PLAN DE TRABAJO derivado del Convenio de Cooperación de APHIS Entre

MINISTERIO DE AGRICULTURA, GANADERIA Y ALIMENTACION (MAGA GUATEMALA), EL INSTITUTO INTERAMERICANO DE COOPERACIÓN PARA LA AGRICULTURA EN GUATEMALA (IICA-GUATEMALA) Y EL SERVICIO DE INSPECCIÓN EN SALUD ANIMAL Y VEGETAL DEL DEPARTAMENTO DE AGRICULTURA DE LOS ESTADOS UNIDOS (APTIS-USDA) 21-9419-0580CA (Año Fiscal 2021)

Caracterización de cepas de Mycobacterium bovis de Guatemala

En cumplimiento con el Acuerdo de Colaboración entre Guatemala (el Beneficiario) y la Secretaría de Agricultura de los Estados Unidos (USDA), Servicio de Inspección Sanitaria de Plantas y Animales, Servicios Veterinarios (denominado en lo sucesivo como APHIS), este Plan de Trabajo describe las funciones y responsabilidades de las partes cooperativas y los recursos que contribuyen al proyecto de colecta y caracterización de aislados del Complejo *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC) de ganado y fauna silvestre en Guatemala.

I. OBJETIVOS Y NECESIDAD DE ASISTENCIA:

Mycobacterium bovis, un miembro del MTBC, es un patógeno importante del ganado. Comprender la epidemiología y dinámica del patógeno es crítico para el control de la enfermedad. El advenimiento de la secuenciación genómica (WGS) permite mejorar la caracterización de brotes por medio de un método innovador para identificar cuando y donde existe transmisión al humano, o la potencial transmisión de vuelta al ganado. Nuestro objetivo primario es obtener aislados del MTBC de ganado bovino (muestras de porcinos y fauna silvestre también serían aceptadas) proveniente de países endémicos en Centro América para su caracterización genotípica. La meta principal de este proyecto será realizar un muestro lo más amplio y generalizado posible para caracterizas las cepas dominantes de M. bovis existentes en Guatemala. Los objetivos secundarios incluyen: mejorar la capacidad diagnóstica del laboratorio, proporcionar capacitación para la colección, aislamiento e identificación de M. bovis de tejido, así como proporcionar a los científicos locales una oportunidad para publicar sus descubrimientos.

II. RESULTADOS Y BENEFICIOS ESPERADOS:

El comercio de ganado, productos de origen animal y el movimiento de personas y fauna silvestre a través de las fronteras conlleva un impacto sobre la diseminación de la enfermedad. Mediante la caracterización de aislados del MTBC de este proyecto, será posible identificar las cepas endémicas de *M. bovis* en el ganado bovino de Guatemala; esto servirá como marco de referencia para las autoridades correspondientes de Guatemala para poder identificar posibles fuentes de infección. Consecuentemente, este proyecto mejorará la capacidad de recuperación de aislados del MTBC y aumentará el conocimiento de las autoridades locales para el control de *M. bovis* en el ganado nacional.

IIL ENFOQUE:

A. Plan de acción

Colección de muestras y análisis: El Servicio de Inspección e Inocuidad de Alimentos de Guatemala, en colaboración con el Ministerio de Agricultura y Ganadería, en el transcurso de un año, colectará tejidos de ganado bovino y otras especies animales susceptibles en formalina y/o borato de sodio y/o frescos/congelados de mataderos durante la inspección post-mortem. La meta será un muestreo lo más amplio y generalizado posible para caracterizar las cepas dominantes del MTBC presentes en el ganado de Guatemala. Como estimación, esperamos que la tasa de granulomas sea entre 1 y 10 por cada 100 animales examinados. Se espera que la tasa de positividad de M. bovis de granulomas sea de 25 a 90%. La meta final es obtener de 50 a 100 aislados de M. bovis.

Diagnóstico de laboratorio: Muestras de tejido para cultivo serán enviadas al laboratorio local oficial para el aislamiento e identificación. Esta información será utilizada para determinar las àreas de oportunidad a abordar y enfatizar durante la capacitación una vez iniciado el proyecto. Una vez que los aislados hayan sido recuperados, se inactivarán por medio de calor y/o se extraerá el ADN mediante protocolos estandarizados para su posterior envío al Laboratorio de Servicios Veterinarios de la USDA (NVSL) para la secuenciación genómica (WGS) y caracterización de la cepas. Los resultados de secuenciación y datos serán proporcionados a los colaboradores en cuanto estos estén disponibles.

<u>Capacitación y Mejoramiento del Laboratorio:</u> NVSL proporcionará protocolos estandarizados de laboratorio (SOPs) y expertos en la materia, fluidos en español, para ser consultados a su disposición.

Análisis y publicación: Las secuencias genómicas, en conjunto con los metadatos asociados a estas, se compartirán de manera interna entre el Beneficiario y USDA APHIS en cuanto los resultados se encuentren disponibles, y posterior a 12 meses (o antes, en caso que ambas partes estén de acuerdo) estas secuencias serán depositadas en la base de datos Sequence Read Archive (SRA) del Centro Nacional para la Información en Biotecnología (National Center for Biotechnology Information—NCBI). Cualquier publicación científica resultado de este proyecto deberá ser aprobada por ambas partes.

B. Funciones y Responsabilidades

- a. El Beneficiario y APHIS deberán
 - i. Desarrollar un programa de trabajo para que el equipo de trabajo se reúna con regular frecuencia para coordinar las actividades a realizar. El equipo de trabajo consistirá de al menos dos expertos en la materia de colección de muestras y diagnóstico de laboratorio por parte del Beneficiario, un representante de APHIS-IS del país en cuestión, un representante de APHIS-IS experto en tuberculosis bovina, así como un experto en bacteriología y/o patología por parte de NVSL.
 - ii. Evaluar los protocolos de muestreo y diagnóstico, así como del equipamiento y material disponible, para determinar los métodos a utilizar para lograr los objetivos del proyecto.
 - iii. Determinar las prioridades de capacitación para el personal de campo y de laboratorio de Guatemala.

b. El Beneficiario deberá

i. Colectar muestras de tejido de bovino de acuerdo a los protogolos acordados.

- 1. Diseñar una estrategia para elegir los mataderos ideales para la toma de muestras, con base en su ubicación (preferentemente cercano al laboratorio de referencia) y tipo/cantidad de animales que recibe.
- 2. Será responsable de supervisar al personal del matadero asignado la tarea de la colección de las muestras.
- ii. Enviar las muestras a NVSL para su procesamiento, cultivo, aislamiento y secuenciación genômica.
- iii. Proporcionar toda la información asociada a las muestras, incluyendo: huésped, edad, sexo, país/región de origen, fecha de colecta, tipo y ubicación del espécimen, y número de hafo.
- iv. Ser responsables de la coordinación y logística involucradas en la organización de las capacitaciones de campo y de laboratorio a llevarse a cabo en Guatemala.

c. APHIS deberá

- i. Proporcionar medio de cultivo (7HI IP) para auxiliar en la implementación del cultivo de M. bovis en el laboratorio de Guatemala.
- ii. Proporcionar protocolos de laboratorio estandarizados (SOPs) para diagnóstico de M. bovis (NVSL SOPs).
- iii. Proporcionar los resultados de la secuenciación genómica y caracterización de las cepas, y resumir esta información para la aprobación de ambas partes.
- iv. Proporcionar la capacitación requerida a la cual se acordó durante la fase de planeación.
 - 1. Dos personas de USDA APHIS (un experto en bacteriología de NVSL y un experto en tuberculosis bovina de APHIS-IS), así como una persona de USDA APHIS ORISE para que viajen a Guatemala para realizar dicha capacitación.
 - 2. Dos personas del laboratorio oficial de viajará a NVSL durante una semana para recibir capacitación en materia del procesamiento de tejido y pruebas moleculares para el diagnóstico de tuberculosis bovina.
- v. Pagar los costos del envío de medios de cultivo de NVSL a Guatemala, así como el envío de muestras (tejido/células inactivadas/ADN) de Guatemala a NVSL.

NVSL proporcionará capacitación y apoyo técnico durante la realización del proyecto para cumplir exitosamente con la obtención de cepas de *M. boyis*, así como insumos necesarios para dicho aislamiento. Se proporcionará retroalimentación a lo largo del proceso en caso de identificar áreas de oportunidad para el cumplimiento satisfactorio del proyecto.

C. Rubros del Plan de Financiamiento

El total del presupuesto solicitado es para 1 año.

Total	\$24,882.00
Costos indirectos	\$2,262.00
Contractual	\$1,500.00
Insumos	\$7,620.00
Equipo	\$6,500.00
Viajes	\$7,000.00
Personal	\$0,00

IV. PROYECCIÓN CUANTITATIVA DE LOS LOGROS A CUMPLIR:

Se deberá proporcionar reportes financieros de manera trimestral y someter solicitudes de Anticipo o Reembolso (SF-270) como sea necesario.

Se enviarán reportes trimestrales de logros a NVSL, utilizando un formato estandarizado y acordado por ambas partes. Los reportes deberán describir y enlistar las actividades cumplidas para llevar a cabo un seguimiento del avance y progreso del proyecto. Así mismo, el reporte deberá incluir descripciones detalladas explicando cualquier cambio o desviación de los protocolos acordados. El reporte debe ser enviado a Connie. dentro de los periodos de tiempo establecidos en el Acuerdo de Cooperación. Cuando los logros no puedan ser cuantificados por medio de una actividad o función, el Cooperador deberá proporcionar la fecha meta para cada función y un estimado de las capacidades a cumplir.

MINISTERIO DE AGRICULTURA, GANADERIA Y ALIMENTACION

PLAN FINANCIERO derivado del Convenio de Cooperación de APHIS Entre

MINISTERIO DE AGRICULTURA, GANADERIA Y ALIMENTACION (MAGA GUATEMALA), EL INSTITUTO INTERAMERICANO DE COOPERACIÓN PARA LA AGRICULTURA EN GUATEMALA (IICA-GUATEMALA) Y EL

SERVICIO DE INSPECCIÓN EN SALUD ANIMAL Y VEGETAL DEL DEPARTAMENTO DE AGRICULTURA DE LOS ESTADOS UNIDOS (APHIS-USDA)
21-9419-0580CA (Año Fiscal 2021)

Caracterización de cepas de Mycobacterium bovis de Guatemala

RUBRO	PRESUPUESTO TOTAL
PERSONAL:	
Subtotal	\$0.00
BENEFICIOS COMPLEMENTARIOS:	
Subtotal	\$0.00
VIAJE:	
Capacitación en NVSL para bacteriología (1 persona, 2 semanas)	\$3,500.00
Capacitación en NVSL para histopatología (1 persona, 2 semanas)	\$3,500.00
Subtotal	\$7,000.00
EQUIPO:	
Microtomo	\$6,500.00
Subtotal	\$6,500.00
INSUMOS:	
Portaobjetos para microscopio	\$150.00
Insumos para autoclave	\$100.00
Reactivos para tinción ácido-alcohol resistente	\$200.00
Asas estériles, tijeras, pinzas, pipetas desechables estériles, bolsas para desechos biológicos	\$800.00
Arena estéril para mortero	\$200.00
Homogeneizador/macerador de tejidos	\$200.00
Cámara de refrigeración	\$770.00
Autoclave	\$3,050.00
Material para colección de muestras	\$1,000.00

Equipo de protección personal (guantes, cubrebocas, etc.)	\$150.00
Material para capacitación de campo y renta de auditorio	\$500.00
Papeleria	\$500.00
Subtotal	\$7,620.00
Contractual:	
Personal técnico para toma de muestras en matadero	\$1,500.00
Subtotal	\$1,500.00
OTROS:	
Subtotal	\$0.00
COSTOS DIRECTOS TOTALES	\$22,620.00
COSTOS INDIRECTOS (Aplicación adecuada de su acuerdo actual de tarifas de costos indirectos o del límite legal del 10% de las costos directos totales; usando el que sea menor)	\$2,262.00
COSTOS TOTALES DEL PROYECTO	\$24,882.00

MINISTERIO DE AGRICULTURA, GANADERIA Y ALIMENTACION