la industria.

Cumplir con los objetivos del presente Proyecto reforzaría en forma muy importante la línea de investigación de nuestro laboratorio dedicada a patógenos aviarios, definiéndolo como centro de desarrollo biotecnológico de métodos de diagnóstico para virus aviarios. De esta manera se posicionaría a Uruguay como un país dedicado a la investigación básica y aplicada de este tipo de virus.

INIA Dirección Nacional
INIA La Estanzuela
INIA Las Brujas
INIA Salto Grande
INIA Tacuarembó
INIA Treinta y Tres

Andes 1365 P. 12, Montevideo
Ruta 50 Km. 11, Colonia
Ruta 48 Km. 10, Canelones
Camino a l Terrible, Salto
Ruta 5 Km. 386, Tacuarembó
Ruta 8 Km. 281, Treinta y Tres

Tel: 598 2902 0550
Tel: 598 4574 8000
Tel: 598 2367 7641
Tel: 598 4733 5156
Tel: 598 4632 2407
Tel: 598 4452 2023

Fax: 598 2902 3633
Fax: 598 4574 8012
Fax: 598 2367 7609
Fax: 598 4732 9624
Fax: 598 4632 3969
Fax: 598 4452 5701

iniadn@dn.inia.org.uy
iniale@e.inia.org.uy
inia_lb@lb.inia.org.uy
inia_sq@sq.inia.org.uy
iniatbo@b.inia.org.uy
iniatt@tyt.inia.org.uy

FONDO DE PROMOCIÓN DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (FPTA)

Estrategia del Proyecto

La estrategia planteada implica una dinámica de trabajo basada fundamentalmente en el desarrollo organizado de actividades de avance ejecutadas por un grupo de investigadores con formación científica complementaria. Consideramos que el equipo de trabajo designado para el desarrollo de la investigación es probablemente el pilar fundamental para lograr el cumplimiento de los objetivos. En este sentido proponemos un grupo de científicos con experiencia previa en los modelos seleccionados. Se establecerá el orden de trabajo acostumbrado, basado en la asignación de tareas específicas de cada uno de los integrantes del grupo. Dichas tareas imponen objetivos de avance cumplibles en una unidad de tiempo preestablecida, generalmente correspondiente a una semana, en cuyo lapso se ejecuta la acción planificada. Al final de la semana se reciben los informes de avance y se analizan los detalles para planificar nuevas actividades o ejecutar medidas correctivas. Esta rutina de trabajo se refuerza con reuniones periódicas (generalmente una por mes) con exposición de seminarios de avance que ayudan con la calibración y ajuste al cronograma programado de ejecución del Proyecto. El día y hora de los seminarios se coordinan con los integrantes del equipo que residen en el exterior (Dr. Villegas y Dr. Banda) para contar con su participación a través de sistemas de videoconferencia.

Este sistema de trabajo ha sido muy efectivo en oportunidades anteriores, ya que permite una dinámica de avance constante, mantiene informado a todo el grupo de trabajo independiente de las diferentes tareas que estén cumpliendo, y además garantiza el alineamiento de la ejecución del Proyecto con el cronograma propuesto.

Background informativo.

El cumplimiento de los objetivos propuestos se basa en el conocimiento profundo de las características genómicas y evolutivas de los virus abordados, de las técnicas genéticas e inmunológicas a ser aplicadas, de la epidemiología de la enfermedad y su forma de control, así como de la utilización y diseño de metodologías de programación y análisis bioinformático. Hemos conformado un grupo de investigación capaz de cubrir dichas áreas de conocimiento. El grupo de investigación se dividirá en áreas de acción definidas por la especialización de cada integrante. Los investigadores de cada área de acción deberán profundizar en los últimos avances de la temática adjudicada para contar con información actualizada a la hora de desarrollar los productos. Será fundamental basarse en los avances y experiencias propias adquiridas hasta el momento en investigaciones pasadas, reuniendo toda la información que se considere de utilidad.

Procesamiento de muestras para estudios epidemiológicos.

Las muestras con que ya cuenta el laboratorio y las que ingresen durante el período de ejecución del Proyecto serán procesadas con las metodologías de detección, caracterización y cuantificación genómica que utiliza rutinariamente el laboratorio. En la medida que se cuente con la información de las características del brote de la muestra recibida se ingresará a una base de datos clínicos. Esto será de utilidad para que el grupo de especialistas veterinarios puedan formular los planes de control específicos, y brindará información fundamental para el diseño y la construcción de la plataforma informática.

Metodologías de caracterización genética.

Las técnicas genéticas para caracterización de nuevas regiones genómicas, mejoramiento de métodos de diagnóstico, estudios genéticos comparativos, deducciones de epidemiología molecular, etc. serán desarrolladas en su amplia mayoría en el Laboratorio de la Sección Genética Evolutiva de Facultad de Ciencias (Uruguay). La validación de las metodologías desarrolladas se efectuará en el Poultry Diagnostic and Research Laboratory (PDRL) de la Universidad Estatal de Mississippi bajo la supervisión del Dr. Alejandro Banda.

Metodologías de caracterización antigénica.

Gran parte del desarrollo de estas actividades se realizará en estrecha colaboración con el PDRL de la Universidad Estatal de Mississippi con la coordinación del Dr. Alejandro Banda. En dicho laboratorio se aplican rutinariamente técnicas inmunológicas y serológicas para el diagnóstico, caracterización, e investigación de IBDV e IBV entre otros virus. Volcar la experiencia de dicho centro a nuestro laboratorio para adquirir las metodologías de caracterización inmunológica y serológica que se usan en la actualidad, agregará rápidamente un nuevo producto a los servicios que ofrece nuestro centro de investigación a la avicultura nacional. Se podrá trabajar en el área de identificación de las características antigénicas de los virus circulantes en nuestro territorio, información de la que carecemos al día de hoy.

Diseño de un servidor web de análisis de datos y propuesta de planes de control.

Se ejecutará el diseño, desarrollo e implementación de un servidor web que integre herramientas bioinformáticas para la realización automática de alineamientos, reconstrucciones filogenéticas, comparaciones de cepas de campo y vacunas mediante matrices de similitud, así como correlaciones genéticas y fenotípicas de los virus analizados. Este servidor será una potente herramienta de gestión de información y análisis de datos, enfocada a orientar al técnico de campo en el diseño de planes de control. Los datos genéticos, antigénicos, y eventualmente los datos clínicos, ingresados al sistema serán analizados de forma automática y se dará en respuesta "orientadores" que sugieran herramientas (vacunas, programas biosanitarios, etc.) para controlar el brote. Para la confección de los "orientadores" se tomarán en cuenta las diferentes cepas y variantes de referencia de IBDV e IBV que circulan en la actualidad, y se diseñarán paquetes estándar de respuesta. El diseño de la plataforma estará a cargo de investigadores del grupo especializados en bioinformática que seleccionarán los programas más indicados de análisis bioinformático, automatizarán su ejecución. La investigación y diseño de los paquetes de sugerencia automática de planes de control estará a cargo de los especialistas del grupo de investigación que por trayectoria se han transformado en personalidades de referencia mundial para estas temáticas (Dr. Pedro Villegas y Dr. Alejandro Banda).

INIA Dirección Nacional
INIA La Estanzuela
INIA Las Brujas
INIA Salto Grande
INIA Tacuarembó
INIA Treinta y Tres

Andes 1365 P. 12, Montevideo
Ruta 50 Km. 11, Colonia
Ruta 48 Km. 10, Canelones
Camino a l Terrible, Salto
Ruta 5 Km. 386, Tacuarembó
Ruta 8 Km. 281, Treinta y Tres

Tel: 598 2902 0550
Tel: 598 4574 8000
Tel: 598 2367 7641
Tel: 598 4733 5156
Tel: 598 4632 2407
Tel: 598 4452 2023

Fax: 598 2902 3633
Fax: 598 4574 8012
Fax: 598 2367 7609
Fax: 598 4732 9624
Fax: 598 4632 3969
Fax: 598 4452 5701

iniadn@dn.inia.org.uy
iniiale@le.inia.org.uy
inia_lb@lb.inia.org.uy
inia_sg@sg.inia.org.uy
iniatbo@tb.inia.org.uy
iniatt@tyt.inia.org.uy

Materiales y Métodos

Muestras

Para el desarrollo de este Proyecto se utilizarán muestras ya disponibles en el laboratorio (alrededor de 30 de cada virus), así como las que se vayan obteniendo durante su ejecución. Una vez que llegan al laboratorio, las muestras se ingresan a una base de datos e inmediatamente se almacenan a -80°C hasta el momento de su análisis. Las muestras corresponden a bolsas de Fabricius para IBDV, y tráqueas, pulmones y tonsilas cecales para IBV. Si se sospecha de cepas nefropatógenas se tomarán también muestras de riñón. Las que se colecten durante el desarrollo del Proyecto provendrán de casos de campo sospechosos de IBDV y/o IBV. Estas serán obtenidas por el Dr. Diego Hernández, veterinario especialista en avicultura de nuestro grupo de investigación, y por médicos veterinarios vinculados a la industria avícola que colaboran con nuestro equipo. En años anteriores hemos recibido un promedio de 30 muestras sospechosas de IBDV o IBV por año.

Caracterización genética

La metodología a seguir es básicamente la misma para ambos modelos virales y consiste en:

Extracción genómica

Las muestras de IBDV (bursas de Fabricius) y las de IBV (tráquea, pulmón, tonsilas cecales) serán sometidas a extracción genómica mediante el uso de kits comerciales siguiendo los protocolos ya estandarizados en nuestro laboratorio (Hernández et al., 2006; Hernández et al., 2012).

Retrotranscripción.

Para la generación del DNA complementario (cDNA) utilizaremos kits comerciales con random primers. Esto permite usar el mismo producto de retrotranscripción para amplificar cualquier región genómica del virus.

Análisis de muestras por PCR en Tiempo Real.

El ensayo estandarizado para IBDV detecta la presencia del genoma viral y además discrimina los vvIBDV del resto de las cepas (Tomás et al., 2012). El modelo de discriminación está basado en la variación de una base nucleotídica (A/G) en la región de superposición de los genes VP5/VP2 entre ambos tipos de cepas. Este polimorfismo de nucleótido simple (SNP) se identificó como uno de los más estables del genoma de IBDV para la diferenciación de este tipo de cepas. Para detectar e identificar este SNP, la prueba diseñada incluye un par de sondas TaqMan-MGB (minor groove-binding). Estas sondas son altamente específicas y se unen únicamente a secuencias que son 100% idénticas.

El ensayo estandarizado para IBV es capaz de detectar la presencia del virus utilizando una sonda TaqMan cuya secuencia blanco se ubica en una región no-codificante del genoma de IBV conocida como región no traducida 5' o 5' UTR. Esta región se encuentra muy conservada entre las cepas de diferentes serotipos de IBV debido a su importancia funcional durante la transcripción viral, lo que asegura la detección de los diferentes tipos de IBV circulantes (Callison et al., 2006). A este ensayo le hemos agregado un control positivo consiste en un sonda para el gen de la actina aviar (Hernández et al. 2012).

Caracterización genética

La caracterización primaria de los virus se realizará mediante la amplificación, secuenciación y análisis de una región codificante (aprox. 500 pb) de VP2 de IBDV (Hernández et al., 2006) y de la porción S1 de la Glicoproteína de Superficie (aprox. 1600 pb) en IBV (Hernández et al., 2012). En el caso de IBDV también se utilizará un sistema de caracterización (multiplex RT-PCR-RFLP) que detecta cambios nucleotídicos exclusivos de cada tipo de cepas que están presentes en ambos segmentos (A y B) del genoma. Mediante la amplificación de pequeños amplicones de cada segmento y la utilización de una única enzima de restricción se puede clasificar al virus como hipervirulento, clásico/variante o reordenado. Este sistema fue recientemente desarrollado por nuestro grupo para una caracterización inicial de las cepas, y detectar rápidamente reordenamientos genómicos (Hernández et al., 2011).

Caracterización genética-genómica.

Se seleccionará un total de 15 cepas de cada uno de los virus para realizar la caracterización genómica. En el caso de IBDV se secuenciará el genoma completo (aprox. 6000 pb) y en IBV los genes codificantes de las proteínas estructurales S, E, M y N (aprox. 8000 pb). Hasta la fecha no se ha realizado este tipo de caracterización en las cepas de campo de IBDV e IBV circulantes en el país. Para ello se diseñarán primers que amplifiquen amplicones con extremos superpuestos y se estandarizarán los protocolos de PCR para cada uno de los amplicones requeridos. Los amplicones serán secuenciados automáticamente (previa clonación si es necesario) para ser analizados y comparados con la base de datos existente.

Desarrollo de metodologías para la identificación rápida de nuevas variantes de IBDV e IBV.

Se diseñará, estandarizará y validará nuevas metodologías de RT-PCR-RFLP y RT-Real Time PCR para la identificación rápida de variantes de IBDV e IBV que presenten características genéticas particulares que ameriten mejorar los actuales sistemas de diagnóstico y caracterización. Para esto se aplicarán análisis informáticos para seleccionar las regiones genómicas más convenientes de ambos virus para los ensayos de identificación. Se ajustarán los parámetros de las técnicas y se realizarán análisis de sensibilidad y especificidad. Posteriormente, las pruebas se validarán en el Poultry Diagnostic and Research Laboratory, un centro de referencia mundial para virus aviares.

Análisis informático: diseño de primers y sondas

Para secuenciar el genoma completo de IBDV y parcial de IBV, y para los ensayos de identificación rápida de variantes de IBDV e IBV circulantes en Uruguay será necesario el diseño de juegos de primers y sondas. Para lograr esto se realizarán alineamientos de secuencias disponibles en la base de datos del GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov) en busca de regiones conservadas para el diseño de primers y sondas, utilizando software específicos (Primer Express® software v2.0 de Applied Biosystems).

Análisis informático: comparación de secuencias y estudios filogenéticos

INIA Dirección Nacional	Andes 1365 P. 12, Montevideo	Tel: 598 2902 0550	Fax: 598 2902 3633	iniadn@dn.inia.org.uy
INIA La Estanzuela	Ruta 50 Km. 11, Colonia	Tel: 598 4574 8000	Fax: 598 4574 8012	iniale@le.inia.org.uy
INIA Las Brujas	Ruta 48 Km. 10, Canelones	Tel: 598 2367 7641	Fax: 598 2367 7609	inia_lb@lb.inia.org.uy
INIA Salto Grande	Camino a l Terrible, Salto	Tel: 598 4733 5156	Fax: 598 4732 9624	inia_sg@sg.inia.org.uy
INIA Tacuarembó	Ruta 5 Km. 386, Tacuarembó	Tel: 598 4632 2407	Fax: 598 4632 3969	iniatbo@t.inia.org.uy
INIA Treinta y Tres	Ruta 8 Km. 281, Treinta y Tres	Tel: 598 4452 2023	Fax: 598 4452 5701	iniatt@tyt.inia.org.uy

FONDO DE PROMOCIÓN DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (FPTA)

Para inferir las relaciones filogenéticas de las cepas de IBDV e IBV se generarán sets de datos con las secuencias obtenidas y las ya depositadas en el GenBank. Las secuencias se ensamblarán y alinearán con programas específicos (DNASTAR-Lasergene, MUSCLE). Se determinará el modelo de sustitución en cada alineamiento y se inferirán árboles filogenéticos con los métodos de Maximum Likelihood y Bayesianos, implementados en los programas PhyML y BEAST, respectivamente. Se evaluará la presencia de secuencias recombinantes con el programa SplitsTree, que permite la identificación de secuencias recombinantes mediante redes filogenéticas y redes de recombinación. Se determinarán las presiones selectivas que actúan sobre los codones en base a métodos de conteo y de resumen estadístico.

Caracterización antigénica

Aislamiento viral

El aislamiento viral se realizará por medio de inoculaciones de homogeneizados de tejidos en huevos embrionados SPF (libres de patógenos específicos) de 9 a 11 días de edad, a través de dos vías de inoculación: cavidad alantoidea en el caso de IBV y membrana corioalantoidea en el caso de IBDV. Los aislamientos serán realizados con dos objetivos, i) el aumento de la carga viral en los casos que el bajo número de partículas virales presentes en los tejidos en estudio dificulte la caracterización genética, y ii) la obtención de virus para los ensayos de AC-ELISA y Virus Neutralización. Para los ensayos de VN se buscará obtener aislamientos virales procedentes de un pasaje que cause muerte o lesiones claras en los embriones. Para esto se tendrá en cuenta que las lesiones típicas causadas por IBV en embriones de 7 días post-inoculación son enanismo, aspecto erizado y depósitos de uratos en los mesonefros de los riñones. En el caso de IBDV las lesiones causadas en los embriones dependen del tipo de cepa viral. Las cepas hipervirulentas se caracterizan por generar altas tasas de mortalidad, aún en bajos títulos virales. Las cepas clásicas causan muertes en los embriones de 3 a 5 días post-inoculación. Los embriones muertos aparecen congestionados con hemorragias petequiales y equimóticas evidentes, hígado necrótico de apariencia pálida y bazo pequeño, rosado o incoloro con ocasionales pequeños focos necróticos. Las cepas variantes en general no producen la muerte de los embriones. Los embriones de 6 a 7 días post-inoculación presentan un color blanquecino, edema cerebral y abdominal, retraso en el crecimiento, hígado necrótico y teñido de bilis y aumento de 2 a 3 veces en el tamaño del bazo.

AC-ELISA para IBDV

Se han descrito tres paneles de anticuerpos monoclonales para la caracterización antigénica de IBDV utilizando Ac-ELISA (Fahey et al., 1991; Etteradossi et al., 1997; Snyder et al., 1992). Estos ensayos permiten clasificar a los virus según el nivel de reactividad de los mismos con los anticuerpos monoclonales. Dado que hasta el día de hoy no se ha unificado el criterio de caracterización con estos anticuerpos, se evaluará durante el proyecto cual/cuales de los tres paneles de anticuerpos monoclonales (algunos disponibles comercialmente) se utilizará para clasificar las variantes de campo de IBDV circulantes en Uruguay.

Ensayos de Virus Neutralización (VN).

La neutralización viral se define como la pérdida de la capacidad infectante del virus por la reacción del mismo con un anticuerpo. En el presente proyecto la VN se realizará para evaluar la capacidad de neutralizar los virus en estudio que tienen diferentes sueros derivados de cepas vacunales. Los ensayos serán realizados en huevos embrionados SPF de 9 a 11 días de edad. Se utilizará el método α que consiste en mezclar e incubar una dilución de suero estándar con diluciones seriadas del virus e inocular en un sistema susceptible, en nuestro caso huevos embrionados. Los virus que se utilizarán serán aislamientos virales de las variantes de IBDV e IBV circulantes en nuestro territorio. Para IBDV se utilizarán sueros correspondientes a cepas clásicas y variantes. En el caso de IBV se utilizarán sueros derivados de cepas vacunales comerciales disponibles en el mercado mundial. En un principio los sueros que se incluirán corresponden a las siguientes cepas: Massachusetts (única cepa vacunal autorizada en varios países sudamericanos), Arkansas, Connecticut, JMK y Delaware (principales serotipos vacunales estadounidenses, además de Massachusetts [Mass]), 4/91, D274 y D1466 (principales serotipos vacunales europeos, además de Mass). Durante el desarrollo del proyecto se evaluará la utilización de nuevos sueros teniendo en cuenta los resultados de la caracterización genética.

Los resultados se expresarán como índice de neutralización (NI), que representa la diferencia entre título del virus control (suero negativo) y el título del virus en presencia del suero problema. Los puntos finales para cada suero serán calculados por el método de Reed and Muench (Villegas, 1998). Los ensayos de virus neutralización serán acoplados a ensayos de cuantificación viral absoluta por PCR en Tiempo Real como una forma alternativa de medir la capacidad neutralizante de los sueros. Estas metodologías han sido aplicadas en otros modelos virales (Saito et al., 2003; van Santen et al., 2004). Los ensayos de cuantificación para IBDV e IBV ya fueron diseñados y estandarizados en nuestro laboratorio (Hernández et al., 2012). En IBDV esta metodología alternativa de medición de la capacidad neutralizante de los sueros es de gran importancia debido a que los virus de campo no suelen inducir lesiones en todos los embriones de manera uniforme y constante.

Diseño de servidor web para análisis y gestión de información epidemiológica

Los avances tecnológicos de la pasada década han creado en la actualidad un escenario donde la generación de secuencias de ácidos nucleicos a gran escala se ha transformado en algo cotidiano en los laboratorios de genética molecular; sin embargo, este hecho impone nuevos desafíos técnicos para obtener el mayor provecho a la información. Para cumplir este objetivo, ya desde hace varios años se está tendiendo a generar conocimiento en áreas multidisciplinarias, particularmente en la intersección entre la biología y la informática. La biología computacional ha emergido con notoriedad y el desarrollo de métodos para el análisis de secuencias de ácidos nucleicos está en auge. Sin embargo, el uso de la mayoría de estos métodos está limitado porque su implementación es poco intuitiva para los usuarios que no poseen conocimientos en el área informática. Para salvar estas distancias, se ha optado por implementar métodos computacionales en forma de servidores web, fácilmente accesibles a través de internet y con interfaces gráficas que permiten su utilización a usuarios formados en diversas áreas del conocimiento, sin necesidad de poseer una profunda formación informática. Actualmente, existen numerosos servidores web orientados al análisis de datos biológicos, principalmente secuencias de ácidos nucleicos. Los ejemplos más notorios son los sitios del NCBI (National Center for Biotechnology Information), EBI (European Bioinformatics Institute) y DDBJ (DNA Databank of Japan), los cuales son el paradigma en cuanto a bases de datos de secuencias. Estas bases de datos implementadas en la web son sumamente útiles, pero su enorme tamaño y dinamismo son dos desventajas, fundamentalmente para la extracción y utilización de meta-información (datos clínicos, fenotípicos, geográficos, temporales, etc.) asociada a las secuencias.

Al realizar una búsqueda en el NCBI utilizando las palabras clave "IBDV" e "IBV" se obtienen más de 4000 secuencias correspondientes a diferentes regiones del genoma de los virus. Por ejemplo, al restringir la búsqueda al gen S1 de IBV obtenemos alrededor de 1500 secuencias, pertenecientes a virus aislados en más de 10 países y en un período de tiempo de 1958 a 2012. Una búsqueda bibliográfica exhaustiva nos reveló la escasa utilización de estos datos para el estudio epidemiológico de los virus. Estos datos son argumentos fuertes para creer que el desarrollo de un sitio web específico para secuencias de IBV e IBDV (que permita, almacenar, ordenar y analizar estos datos de forma rápida e interactiva por métodos bioinformáticos) será de gran utilidad para el análisis

INIA Dirección Nacional
INIA La Estanzuela
INIA Las Brujas
INIA Salto Grande
INIA Tacuarembó
INIA Treinta y Tres

Andes 1365 P. 12, Montevideo
Ruta 50 Km. 11, Colonia
Ruta 48 Km. 10, Canelones
Camino a l Terrible, Salto
Ruta 5 Km. 386, Tacuarembó
Ruta 8 Km. 281, Treinta y Tres

Tel: 598 2902 0550
Tel: 598 4574 8000
Tel: 598 2367 7641
Tel: 598 4733 5156
Tel: 598 4632 2407
Tel: 598 4452 2023

Fax: 598 2902 3633
Fax: 598 4574 8012
Fax: 598 2367 7609
Fax: 598 4732 9624
Fax: 598 4632 3969
Fax: 598 4452 5701

iniadn@dn.inia.org.uy
iniate@e.inia.org.uy
inia_lb@lb.inia.org.uy
inia_sg@sg.inia.org.uy
iniatbo@t.inia.org.uy
iniatt@tyt.inia.org.uy

FONDO DE PROMOCIÓN DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (FPTA)

154


y monitoreo de la dinámica de las enfermedades causadas por estos virus.

El servidor web se construirá en PHP y constará de dos bloques de información. Por un lado, las secuencias se almacenarán y ordenarán en una base de datos relacional construida en MySQL. Esta base de datos asociará a cada secuencia un nombre único y la meta-información correspondiente, por ejemplo: fecha de aislamiento, hospedero, lugar de aislamiento, resultados de estudios serológicos realizados al virus del cual se obtuvo, datos clínicos (sintomatología, estatus de vacunación, etc.). El otro bloque estará formado por herramientas implementadas en Python y Java para el análisis y comparación de las secuencias de la base de datos. Estas herramientas serán MUSCLE o MAFFT para realizar alineamientos, PhyML para reconstrucción de árboles filogenéticos por máxima verosimilitud, BLAST para comparar la similitud entre secuencias. Además, se implementarán herramientas estadísticas como análisis discriminante, análisis de componentes principales, métodos de clustering y visualización mediante heatmaps y gráficos estándar. Estas herramientas serán incorporadas utilizando PHP/Java Bridge y la librería Java/R-Interface, que permite utilizar las funciones del paquete estadístico R en un ambiente Java. Las secuencias podrán ser ingresadas en una ventana mediante copiado y pegado de texto o en forma de archivos FASTA. Los resultados estarán asociados a informaciones sobre planes de control que se han utilizado exitosamente en variantes similares.

Gestión del Conocimiento

Los productos tecnológicos y el conocimiento generado quedarán a disposición del INIA para su gestión. Consideramos tan importante como avanzar en la investigación, generar una red de comunicación en la que los desarrollos puedan ser aplicados de forma global e inmediata en caso que se los considere convenientes. Para esto se pretende trabajar a nivel local e internacional. A nivel local se efectuará la transferencia de tecnología y conocimiento a organismos de vigilancia sanitaria, al sector empresarial, productores, personal técnico, al ámbito académico, etc., bajo la implementación de información en nuestra página web, la realización de charlas, seminarios, y cursos técnicos/académicos para promocionar y transferir los avances generados por la ejecución de este Proyecto. A nivel internacional se propondrá el patentamiento de productos en el caso pertinente, se evaluará la oferta de paquetes tecnológicos (diagnóstico, caracterización y análisis) a la red internacional de laboratorios de diagnóstico de enfermedades aviares, se realizarán publicaciones en revistas científicas arbitradas de alto impacto y se propondrá una participación activa en congresos y eventos internacionales. Parte de la información recabada podrá gestionarse a través del servidor web específico sobre ambos virus que se desarrollará durante el proyecto. A este servidor podrán acceder investigadores, profesionales y técnicos de la industria avícola para analizar y obtener información sobre los virus de Gumboro y Bronquitis Infecciosa.

Beneficiarios Potenciales

Grupo Institucional

Tipo:	1.3. Gremiales rurales	Comentarios:	Los principales beneficiarios de nuestro proyecto serán los productores avícolas.
--------------	------------------------	---------------------	---

Grupo Productivo

Tipo:	2.1. Productores empresariales con mayor demanda	Comentarios:	El proyecto impactará en todos los productores rurales asociados al rubro avicultura.
--------------	--	---------------------	---

Impactos Esperados

INIA Dirección Nacional	Andes 1365 P. 12, Montevideo	Tel: 598 2902 0550	Fax: 598 2902 3633	iniadn@dn.inia.org.uy
INIA La Estanzuela	Ruta 50 Km. 11, Colonia	Tel: 598 4574 8000	Fax: 598 4574 8012	iniate@le.inia.org.uy
INIA Las Brujas	Ruta 48 Km. 10, Canelones	Tel: 598 2367 7641	Fax: 598 2367 7609	inia_lb@lb.inia.org.uy
INIA Salto Grande	Camino a l Terrible, Salto	Tel: 598 4733 5156	Fax: 598 4732 9624	inia_sg@sg.inia.org.uy
INIA Tacuarembó	Ruta 5 Km. 386, Tacuarembó	Tel: 598 4632 2407	Fax: 598 4632 3969	iniatbo@tb.inia.org.uy
INIA Treinta y Tres	Ruta 8 Km. 281, Treinta y Tres	Tel: 598 4452 2023	Fax: 598 4452 5701	iniatt@tyt.inia.org.uy

FONDO DE PROMOCIÓN DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (FPTA)

Impactos Económicos			
Variable Afectada:	Productividad	Comentarios:	El mayor impacto de este proyecto será el incremento de la productividad a través del mejoramiento del estatus sanitario. Impacto: 2
Variable Afectada:	Calidad de Producto	Comentarios:	La calidad del producto se incrementa mediante una mejora en el tamaño de las aves y de sus subproductos (huevos). Impacto: 1
Variable Afectada:	Diferenciación de Producto	Comentarios:	Un producto libre de ambas enfermedades es percibido como de mayor calidad. Impacto: 1
Variable Afectada:	Nuevos Mercados	Comentarios:	El estatus sanitario de las aves puede constituirse en un valor agregado en la exportación. Impacto: 1
Variable Afectada:	Costos de Producción	Comentarios:	Una granja con un adecuado control de ambas enfermedades producirá más con un menor costo. Impacto: 2
Variable Afectada:	Ingresos	Comentarios:	Los ingresos se incrementan por una mejora en la producción y el tiempo requerido para obtener un producto comercializable. Impacto: 2

Impactos Sociales			
Variable Afectada:	Capacitación Técnica	Comentarios:	Durante el proyecto se formarán recursos humanos especializados en diagnóstico y caracterización molecular de enfermedades aviarias. Además, trabajadores del rubro avícola y médicos veterinarios podrán actualizarse en la aplicación de estas metodologías. Impacto: 2
Variable Afectada:	Condiciones Laborales	Comentarios:	Puede considerarse un impacto indirecto de la mejora de las condiciones laborales mediante un incremento de la salubridad de los lotes, lo que facilitará su manejo y mejorará las condiciones laborales. Impacto: 1
Variable Afectada:	Condiciones de Empleo	Comentarios:	Es esperable que una mejora en los rendimientos avícolas se convierta en un atractivo para una mayor inversión en el ramo, con el consiguiente incremento de los beneficios y condiciones laborales. Impacto: 1

Impactos Ambientales			
Variable Afectada:	Eficiencia Tecnológica	Comentarios:	No presenta Impacto: 0
Variable Afectada:	Conservación Ambiental	Comentarios:	No presenta Impacto: 0
Variable Afectada:	Recuperación Ambiental	Comentarios:	No presenta Impacto: 0
Variable Afectada:	Cambio Climático	Comentarios:	No presenta Impacto: 0
Variable Afectada:	Otros (describir)	Comentarios:	No presenta Impacto: 0

INIA Dirección Nacional
INIA La Estanzuela
INIA Las Brujas
INIA Salto Grande
INIA Tacuarembó
INIA Treinta y Tres

Andes 1365 P. 12, Montevideo
Ruta 50 Km. 11, Colonia
Ruta 48 Km. 10, Canelones
Camino a l Terrible, Salto
Ruta 5 Km. 386, Tacuarembó
Ruta 8 Km. 281, Treinta y Tres

Tel: 598 2902 0550
Tel: 598 4574 8000
Tel: 598 2367 7641
Tel: 598 4733 5156
Tel: 598 4632 2407
Tel: 598 4452 2023

Fax: 598 2902 3633
Fax: 598 4574 8012
Fax: 598 2367 7609
Fax: 598 4732 9624
Fax: 598 4632 3969
Fax: 598 4452 5701

iniadn@dn.inia.org.uy
iniiale@le.inia.org.uy
inia_lb@lb.inia.org.uy
inia_sg@sg.inia.org.uy
iniatbo@b.inia.org.uy
iniatt@tyt.inia.org.uy

FONDO DE PROMOCIÓN DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (FPTA)

16/

Matriz de Marco Lógico

	Narrativa	Indicadores	Medio de Verificación	Supuestos
Fin	Mejorar la sanidad aviar local y regional mediante la incorporación de tecnología que permita optimizar la prevención y el control de las enfermedades de Gumboro y Bronquitis Infecciosa.	Se reduce la incidencia de ambas enfermedades en la industria avícola uruguaya mediante una adecuación de los planes de control (manejo, vacunación, etc.) a las características genética y antigénicas de los patógenos existentes.	La información generada sobre las enfermedades se pone a disposición de los organismos oficiales y se publica en revistas especializadas. Las encuestas realizadas por los organismos oficiales muestran una mejora del estatus sanitario.	Persistencia en el desarrollo de la industria avícola del Uruguay y la región que conlleve los correspondientes desafíos sanitarios.
Propósito	Obtener información epidemiológica para el control de la Enfermedad de Gumboro y Bronquitis infecciosa en Uruguay mediante el desarrollo y aplicación de herramientas de análisis (genéticas, serológicas y bioinformáticas) de los virus implicados (IBDV e IBV).	Caracterización genética y serológica de las cepas circulantes de ambos virus en el territorio uruguayo. Identificación de las vacunas que presentan mayor homología con las variantes circulantes en Uruguay de ambos virus. Instrumentación de un servidor web (web server) específico para el análisis automático de datos genéticos que brinde además información específica sobre los patógenos. Transferencia de la información obtenida a los organismos oficiales y al sector productivo.	Publicación de información sobre las características genéticas de los virus en resúmenes de congresos y revistas especializadas. Presentación de un informe ante los organismos oficiales de los resultados obtenidos y de las vacunas que presentan mayor homología. Puesta a disposición del servidor web desarrollado.	Los organismos de control y los veterinarios avícolas consideran prioritario el mejoramiento del estatus sanitario mediante el relevamiento de información epidemiológica y la instrumentación de nuevas metodologías de control.
Componente	1. Información actualizada del escenario epidemiológico de los virus de Gumboro y Bronquitis infecciosa en la producción avícola nacional	Caracterización genética de los virus provenientes de brotes de ambas enfermedades circulantes en el periodo 2006-2016. Análisis comparativo de las cepas obtenidas que permita establecer sus relaciones con variantes circulantes en otras regiones.	Publicación de información sobre las características genéticas de los virus en resúmenes de congresos y revistas especializadas. Realización de un informe para ser presentado ante los organismos oficiales.	Los casos clínicos corresponden a los virus en estudio y éstos pueden ser analizados con las técnicas propuestas
Componente	2. Desarrollo de metodologías de caracterización genética y antigénica para cepas y variantes de IBDV e IBV circulantes en Uruguay.	Adecuación y puesta en marcha de metodologías de detección genética para cepas y conjunto de cepas con determinada característica (variantes) obtenidas. Desarrollo y estandarización de metodologías de caracterización antigénica que emplean paneles de anticuerpos monoclonales (IBDV) y virus neutralización (IBDV e IBV).	Publicación de resultados en congresos o revistas de la especialidad. Posible patentamiento de alguna de las metodologías desarrolladas. Elaboración de informe y protocolos para las autoridades oficiales.	La industria avícola uruguaya requiere de metodologías de diagnóstico específicas No surgen metodologías más adecuadas para el estudio de ambos virus.
Componente	3. Metodología integral, estandarizada y validada, de diagnóstico y caracterización genética y antigénica de IBDV e IBV	Aplicación de las metodologías estandarizadas en diferentes cepas, condiciones y laboratorios para validar su utilidad.	Manual operativo con las metodologías estandarizadas. Resultados de las pruebas en laboratorios uruguayos y extranjeros	No se producen cambios en los virus que alteren la especificidad de las metodologías desarrolladas.
Componente	4. Creación de un servidor web para la gestión de la información y el análisis de datos de epidemiología molecular	Desarrollo y utilización del servidor web sobre muestras de IBDV e IBV. Puesta en línea (on line) del servidor.	Acceso al servidor para testar su correcto funcionamiento. Posible patentamiento.	Se convierte en el primer desarrollo de su tipo.
Componente	5. Propuesta de planes de control y prevención adaptados a las características genéticas/antigénicas de las variantes de IBDV e IBV que circulan en la cadena productiva avícola nacional	Determinación de las vacunas que presentan la mayor homología genética/antigénica con las cepas circulantes. Sugerencias de procedimientos para el tratamiento específico de ambos virus	Publicación en congresos o revistas arbitradas de la especialidad. Elaboración de un informe para los organismos oficiales.	Las cepas detectadas continúan circulando en el campo sin cambios relevantes que alteren drásticamente las características genéticas-antigénicas.

INIA Dirección Nacional
INIA La Estanzuela
INIA Las Brujas
INIA Salto Grande
INIA Tacuarembó
INIA Treinta y Tres

Andes 1365 P. 12, Montevideo
Ruta 50 Km. 11, Colonia
Ruta 48 Km. 10, Canelones
Camino a l Terrible, Salto
Ruta 5 Km. 386, Tacuarembó
Ruta 8 Km. 281, Treinta y Tres

Tel: 598 2902 0550
Tel: 598 4574 8000
Tel: 598 2367 7641
Tel: 598 4733 5156
Tel: 598 4632 2407
Tel: 598 4452 2023

Fax: 598 2902 3633
Fax: 598 4574 8012
Fax: 598 2367 7609
Fax: 598 4732 9624
Fax: 598 4632 3969
Fax: 598 4452 5701

iniadn@dn.inia.org.uy
iniate@e.inia.org.uy
inia_lb@lb.inia.org.uy
inia_sg@sg.inia.org.uy
iniatbo@tb.inia.org.uy
iniatt@tyt.inia.org.uy

FONDO DE PROMOCIÓN DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (FPTA)

Componente	6. Consolidación de un laboratorio de investigación y desarrollo biotecnológico de enfermedades aviares con énfasis en Gumboro y Bronquitis Infecciosa	El laboratorio dispone de equipamientos, recursos humanos y procedimientos estandarizados y validados que permiten el diagnóstico, caracterización y asesoramiento en el tratamiento de Gumboro y Bronquitis Infecciosa.	Inspección visual del laboratorio. Disponibilidad del laboratorio para colaborar con organismos oficiales y productores avícolas.	Las patologías aviares en estudio continúan siendo un problema relevante para la avicultura.
-------------------	--	--	---	--

Detalle de las Actividades

Componente: 1. Información actualizada del escenario epidemiológico de los virus de Gumboro y Bronquitis infecc

Actividad: Aplicación de metodologías de caracterización genética en cepas uruguayas de IBV e IBV

Descripción

Se detectarán casos positivos mediante técnicas de identificación de ácidos nucleicos (PCR y PCR en Tiempo Real). Se amplificarán mediante RT-PCR regiones informativas de los virus para lograr su caracterización. Las secuencias obtenidas serán sometidas a análisis informático para determinar los diferentes tipos de cepas de cada virus que circulan en el territorio. Estos resultados se compararán con los que ya se han obtenido en Argentina y Brasil para establecer los virus circulantes en la región y determinar el grado de divergencia que presentan las cepas uruguayas.

Duración

Fecha Inicio: 01/01/2014

Fecha Fin: 01/06/2016

Equipo Técnico Participante

Rol	Nombre
Responsable	Gonzalo Tomás
Participante	Ana Marandino

Instituciones Participantes

Universidad de la República (UdelAR)/ Facultad de Ciencias

Resultados Esperados (Producto / Proceso Tecnológico)

Descripción:	Resultado del análisis de muestras. Se determina el número de casos positivos y se caracteriza el 100% de estas muestras.
Tipo:	3-Desarrollo de tecnologías, productos y procesos
Categoría:	3.12-Productos Biotecnológicos
Indicador:	3.12.1-Mapas de ligamento
Fecha de Planificación:	13/05/2013

Detalle de las Actividades

Componente: 4. Creación de un servidor web para la gestión de la información y el análisis de datos de epidemio

Actividad: Diseño del servidor web

Descripción

Se creará un servidor web para el análisis informático de secuencias de IBV e IBV. Este servidor contará con información básica de ambos virus (bibliografía, procedimientos de diagnóstico y caracterización molecular, protocolos estandarizados, etc.) y con herramientas para su análisis (alineamiento con cepas de referencia, detección de marcadores, comparaciones con cepas vacunales y análisis filogenéticos). Además ofrecerá información sobre planes de control ajustados a variantes virales específicas.

Duración

Fecha Inicio: 01/06/2014

Fecha Fin: 01/09/2015

Equipo Técnico Participante

Rol	Nombre
Participante	Martín Hernández
Participante	Diego Hernández
Responsable	Gregorio Iraola
Participante	Pedro Villegas
Participante	Alejandro Banda

Resultados Esperados (Producto / Proceso Tecnológico)

Descripción:	La versión Beta del servidor estará disponible para su evaluación. Esta primera versión no estará disponible online hasta su completa validación.
Tipo:	3-Desarrollo de tecnologías, productos y procesos
Categoría:	3.14-Generación de conocimiento
Indicador:	3.14.8-Otros
Fecha de Planificación:	13/05/2013

Detalle de las Actividades

INIA Dirección Nacional
INIA La Estanzuela
INIA Las Brujas
INIA Salto Grande
INIA Tacuarembó
INIA Treinta y Tres

Andes 1365 P. 12, Montevideo
Ruta 50 Km. 11, Colonia
Ruta 48 Km. 10, Canelones
Camino a l Terrible, Salto
Ruta 5 Km. 386, Tacuarembó
Ruta 8 Km. 281, Treinta y Tres

Tel: 598 2902 0550
Tel: 598 4574 8000
Tel: 598 2367 7641
Tel: 598 4733 5156
Tel: 598 4632 2407
Tel: 598 4452 2023

Fax: 598 2902 3633
Fax: 598 4574 8012
Fax: 598 2367 7609
Fax: 598 4732 9624
Fax: 598 4632 3969
Fax: 598 4452 5701

iniadn@dn.inia.org.uy
iniale@e.inia.org.uy
inia_lb@lb.inia.org.uy
inia_sg@sg.inia.org.uy
iniatbo@b.inia.org.uy
iniatt@yt.inia.org.uy

FONDO DE PROMOCIÓN DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (FPTA)

1704
17/11

Componente: 6. Consolidación de un laboratorio de investigación y desarrollo biotecnológico de enfermedades avi

Actividad: Formación de recursos humanos

Descripción

Crear recursos humanos con especialización en metodologías moleculares de análisis. El proyecto permitirá que jóvenes investigadores adquieran experiencia en técnicas de diagnóstico y caracterización molecular (caracterización genética y antigénica) en la industria avícola. Algunas de las actividades formarán parte de las tesis de posgrado (Maestrías y Doctorados) de miembros del equipo de investigación. De esta forma, el laboratorio podrá consolidarse como un centro de referencia y entrenamiento en sanidad aviar.

Duración

Fecha Inicio: 01/01/2014

Fecha Fin: 31/12/2016

Equipo Técnico Participante

Rol	Nombre
Responsable	Ruben Gustavo Pérez Crossa
Participante	Yanina Panzera
Participante	Diego Hernández
Participante	Pedro Villegas
Participante	Alejandro Banda

Resultados Esperados (Producto / Proceso Tecnológico)

Descripción:	Se generarán tesis de grado y posgrado. Se brindarán entrenamientos técnicos, cursos y seminarios sobre la materia. Estas actividades incluirán informes específicos que estarán a disposición del INIA.
Tipo:	3-Desarrollo de tecnologías, productos y procesos
Categoría:	3.14-Generación de conocimiento
Indicador:	3.14.8-Otros
Fecha de Planificación:	14/05/2013

Detalle de las Actividades

Componente: 5. Propuesta de planes de control y prevención adaptados a las características genéticas/antigénica

Actividad: Identificar el grado de similitud genética entre las vacunas y las cepas de campo

Descripción

Establecer, mediante la comparación de secuencias nucleotídicas y aminoácidas, la homología de las cepas de IBDV e IBV circulantes en el territorio uruguayo con las cepas incluidas en las vacunas disponibles en Uruguay.

Duración

Fecha Inicio: 01/01/2015

Fecha Fin: 01/01/2016

Equipo Técnico Participante

Rol	Nombre
Responsable	Martin Hernández
Participante	Gonzalo Tomás
Participante	Ana Marandino
Participante	Pedro Villegas
Participante	Alejandro Banda

Resultados Esperados (Producto / Proceso Tecnológico)

Descripción:	Identificación de las cepas vacunales que presentan mayor similitud genética con las cepas de campo circulantes.
Tipo:	3-Desarrollo de tecnologías, productos y procesos
Categoría:	3.14-Generación de conocimiento
Indicador:	3.14.8-Otros
Fecha de Planificación:	14/05/2013

Detalle de las Actividades

Componente: 5. Propuesta de planes de control y prevención adaptados a las características genéticas/antigénica

Actividad: Identificar vacunas que generan mejor protección ante las cepas de campo

Descripción

Establecer la protección de la vacuna de IBDV e IBV disponible en Uruguay con las cepas circulantes en el territorio mediante ensayos de virus neutralización.

Duración

Fecha Inicio: 01/06/2015

Fecha Fin: 01/06/2016

INIA Dirección Nacional
INIA La Estanzuela
INIA Las Brujas
INIA Salto Grande
INIA Tacuarembó
INIA Treinta y Tres

Andes 1365 P. 12, Montevideo
Ruta 50 Km. 11, Colonia
Ruta 48 Km. 10, Canelones
Camino a l Terrible, Salto
Ruta 5 Km. 386, Tacuarembó
Ruta 8 Km. 281, Treinta y Tres

Tel: 598 2902 0550
Tel: 598 4574 8000
Tel: 598 2367 7641
Tel: 598 4733 5156
Tel: 598 4632 2407
Tel: 598 4452 2023

Fax: 598 2902 3633
Fax: 598 4574 8012
Fax: 598 2367 7609
Fax: 598 4732 9624
Fax: 598 4632 3969
Fax: 598 4452 5701

iniadn@dn.inia.org.uy
iniale@le.inia.org.uy
inia_lb@lb.inia.org.uy
inia_sg@sg.inia.org.uy
iniatbo@tb.inia.org.uy
iniatt@tyt.inia.org.uy

FONDO DE PROMOCIÓN DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (FPTA)

Equipo Técnico Participante	
Rol	Nombre
Participante	Gonzalo Tomás
Participante	Ana Marandino
Participante	Diego Hernández
Responsable	Alejandro Banda

Resultados Esperados (Producto / Proceso Tecnológico)	
Descripción:	Identificación de las vacunas con el mayor índice de protección frente a las cepas de campo circulantes en el territorio.
Tipo:	3-Desarrollo de tecnologías, productos y procesos
Categoría:	3.14-Generación de conocimiento
Indicador:	3.14.8-Otros
Fecha de Planificación:	14/05/2013

Detalle de las Actividades

Componente: 6. Consolidación de un laboratorio de investigación y desarrollo biotecnológico de enfermedades avi

Actividad: Mejora edilicia	
Descripción	
Ampliar y mejorar las instalaciones y el instrumental para el diagnóstico molecular aviar. Esto incluye disponer de un espacio exclusivo para ingreso y procesamiento inicial de muestras y su almacenamiento. Además se actualizará e incrementará el equipamiento para la realización de técnicas genéticas y serológicas.	
Duración	
Fecha Inicio: 01/01/2015	Fecha Fin: 01/10/2016

Equipo Técnico Participante	
Rol	Nombre
Responsable	Ruben Gustavo Pérez Crossa
Participante	Yanina Panzera

Resultados Esperados (Producto / Proceso Tecnológico)	
Descripción:	Se contará con un laboratorio consolidado para el estudio de patologías aviares. Este laboratorio podrá recibir muestras de todo el territorio nacional y realizar un diagnóstico y caracterización en forma rápida y con metodologías de última generación.
Tipo:	3-Desarrollo de tecnologías, productos y procesos
Categoría:	3.4-Prácticas y procesos agropecuarios
Indicador:	3.4.1-Tecnologías y Prácticas de manejo
Fecha de Planificación:	14/05/2013

Detalle de las Actividades

Componente: 4. Creación de un servidor web para la gestión de la información y el análisis de datos de epidemio

Actividad: Optimización	
Descripción	
Se testará el servidor web sobre secuencias obtenidas en Uruguay y extranjeras que hayan sido previamente caracterizadas. De esa forma se comprobará su correcto funcionamiento. Se pondrá en línea (on line) para que sea accesible a otros investigadores interesados en IBDV e IBV.	
Duración	
Fecha Inicio: 01/06/2016	Fecha Fin: 01/09/2016

Equipo Técnico Participante	
Rol	Nombre
Participante	Ruben Gustavo Pérez Crossa
Participante	Martín Hernández
Responsable	Gregorio Iraola

Resultados Esperados (Producto / Proceso Tecnológico)	
Descripción:	El servidor web, previamente testado y optimizado, será puesto on line disponible para la industria avícola.
Tipo:	3-Desarrollo de tecnologías, productos y procesos
Categoría:	3.14-Generación de conocimiento
Indicador:	3.14.8-Otros
Fecha de Planificación:	13/05/2013

Detalle de las Actividades

Componente: 2. Desarrollo de metodologías de caracterización genética y antigénica para cepas y variantes de IB

INIA Dirección Nacional	Andes 1365 P. 12, Montevideo	Tel: 598 2902 0550	Fax: 598 2902 3633	iniadn@dn.inia.org.uy
INIA La Estanzuela	Ruta 50 Km. 11, Colonia	Tel: 598 4574 8000	Fax: 598 4574 8012	iniiale@le.inia.org.uy
INIA Las Brujas	Ruta 48 Km. 10, Canelones	Tel: 598 2367 7641	Fax: 598 2367 7609	inia_lb@lb.inia.org.uy
INIA Salto Grande	Camino a l Terrible, Salto	Tel: 598 4733 5156	Fax: 598 4732 9624	inia_sg@sg.inia.org.uy
INIA Tacuarembó	Ruta 5 Km. 386, Tacuarembó	Tel: 598 4632 2407	Fax: 598 4632 3969	iniatbo@tb.inia.org.uy
INIA Treinta y Tres	Ruta 8 Km. 281, Treinta y Tres	Tel: 598 4452 2023	Fax: 598 4452 5701	iniatt@tyt.inia.org.uy

FONDO DE PROMOCIÓN DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (FPTA)

BCF
MI

Actividad: Optimizar y desarrollar metodologías de caracterización antigénicas para IBDV e IBV

Descripción

Se instrumentarán ensayos de virus neutralización utilizando anticuerpos de las vacunas que se utilizan en nuestro territorio. De esta forma se obtendrá un perfil serológico del virus. En el caso particular de IBDV también se realizará la caracterización antigénica mediante un panel de anticuerpos monoclonales Ac-ELISA. Este ensayo permitirá clasificar a los IBDV según el nivel de reactividad de los mismos con los anticuerpos monoclonales. Queremos destacar que la metodología de virus neutralización se acoplará con técnicas de cuantificación por PCR en Tiempo Real que permitirá evaluar más adecuadamente los niveles de protección vacunal.

Duración

Fecha Inicio: 01/01/2016 **Fecha Fin:** 01/09/2016

Equipo Técnico Participante

Rol	Nombre
Participante	Martín Hernández
Participante	Gonzalo Tomás
Responsable	Ana Marandino
Participante	Yanina Panzera
Participante	Alejandro Banda

Resultados Esperados (Producto / Proceso Tecnológico)

Descripción:	Implementación de metodologías para establecer el perfil antigénico de los virus circulantes en Uruguay en relación a cepas vacunales registradas en el territorio.
Tipo:	3-Desarrollo de tecnologías, productos y procesos
Categoría:	3.9-Metodología Científica
Indicador:	3.9.4-Métodos de fenotipado
Fecha de Planificación:	13/05/2013

Detalle de las Actividades

Componente: 2. Desarrollo de metodologías de caracterización genética y antigénica para cepas y variantes de IB

Actividad: Optimizar y desarrollar metodologías de caracterización para variantes específicas de IBDV e IBV

Descripción

Se ajustará la metodología a las variantes genéticas existentes en nuestro territorio y a aquellos nuevos tipos que puedan ser detectados durante el proyecto. Se desarrollarán nuevas metodologías de PCR a Tiempo Final y a Tiempo Real que se ajusten a las variantes que circulan en nuestro territorio. Estas metodologías permitirán detectar la o las variante uruguayas y aquellas similares en otros países, particularmente de la región (Argentina y Brasil).

Duración

Fecha Inicio: 01/01/2015 **Fecha Fin:** 31/12/2015

Equipo Técnico Participante

Rol	Nombre
Responsable	Gonzalo Tomás
Participante	Ana Marandino
Participante	Yanina Panzera

Resultados Esperados (Producto / Proceso Tecnológico)

Descripción:	Técnicas específicas para la identificación de variantes genéticas ajustadas a la realidad epidemiológica de Uruguay y la región.
Tipo:	3-Desarrollo de tecnologías, productos y procesos
Categoría:	3.9-Metodología Científica
Indicador:	3.9.4-Métodos de fenotipado
Fecha de Planificación:	13/05/2013

Detalle de las Actividades

Componente: 3. Metodología integral, estandarizada y validada, de diagnóstico y caracterización genética y anti

Actividad: Realización de un manual de procedimiento

Descripción

Creación de un manual de procedimientos que incluya toda la metodología estandarizada y validada.

Duración

Fecha Inicio: 01/06/2016 **Fecha Fin:** 01/09/2016

INIA Dirección Nacional	Andes 1365 P. 12, Montevideo	Tel: 598 2902 0550	Fax: 598 2902 3633	iniadn@dn.inia.org.uy
INIA La Estanzuela	Ruta 50 Km. 11, Colonia	Tel: 598 4574 8000	Fax: 598 4574 8012	iniale@le.inia.org.uy
INIA Las Brujas	Ruta 48 Km. 10, Canelones	Tel: 598 2367 7641	Fax: 598 2367 7609	inia_lb@lb.inia.org.uy
INIA Salto Grande	Camino a l Terrible, Salto	Tel: 598 4733 5156	Fax: 598 4732 9624	inia_sg@sg.inia.org.uy
INIA Tacuarembó	Ruta 5 Km. 386, Tacuarembó	Tel: 598 4632 2407	Fax: 598 4632 3969	iniatbo@tb.inia.org.uy
INIA Treinta y Tres	Ruta 8 Km. 281, Treinta y Tres	Tel: 598 4452 2023	Fax: 598 4452 5701	iniatt@tyt.inia.org.uy

FONDO DE PROMOCIÓN DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (FPTA)

Equipo Técnico Participante	
Rol	Nombre
Participante	Ruben Gustavo Pérez Crossa
Responsable	Martín Hernández
Participante	Yanina Panzera
Participante	Alejandro Banda

Resultados Esperados (Producto / Proceso Tecnológico)	
Descripción:	Las metodologías de caracterización genéticas y antigénicas que fueron estandarizadas y validadas se incluirán en un manual operativo
Tipo:	3-Desarrollo de tecnologías, productos y procesos
Categoría:	3.9-Metodología Científica
Indicador:	3.9.1-Protocolos desarrollados
Fecha de Planificación:	13/05/2013

Detalle de las Actividades	
Componente: 3. Metodología integral, estandarizada y validada, de diagnóstico y caracterización genética y anti	
Actividad: Validación de metodologías	
Descripción	
Ejecución de los procedimientos desarrollados sobre muestras uruguayas y extranjeras en el laboratorio uruguayo. También se aplicarán las metodologías en un laboratorio de referencia extranjero.	
Duración	
Fecha Inicio: 01/01/2016	Fecha Fin: 01/09/2016

Equipo Técnico Participante	
Rol	Nombre
Participante	Martín Hernández
Participante	Gonzalo Tomás
Participante	Ana Marandino
Participante	Yanina Panzera
Responsable	Alejandro Banda

Resultados Esperados (Producto / Proceso Tecnológico)	
Descripción:	Las metodologías desarrolladas se aplicarán sobre diferentes muestras y en diferentes laboratorios para lograr la validación de las técnicas.
Tipo:	3-Desarrollo de tecnologías, productos y procesos
Categoría:	3.9-Metodología Científica
Indicador:	3.9.4-Métodos de fenotipado
Fecha de Planificación:	13/05/2013

INIA Dirección Nacional
 INIA La Estanzuela
 INIA Las Brujas
 INIA Salto Grande
 INIA Tacuarembó
 INIA Treinta y Tres

Andes 1365 P. 12, Montevideo
 Ruta 50 Km. 11, Colonia
 Ruta 48 Km. 10, Canelones
 Camino a I Terrible, Salto
 Ruta 5 Km. 386, Tacuarembó
 Ruta 8 Km. 281, Treinta y Tres

Tel: 598 2902 0650
 Tel: 598 4574 8000
 Tel: 598 2367 7641
 Tel: 598 4733 5156
 Tel: 598 4632 2407
 Tel: 598 4452 2023

Fax: 598 2902 3633
 Fax: 598 4574 8012
 Fax: 598 2367 7609
 Fax: 598 4732 9624
 Fax: 598 4632 3969
 Fax: 598 4452 5701

iniadn@dn.inia.org.uy
iniate@te.inia.org.uy
inia_lb@lb.inia.org.uy
inia_sg@sg.inia.org.uy
iniatbo@tb.inia.org.uy
iniatt@tyt.inia.org.uy

FONDO DE PROMOCIÓN DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (FPTA)

Presupuesto

Fuente de Financiamiento: FPTA

Rubro	Concepto	Cantidad	Unidad	Costo/unidad	Monto Año 1	Monto Año 2	Monto Año 3	Monto Año 4
Serie técnica FPTA	Publicación	1,00		2.500,00	0,00	0,00	2.500,00	0,00
Equipos de Laboratorio	Freezer -80°C	1,00		8.000,00	8.000,00	0,00	0,00	0,00
Equipos de Laboratorio	Equipo de PCR	1,00		5.000,00	5.000,00	0,00	0,00	0,00
Herramientas y equipo	Pipetas tipo Gilson	6,00		300,00	900,00	900,00	0,00	0,00
Mensuales	Grado 1-20hs	36,00	meses	540,00	6.480,00	6.480,00	6.480,00	0,00
Mensuales	Grado 1- 20 hs	36,00	meses	540,00	6.480,00	6.480,00	6.480,00	0,00
Mensuales	Grado 2- 20 hs	36,00	meses	730,00	8.760,00	8.760,00	8.760,00	0,00
Capacitación de corto	Pasantía de laboratorio (Estados Unidos)	45,00	días	100,00	0,00	0,00	4.500,00	0,00
Servicios de laboratorio	Servicio secuenciación, análisis de ácidos nucleicos (Instituto Pasteur, Macrogen)	1,00	unidad	9.000,00	3.000,00	3.000,00	3.000,00	0,00
Insumos y suministros	Sondas y primers	1,00	unidad	3.000,00	2.000,00	1.000,00	0,00	0,00
Mensuales	Grado 1-20 hs	36,00	meses	540,00	6.480,00	6.480,00	6.480,00	0,00
Insumos y suministros	Kit y productos para amplificación por PCR (RT, Taq, dNTPs, etc.)	1,00	unidad	3.000,00	1.000,00	1.000,00	1.000,00	0,00
Insumos y suministros	Productos para geles (agarosa, marcadores, colorantes, preparación de buffers)	1,00	unidad	2.500,00	1.000,00	1.000,00	500,00	0,00
Insumos y suministros	fungibles plásticos (puntas, tubos, guantes)	1,00	unidad	1.500,00	500,00	500,00	500,00	0,00
Insumos y suministros	Anticuerpos y vacunas	1,00		2.000,00	1.000,00	1.000,00	0,00	0,00
Insumos y suministros	huevo fertilizado (SPF)	1,00	unidad	1.500,00	0,00	1.500,00	0,00	0,00
Infraestructura	Construcción-remodelación de un recinto específico para procesamiento de muestras e incubadora.	1,00	Lts	20.000,00	0,00	20.000,00	0,00	0,00
Otros Egresos	Gastos administración - Facultad de Ciencias	1,00		9.000,00	3.000,00	3.000,00	3.000,00	0,00
Gastos por viajes local	Viajes de colecta	10,00	unidad	400,00	2.000,00	1.000,00	1.000,00	0,00
Gastos de difusión	Realización de actividades de difusión (seminario, charlas)	2,00	unidad	750,00	0,00	750,00	750,00	0,00
Gastos de difusión	Mantenimiento de página web con información del proyecto.	3,00	unidad	500,00	500,00	500,00	500,00	0,00

INIA Dirección Nacional
 INIA La Estanzuela
 INIA Las Brujas
 INIA Salto Grande
 INIA Tacuarembó
 INIA Treinta y Tres

Andes 1365 P. 12, Montevideo
 Ruta 50 Km. 11, Colonia
 Ruta 48 Km. 10, Canelones
 Camino a l Terrible, Salto
 Ruta 5 Km. 386, Tacuarembó
 Ruta 8 Km. 281, Treinta y Tres

Tel: 598 2902 0550
 Tel: 598 4574 8000
 Tel: 598 2367 7641
 Tel: 598 4733 5156
 Tel: 598 4632 2407
 Tel: 598 4452 2023

Fax: 598 2902 3633
 Fax: 598 4574 8012
 Fax: 598 2367 7609
 Fax: 598 4732 9624
 Fax: 598 4632 3969
 Fax: 598 4452 5701

iniadn@dn.inia.org.uy
iniale@le.inia.org.uy
inia_lb@lb.inia.org.uy
inia_sg@sg.inia.org.uy
iniatbo@tb.inia.org.uy
iniatt@tyt.inia.org.uy

FONDO DE PROMOCIÓN DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (FPTA)

Referencias Bibliográficas

Autor principal	Cita
Callison S.A.	Callison S.A., Hilt D.A., Boynton T.O., Sample B.F., Robison R., Swayne D.E., & Jackwood M.W. Development and evaluation of a real-time Taqman RT-PCR assay for the detection of infectious bronchitis virus from infected chickens. <i>J. Virol. Methods</i> 138(1-2):60-65. 2006.
Cavanagh D.	Cavanagh D. Severe acute respiratory syndrome vaccine development: experiences of vaccination against avian infectious bronchitis coronavirus. <i>Avian Path.</i> 32(6):567-582. 2003.
Erbeck D.H.	Erbeck D.H., & McMurray B.L. Isolation of Georgia variant (Georgia isolate 1992) infectious bronchitis virus but not <i>Ornithobacterium rhinotracheale</i> from a Kentucky broiler complex. <i>Avian Dis.</i> 42(3):613-617. 1998.
Errea E.	Errea E. Carne Aviar: situación y perspectivas. Anuario OPYPA 2012. 91-100. 2012. (http://www.mgap.gub.uy/portal/hgxpp001.aspx?7,7,667,O,S,0,MNU;E;66;9;MNU)
Etteradossi N.	Etteradossi N. Progress in the Diagnosis and Prophylaxis of Infectious Bursal Disease in Poultry, Comprehensive reports on technical items presented to the International Committee or to regional Commissions. OIE, 75-82. 1995.
Etteradossi N.	Etteradossi N., Toquin D., Rivallan G., & Guittet M. Modified activity of a VP2-located neutralizing epitope on various vaccine, pathogenic and hypervirulent strains of infectious bursal disease virus. <i>Arch. Virol.</i> 142(2):255-270. 1997.
Fahey K.J.	Fahey K.J., McWaters P., Brown M.A., Erny K., Murphy V.J., & Hewish D.R. Virus-neutralizing and passively protective monoclonal antibodies to infectious bursal disease virus of chickens. <i>Avian Dis.</i> 35(2):365-373. 1991.
Gelb J.	Gelb J., Wolff J., & Moran C. Variant Serotypes of Infectious Bronchitis Virus isolated from commercial layer and broiler chickens. <i>Avian Dis.</i> 35(1):82-87. 1991.
Hernández M.	Hernández M., Banda A., Hernández D., Panzera F., & Pérez R. Detection of very virulent strains of infectious bursal disease virus (vvIBDV) in commercial broilers from Uruguay. <i>Avian Dis.</i> 50(4):624-631. 2006.
Hernández M.	Hernández M., Villegas P., Hernández D., Banda A., Maya L., Romero V., Tomás G., & Pérez R. Sequence variability and evolution of the terminal overlapping VP5 gene of the infectious bursal disease virus. <i>Virus Genes.</i> 41(1):59-66. 2010.
Hernández M.	Hernández M., Tomás G., Hernández D., Villegas P., Banda A., Maya L., Panzera Y., & Pérez R. Novel multiplex RT-PCR/RFLP diagnostic test to differentiate low- from high pathogenic strains and to detect reassortant Infectious Bursal Disease Virus. <i>Avian Dis.</i> 55(3):368-374. 2011.
Hernández M.	Hernández M., Tomás G., Marandino A., Panzera Y., Hernández D., Villegas P., Banda A., & Pérez R. Desarrollo de tecnología en sanidad aviar para la detección y caracterización de los virus de la Bronquitis Infecciosa y de Gumboro. INIA. Edición especial N° 043. 2012.
Hesselink W.G.	Hesselink W.G. Serotyping avian infectious bronchitis virus: selection of a unified method. In E.F. Kaleta & U. Heffels-Redmann (Eds.). <i>Proceedings of the 2nd International Symposium on Infectious Bronchitis</i> (pp. 87-97). Rauschholzhausen, Germany. 1991.
Hirai M.K.	Hirai M.K., Funakoshi T., Nakai T., & Shimakura S. Sequential changes in the number of surface immunoglobulin-bearing B lymphocytes in infectious bursal disease virus-infected chickens. <i>Avian Dis.</i> 25:484-496. 1981.
Le Nouën C.	Le Nouën C., Rivallan G., Toquin D., Darlu P., Morin Y., Beven V., de Boisseson C., Cazaban C., Comte S., Gardin Y., & Etteradossi N. Very virulent infectious bursal disease virus: reduced pathogenicity in a rare natural segment-B-reassorted isolate. <i>J. Gen. Virol.</i> 87(Pt 1):209-216. 2006.
Rimondi A.	Rimondi A., Craig M., Vagnozzi A., König G., Delamer M., & Pereda A. Molecular characterization of avian infectious bronchitis virus from outbreaks in Argentina (2001-2008). <i>Avian Path.</i> 38(2):149-153. 2009.
Saito T.	Saito T., Munakata Y., Fu Y., Fujii H., Kodera T., Miyagawa E., Ishii K., & Sasaki T. Evaluation of anti-parvovirus B19 activity in sera by assay using quantitative polymerase chain reaction. <i>J. Virol. Methods.</i> 107(1):81-87. 2003.
Snyder D.B.	Snyder D.B., Vakharia V.N., & Savage P.K. Naturally occurring neutralizing monoclonal antibody escape variants define the epidemiology of infectious bursal disease viruses in the United States. <i>Arch. Virol.</i> 127(1-4):89-101. 1992.
Tomás G.	Tomás G., Hernández M., Marandino A., Panzera Y., Maya L., Hernández D., Pereda A., Banda A., Villegas P., Aguirre S., & Pérez R. Development and validation of a TaqMan-MGB real-time RT-PCR assay for simultaneous detection and characterization of infectious bursal disease virus. <i>J. Virol. Methods.</i> 185(1):101-107. 2012.
van den Berg T.P.	van den Berg T.P., Gonze M., & Meulemans G. Acute infectious bursal disease in poultry: isolation and characterization of a highly virulent strain. <i>Avian Pathol.</i> 20(1):133-143. 1991.
van den Berg T.P.	van den Berg T.P., Morales D., Etteradossi N., Rivallan G., Toquin D., Raue R., Zierenberg K., Zhang M.F., Zhu Y.P., Wang C.Q., Zheng H.J., Wang X., Chen G.C., Lim B.L., & Müller H. Assessment of genetic, antigenic and pathotypic criteria for the characterization of IBDV strains. <i>Avian Pathol.</i> 33(5):470-476. 2004.
van Santen V.L.	van Santen V.L., Kaitenboeck B., Joiner K.S., Macklin K.S., & Norton R.A. Real-time quantitative PCR-based serum neutralization test for detection and titration of neutralizing antibodies to chicken anemia virus. <i>J. Virol. Methods.</i> 115(2):123-135. 2004.
Villegas P	Villegas P. Viral diseases of the respiratory system. <i>Poultry Sci.</i> 77(8):1143-1145. 1998.

INIA Dirección Nacional
INIA La Estanzuela
INIA Las Brujas
INIA Salto Grande
INIA Tacuarembó
INIA Treinta y Tres

Andes 1365 P. 12, Montevideo
Ruta 50 Km. 11, Colonia
Ruta 48 Km. 10, Canelones
Camino a l Terrible, Salto
Ruta 5 Km. 386, Tacuarembó
Ruta 8 Km. 281, Treinta y Tres

Tel: 598 2902 0550
Tel: 598 4574 8000
Tel: 598 2367 7641
Tel: 598 4733 5156
Tel: 598 4632 2407
Tel: 598 4452 2023

Fax: 598 2902 3633
Fax: 598 4574 8012
Fax: 598 2367 7609
Fax: 598 4732 9624
Fax: 598 4632 3969
Fax: 598 4452 5701

iniadn@dn.inia.org.uy
iniale@le.inia.org.uy
inia_lb@lb.inia.org.uy
inia_sg@sg.inia.org.uy
iniatho@t.inia.org.uy
iniatt@vt.inia.org.uy

2017
RM

ANEXO 2.

TÉRMINOS DE REFERENCIA DEL LIDER DEL PROYECTO

El Líder del Proyecto deberá cumplir con los siguientes términos, mientras dure el plazo de este Convenio.

- a) **Responsabilizarse** por la ejecución técnica de la investigación de acuerdo a lo descrito en el Documento Proyecto presentado al Llamado.
- b) **Controlar** el cumplimiento en tiempo y forma de la propuesta técnica del Proyecto. Para ello utilizará como guía el documento del proyecto presentado a INIA y el Cronograma de Actividades que este Convenio incorpora.
- c) **Realizar** informes de avance semestrales, un informe Final y un resumen ejecutivo de los resultados del Proyecto, de acuerdo a las cláusulas de este Convenio. Estos informes deben ser enviados o entregados a la Unidad Coordinadora de Ejecución de INIA.
- e) **Aportar** toda la información que le sea requerida por INIA para un correcto seguimiento y posterior evaluación del Proyecto.