



NAPPO

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

Informe sobre conferencia telefónica de la NAPPO

Grupo de expertos:	Semillas -ToBRFV	
Lugar:	Video conferencia en la plataforma Zoom	
Fecha:	18 de enero del 2022	
Presidenta	Beatriz Xoconostle (CINVESTAV)	
Participantes:		
Vessela Mavrodieva (APHIS – PPQ)	Geoffrey Dennis (APHIS – PPQ)	Jennifer Nickerson (ACIA)
Daniela Alejandra Bocanegra Flores (SENASICA)	Huimin Xu (ACIA)	Samantha Thomas (industria de EE. UU.)
Ed Podleckis (APHIS – PPQ)	Nancy Osterbauer (APHIS – PPQ)	Ángel Ramírez Suárez (SENASICA)
Marlene Ortíz (industria de México)	Rick Dunkle (industria de EE. UU.)	José Manuel Cambrón Crisantos (SENASICA)
Brooke Zale (APHIS – PPQ: (observadora)	Nedelka Marín-Martínez (NAPPO)	Stephanie Bloem (NAPPO)
Maribel Hurtado (NAPPO)	Alonso Suazo (NAPPO)	
Resumen		
Proyecto:	<i>Proyecto piloto para la armonización de protocolos de diagnóstico para plagas de semillas centrado en el virus del fruto rugoso café del tomate (ToBRFV).</i>	
Comentarios generales:	Comentarios de bienvenida del DT de la NAPPO y la presidenta del GE. El DT convino tomar las notas y redactar el informe de la conferencia telefónica. El GE aprobó que se grabara la videoconferencia para fines de la preparación del informe.	
Asunto 1:	Preguntas y respuestas acerca de la plataforma de recolección de datos.	
Decisiones:	Geoffrey Dennis: <ul style="list-style-type: none">• indicó que no se ha presentado a PPQ ninguna solicitud formal para acceder la plataforma de recolección de datos• informó que los permisos para acceder la plataforma se concederán una vez que se presente y apruebe el formulario• informó que los cambios se realizarán al formato en el portal para incluir el protocolo de la ISHI-Veg con dos blancos de genes virales. Estas enmiendas se completarán para finales de febrero del 2022. Se incluirá una pestaña designada especialmente para el estuche de amplificación adicional. El DT exhortó a los miembros del GE a que soliciten acceso a la plataforma.	

Asunto 2	Propuestas para elaborar un documento sobre el análisis y marco de los resultados
Decisiones:	<p>Geoffrey Dennis propuso que el subgrupo 2 se reúna para trabajar en los detalles de las fórmulas y las definiciones que se utilizarán para el análisis. La idea es generar un documento que se compartirá con los miembros del GE para que ellos brinden retroalimentación. Geoff indicó que algunos detalles en el análisis de validación deberían abordarse, y se recomienda que el GE resuelva estos asuntos antes de que inicie la recolección de datos. Un ejemplo de esto es el número de repeticiones que se utilizaron en las categorías de validación tales como repetibilidad y límite de detección (% positivo a concentraciones específicas de interés) y sensibilidad (% positivo con el rango que se observe).</p> <p>Geoff indicó que él generará la versión preliminar del documento para circularlo entre los expertos en validaciones en los tres países de la NAPPO.</p>
Asunto 3	Actualizaciones acerca del trabajo de los paneles
Decisiones:	<p>PPQ brindó las siguientes actualizaciones:</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Muestras de semillas: <ul style="list-style-type: none"> ○ Se han evaluado dos lotes de semillas de tomate y chile infestados y libres de ToBRFV. Estas semillas están listas para los paneles. ○ Se seleccionará uno de cada uno de los lotes para el desarrollo de los paneles. ○ Se determinó el título y la homogeneidad de los niveles del virus en dos lotes de semillas infectadas (ToBRFV +). ○ Se creó un lote nuevo de semillas infectadas con la concentración viral necesaria para este estudio mediante la mezcla de semillas sin virus e infectadas de virus a partir del lote de semillas homogenizado. ○ Se sometieron a prueba los cinco métodos tal como se describieron y los presentaron todos los países en las curvas de dilución de cinco concentraciones para asegurarse que los métodos detectan los genes blanco. Se obtuvo la detección positiva del virus utilizando todos los métodos de detección que se someterán al ensayo. ○ También se realizaron pruebas utilizando el gen endógeno blanco 18S en RT-PCR (aplicado en el protocolo de SENASICA) con la detección positiva del virus. ○ Se han elaborado los formularios para dar seguimiento a todo el trabajo y asegurar la rastreabilidad. ○ Ahora se pueden producir las muestras individuales. El trabajo iniciará con las semillas saludables y posteriormente con las semillas infectadas. <p>Decisión: México informó que ellos leyeron los datos de</p>

validación que PPQ proporcionó en diciembre del 2021 con el fin de presentar su posición en cuanto al uso del SqMV o NAD5 como controles internos en el protocolo de la ISHI Veg. México indicó que SqMV está reglamentado en México y por ende no puede utilizarse como control, pero **convino utilizar NAD5 como control interno.**

- **Transcripciones y reactivos:**

- La reproducibilidad de la síntesis de las transcripciones está bien.
- Preocupaciones: estabilidad de las transcripciones durante el transporte. Las pruebas de estabilidad se realizarán en colaboración con Kevin Ong en la TAMU.
- Se enviarán las transcripciones en diferentes condiciones de almacenamiento para rastrear la estabilidad a intervalos regulares de tiempo. Esto también se monitoreará cuando se distribuyan los paneles.
- Se ha recopilado la lista de reactivos, sondas y primers y se enviará a Stephanie Bloem (NAPPO) para comprarlos. Se realizará la alícuota de los reactivos de cada panel en el laboratorio de PPQ.
- Se ha verificado que las sondas fluorescentes que se compren puedan detectarse correctamente por el equipo de los laboratorios participantes.
- Se realizará la prueba antes de enviar las alícuotas a los laboratorios participantes con el fin de verificar la pureza y para asegurar que los reactivos, las sondas y los primers estén funcionando como está previsto.

- **Permisos:**

- La DE asistirá en el transporte de los paneles a México.
- Canadá está trabajando para obtener los permisos oficiales de importación con el fin de movilizar la semilla infectada de virus a Canadá. Jennifer Nickerson indicó que se necesitará un permiso de importación si se envían las muestras desde EE. UU. a los laboratorios participantes en Canadá. Si las muestras se envían desde EE. UU. al laboratorio de Charlottetown, se necesitará un permiso para movilizarlas en las provincias. No se tomarán en cuenta los formularios incompletos y se rechazará el permiso. Jennifer Nickerson enviará la información a Samantha Thomas con los detalles específicos necesarios para el permiso de importación. Continuarán las discusiones.
- México indicó que el SENASICA presentará una carta de autorización para que la persona que moviliza el material a México lo introduzca al país para utilizarse para fines de investigación.

- **Otros:**

	<ul style="list-style-type: none"> ○ El laboratorio de Kevin Ong realizará la aleatorización de las muestras para los paneles.
Asunto 4:	Materiales suplementarios que no se proporcionarán (posiblemente para ser financiados por cada país: tubos ópticos, cajas ópticas, puntas de pipeta con filtro, guantes)
Decisiones:	<p>Notas:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Se preparó el presupuesto tomando en cuenta que algunos laboratorios necesitarán asistencia financiera adicional para comprar materiales suplementarios. • Se informó a los laboratorios en EE. UU. que recibirán apoyo financiero para comprar los materiales suplementarios. • México indicó que el SENASICA cubrirá el costo del material suplementario para los laboratorios participantes en ese país. • Cada laboratorio debería preparar una lista del material y trabajo adicional de la NAPPO para recibir asistencia suplementaria, de ser necesario. • México solicitó una lista previa del material suplementario que se necesitará. Beatriz se ofreció como voluntaria para calcular la cantidad de materiales plásticos necesarios para la prueba del anillo.
Asunto 5:	Propuestas de las fechas de envío de los paneles, período de prueba y registro de los resultados.
Decisiones:	<p>Notas:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Términos de referencia (TdR): Ed Podleckis informó que está preparando el documento de los TdR y calculó que completaría este trabajo en tres semanas. El documento se enviará a la Secretaría para su traducción. Posteriormente se compartirá con el GE en ambos idiomas para retroalimentación antes de presentarlo para la aprobación del CE. • Documento maestro: La DE informó al GE que la Secretaría de la NAPPO está preparando un documento con toda la información que el GE ha proporcionado. Una vez concluido el documento, se compartirá con Beatriz Xoconostle para su revisión. El documento revisado se compartirá con el GE primero en inglés y posteriormente en español. <p>Notas adicionales:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Para el trabajo del laboratorio, hay que tomar en cuenta que aún nos enfrentamos con las restricciones establecidas debido a la COVID.
Otros asuntos	La presidenta informó al grupo acerca del informe de EUPHRESO concerniente a la armonización de los protocolos para la detección del ToBRFV y exhortó al GE leer el informe debido a que contiene información pertinente para este

	proyecto.	
Próximos pasos		
Responsable	Acciones	Fecha
Secretaría de la NAPPO	Programar una conferencia telefónica con el SG 2 de semillas con el fin de discutir una propuesta de elaboración de un documento sobre el análisis y marco de los resultados.	
Geoffrey Dennis	Redactar la propuesta inicial del documento sobre el análisis y marco de los resultados y enviarlo a la Secretaría para su traducción y compartirlo con el GE.	
APHIS PPQ	Enviar la lista de reactivos e información a la DE sobre el sitio en donde comprarlos. La Secretaría de la NAPPO comprará los reactivos, las sondas y los primers y los enviará a PPQ para que este realice la alícuota y preparación de los paneles.	
Jennifer Nickerson	Enviar mensaje electrónico a Samantha Thomas en el cual le brinde los detalles de lo que se necesita para completar el permiso de importación con el fin de movilizar las semillas infectadas desde EE. UU. a Canadá.	
Samantha Thomas	Brindar los detalles a Jennifer Nickerson para completar el permiso de importación para movilizar las semillas infectadas a Canadá.	
Beatriz Xoconostle	Presentar una lista de materiales suplementarios que se necesitarán en los laboratorios participantes de México.	
Ed Podleckis	Completar la versión preliminar de los TdR para compartirla con el GE antes de que se presente para la aprobación del CE de la NAPPO. El GE brindará retroalimentación.	
Secretaría de la NAPPO (DT y OC)	Completar el «documento maestro» con toda la información que ha proporcionado el GE. La versión en inglés del documento se compartirá primero con el GE.	
Próxima reunión		
Lugar:	Videoconferencia en la plataforma Zoom	
Fecha:	Por determinar. La Secretaría enviará una encuesta al GE.	
Asuntos propuestos		
1.		