

# El papel de la epidemiología molecular en el control de enfermedades endémicas

## TUBERCULOSIS



**Lucía de Juan Ferré**  
**Servicio de Micobacterias**  
**EU-RL for Bovine Tuberculosis**  
**Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET), UCM**





Bioseguridad Nivel 3



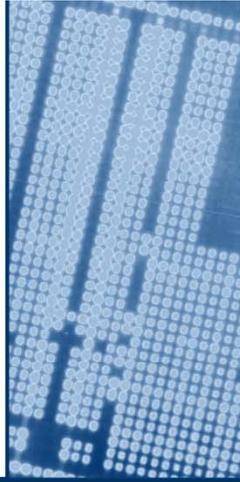
Salud Animal



Salud Pública



Seguridad Alimentaria



Medio Ambiente



Universidad Complutense

# Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria **VISAVET**



Centro de  
**Vigilancia Sanitaria Veterinaria**  
Universidad Complutense

Avda. Puerta de Hierro s/n.  
28040 Madrid

Spain

Tel.: 913 944 083

FAX: 913 943 795

visavet@vet.ucm.es

**www.vigilanciasanitaria.es**



# UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID



## FACULTAD DE VETERINARIA



CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA  
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

Servicio de Micobacterias

MYC

[www.vigilanciasanitaria.es](http://www.vigilanciasanitaria.es)



**DOCENCIA**

**ADMINISTRACIÓN**

**LABORATORIOS**

**NCB 3**

**LABORATORIOS**

**NCB 2**

**ÁREA**

**CLASE A**

**LABORATORIOS**

**NCB 2**

**LABORATORIOS**

**NCB 2**



**CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA**

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

Servicio de Micobacterias



[www.vigilanciasanitaria.es](http://www.vigilanciasanitaria.es)



### SERVICIOS DE INVESTIGACIÓN

Servicio de Zoonosis de Transmisión Alimentaria y Resistencia a Antimicrobianos

ZTA

Servicio de Zoonosis Emergentes, de Baja Prevalencia y Agresivos Biológicos

NED

Servicio de Micobacterias

MYC

Servicio de Diagnóstico, Identificación y Caracterización Molecular

DICM

Servicio de Inmunología Viral y Medicina Preventiva

SUAT

Servicio de Anatomía Patológica

SAP

Servicio de Gestión

SGE

### SERVICIOS DE APOYO

Servicio de Calidad y Bioseguridad

SCB

Servicio de Informática y Comunicación

SIC

### VISAVET ASISTENCIA

Servicio Veterinario de Urgencia

SEVEMUR

# Laboratorios de Referencia Internacional



**CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA**

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE



[www.vigilanciasanitaria.es](http://www.vigilanciasanitaria.es)

## European Union Reference Laboratory for Bovine Tuberculosis

EUROPEAN COMMISSION

Commission Regulation (EC) No 737/2008  
1 julio 2008



UNION EUROPEA



## OIE Reference Laboratory for African Swine Fever

WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH

1 enero 2007



MUNDIAL



## OIE Reference Laboratory for African Horse Sickness

WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH

1 enero 2007



MUNDIAL



- HOME
VISAVET
INVESTIGACION
DIVULGACION
DOCENCIA
SERVICIOS
ACTUALIDAD
CONTACTO
LINKS

Información de contacto
Cursos online
Becas de Formación
Programa VIGILANCIA SANITARIA
imdea alimentación

TB Step
Strategies for the eradication of bovine tuberculosis

Eurasian wild boar response to skin-testing with mycobacteria and non-mycobacterial antigens
1 de septiembre de 2010
Preventive veterinary medicine publica este artículo de investigación más información...

Organización Mundial de Sanidad Animal
Dirección General de Salud y Protección del Consumidor
efsa
Programa Vigilancia Sanitaria
Weblog de Seguridad Alimentaria



mycoDB.es
Base de Datos Nacional de Micobacterias Animal
mycoDB
SPOLIOTYPE SEARCH
ISOLATE SEARCH
ISOLATE NEWS
DOCUMENTS

- HOME
VISAVET
RESEARCH
TEACHING
OUTREACH
SERVICES
NEWS
CONTACT
LINKS

Sanitaria
Infermedades
Adaptación

Research Line
Research Networks
Thesis
Scientific Publications

Last research news
October 1st, 2010
Moraxella porcii sp. nov., a new species isolated from pigs

SGM IJSEM
Investigation published in International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology
Nine Gram-negative, catalase- and oxidase-positive coccoid-shaped bacteria were isolated from pigs affected of different pathological processes...

September 28th, 2010
Experimental infection of European red deer (Cervus elaphus) with bluetongue virus serotypes 1 and 8

VISAVET Outreach Journal
"Swine flu" - human cases due to H1N1 Influenza virus, an issue that so far only affects Public Health

Article data
Title: "Swine flu", human cases due to H1N1 Influenza virus, an issue that so far only affects Public Health
Author: Raquel Guaycha Gulló
Date published: April 27th, 2009

- HOME
VISAVET
RESEARCH
TEACHING
OUTREACH
SERVICES
NEWS
CONTACT
LINKS

- Coming soon in Research
PCR amplification and high resolution melt curve analysis as a rapid diagnostic method to genotype members of the Mycobacterium avium-intracellulare complex
Genetic analysis of Streptococcus suis isolates recovered from diseased and healthy carrier pigs at different stages of production on a pig farm
Management of an outbreak of brucellosis due to B.melitensis in dairy cattle in Spain
Epidemiological investigation of a Mycobacterium avium subsp. hominissuis outbreak in swine
In vitro growth inhibition of food-borne pathogens and food spoilage microorganisms by vitamin C5
Progress in the Control of Bovine Brucellosis due to Brucella abortus in Spain
Ante-mortem testing wild fallow deer for bovine tuberculosis
Phylogenetic analysis of a new Cetacean morbillivirus from a short-finned pilot whale stranded in the Canary Islands
Mass vaccination as a complementary tool in the control of a severe outbreak of Bovine Brucellosis due to Brucella abortus in Spain
A novel spatial and stochastic model to evaluate the within- and between-farm transmission of classical swine fever virus. I. General concepts and description of the model
Factors influencing the performance of an interferon-γ assay for diagnosis of tuberculosis in goats
Canine Gastric Carcinoma: Immunohistochemical Expression of Cell Cycle Proteins (p53, p21, and p16) and Heat Shock Proteins (Hsp27 and Hsp70)
Eggshell bacterial loads in the pied flycatcher Fringilla hypoleuca: environmental and maternal factors

Scientific publications
Last published
October 2010
Moraxella porcii sp. nov., a new species isolated from pigs

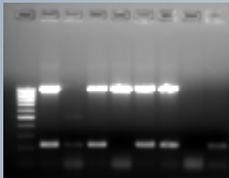
# Líneas de Investigación

- Aplicación de nuevas técnicas de diagnóstico: MGIT, real time PCR, técnica de extracción directa de ADN a partir de muestra clínica.
- Estudios de sensibilidad y especificidad de las pruebas diagnósticas de la tuberculosis. Interferencia de otras micobacterias (*M.a.paratuberculosis*).
- Estudios inmunológicos. Caracterización de la respuesta inmune. Nuevas citoquinas para diagnóstico.
- Caracterización molecular de miembros de los complejos *M. tuberculosis* (MLST, spoligotyping, VNTR) y *M. avium* (PCR, REAs).
- Epidemiología de la tuberculosis y paratuberculosis. Papel de los animales salvajes. Control de la enfermedad. Vacunación.

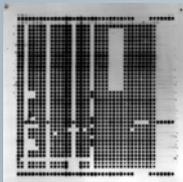
# Trabajo de Servicio



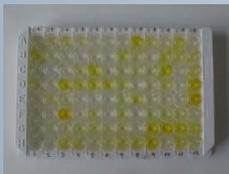
- Cultivo microbiológico: tuberculosis y paratuberculosis.



- Identificación de complejo *Mycobacterium tuberculosis* y *M. avium* mediante la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).



- Caracterización molecular de aislados del género *Mycobacterium*: DVR-spoligotyping, PFGE, VNTR.



- Pruebas inmunológicas:
  - Detección de gamma-interferon (PPD aviar y PPD bovina)
  - Detección de anticuerpos frente a *M.a.paratuberculosis*.

# Accreditación

Accreditación nº 817/LE1410  
 Anexo Técnico rev.1  
 Fecha 30/07/10  
 Hoja 1 de 1

## ALCANCE DE ACREDITACIÓN

**CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA (VISAVET). UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

Dirección: Universidad Complutense Madrid. Facultad de Veterinaria. Avda Puerta de Hierro s/n. HCV – Planta Sótano 28040 (Madrid)

Está acreditado por la **ENTIDAD NACIONAL DE ACREDITACIÓN**, conforme a los criterios recogidos en la Norma UNE-EN ISO/IEC 17025: 2005 (CGA-ENAC-LEC), para la realización de:

### Ensayos en productos agroalimentarios

Categoría 0 (Ensayos en laboratorio permanente)

**SERVICIO DE MICOBACTERIAS**

Análisis mediante métodos basados en técnicas de cultivos

PRODUCTO/MATERIAL A ENSAYAR	ENSAYO	NORMA/PROCEDIMIENTO DE ENSAYO
Linfonodos y pulmón de bovino	Detección de Micobacterias	Procedimiento interno PE/003/MYC

Análisis mediante métodos basados en técnicas PCR

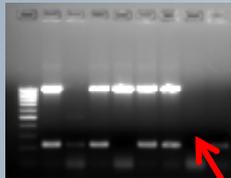
PRODUCTO/MATERIAL A ENSAYAR	ENSAYO	NORMA/PROCEDIMIENTO DE ENSAYO
Colonias procedentes de cultivos ADN obtenido de colonias procedentes de cultivos	Identificación de microorganismos pertenecientes al complejo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Procedimiento interno PE/005/MYC

Análisis mediante métodos basados en técnicas ELISA

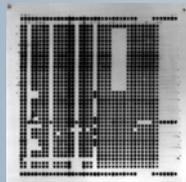
PRODUCTO/MATERIAL A ENSAYAR	ENSAYO	NORMA/PROCEDIMIENTO DE ENSAYO
Sangre de bovino	Diagnóstico de tuberculosis mediante detección del Gamma-Interferón <i>in vitro</i> por ELISA	Procedimiento interno PE/009/MYC



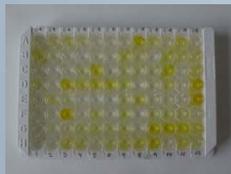
• Cultivos



• Identificación de *M. avium* Polimorfismo



• Caracterización de *Mycobacterium tuberculosis*



• Pruebas de diagnóstico de tuberculosis  
 • Diagnóstico de tuberculosis  
 • Diagnóstico de tuberculosis  
 • Diagnóstico de tuberculosis

tuberculosis.

tuberculosis y Cadena de la

del género TTR.

aviar y PPD frente a





**Muestra biológica**



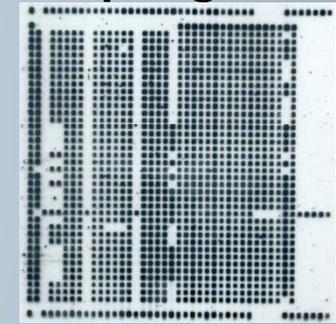
**Medio de cultivo**



**ADN**



**Perfiles de spoligo**



PE/009/MYC\*  
**IFN TBC**

PE/010/MYC  
**Serología PTB**

# Flujo Servicio



# Convenios de colaboración



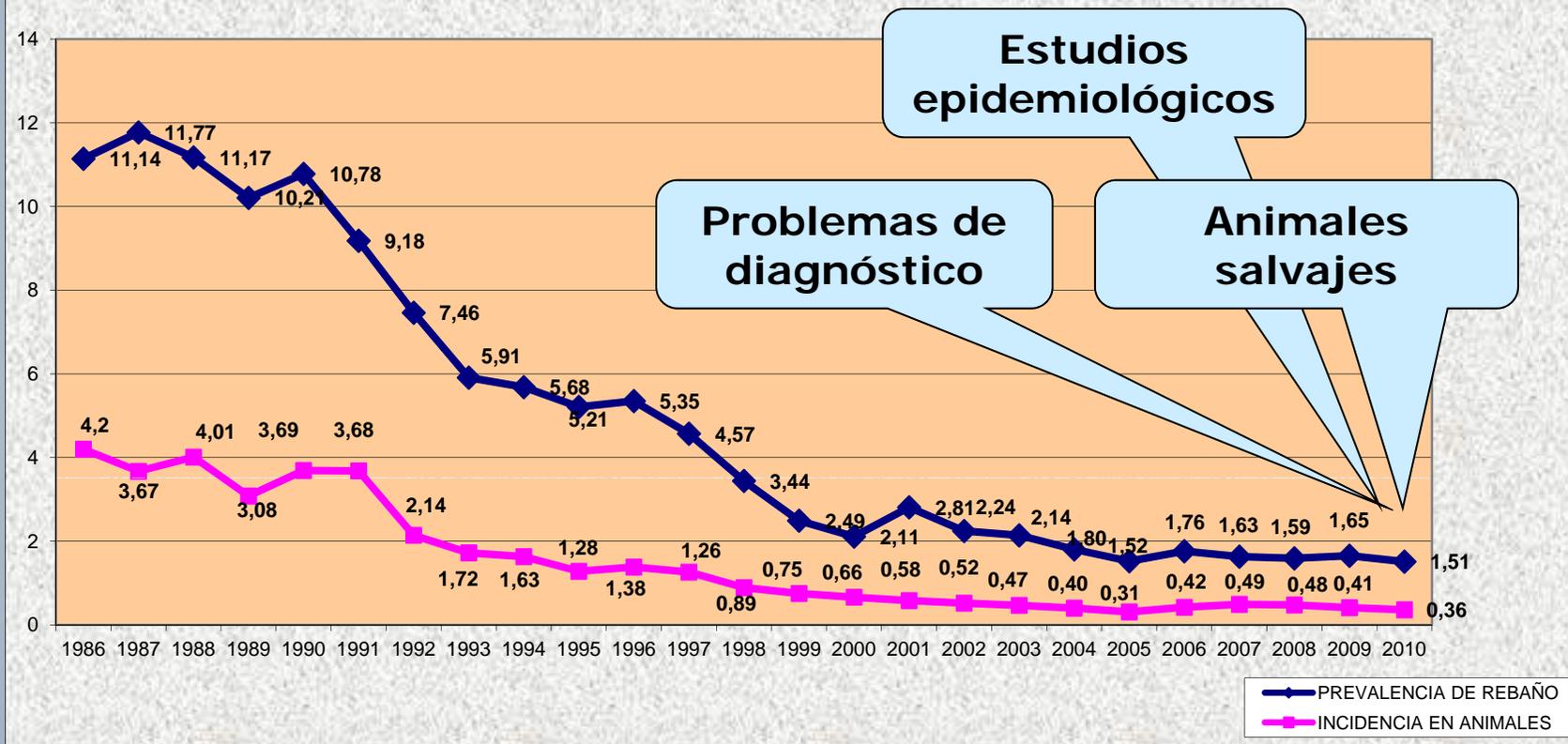
- Apoyo en el diagnóstico de tuberculosis
- Asesoría científica/técnica
- Estudios de investigación





- Estudios epidemiológicos (DVR-spoligotyping, VNTRs).  
Gestión y actualización de la Base de Datos Nacional mycoDB.
- Escuela de Tuberculosis para la formación del personal veterinario y desarrollo de una técnica de sensibilización en animales sanos mediante la aplicación de antígenos de *Mycobacterium bovis*.
- Cultivo microbiológico de tuberculosis, identificación y caracterización molecular de los aislados e interpretación de resultados de CCAA.
- Estudio de la interferencia producida por la vacunación frente a la paratuberculosis y pseudotuberculosis o de la co-infección por *C. pseudotuberculosis* en el diagnóstico de la tuberculosis.
- Complementar al Laboratorio de Referencia Europeo de Tuberculosis Bovina.
- Tuberculosis en reservorios silvestres y análisis de la eficacia de un programa de vacunación en estas especies.
- Valoración de la sensibilidad y especificidad de las pruebas oficiales de diagnóstico de la tuberculosis bovina y caprina mediante el empleo de PPDs.
- Asesoría científica y técnica al MARM y CCAA (acreditación).

## PREVALENCIA DE REBAÑO E INCIDENCIA EN ANIMALES 1986-2010 TUBERCULOSIS BOVINA

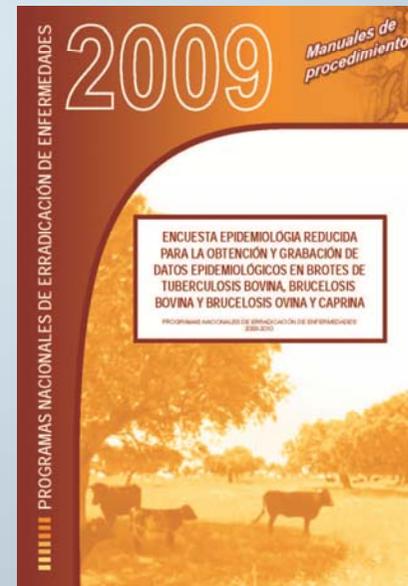
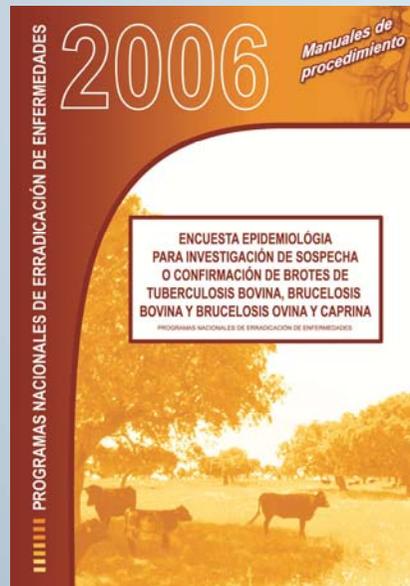


# Epidemiología compleja

## Factores relacionados con la enfermedad

### - Epidemiología clásica

- Encuesta epidemiológica
- Densidad (hacinamiento, tipo de ganadería, etc.)
- Comportamiento, movimiento de animales
- Estudio de las lesiones (cavidad torácica o abdominal)
- Interacciones (ganado, peridomésticos, salvajes, hombre)

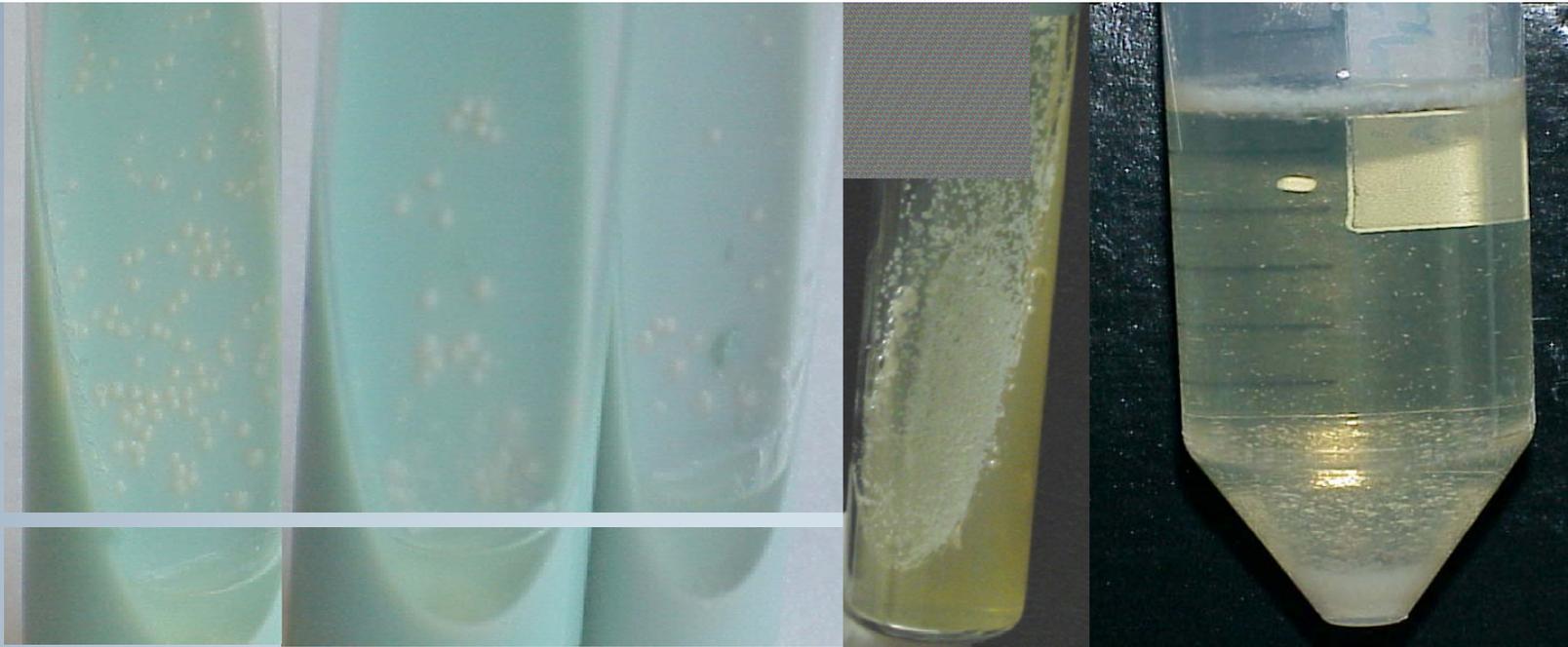


# Epidemiología compleja

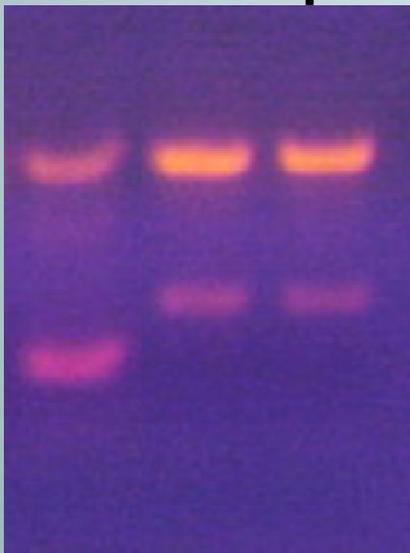
Factores relacionados con la enfermedad

- Epidemiología clásica
- Epidemiología molecular
  - DVR-spoligotyping
  - MIRU-VNTRs





## PCR Múltiple



## Identificación por PCR

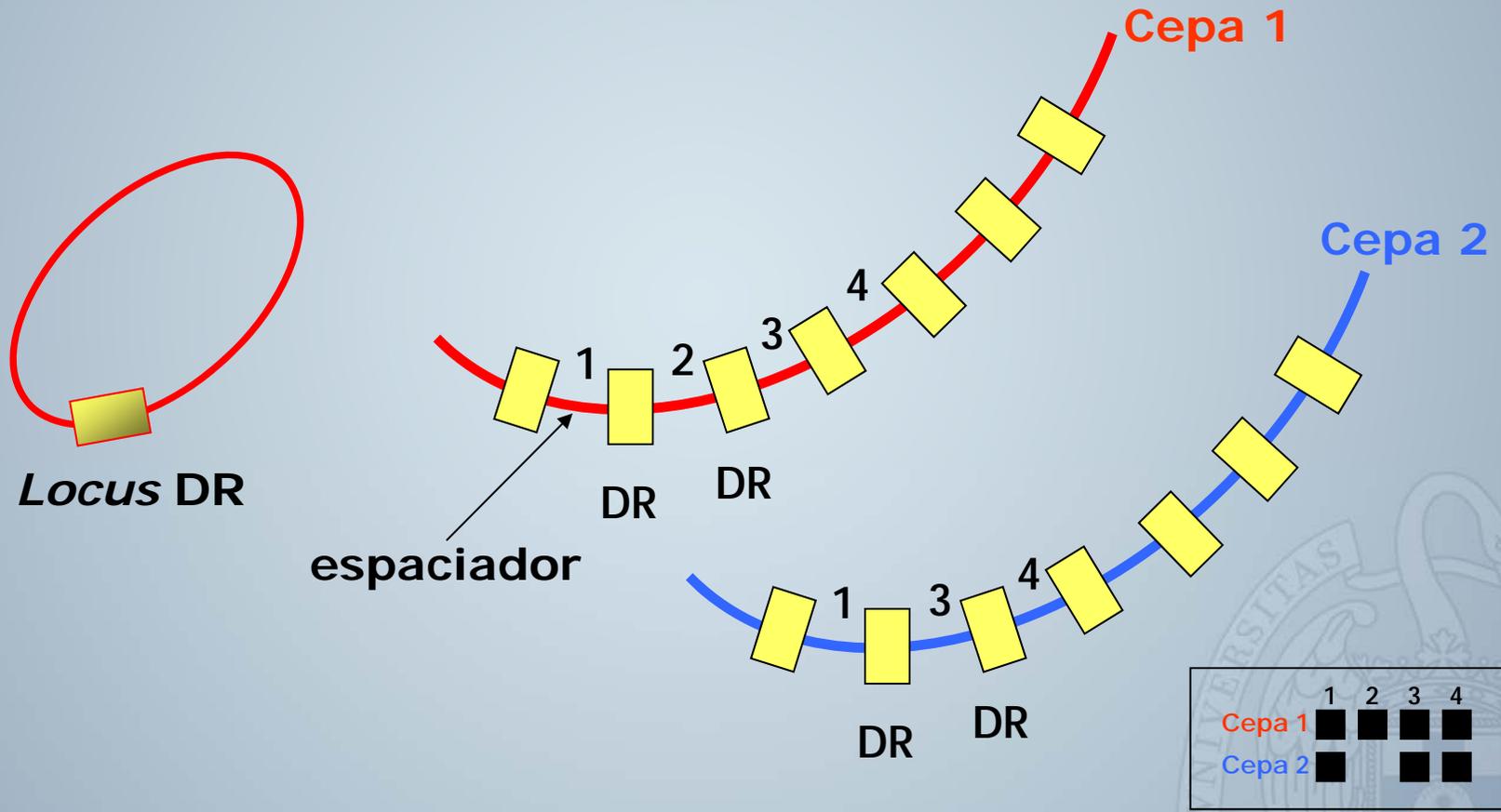
→ Género *Mycobacterium*

→ Complejo *Mycobacterium tuberculosis*

→ *Mycobacterium avium* subsp.  
*paratuberculosis*

# Direct Variable Repeat - Spacer Oligonucleotide Typing

## DVR-SPOLIGOTYPING



110111110111111011110111100001111111100000 Código numérico (SB0121)

*M. bovis*

SB0120

SB0132



*M. tuberculosis*

SIT58

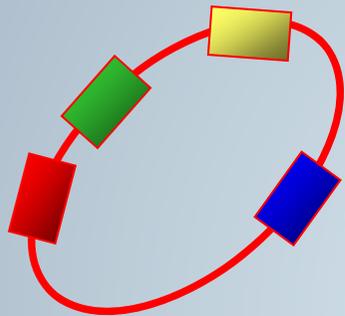
*M. caprae*

SB0157

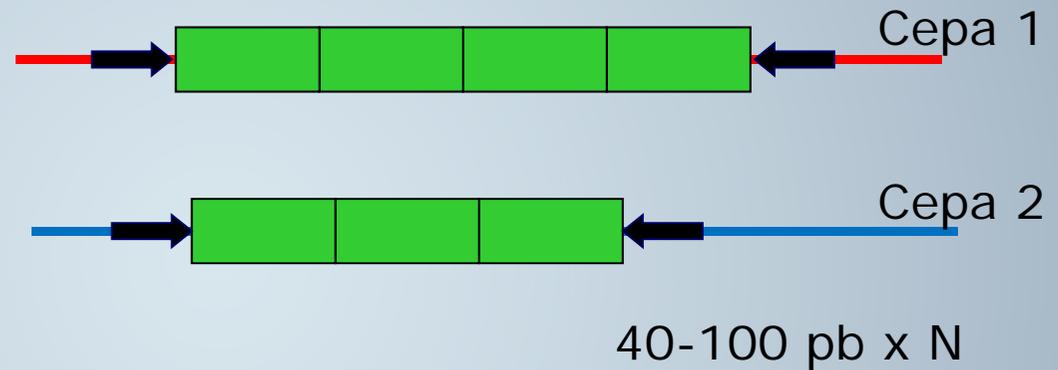
SB0415

SB0157

# Variable Number Tandem Repeats (VNTR) Mycobacterial Interspersed Repetitive Units (MIRU)



*Locus*



VNTR2165, VNTR2461, VNTR0580, VNTR3192, VNTR2996, VNTR2163a, VNTR2163b, VNTR4052, VNTR3232

**Perfil MIRU-VNTR: 1-3-3-3-5-10-2-5-8**



# Diseño y puesta a punto de una base de datos nacional sobre tuberculosis y otras micobacteriosis en animales



Ministerio de Medio Ambiente y  
Medio Rural y Marino



Centro de Vigilancia Sanitaria  
Veterinaria (VISAVET)  
Universidad Complutense

- Centralización de la información de ADN de cepas del complejo *M. tuberculosis* en una Base de Datos Nacional.
- Vigilancia y estudios epidemiológicos.
- Acceso restringido.



CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA  
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

Servicio de Micobacterias

[www.vigilanciasanitaria.es](http://www.vigilanciasanitaria.es)

## mycoDB

BD Nacional de Micobacteriosis Animal  
Versión 3.3  
Datos actualizados a 4 de nov. de 2011  
Copyright © 2011 VISAVET

### SPOLOGOTYPE SEARCH

**Spoligotype Search:** búsqueda de un capilgotipo por su código estandarizado.

### MIRU-VNTRTYPE SEARCH

**MIRU-VNTRtype Search:** búsqueda de un MIRU-VNTRtipo por el número de repeticiones.

### ISOLATE SEARCH

**Isolate Search:** búsqueda de aislamientos de micobacterias atendiendo a diferentes criterios.

### ISOLATE MAPS

**Isolate Maps:** mapas anuales de distribución de aislamientos de micobacterias en España.

### mycoDB demo

**Free Access:** Acceso libre a una demo de la aplicación mycoDB.

### Documents

**Manual de Usuario:** Manual de usuario de mycoDB.

**Relación entre nomenclaturas:** Relación entre las nomenclaturas de capilgotipos VISAVET e internacionales.

**Referencias:** Referencias mycoDB

#### Base de Datos Nacional de Micobacteriosis Animal mycoDB: Convenio de Colaboración MARM-UCH



El Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria es responsable de la base de datos que recoge los registros nacionales de micobacteriosis animal desde 1996 hasta la actualidad.

La base de datos se complementa con un visor que muestra la distribución geográfica de los aislamientos de Micobacterias según criterios de consulta como el año, especie animal o capilgotipo implicado.

El acceso a esta base de datos está disponible a través de la página web de la Red de Alerta Sanitaria (RASVE) del Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, para los Servicios Veterinarios y Laboratorios que participan en el Programa Nacional de Erradicación de la Tuberculosis Bovina.

#### DVR - spoligotyping



La técnica "Direct Variable Repeat Spacer Oligonucleotide Typing" se basa en la amplificación de una región del genoma denominada locus DR (direct repeat). Esta región está compuesta por secuencias repetidas (DR) separadas por secuencias denominadas espaciadoras e las que se dirige la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y que son detectadas mediante hibridación de los productos generados a una membrana con oligonucleótidos unidos covalentemente. Al final del protocolo se obtiene un patrón (perfil de capilgotipo), caracterizado por la presencia o ausencia de espaciadora. Esta técnica es específica para especies bacterianas del complejo *M.tuberculosis* (*M.tuberculosis*, *M.bovis*, *M.aegreus*, *M.fricanum*, *M.genitipadi* y *M.magerit*). Actualmente, el DVR-spoligotyping es la técnica de elección para la realización de estudios de epidemiología molecular (transmisión animal salvaje y doméstica, movimiento de animales, aislados específicos de una región geográfica, estudio de brotes, etc.).

#### Referencias:

Aranas A, Urbana S, Mateos A, Domínguez L, Vidal D, Domingo M, González O, Rodríguez-Fernández SF, Bunschoten AG, Van Embden JD, Cousins D. Spacer oligonucleotide typing of *Mycobacterium bovis* strains from cattle and other animals: a tool for studying epidemiology of tuberculosis. *J Clin Microbiol.* 24(11):2734-40. 1996.

Kumarbeek J, Schout L, Kolk A, van Agterveld H, van Soelingen D, Kijzer S, Bunschoten A, Huisman H, Shaw R, Goyal H, van Embden J. Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiology. *J Clin Microbiol.* 25(4):907-14. 1997.

#### MIRU-VNTR

La técnica de *Mycobacterial Interrepeat Repetitive Unit-Variable Number Tandem Repeat* (MIRU-VNTR) está basada en una PCR que amplifica una secuencia de MIRU-VNTR loci.

Estos loci son elementos que se repiten en tándem (de 40 a 120 veces de bases) y localizados principalmente en regiones intergénicas del genoma de los miembros del complejo *Mycobacterium tuberculosis*.

El número de repeticiones de cada secuencia del locus se cuantifica analizando el tamaño del producto de PCR después de la migración electroforética. Los loci que se han descrito como más discriminativos para los aislados de *M. bovis* son, entre otros, el VNTR 2322, QUB 11a, QUB 11b, STR-A, STR-B y MIRU 24 loci. Sin embargo, el análisis MIRU-VNTR todavía no está estandarizado para *M. bovis* y la diversidad alélica puede variar entre los países.

Este protocolo está siendo una técnica importante de caracterización molecular ya que permite un análisis reproducible y discriminativo de las cepas del complejo de *Mycobacterium tuberculosis*. Esta técnica se ha propuesto como técnica para la caracterización de cepas del complejo *M. tuberculosis* en combinación con el DVR-spoligotyping.

En la actualidad el Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria emplea esta técnica en el estudio de brotes epidemiológicos específicos.

#### Referencias:

Probingham R, Nelson-OConnell WA. Genetic diversity in the *Mycobacterium tuberculosis* complex based on variable numbers of tandem DNA repeats. *Microbiology.* 1996 May;144 (5):1169-95.

Aranas A, Romero S, Montero N, Alvarez J, Secos J, de Juan L, Mateos A, Domínguez L. Spoligotyping profile change caused by deletion of a direct variable repeat in a *Mycobacterium tuberculosis* isogenic laboratory strain. *J Clin Microbiol.* 2004 Nov;42(11):3388-91.

Proding WM, Brandstätter A, Baumann L, Rezzolini H, Kubisa T, Seescholl M, Aranas A, Nagy G, Ovieth Z, Czapiek H, Strychok A, Sier W, Niermann S, Pavik I, Hoer T. Characterization of *Mycobacterium caprae* isolates from Europe by mycobacterial interspersed repetitive unit genotyping. *J Clin Microbiol.* 2005 Oct;43 (10):4994-92.

Romero S, Aranas A, de Juan L, Alvarez J, Secos J, Mateos A, Gomez-Hernandez E, Domínguez L. Molecular epidemiology of multidrug-resistant *Mycobacterium bovis* isolates with the same spoligotyping profile as isolates from animals. *J Clin Microbiol.* 2006 Sep;44(9):2405-6.

Romero S, Aranas A, Sandoval A, Alvarez J, de Juan L, Secos J, Sanchez C, Gallo M, Fernandez S, Mateos A, Domínguez L. Persistence and molecular evolution of *Mycobacterium bovis* population from cattle and wildlife in Doñana National Park revealed by genotype variation. *Vet Microbiol.* 2008 Nov 25;132(1-2):87-95.

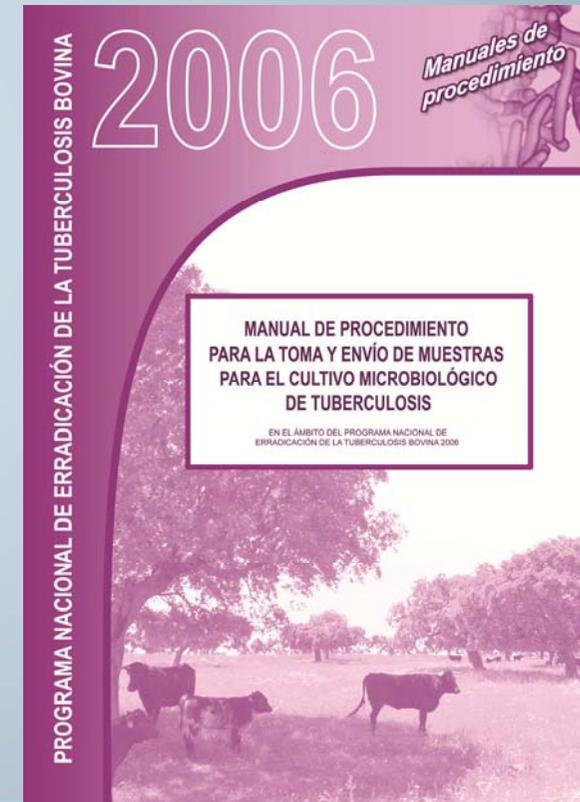
# Datos epidemiológicos

- ✓ Espoligotipo [www.Mbovis.org](http://www.Mbovis.org)
- ✓ Fecha de recepción de la muestra
- ✓ Comunidad Autónoma y su código oficial
- ✓ Provincia
- ✓ Municipio y su código oficial
- ✓ Especie animal
- ✓ Identificación



# Flujo de trabajo

- 2006: “Manual de procedimiento para la toma y envío de muestras para el cultivo microbiológico de tuberculosis”
- Se aplica a:
  - ✓ Muestras de tejidos.
  - ✓ Medios de cultivos positivos.
  - ✓ ADN.
  - ✓ Perfiles de espoligotipado.



Especie	Aislados	Perfiles spoligo	Perfiles VNTR
<i>M. bovis</i>	16230	396	157
<i>M. caprae</i>	1449	18	15
<i>M. tuberculosis</i>	6	5	0

# 1. Spoligotype Search



- HOME
- VISAVET
- INVESTIGACIÓN
- DOCENCIA
- DIVULGACIÓN
- SERVICIOS
- NOTICIAS
- CONTACTO
- LINKS



**Base de Datos Nacional de Micobacteriosis Animal**  
CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA | UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

GOBIERNO DE ESPAÑA | MINISTERIO DE MEDIO AMBIENTE Y MEDIO RURAL Y MARINO

English 

HOME \ Servicios \ Bases de datos \ mycoDB \ Spoligotype Search RSS Feed Suscripción 

### SPOLIGOTYPE SEARCH

110001110111110111110011111111111101000

Busqueda por código estandarizado

Espoligotipo Código Internacional (SBxxxx/SITxxxx)

Espoligotipo Código VISAVET (SPx-xxx)

Resultados por página

### MIRU-VNTRTYPE SEARCH

MIRU-VNTRtype Search: búsqueda de un MIRU-VNTRtipo por el número de repeticiones.

### ISOLATE SEARCH

Isolate Search: búsqueda de aislamientos de micobacterias atendiendo a diferentes criterios.

### ISOLATE MAPS

Isolate Maps: mapas anuales de distribución de aislamientos de micobacterias en España.

### Equivalencia entre códigos de espoligotipo

Introduzca el código binario del perfil de espoligo y pulse intro ó seleccione el código Internacional ó VISAVET para ver la relación

Código binario

Código VISAVET

Código Internacional



# Transmisión entre explotaciones



- ✓ Movimiento de un animal?
- ✓ Fallo diagnóstico?
- ✓ Nueva infección?



# Importancia de los animales salvajes



1. Reservorios para ganado
2. Especies protegidas
3. Salud Pública



En España:

1. Variedad de fauna salvaje, varias especies susceptibles.
2. Caza como actividad económica.
3. Alta densidad de población.
4. Práctica ganaderas específicas (extensivo).



## Distribución de los espacios naturales de la CM

**MADRID**  
about you



Área total:

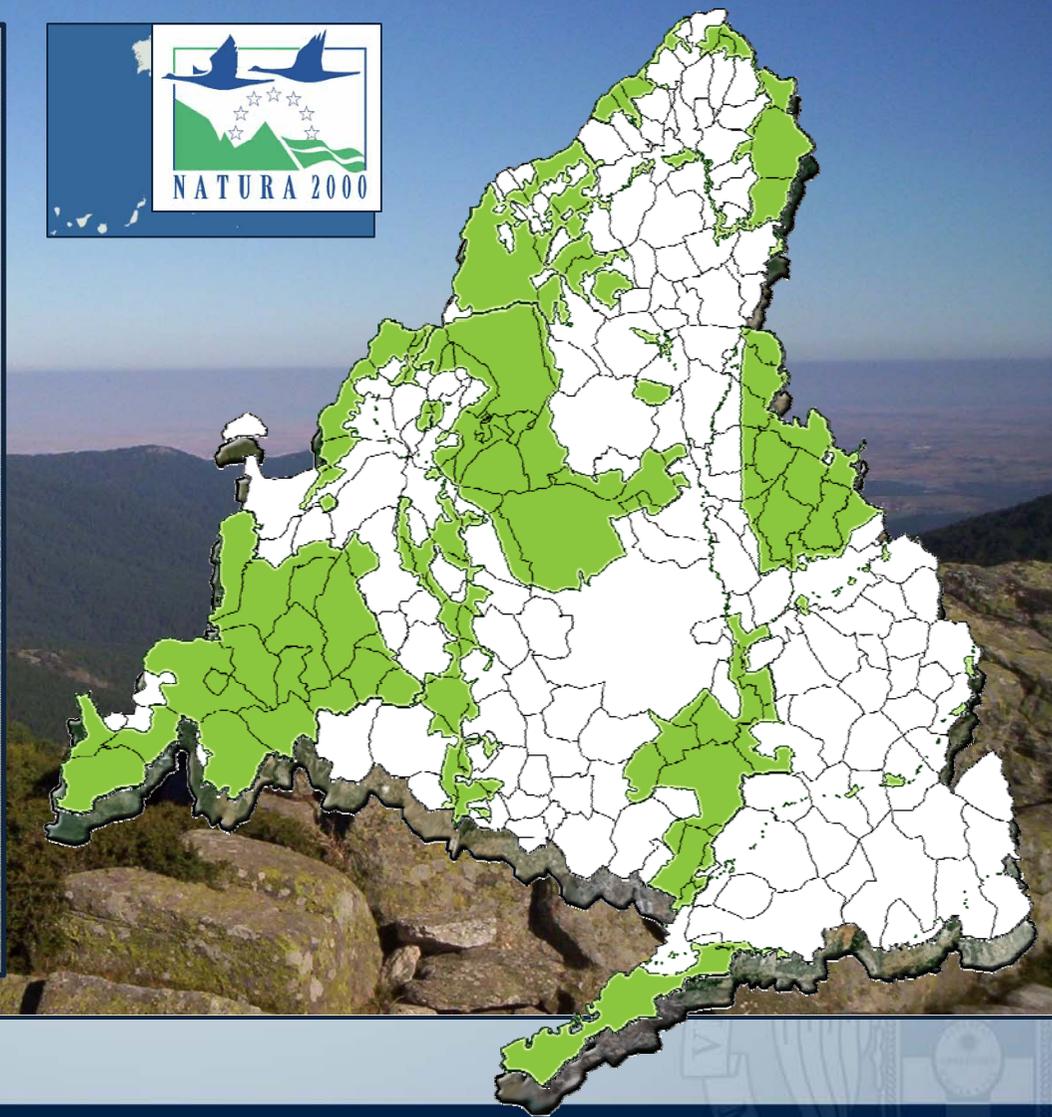
**802.180 ha**

Espacios naturales:

**301.800 ha**

Espacios protegidos:

**172.001 ha**





16.000 ha



1700 h



5900 h



14800 h



**EXPOSICIÓN ESPECIAL DE EMPALMES EN LOS PRÓXIMOS DOS MESES, SI JABALÍES YA HAN CAIDO EN LA TRAMPA**

**Método de captura**  
 Se tratan de animales salvajes que se alimentan de restos de comida humana. Se atraen con un olor fuerte y se les atrapa en una trampa que se activa al pisar una placa que hace sonar y que hace un ruido que los atrae.

**Las Rozas sale a la caza del jabalí**  
 El Ayuntamiento ha puesto en marcha unas jaulas-trampa para reducir la gran población de jabalíes.

**Mito Jabalí**  
 Muchos creen que el jabalí es un animal salvaje, pero en realidad es un animal que se ha domesticado por la presencia humana. Algunos incluso lo domesticaron en el pasado para obtener carne y piel. En la actualidad, el jabalí es un animal que se ha domesticado por la presencia humana y que se alimenta de restos de comida humana.

**1. Método de captura**  
 Se tratan de animales salvajes que se alimentan de restos de comida humana. Se atraen con un olor fuerte y se les atrapa en una trampa que se activa al pisar una placa que hace sonar y que hace un ruido que los atrae.

**2. Más un objetivo de las jaulas-trampa**  
 Se tratan de animales salvajes que se alimentan de restos de comida humana. Se atraen con un olor fuerte y se les atrapa en una trampa que se activa al pisar una placa que hace sonar y que hace un ruido que los atrae.

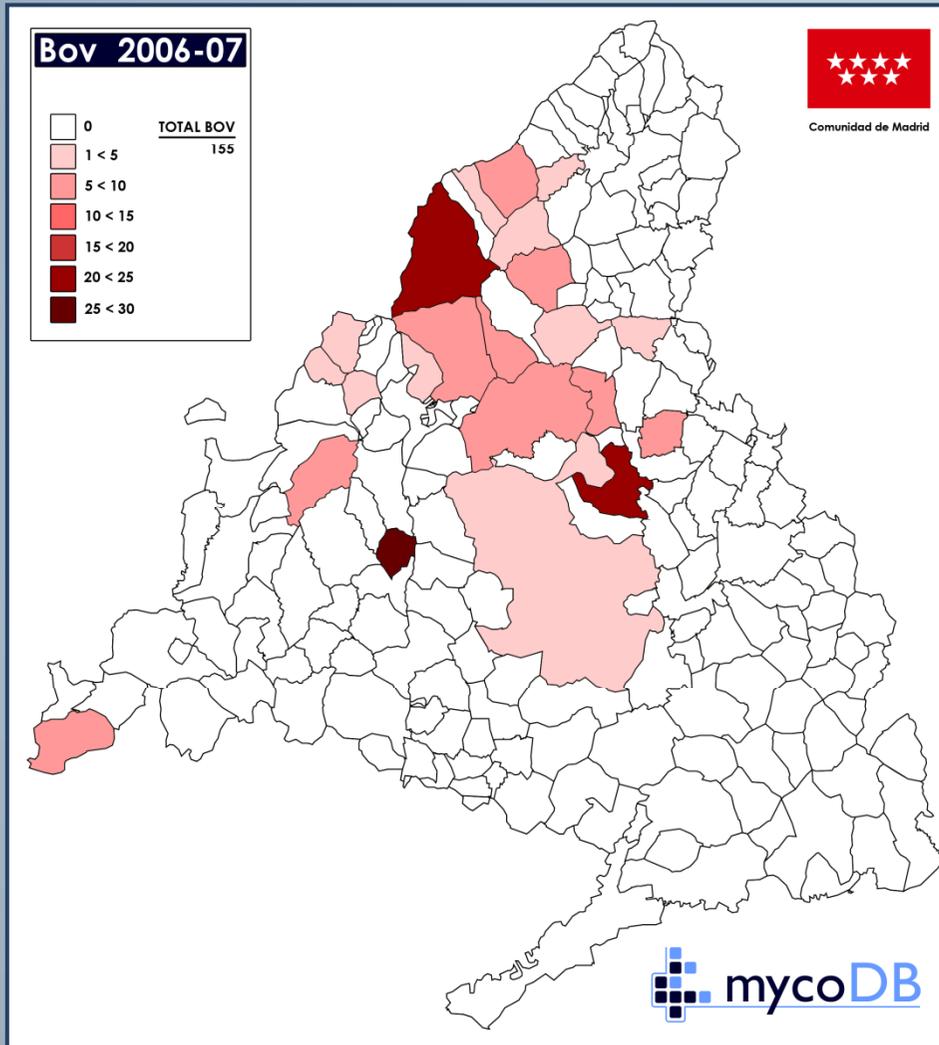
**3. Método de captura**  
 Se tratan de animales salvajes que se alimentan de restos de comida humana. Se atraen con un olor fuerte y se les atrapa en una trampa que se activa al pisar una placa que hace sonar y que hace un ruido que los atrae.

**4. Más un objetivo de las jaulas-trampa**  
 Se tratan de animales salvajes que se alimentan de restos de comida humana. Se atraen con un olor fuerte y se les atrapa en una trampa que se activa al pisar una placa que hace sonar y que hace un ruido que los atrae.

**5. Método de captura**  
 Se tratan de animales salvajes que se alimentan de restos de comida humana. Se atraen con un olor fuerte y se les atrapa en una trampa que se activa al pisar una placa que hace sonar y que hace un ruido que los atrae.



# Aislados bovinos de *M. bovis* 2006-2007



Municipio	Nº aislados
Villanueva del Pardillo	28
San Sebastián de los Reyes	21
Rascafría	20
Lozoya	12
Colmenar Viejo	11
San Agustín del Guadalix	8
Soto del Real	8
Bustarviejo	7
Fuente el Saz del Jarama	6
Cenicientos	5
Escorial (El)	5
Manzanares el Real	5
Boalo (El)	4
Canencia	3
Cercedilla	3
Molinos (Los)	2
Pinilla del Valle	2
Collado Mediano	1
Gargantilla del Lozoya y Pinilla de Buitrago	1
Guadalix de la Sierra	1
Madrid	1
Vellón (El)	1

# Aislados de *M. bovis* 2006-2007

## Aislados de *M. bovis* procedentes de fauna salvaje



22



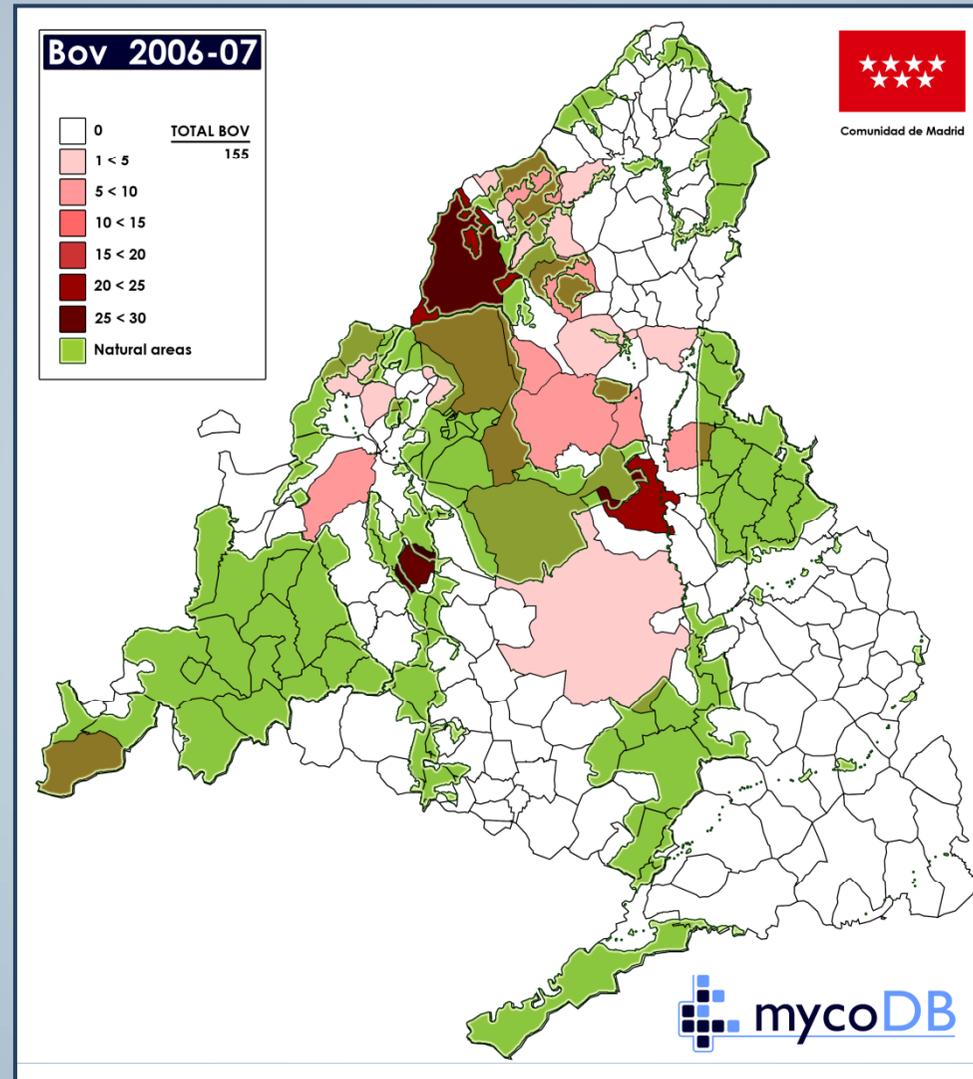
17



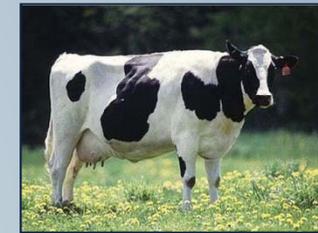
42

Total:

81



## Aislados bovinos de *M. bovis*



155



CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA

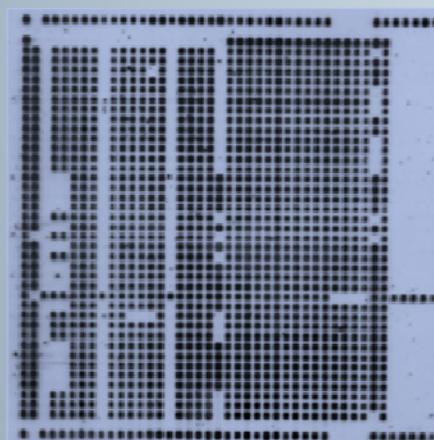
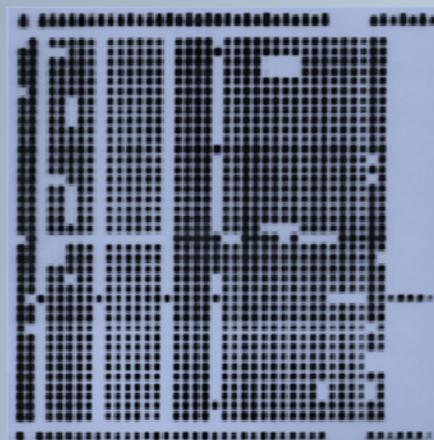
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

Servicio de Micobacterias

www.vigilanciasanitaria.es

# DVR-Spoligotyping: caracterización molecular

Aislados de *M. bovis*



Perfil	Bovino		Fauna salvaje	
	Aislados	%	Aislados	%
SB0339	72	46,4	70	86,4
SB0121	37	23,9		
SB0265	16	10,3		
SB0867	11	7,1		
SB0122	5	3,2		
SB0120	4	2,6		
SB0134	3	1,9	1	1,2
SB0294	3	1,9		
SB0152	2	1,3		
SB0295	1	0,6		
SB1090	1	0,6		
SB1142			8	9,9
SB1302			1	1,2
SB1393			1	1,2

Total:

155

81



# 2. Isolate Search: *M. bovis* en salvajes

The screenshot shows the mycoDB.es website interface. At the top left is the mycoDB.es logo. Below it is the header for the 'Base de Datos Nacional de Micobacteriosis Animal' (National Database of Animal Mycobacteriosis), managed by VISAVET (Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria) at the University of Complutense. The header also includes the Spanish government logo and the Ministry of Environment and Rural Affairs. A navigation menu on the right lists: HOME, VISAVET, INVESTIGACIÓN, DOCENCIA, DIVULGACIÓN, SERVICIOS, NOTICIAS, CONTACTO, and LINKS. Below the header, there is a breadcrumb trail: HOME \ Servicios \ Bases de datos \ mycoDB \ Isolate Search. The main content area is titled 'ISOLATE SEARCH' and contains a search form with the following fields: 'Identificación' (set to 'M. bovis'), 'Año' (with a 'hasta' field), 'CCAA', 'Provincia', 'Municipio', 'Espoligotipo', and 'VNTR-MIRUtipo' (with dropdowns for 2165, 2461, 0580, 3192, 2996, 2163a, 2163b, 4052, and 3232). Below these fields is a list of 'Especies animales' (animal species) with checkboxes: ALPACA (*Lama pacos*), BOVINA (*Bos taurus*), CAPRINA (*Capra aegagrus hircus*), FELINA (*Felis silvestris catus*), JABALI (*Sus scrofa*) (checked), MUFLON (*Ovis musimon*), PECARI (*Tayassusu sp.*), REBECO (*Rupicapra rupicapra*), ZORRO (*Vulpes vulpes*), AMAZONA REAL (*Amazona ochrocephala*), CANINA (*Canis lupus familiaris*), CIERVO (*Cervus elaphus*) (checked), GAMO (*Dama dama*) (checked), LINCE IBERICO (*Lynx pardinus*), OVINA (*Ovis aries*), PORCINA (*Sus scrofa domestica*), and TEJON (*Meles meles*). At the bottom of the search form, there is a 'Resultados por página' (Results per page) set to 50 and a 'Buscar' (Search) button. On the right side of the page, there are three additional search options: 'SPOLIGOTYPE SEARCH' (description: búsqueda de un espoligotipo por su código estandarizado), 'MIRU-VNTRTYPE SEARCH' (description: búsqueda de un MIRU-VNTRtipo por el número de repeticiones), and 'ISOLATE MAPS' (description: mapas anuales de distribución de aislamientos de micobacterias en España). A 'Manual de usuario' (User manual) link is also present.



## Estudio 1

# Persistence and molecular evolution of *Mycobacterium bovis* population from cattle and wildlife in Doñana National Park revealed by genotype variation

**Conocer la prevalencia de la tuberculosis en animales en un área restringida**

**Realizar estudios epidemiológicos basados en técnicas moleculares**



**Muestreo de ganado bovino y animales salvajes  
Intervalo de seis años (1998-2003)  
Cultivo microbiológico, identificación  
DVR-spoligotyping y MIRU-VNTR**



## Estudio 1

Especie animal	N animales	<i>M. bovis</i> (%)	Perfiles DVR-spoligotyping (N)		
Bovino	678	54 (7,96)	SB0120 (1) SB0134 (2) <b>SB1230 (10)</b>	SB0950 (1) SB0822 (3) <b>SB1232 (34)</b>	SB1233 (1) SB1234 (2)
Jabalí	214	60 (28,04)	<b>SB1230 (11)</b>	<b>SB1232 (48)</b>	SB0950 (1)
Ciervo	168	26 (15,48)	<b>SB1230 (2)</b>	<b>SB1232 (24)</b>	
Gamo	134	17 (12,69)	<b>SB1230 (1)</b>	<b>SB1232 (16)</b>	
Lince ibérico	10	4 (40)		<b>SB1232 (3)</b>	SB0295 (1)
Zorro	5	2 (40)	<b>SB1230 (1)</b>	<b>SB1232 (1)</b>	
TOTAL	1209	163 (13,48)	<b>9 perfiles</b>		<b>SB1232 (77,3%)</b> <b>SB1230 (15,3%)</b>



## Estudio 1

### Perfiles MIRU-VNTR

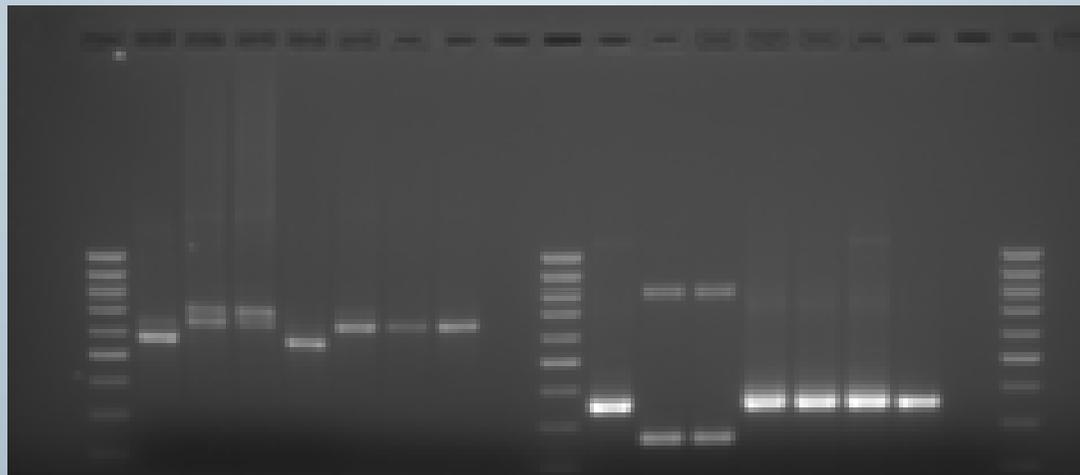
Perfil espoligo	Especie animal	QUB 3232	ETR -A	ETR -B	QUB 26	QUB 11a	QUB 11b	MIR U 4	MIR U 40
SB0822	Bovina (n=3)								
SB1232	Bovina (n=23) Salvajes (n=38)	6	4	5	4	12	4	3	2
SB1233	Bovina (n=1)								
SB1230	Bovina (n=6) Salvajes (n=10)	7	6	4	5	12	2	0	2
SB0950	Bovina (n=1) Jabalí (n=1)	6/7	4/6	5/4	4/5	12	2/4	3	2





## Estudio 1

Perfil espoligo	Especie animal	QUB 3232	ETR -A	ETR -B	QUB 26	QUB 11a	QUB 11b	MIR U 4	MIR U 40
SB1232	Bovina (n=23) Salvajes (n=38)	6	4	5	4	12	4	3	2
SB1230	Bovina (n=6) Salvajes (n=10)	7	6	4	5	12	2	0	2
SB0950	Bovina (n=1) Jabalí (n=1)	6/7	4/6	5/4	4/5	12	2/4	3	2





## Humans as Source of *Mycobacterium tuberculosis* Infection in Cattle, Spain

Descripción la infección de tuberculosis en ganado bovino causada por *Mycobacterium tuberculosis*

Estudio epidemiológico basado en epidemiología clásica y molecular



## Estudio 2

- Infección en tres animales de tres explotaciones
- Localización: Centro y Norte de España
- Cultivo microbiológico mediante sistema líquido
  - Detección rápida
  - Mejor sensibilidad
  - Diseñado para *M. tuberculosis*
  - Reciente implantación en Sanidad Animal
- Caracterización molecular



## Estudio 2

### □ Estado de los sadena explotaci3dos

	Informaci3n	Caso 1	Caso 2	Caso 3
Explotaci3n	No. animales	6	54	>200
	Producci3n	C3rnica	C3rnica	Lechera
	Estatus TB (anterior al brote)	Libre	Libre	No libre
	No. reactores IDTB	1	31	12
M. tuberculosis	A3o del brote	2007	2008	2009
	Edad de los animales (meses)	9	<b>Animales j3venes</b>	3
	IDTB/IFN-γ	+/ND	-/-	+/ND
	Lesiones compatibles	No	<b>Sin lesiones</b>	No
	Perfil espoligotipo	SIT 2537	SIT 1564	SIT 58
	Coinfecci3n	S3 ( <i>M.a.h</i> )	S3 ( <i>M. bovis</i> )	No

❑ Origen de la infección en los animales

Información		Caso 1	Caso 2	Caso 3
M. tuberculosis	Año del brote	2007	2008	2009
	Edad de los animales (meses)	9	4	3
	IDTB/IFN-γ	+/ND	- / -	+/ND
	Lesiones compatibles	No	No	No
	Perfil espoligotipo	SIT 2537	SIT 1564	SIT 58
Origen humano	Coinfección	Sí ( <i>M.a.h</i> )	Sí ( <i>M. bovis</i> )	No
	TB activa	Sí	Sí	Sí
	País de origen	España	Este Europa	España
	Perfil espoligotipo	SIT 2537	-	SIT 58

**MDR**

Reforzar la comunicación entre Sanidad Animal y Salud Pública

# Objetivos futuros

Asesoría y apoyo a la base de datos Nacional.

Completar con:

- Sistema de información geográfica (GIS).

The collage displays four overlapping screenshots of the mycoDB.es and ISOLATE MAPS GIS web applications. The top-left screenshot shows the main navigation menu with options like HOME, VISAVET, INVESTIGACIÓN, SOCIEDAD, DIVULGACIÓN, SERVICIOS, ACTUALIDAD, CONTACTO, and LINKS. The top-right screenshot shows the 'Comunidad de Madrid' logo. The bottom-left screenshot shows a map of Spain with red markers indicating data points. The bottom-right screenshot shows a detailed map of a farm complex with various buildings and fields, also marked with red dots. The interface includes a search bar, a map view, and a list of farm details on the right side.



CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

Servicio de Micobacterias

www.vigilanciasanitaria.es

# Muchas gracias

