



# COLABORATION INIA-MARM EN SANTÉ ANIMALE

COLABORACIÓN INIA-MARM en SANIDAD ANIMAL

MARISA ARRÉS  
CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN SANIDAD ANIMAL, CISA-INIA  
28130, Valdeolmos, Madrid, Spain

*Valdeolmos, 28 JUNIO, 2011*

# CONTENIDO

**1.- EL CISA:** Quienes somos  
qui sommes-nous ?

**2.- Las Instalaciones del CISA**  
Les installations du CISA

**3.- Colaboración INIA-MARM**  
Collaboration INIA-MARM

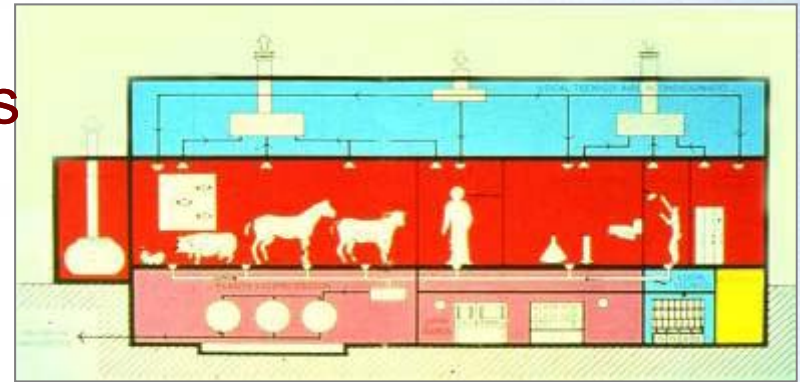
- I+D in santé animal

- Asistencia Científica y Técnica a los Laboratorios Nacionales de Referencia.

Assistance scientifique et technique aux laboratoires nationaux de Référence

# 1993: **CISA-INIA**, Valdeolmos

I+D en Sanidad Animal. Desarrollo de tecnologías para la prevención y control de enfermedades animales de declaración obligatoria.



La recherche et le développement d'outils de diagnostic pour la prévention, le diagnostic, le control et l'éradication de maladies infectieuses animales de déclaration obligatoire.

**BIOSAFETY LEVEL 3 and 3+ FACILITY**

**NIVEAU DE BIOSÉCURITÉ 3 ET INSTALLATION 3+**







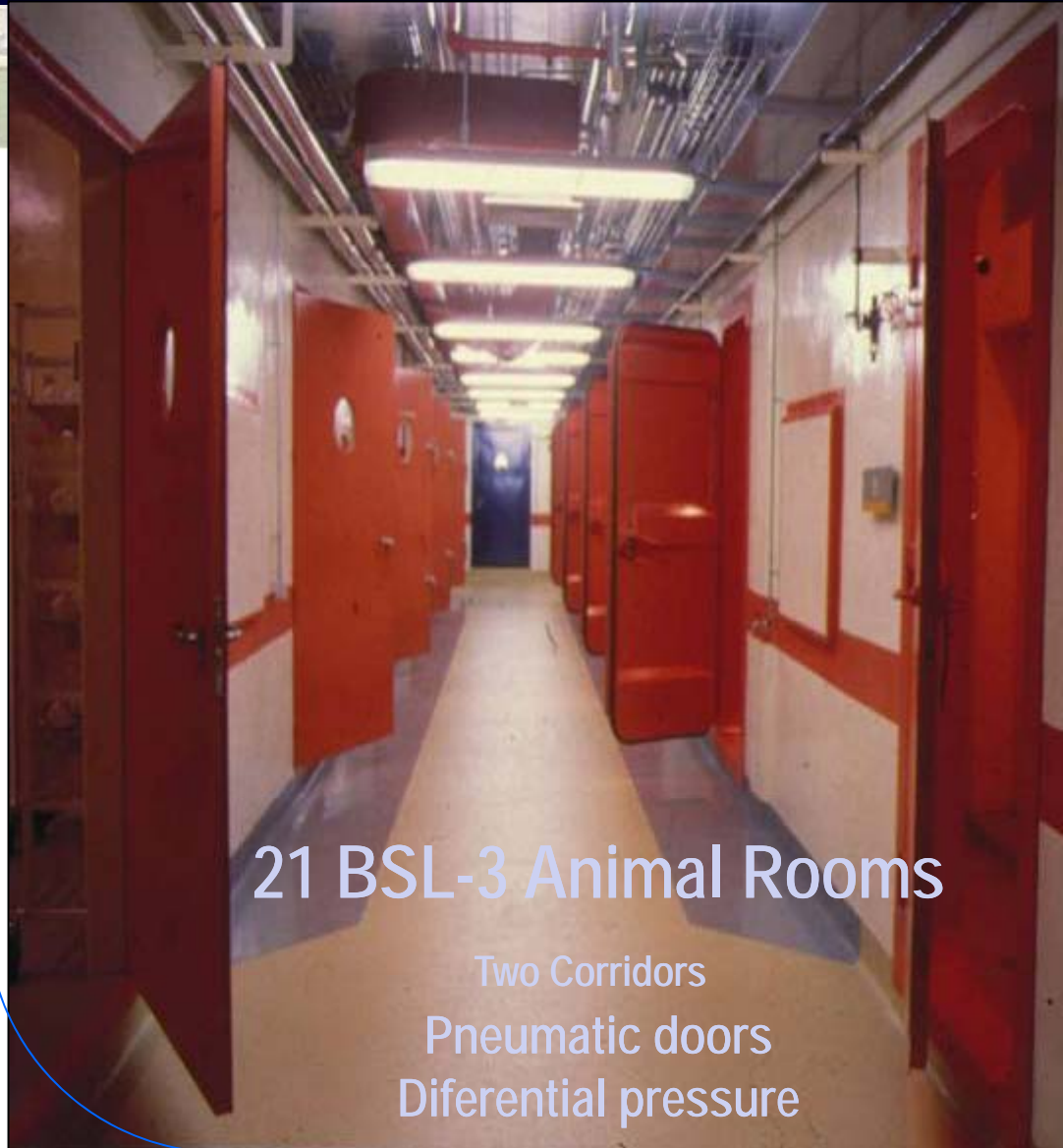
40 BSL-3 laboratories.

# BSL3+ Laboratories





# BSL-3 ANIMAL FACILITY



# CONVENIO DE COLABORACIÓN INIA-MARM

Convention de collaboration INIA-MARM

## LA NECESIDAD LE BESOIN

- Mantener al día los conocimientos y desarrollos técnicos más recientes acerca de las enfermedades emergentes y re-emergentes que afectan a los animales domésticos y silvestres.
- Apoyo a sus laboratorios de referencia a través de estudios especializados
- Tenir à jour les connaissances techniques les plus récentes sur les maladies émergentes et réémergentes des animaux domestiques et sauvages.
- Soutien de ses laboratoires de référence à travers des projets d'études spécialisés





GOBIERNO  
DE ESPAÑA

MINISTERIO  
DE CIENCIA  
E INNOVACIÓN



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN SANIDAD ANIMAL (CISA), INIA**  
**EU REFERENCE LABORATORY FOR AFRICAN SWINE FEVER**

**Ctra Algete-El Casar s/n, 28130, Valdeolmos, Madrid.**

# CONVENIO DE COLABORACIÓN INIA-MARM

Convention de collaboration INIA-MARM

**I+D EN SANIDAD ANIMAL Y APOYO A LOS  
LABORATORIOS DE REFERENCIA**

Recherche et développement en Santé Animal  
et soutien aux Laboratoires de Référence



# CONVENIO DE COLABORACIÓN INIA-MARM

Convention de collaboration INIA-MARM

## OBJETIVO PRINCIPAL

### OBJECTIF PRINCIPAL:

Conseguir una constante mejora de la prevención, el diagnóstico y el control de las enfermedades emergentes, re-emergentes y transfronterizas animales.

Obtenir une constante amélioration dans la prévention, diagn. et le contrôle de maladies animales émergentes, réémergentes et frontalières.

# CONVENIO DE COLABORACIÓN INIA-MARM

## Convention de collaboration INIA-MARM

### OBJETO

### OBJECTIF

- **Investigación y Desarrollo científico y tecnológico**

Recherche et développement scientifique et technologique

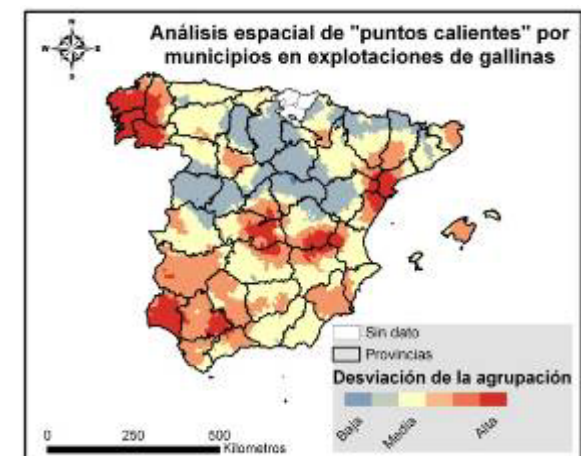
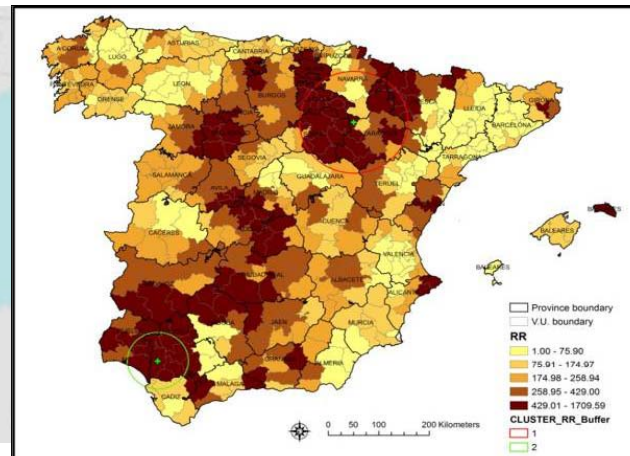
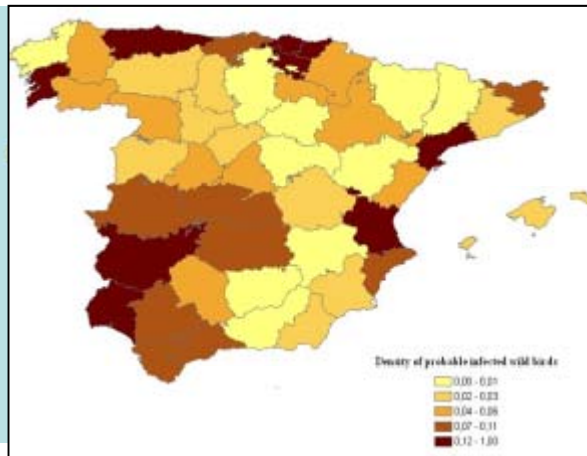
- **Asistencia Científica y Técnica a los Laboratorios Nacionales de Referencia dependientes de la DGRA, y el Intercambio de conocimientos**

Assistance scientifique et technique aux laboratoires nationaux de Référence qui dépendent de la DGRA, et échange de connaissances.



# CONVENTION DE COLLABORATION INIA-MARM

Epidemiología de las enfermedades animales. Predicción del riesgo.  
Epidémiologie des maladies animales. Prévision du risque.



**Riesgo de entrada y difusión de enfermedades animales de declaración obligatoria:**

Risque d'entrée et de diffusion de maladies animales de déclaration obligatoire:

- **Influenza aviar altamente patógena** Grippe aviaire hautement pathogène
- **Enfermedad de Newcastle** Maladie de Newcastle
- **Crimean Congo** Crimean Congo

# CONVENTION DE COLLABORATION INIA-MARM

Epidemiología de las enfermedades animales. Predicción del riesgo.  
Epidémiologie des maladies animales. Prévision du risque.

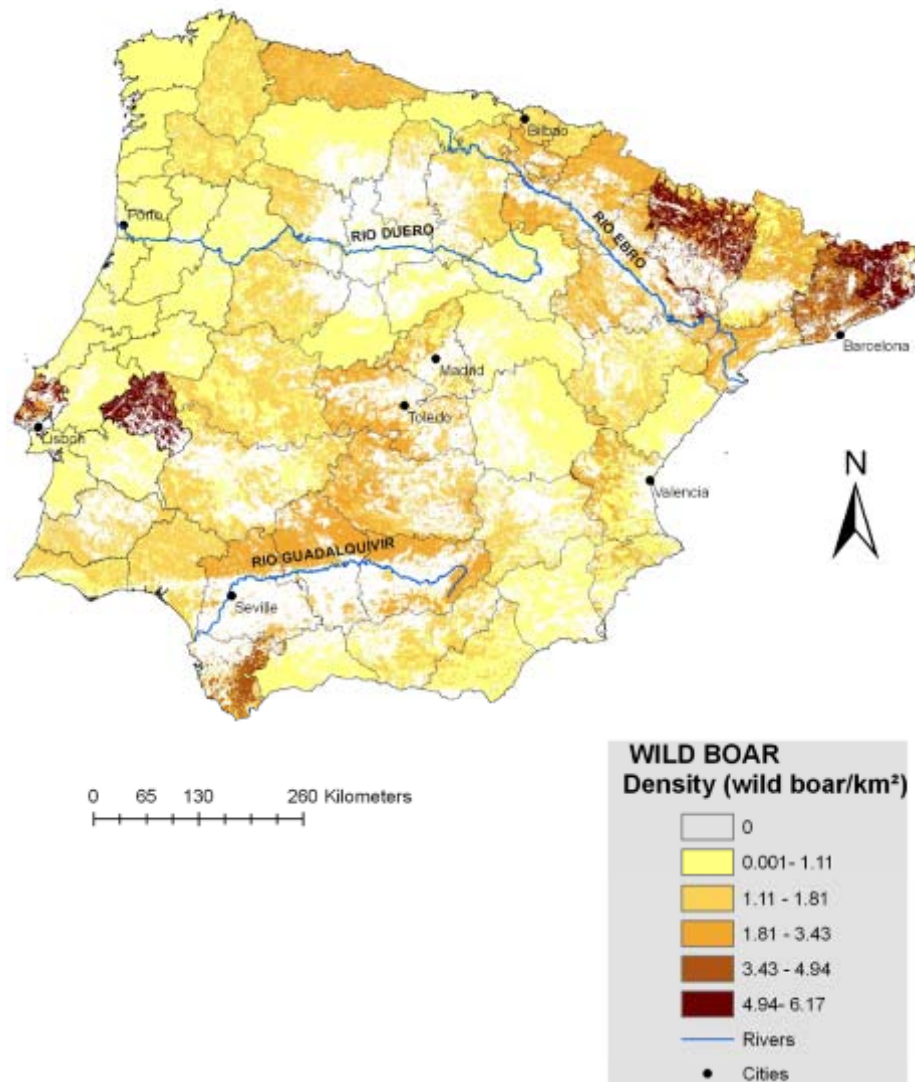


**Seguimiento de brotes: Influenza aviar altamente patógena en el embalse de Almoguera (octubre 2009).** Suivi des épidémies: Grippe aviaire



# CONVENTION DE COLLABORATION INIA-MARM

## Epidémiologie des maladies animales. Prédiction du risque.

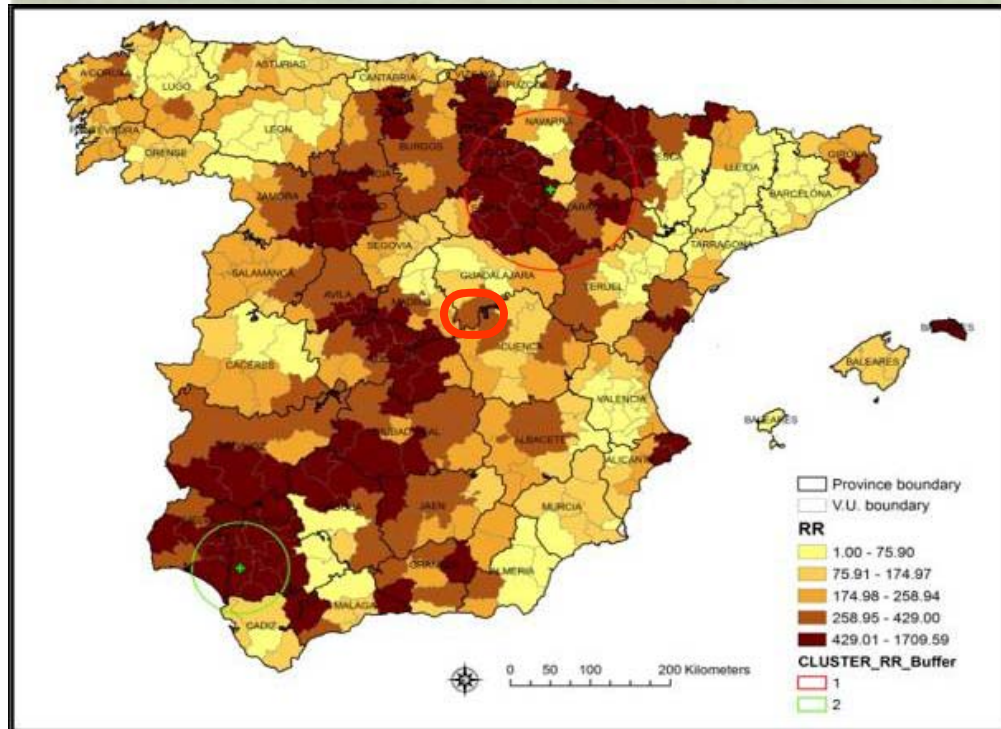


**Reservorios silvestres para enfermedades compartidas con ganadería: densidad y distribución del jabalí en España. Réservoirs sauvages pour des maladies partagées avec les animaux d'élevage: densité y distribution du sanglier en Espagne.**



# CONVENTION DE COLLABORATION INIA-MARM

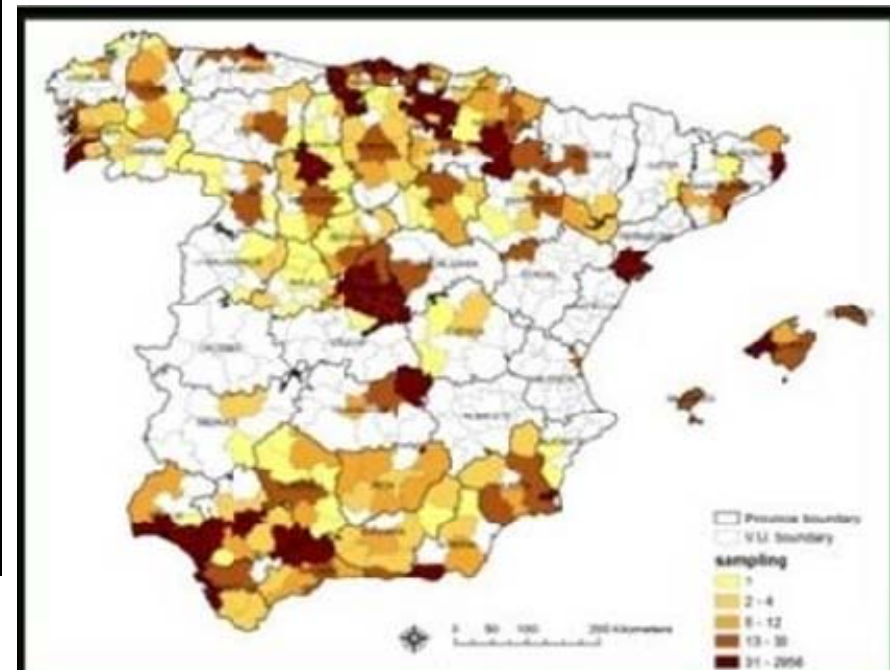
## Epidémiologie des maladies animales. Prédiction du risque.



Modelo de "Zonas de Riesgo" Modèle de "Zones de Risque"

Echantillonnage au sein du Plan de surveillance du MARM, 2007

**Muestreo en el Plan de vigilancia de MARM, 2007 .**



**Mejora y actualización de los Planes de Vigilancia y Control de enfermedades infecciosas. Amélioration et mise à jour des Plans de Surveillance et du Contrôle des maladies infectieuses.**

# CONVENTION DE COLLABORATION INIA-MARM

Desarrollo de nuevas técnicas de diagnóstico de enfermedades en fauna silvestre que actúa como reservorio de enfermedades transmisibles a los animales domésticos.

Développement de nouvelles techniques de diagnostic pour des maladies dont la faune sauvage est réservoir pour les animaux domestics.

## Estudios de prevalencia y caracterización

Etudes de prévalence et caractérisation:

### Enfermedades bacterianas y fúngicas

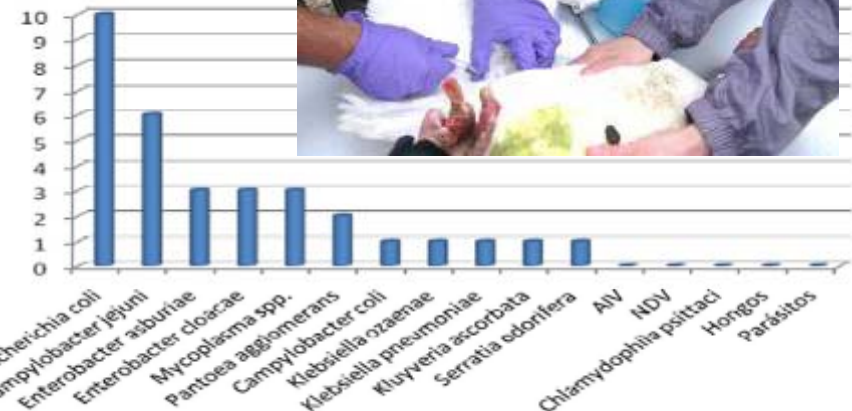
Maladies de nature bactérienne et fungique:

*Salmonella* spp., *Escherichia coli*,  
*Chlamydothilla psittaci* *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli*.

### Enfermedades víricas

Maladies virales:

*Influenza aviar* y *enfermedad de Newcastle*  
*Grippe aviaire* et *maladie de Newcastle*

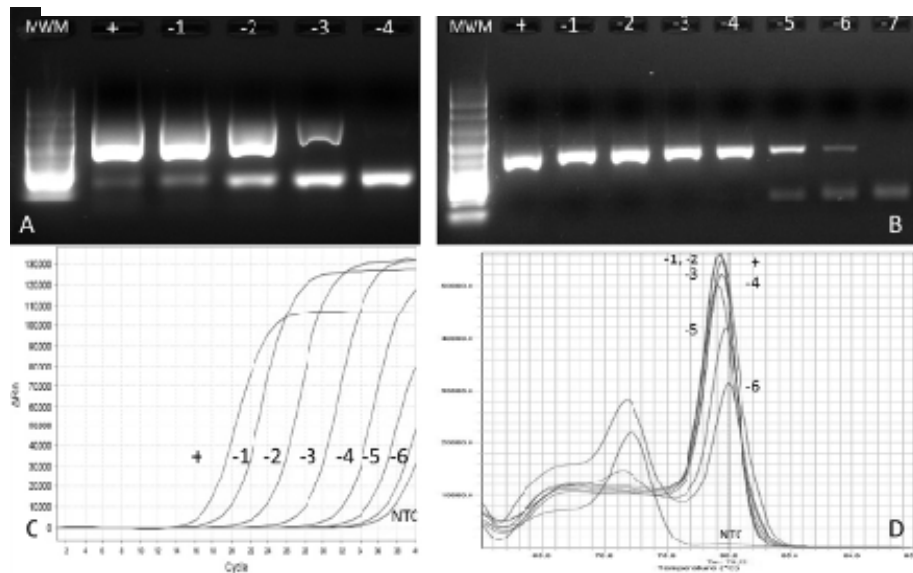


# CONVENTION DE COLLABORATION INIA-MARM

Desarrollo de nuevas técnicas de diagnóstico de enfermedades en fauna silvestre. Développement de nouvelles techniques de diagnostic pour des maladies de faune sauvage.

Estudios de prevalencia y caracterización molecular de virus de cetáceos:

*Morbillivirus y Herpesvirus*



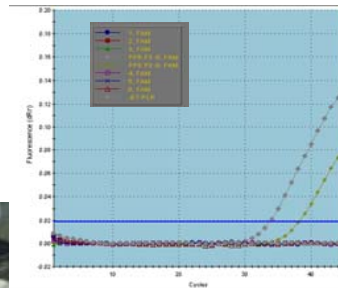


# CONVENTION DE COLLABORATION INIA-MARM

Développement de nouvelles techniques de diagnostic pour des maladies dont la faune sauvage est réservoir pour les animaux domestics.

- **Puesta a punto de metodologías para la detección de enfermedades transfronterizas de alto riesgo como Peste de los Pequeños Ruminantes, Fiebre del Valle del Rift, West Nile.**

Développement de nouvelles techniques de diagnostic de maladies d' animaux sauvages frontalières de haut risque comme sont la Peste des petits ruminants, Rift Valley fever , West Nile.



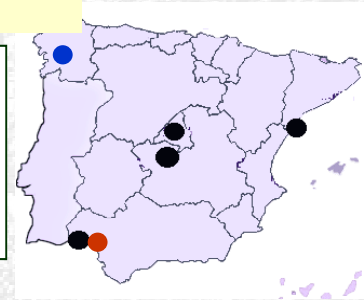
**ARBO-ZOONET**



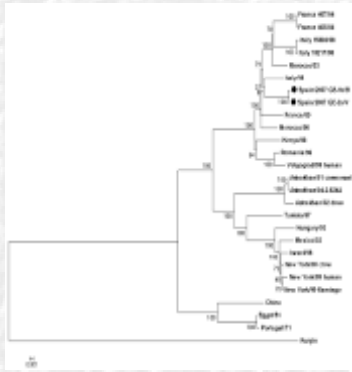
*PPRV* RRT-PCR Bao, J.  
et al; J. Virol. Methods 2008

# WEST NILE Virus (WNV)

**Serological surveys in wild birds. Identification of susceptible species, potential reservoirs and transmission cycles.**



*molecular Characterization of WNV isolates*



*Patogenicity studies*

- Experimental Models



- "natural" Models



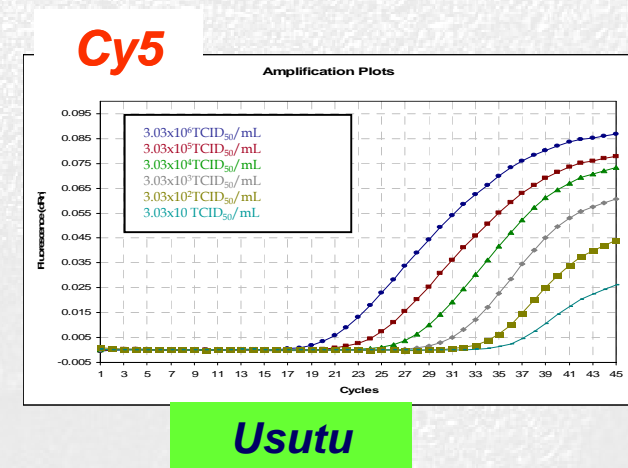
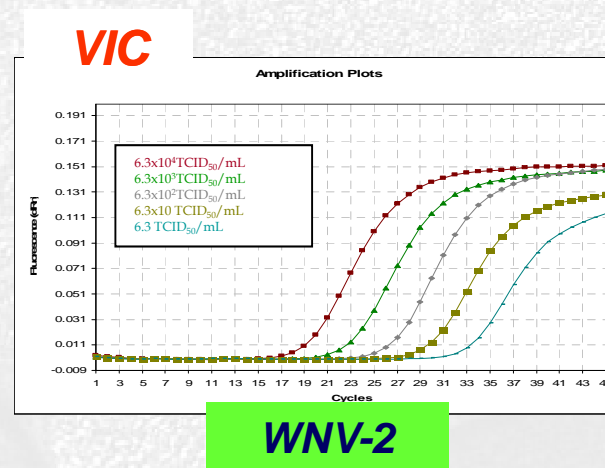
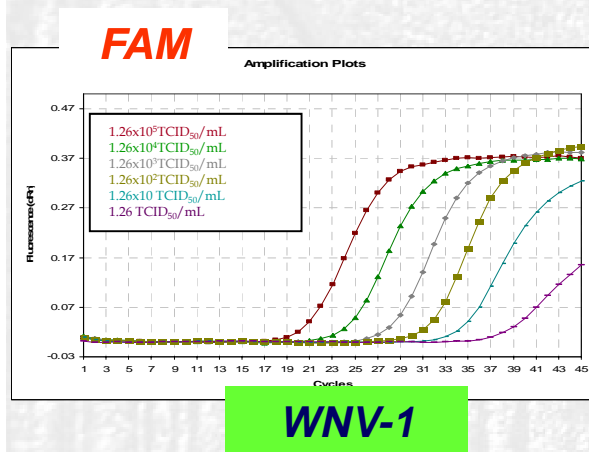
Cepa	NS3 <sub>249</sub>	DL <sub>50</sub> (PFU)	Tiempo medio de supervivencia ± SD (días)
SP'07	Pro	17,78	9,38 ± 1,51
MO'03	Thr	1,78	9,93 ± 1,86
NY'99	Pro	2,31	8,83 ± 1,17
B956	His	39,32	10,55 ± 1,5

# WEST NILE Virus (WNV)

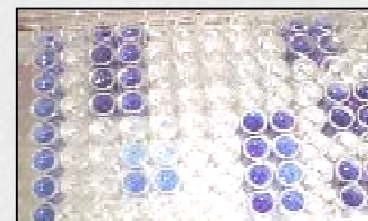


## Developments for surveillance programmes

Molecular detection Techniques rt RT-PCR Múltiplex, diferencial between linages 1 and 2 of WNV and Usutu virus.



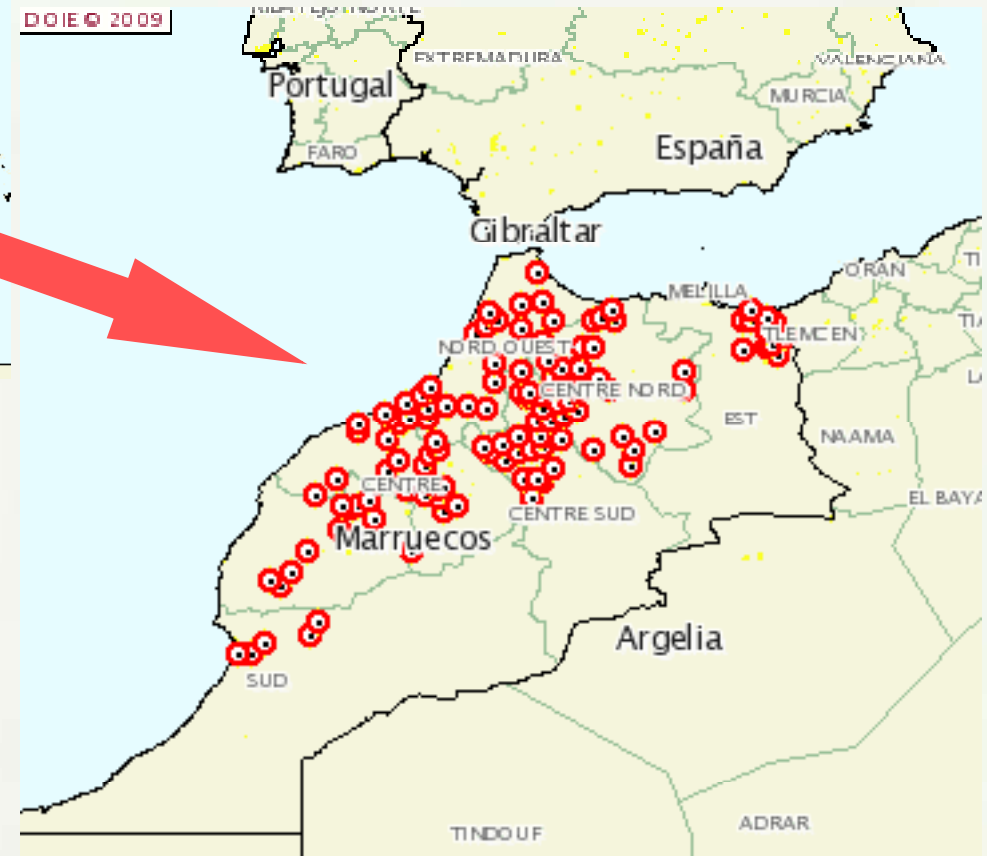
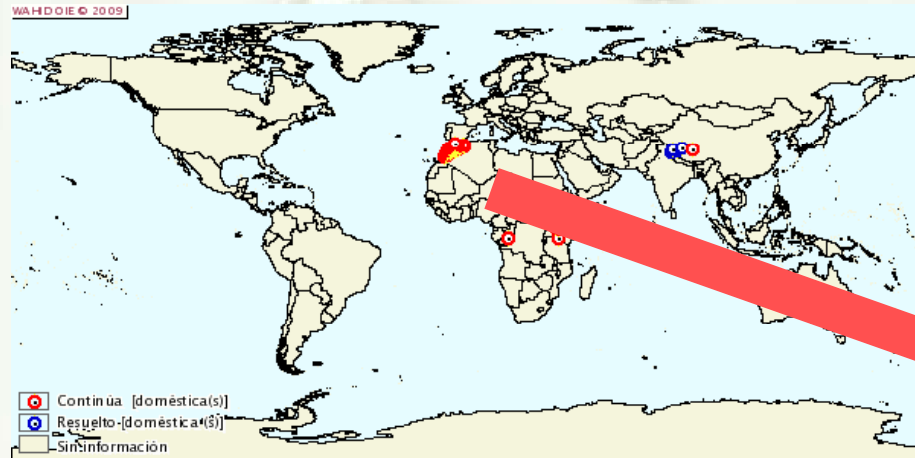
New ELISAS e “in house” en distintas especies animales hospedadores. (aves, caballos, ..).



**INGENASA**



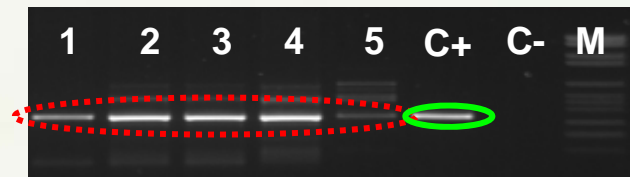
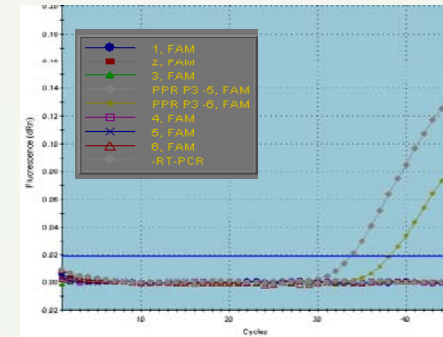
# PESTE DES PETITS RUMINANTS (PPRV)



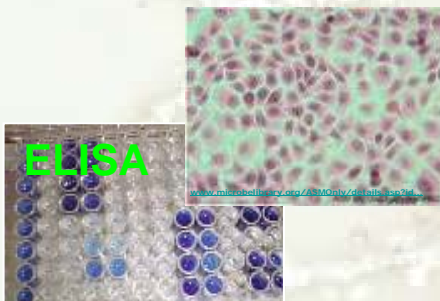
# Supporting National Reference Laboratory (PPR)

## Detection of PPRV

- Real Time RT-PCR (Bao, J. et al, 2008)
- RT-PCR convencional (Couacy-Hymann et al; 2002)
- !!! INESPECIFICITY ADN/ARN SHEEP !!!
- Isolation in cell cultures (Vero)



## Detection of specific Antibodies



- Virus neutralization
- competition ELISA (BDSL Kit )

# BLUE TONGUE IN WILD LIFE



## SHORT COMMUNICATIONS

### Bluetongue virus serotype 1 in wild mouflons in Spain

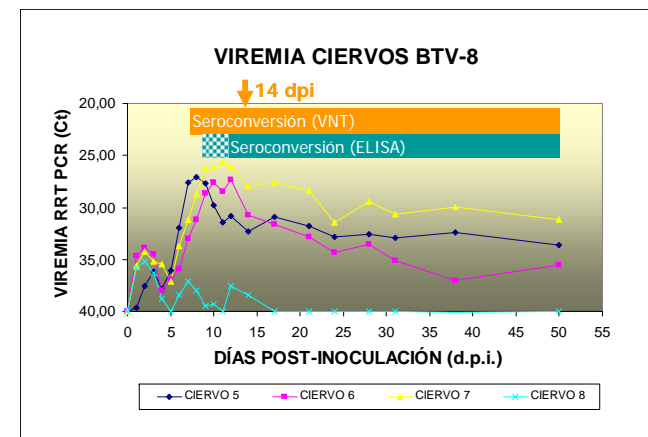
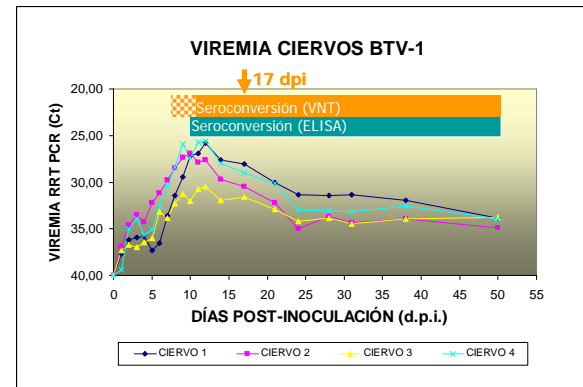
P. FERNÁNDEZ-PACHECO,  
J. FERNÁNDEZ-PINERO, M. AGÜERO,  
M. A. JIMÉNEZ-CLAVERO

SINCE first being detected in Spain in July 2007, bluetongue virus (BTV) serotype 1 (BTV-1) has caused severe losses in livestock. However, little is known about the impact of this newly introduced virus on susceptible wildlife that is being exposed to the virus. This short communication describes an

Wild ungulates are considered to be a potential reservoir for BTV. In the USA, species such as the white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) and pronghorn (*Antilocapra americana*) are highly susceptible to bluetongue, at least to those serotypes circulating in the country (Howarth and others 1988; Thorne and others 1988). In the current bluetongue epizootics in Europe, there has been a limited amount of surveillance of BTV in wildlife (Anon 2007b). While it is obvious that susceptible wildlife inhabiting areas where BTV-1 is circulating must have been exposed to the virus to some extent, little is known about their epidemiological role. Although the detection of BTV in wildlife, including mouflons, has been reported recently in Europe (Anon 2007a), to the authors' knowledge this is the first reported isolation of BTV from a wild ungulate in Europe.

Mouflons are close relatives of domestic sheep, and are therefore expected to be highly susceptible to BTV. The find,

## ROLE OF DEER AS RESERVOIR AND TRANSMISSION OF BT



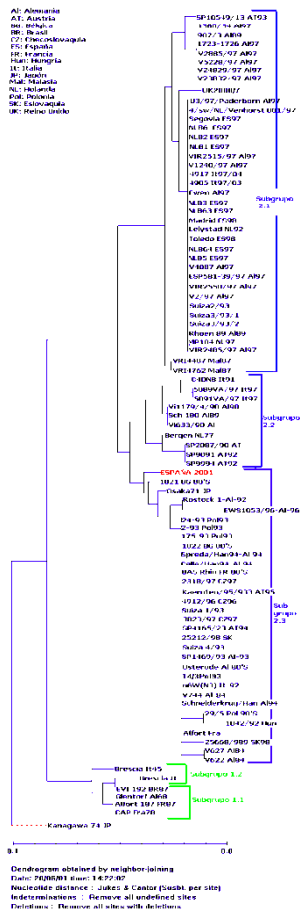


# CONVENTION DE COLLABORATION INIA-MARM



## Actividades científico técnicas de apoyo a los Laboratorios de Referencia MARM (I): Activités scientifique techniques de soutien aux laboratoires de référence MARM (I):

- Investigación epidemiológica. Participación en estudios diagnósticos especializados.
- Recherche épidémiologique. Participation à des études de diagnostic spécialisés.

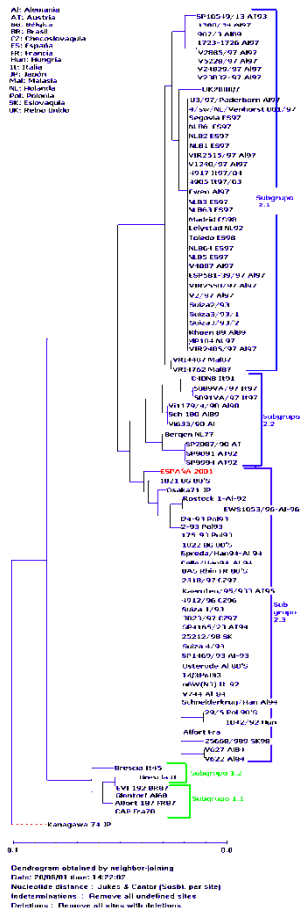


# CONVENTION DE COLLABORATION INIA-MARM



## Actividades científico técnicas de apoyo a los Laboratorios de Referencia MARM (I): Activités scientifique techniques de soutien aux laboratoires de référence MARM (I):

- Participación en alertas sanitarias, caracterización molecular de aislados, Participation aux alertes sanitaires, suspicion de maladies. à la caractérisation moléculaire de souches virales (PPA, PPC, Maladie vésiculeuse du porc, Maladie de Teschen, Peste des petits ruminants, Langue bleue, Dermatose nodulaire contagieuse, Peste Bovine, Rift Valley fever)

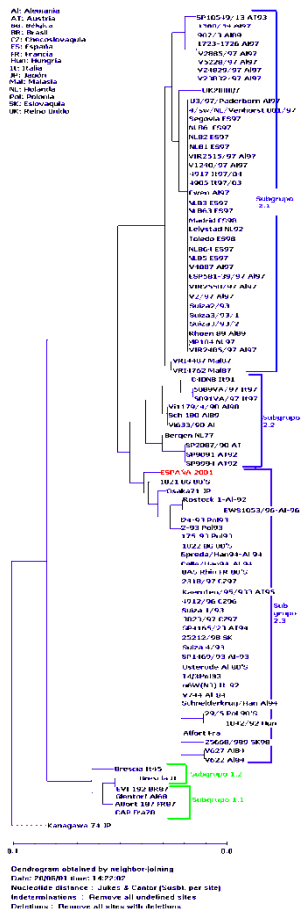


# CONVENTION DE COLLABORATION INIA-MARM



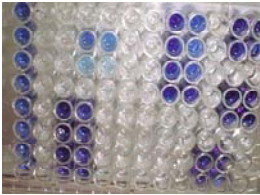
## Activités scientifique techniques de soutien aux laboratoires de Référence MARM (I):

- Estudios de Epidemiología molecular de aislados circulantes de enfermedades transfronterizas,
- Etudes d'épidémiologie moléculaire des souches circulantes de maladies frontalières.





# CONVENTION DE COLLABORATION INIA-MARM



Activités scientifique techniques de soutien  
aux laboratoires de Référence MARM (II):

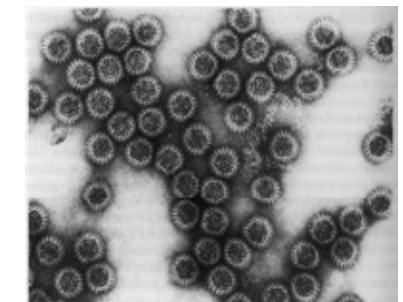
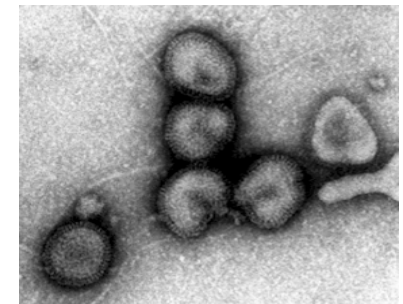


- Armonización y coordinación de técnicas y métodos con las CC.AA. Ensayos interlaboratoriales.
- Harmonisation et coordination des techniques et méthodes entre les communautés autonomes. Essais interlaboratoires.

# CONVENTION DE COLLABORATION INIA-MARM

## Activités scientifique techniques de soutien aux laboratoires de Référence MARM (III):

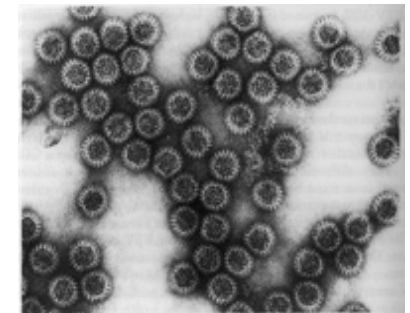
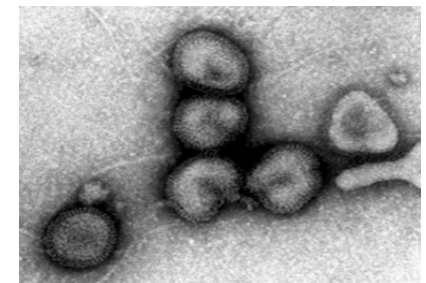
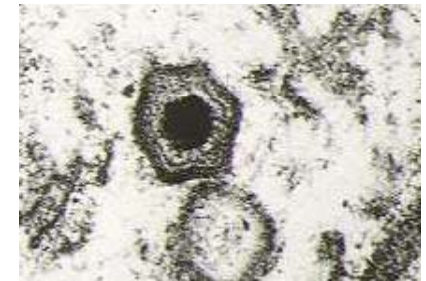
- Mantenimiento de Seroteca y Viroteca,
- Maintien de banque de sérums et de virus
- Mantenimiento de técnicas de referencia validadas
- Maintien de techniques de référence valables
- Evaluación continuada de técnicas diagnósticas.
- Actualisation et amélioration des techniques de diagnostic virologique et serologique.



# CONVENTION DE COLLABORATION INIA-MARM

Activités scientifique techniques de soutien aux laboratoires de Référence MARM (III):

- Actualización y mejora de las técnicas de diagnóstico virológico y serológico.
- Actualisation et amélioration des techniques de diagnostic virologique et serologique







# CONVENTION DE COLLABORATION INIA-MARM

Desarrollo, puesta a punto y estandarización de nuevas técnicas de diagnóstico, adecuadas a cada situación epidemiológica particular.

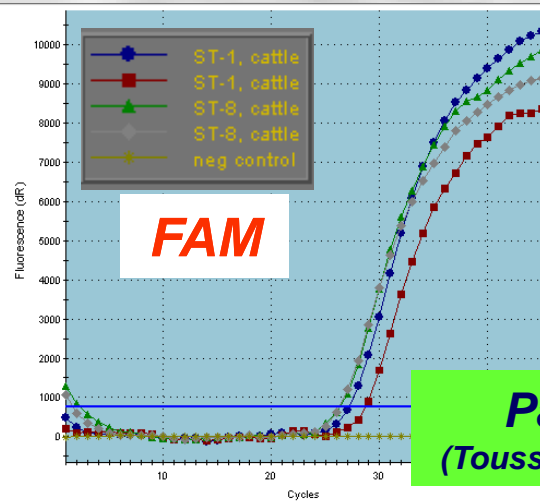
## **Técnicas serológicas, basadas en ELISA**

**LNR: EVP, PPA,**

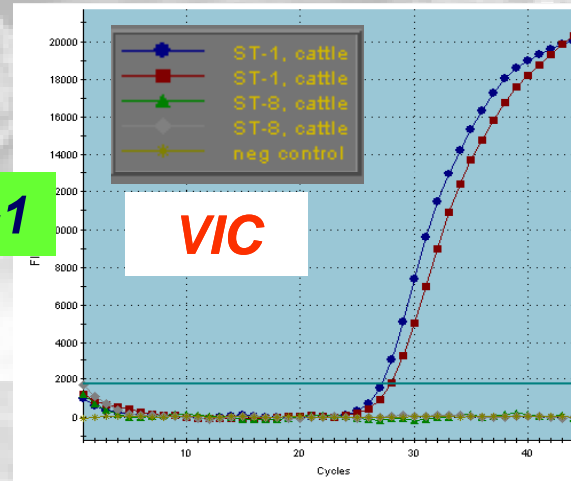
## **Técnicas de detección Molecular , por PCR**

**LNR: PPA, LA, PPC, PEA,**

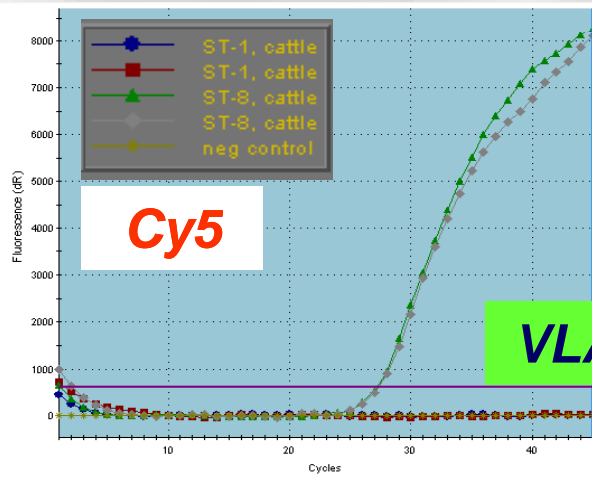
# BLUE TONGUE: MULTIPLEX ASSAY RRT-PCR



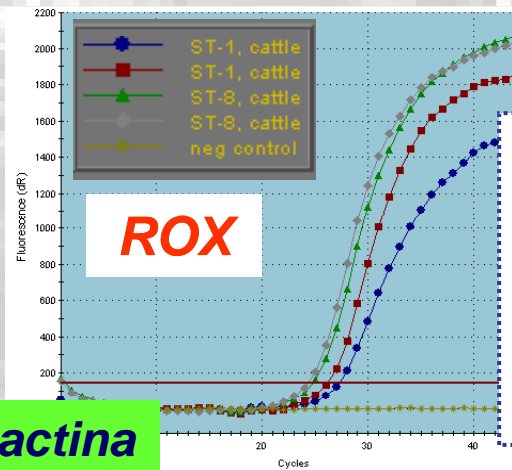
**VLA-1**



**Pan-VLA**  
(Toussaint et al 2007)



**VLA-8**



**$\beta$ -actina**

Transferred to NRLs of several european countries (Italy, Netherlands, Austria, Ireland, Germany, North Africa (Tunisia))

Development of a MultiplexX rt-RT-PCR assay to detect BTV and simultaneous typification (BT-1 And BT-8)



## WELCOME TO THE EUROPEAN UNION REFERENCE LABORATORY - URL- FOR AFRICAN SWINE FEVER

The Animal Health Research Centre (Centro de Investigación en Sanidad Animal, CISA) was designated European Union Reference Laboratory for African Swine Fever (ASF) in June 2002.

El Centro de Investigación en Sanidad Animal (CISA) fue nombrado Laboratorio de Referencia de la Unión Europea para la Peste Porcina Africana (PPA) en junio de 2002.

### NEW!



PRESENTATION DOWNLOAD for the Annual Meeting of National African Swine Fever Laboratories (Restricted area).



More information about CISA.



<http://asf-referencelab.info>



# CONVENTION DE COLLABORATION INIA-MARM



## Activités scientifique techniques de soutien aux laboratoires de Référence MARM (III):



- Evaluación de reactivos y controles de de referencia, **Evaluation des réactifs et contrôles de référence.**
- Evaluación y validación de técnicas y kits comerciales, **Evaluation et validation des techniques et kits commerciaux.**
- -Preparación de paneles de Referencia para la certificación de técnicas en los Laboratorios Regionales. **Préparation de tableaux de Référence pour la certification des techniques dans les laboratoires régionaux.**

# CONVENTION DE COLLABORATION INIA-MARM

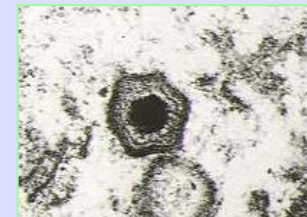
## PARTICIPACIÓN EN PROGRAMAS DE VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA PARA EL MARM



### •Producción de Reactivos y Kits de Diagnóstico para programas de Vigilancia

Evaluación, control de calidad y envío de reactivos de referencia y Kits Diagnóstico,

Peste Porcina Africana



Enfermedad Vesicular Porcina

# CONVENTION DE COLLABORATION INIA-MARM



Activités scientifique techniques de soutien aux laboratoires de Référence MARM (III):



- Participación en los ensayos interlaboratoriales Internacionales.

Participation aux essais interlaboratoires internationaux

- Desarrollo y puesta a punto de nuevos métodos de diagnóstico sensibles y específicos.

Développement et mise au point de nouvelles méthodes de diagnostic sensibles et spécifiques.



# CONVENTION DE COLLABORATION INIA-MARM



- **Co-Organización de reuniones periódicas con laboratorios de sanidad animal**
- **Co-Organisation de réunions périodiques avec d'autres laboratoires de santé animale:**

- Comunicación con los LSA de las CC.AA; Communication avec les laboratoires de santé animale des communautés autonomes.

- Situación actual de Enfermedades; Situation actuelle des maladies

-

Información de Conclusiones y Recomendaciones de los LR de la UE.

Information des Conclusions et recommandations des laboratoires de référence de l'Union Européenne.

# CONVENTION DE COLLABORATION INIA-MARM



- **Co-Organización de reuniones periódicas con laboratorios de sanidad animal**
- **Co- Organisation de réunions périodiques avec d'autres laboratoires de santé animale:**

- Tratar de resolver problemas técnicos;

Connaître et essayer de résoudre les problèmes techniques.

- Dudas sobre procedimientos ,

Questions sur les procédures à suivre

- Incorporación de nuevos procedimientos, y estrategias,  
Incorporation de nouvelles procédures et stratégies

- Atender consultas, etc.) S'occuper de répondre aux possibles questions, etc.





# CONVENTION DE COLLABORATION INIA-MARM

Activités scientifique techniques de soutien aux laboratoires de Référence MARM (III):

Asistencia Técnica. Formación y Entrenamiento.

Assistance technique.  
Formation et entraînement.



# CONVENTION DE COLLABORATION INIA-MARM

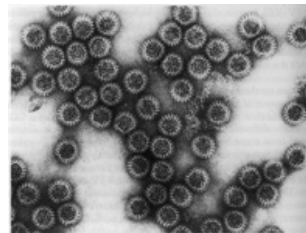
Estudios de experimentación animal: patología y patogenia de enfermedades emergentes y re-emergentes y de enfermedades vectoriales y sus relaciones medioambientales.

**Expérimentation animale : pathologie et pathogénie de maladies émergentes, réémergentes, maladies à vecteurs et leur relations avec l'environnement.**



**Estudios "in vivo" con muestras de campo.**

Etudes "in vivo" avec des échantillons prélevés sur des animaux en liberté



Reproduction de maladies

# ANIMALERIE Niveau de Biosécurité – 3

Reservorios en fauna silvestre  
Réservoirs en faune sauvage.



# CONVENTION DE COLLABORATION INIA-MARM



**Estudios de eficacia de vacunas y otros biológicos**



**Etudes de l'efficacité de vaccins et autres agents biologiques**

- BTV4 Bovins race frisonne vaccin VLA017, VLA018, 2007.
- BTV1 Bovins race frisonne vaccin Bluevac-1, 2008
- BTV8 Bovins race frisonne vaccin Bluevac-8, 2008
- Vaccin bivalent BTV1 et BTV8, Bovins race frisonne 2009/10.



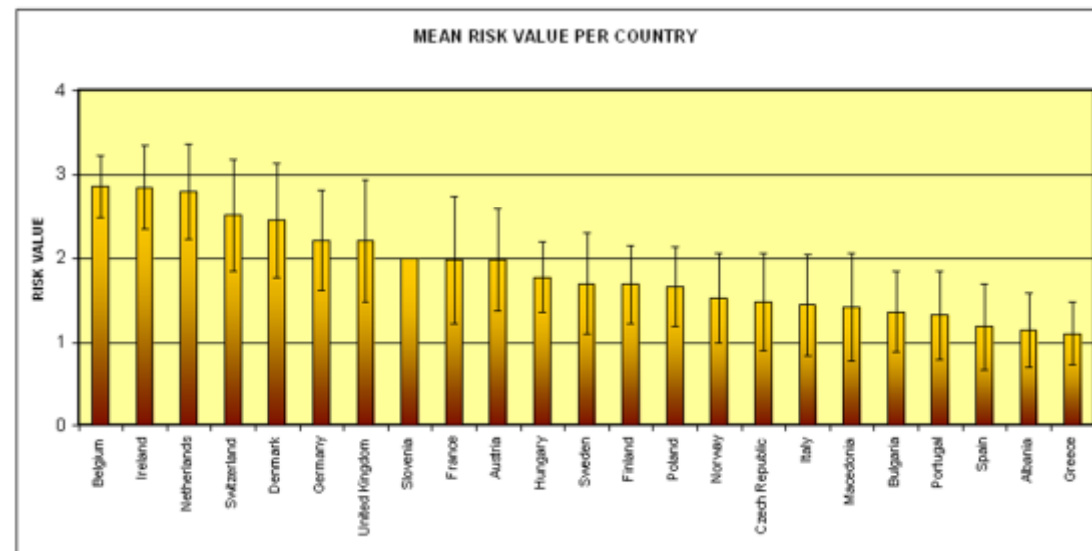
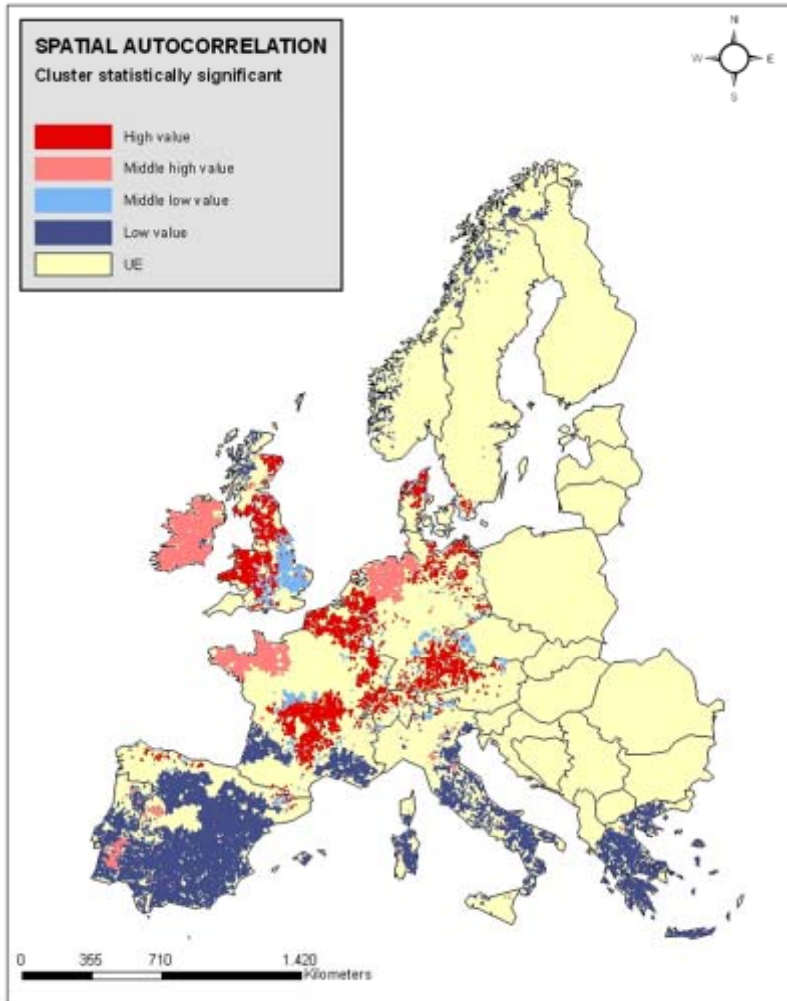
# CONVENTION DE COLLABORATION INIA-MARM



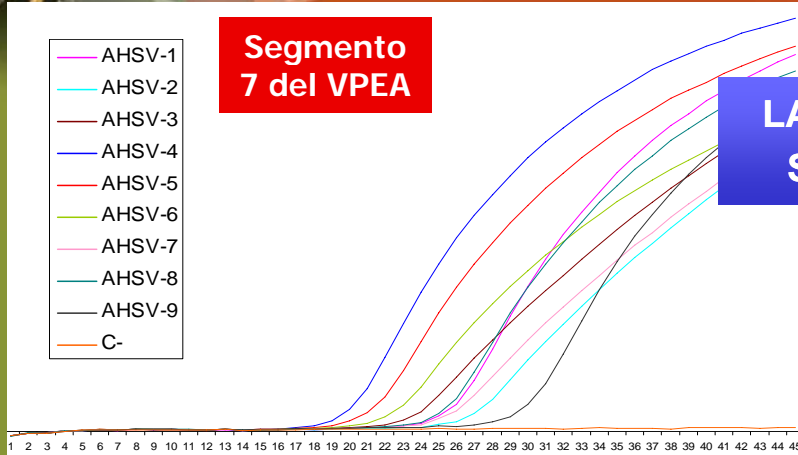
## Medicamentos veterinarios. Médicaments vétérinaires

**Zonas vulnerables a la acumulación de  
residuos y aparición de antibioresistencia.**

**Zones vulnérables à la accumulation de  
résidus et apparition de biorésistance.**

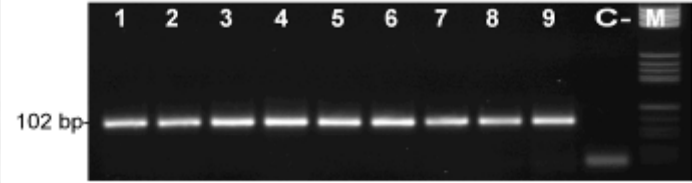
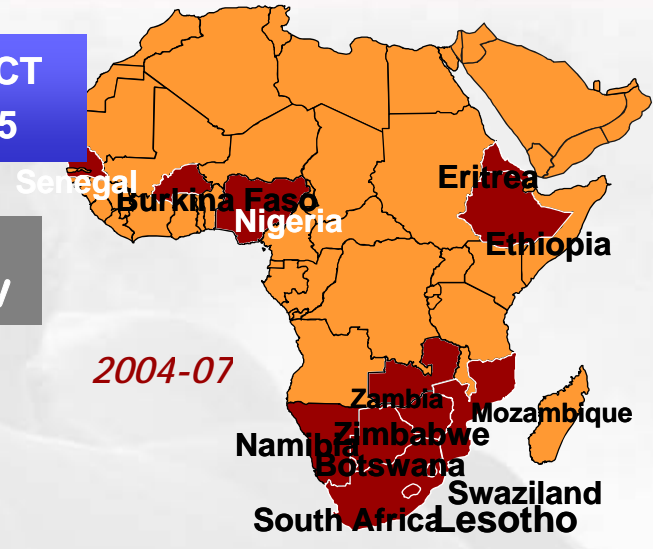


# AFRICAN HORSE SICKNESS (AHS)



LAB-ON-SITE, PROYECT  
SSPE-CT-2004-513645

Detection of the 9  
serotypes of AHSV



Development of new tools for molecular diagnosis.



OIE Manual. Transferred to :  
Netherlans, UK, Germany, Italy.

Research in Veterinary Science 86 (2009) 353-358  
Contents lists available at ScienceDirect  
Research in Veterinary Science  
ELSEVIER  
journal homepage: www.elsevier.com/locate/rvsc

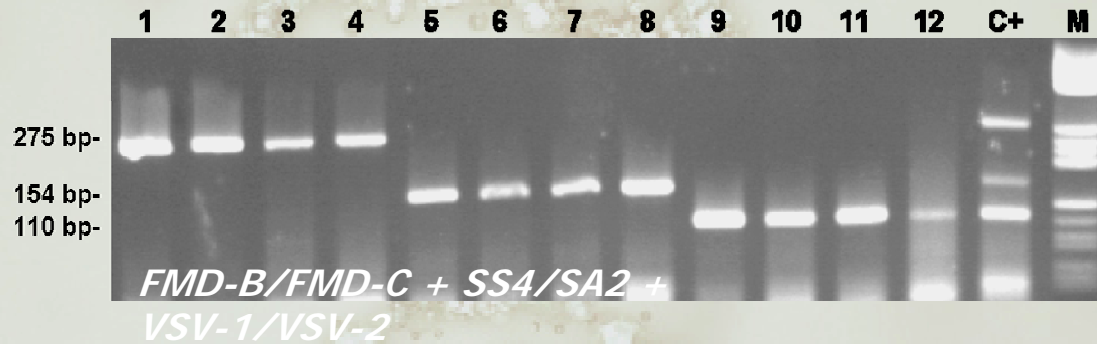
Rapid and sensitive detection of African horse sickness virus by real-time PCR

J. Fernández-Pinero<sup>a,\*</sup>, P. Fernández-Pacheco<sup>a</sup>, B. Rodríguez<sup>a</sup>, E. Sotelo<sup>a</sup>, A. Robles<sup>a</sup>, M. Arias<sup>a</sup>, J.M. Sánchez-Vizcaino<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Centro de Investigación en Sanidad Animal (CISA-INRA), Valdeónmús, 28130 Madrid, Spain  
<sup>b</sup>Depo. de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, UCM, Avda. Pío Baroja, 66, 28040 Madrid, Spain

*RT-PCR múltiple VFA, VEVP, VEV*

# *FMDV VEV, SVDV Detection in clinical samples*



**EU PROYECT MULTIPLEX,  
QLK2-CT-2000-00486**

**Development and validation of MÚLTIPLEX RT-PCR for simultaneous and differential diagnosis of vesicular diseases : FA, EVP y EV.**



Available online at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)

ScienceDirect

Journal of Virological Methods 147 (2008) 301–311



[www.elsevier.com/locate/jviromet](http://www.elsevier.com/locate/jviromet)

Rapid and differential diagnosis of foot-and-mouth disease, swine vesicular disease, and vesicular stomatitis by a new multiplex RT-PCR assay

Jovita Fernández<sup>a,\*</sup>, Montserrat Agüero<sup>a</sup>, Luis Romero<sup>a,1</sup>,  
Carmen Sánchez<sup>a</sup>, Sándor Belák<sup>b</sup>, Marisa Arias<sup>a</sup>,  
José Manuel Sánchez-Vizcaino<sup>a,2</sup>

<sup>a</sup> Centro de Investigación en Sanidad Animal (CISA-INIA), Valdeolmosar, 28130 Madrid, Spain  
<sup>b</sup> The National Veterinary Institute and the Swedish University of Agricultural Sciences, Ulls väg 2 B, SE-751 89 Uppsala, Sweden

**Transferred to IberoAmerica  
(presencia de FA y EV) and China.**



EU PROJECT KBBE 2008-  
2011



□ Investigación, desarrollo de tecnologías, evaluación de técnicas para diagnóstico y control de Peste > Porcina Africana. Estudios "In situ" con razas locales ( ILRI. Kenya) etc...



**PENSIDE TEST**, based on  
Immuno chromatographic  
test for antibody detection  
**INGENASA. REGISTERED**







# **CURSOS INTERNACIONALES**

**> 25 en Europe, IberoAmerica y  
Subsaharan Africa**

**AECI, UE, ILRI**



**TRANSMISSION TECHNOLOGIQUE.**

# EPIZONE

## Red de Excelencia para el Diagnóstico y Control de Enfermedades Epizoóticas

La Misión de EPIZONE es mejorar la investigación en la preparación, prevención, detección, y control de las enfermedades epizooticas entre Países Europa, con el fin de reducir el impacto social y económico de futuros focos de Fiebre Aftosa, Peste Porcina Clásica, Influenza Aviar, y otras enfermedades como Lengua Azul y Peste Porcina Africana  
**integración y colaboración.**

**Opera como un Instituto virtual**

Más de 250 científicos , expertos y especialistas.

**18 Institutos de 12 Países, FAO y 1 SME.**

La Excelencia de EPIZONE : 55 OIE, 18 FAO, 12 EU y 4 WHO Laboratorios de Referencia

---





Equipe du CISA d'Epidémiologie et Santé Animale



Equipe de soutien aux Laboratoires de Référence

**Merci Beaucoup**  
**Pour Votre**  
**Attention !**