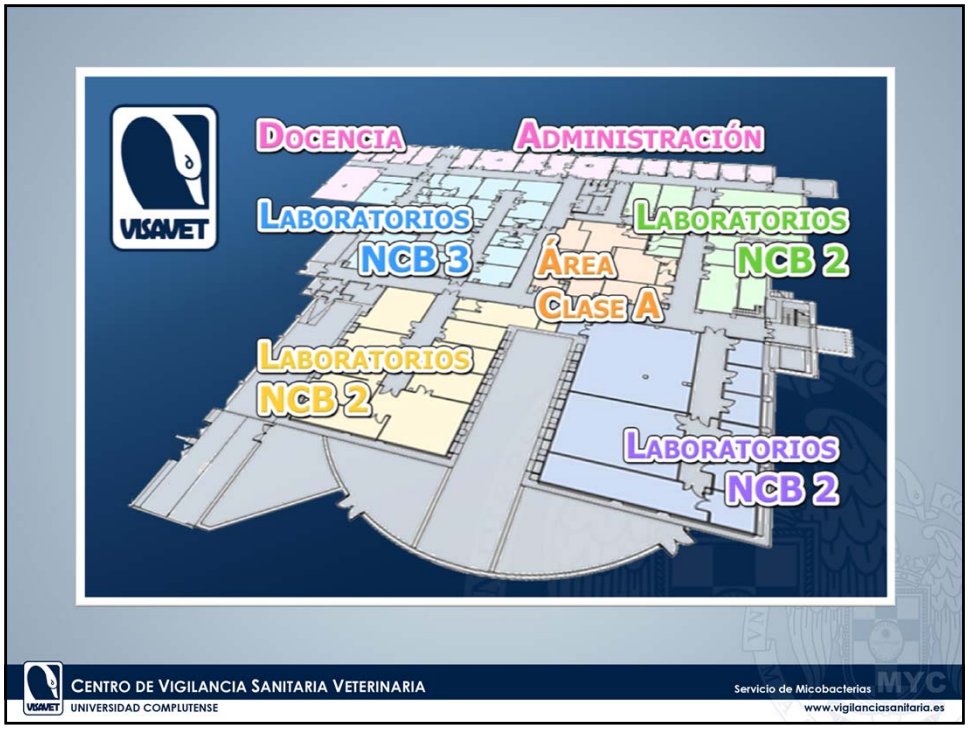
Epidemiología y su aplicación al diagnóstico de campo de la tuberculosis bovina y caprina. Importancia del uso de pruebas complementarias.

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

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE VETERINARIA
CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es


VISAVET
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

PERSONAL
CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
VISAVET
14 Personal docente
40 Investigadores pre y postdoctorales
25 Personal de apoyo
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
www.vigilanciasanitaria.es

Unidades VISAVET
CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
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
SERVICIOS DE APOYO
Servicio de Gestión
SGE
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
European Union Reference Laboratory for Bovine Tuberculosis
UNION EUROPEA
EUROPEAN COMMISSION
Commission Regulation (EC) No 737/2008
1 julio 2008
OIE Reference Laboratory for African Swine Fever
MUNDIAL
WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH
1 enero 2007
OIE Reference Laboratory for African Horse Sickness
MUNDIAL
WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH
1 enero 2007

www.vigilanciasanitaria.es
VISAVET
Scientific research
Research
VISAVET Outreach Journal
Manuals & books
CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

Servicio de Micobacterias

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.

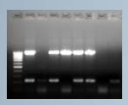
· Puesta a punto de una técnica de validación de las tuberculinas sin uso de animales de experimentación (EU-RL).

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

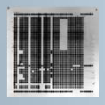
Servicio de Micobacterias

Trabajo de Servicio

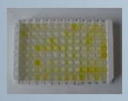
· Cultivo microbiológico: tuberculosis y paratuberculosis.



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

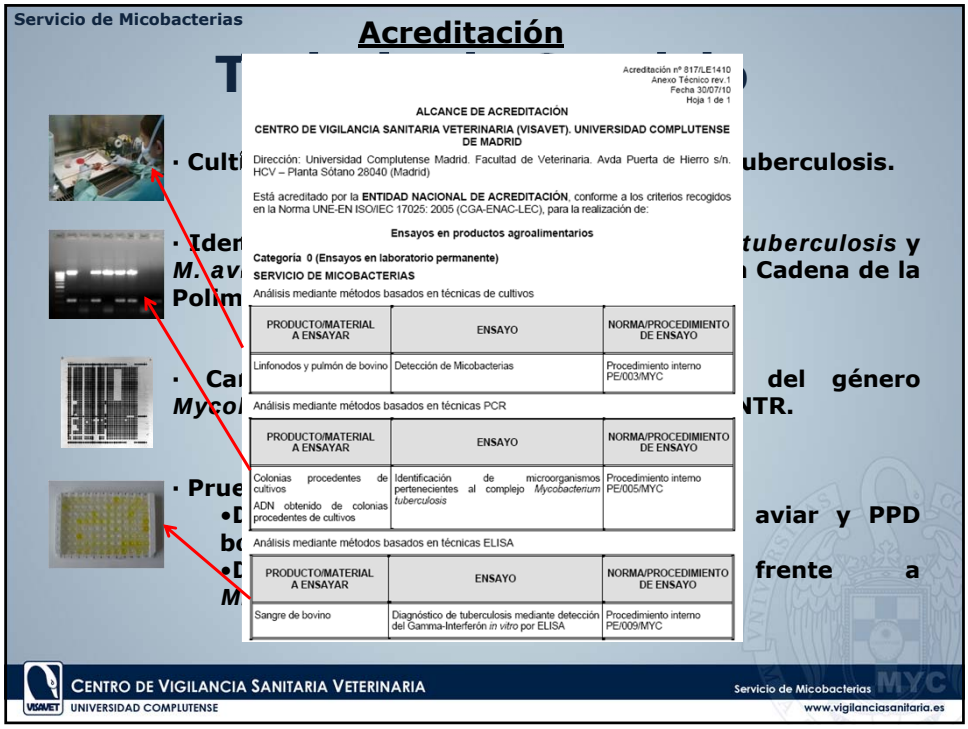


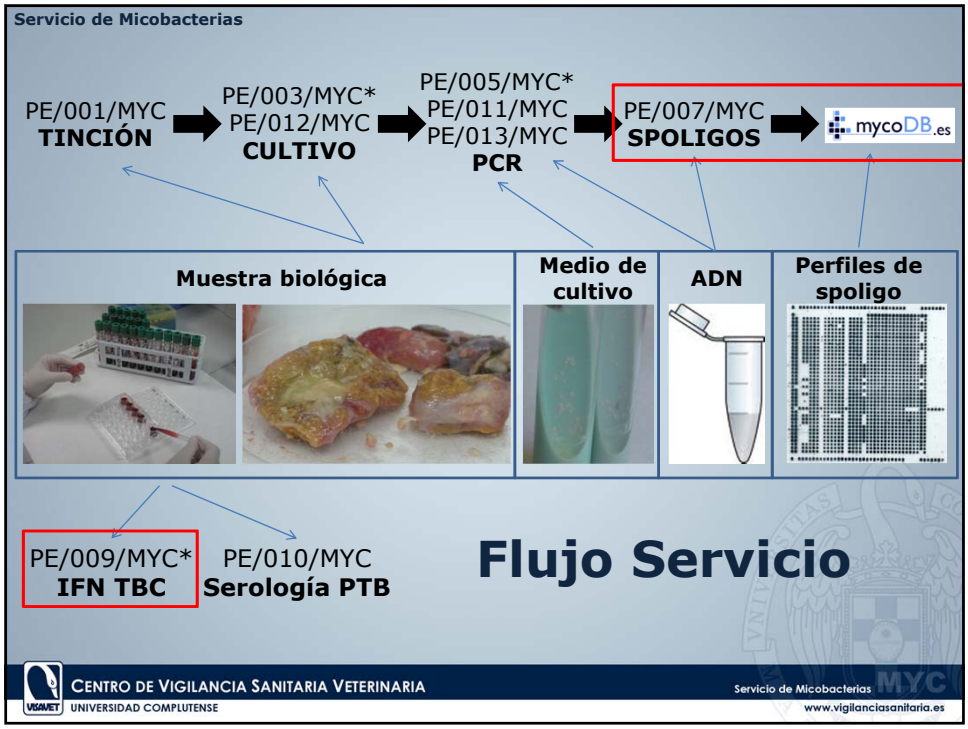
· Caracterización molecular de aislados del género *Mycobacterium*: DVR-spoligotyping, PFGE, VNTR.



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

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es


Servicio de Micobacterias
Acreditación
Acreditación 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 Mycobacterium tuberculosis
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 in vitro por ELISA
Procedimiento interno PE/009/MYC
CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es


Servicio de Micobacterias
PE/001/MYC
TINCIÓN
PE/003/MYC*
PE/012/MYC
CULTIVO
PE/005/MYC*
PE/011/MYC
PE/013/MYC
PCR
PE/007/MYC
SPOLIGOS
mycoDB.es
Muestra biológica
Medio de cultivo
ADN
Perfiles de spoligo
PE/009/MYC*
IFN TBC
PE/010/MYC
Serología PTB
Flujo Servicio
CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

Convenios de colaboración

GOBIERNO DE ESPAÑA
MINISTERIO DE MEDIO AMBIENTE Y MEDIO RURAL Y MARINO
Bovine Tuberculosis

Junta de Castilla y León
Comunidad de Madrid
Castilla-La Mancha

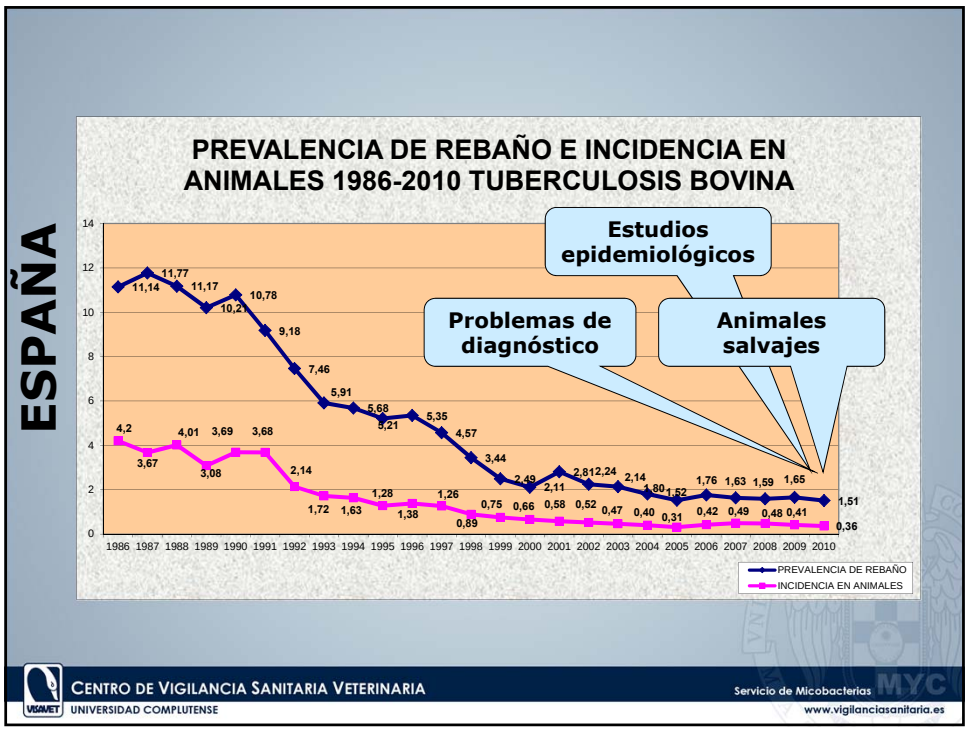
- **Apoyo en el diagnóstico de tuberculosis**
- **Asesoría científica/técnica**
- **Estudios de investigación**

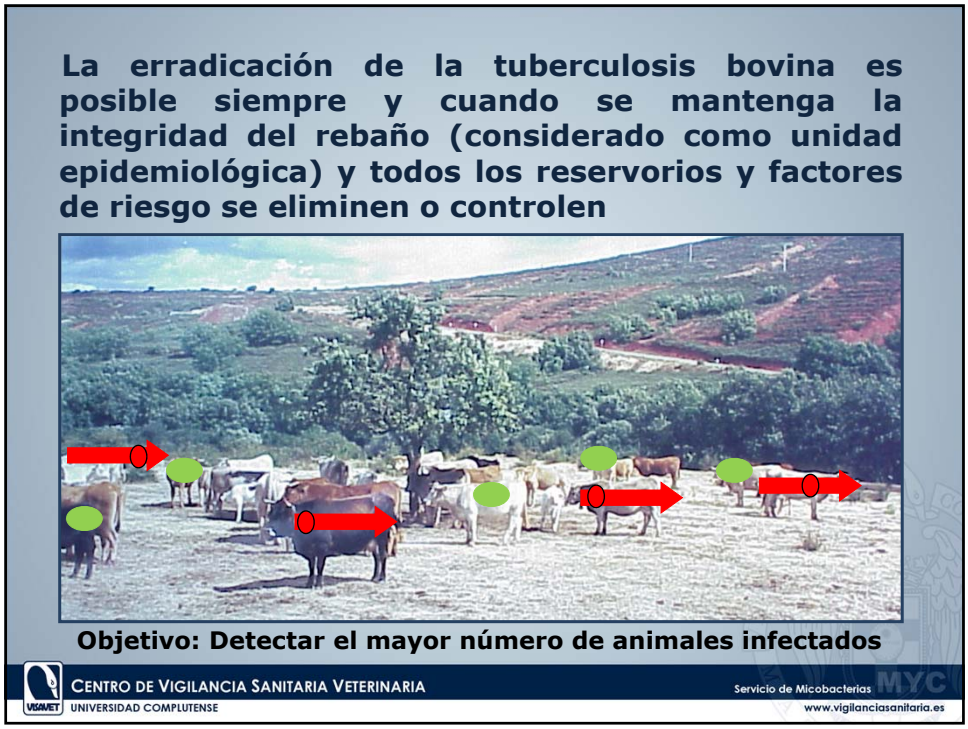
CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

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

- **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).**

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es


ESPAÑA
PREVALENCIA DE REBAÑO E INCIDENCIA EN ANIMALES 1986-2010 TUBERCULOSIS BOVINA
Estudios epidemiológicos
Problemas de diagnóstico
Animales salvajes
PREVALENCIA DE REBAÑO
INCIDENCIA EN ANIMALES
CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

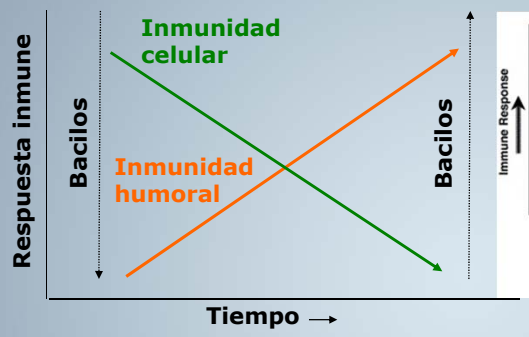

La erradicación de la tuberculosis bovina es posible siempre y cuando se mantenga la integridad del rebaño (considerado como unidad epidemiológica) y todos los reservorios y factores de riesgo se eliminen o controlen
Objetivo: Detectar el mayor número de animales infectados
CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

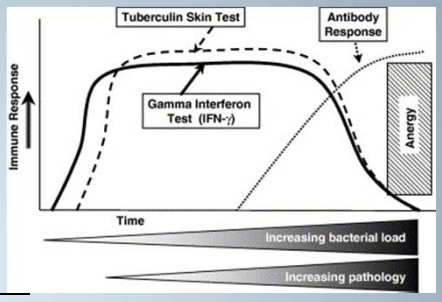
El problema de la erradicación…

- **Existencia de gran variedad de <u>sistemas de explotación</u>.**
- **<u>Epidemiología</u> compleja.**
- **Medidas que deben mantenerse mucho <u>tiempo</u>.**
- **<u>Colaboración</u> necesaria de todas las partes (ganadero, matadero, …)**

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

Diagnóstico inmunológico de la tuberculosis





- **Inmunidad de base celular**
  - **Intradermotuberculinización (IDTB): simple / comparada**
  - **Técnica de gamma-interferon**
- **Inmunidad de base humoral: Detección de anticuerpos**

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

IDTB simple

- ↓ sensibilidad individual
- Interpretación estándar
- Imprescindible para clasificar rebaños

Resultado	Medida (mm)	Signos clínicos
Negativo	≤ 2	NO
Dudoso	>2 y <4	NO
Positivo	≥ 4 y/o	SÍ

En ciertas circunstancias los animales dudosos se consideran positivos

- Especificidad → falsos positivos → exposición a micobacterias no tuberculosas (ej. Complejo *M. avium*). Solución → IDTB comparada

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

IDTB comparada

- Técnica de aplicación (PPDbov/PPDav)
- Lectura
- Interpretación estándar:

Resultado	Interpretación
Negativo	Reacción negativa a la tuberculina bovina o reacción positiva o dudosa a la tuberculina bovina pero igual o inferior a una reacción positiva o dudosa a la tuberculina aviar, con ausencia de signos clínicos.
Dudoso	Reacción a la tuberculina bovina positiva o dudosa y superior en 1 a 4 mm a la reacción a la tuberculina aviar, con ausencia de signos clínicos.
Positivo	Reacción a la tuberculina bovina superior en más de 4 mm a la reacción a la tuberculina aviar o presencia de signos clínicos.

En ciertas circunstancias los animales dudosos se consideran positivos

- Permite discriminar paratuberculosis u otras micobacterias en rebaños sin tuberculosis.
- ↑ especificidad, pero ↓ sensibilidad → uso estratégico en ciertos casos!!

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

Test de detección de gamma-interferon

- Mide la respuesta inmune celular *in-vitro*
- Ventajas: interpretación objetiva de los resultados, reduce los problemas prácticos intrínsecos a las pruebas de intradermotuberculinización…
- Detecta animales en fases más tempranas de la infección
- Buena sensibilidad, pero problemas de especificidad

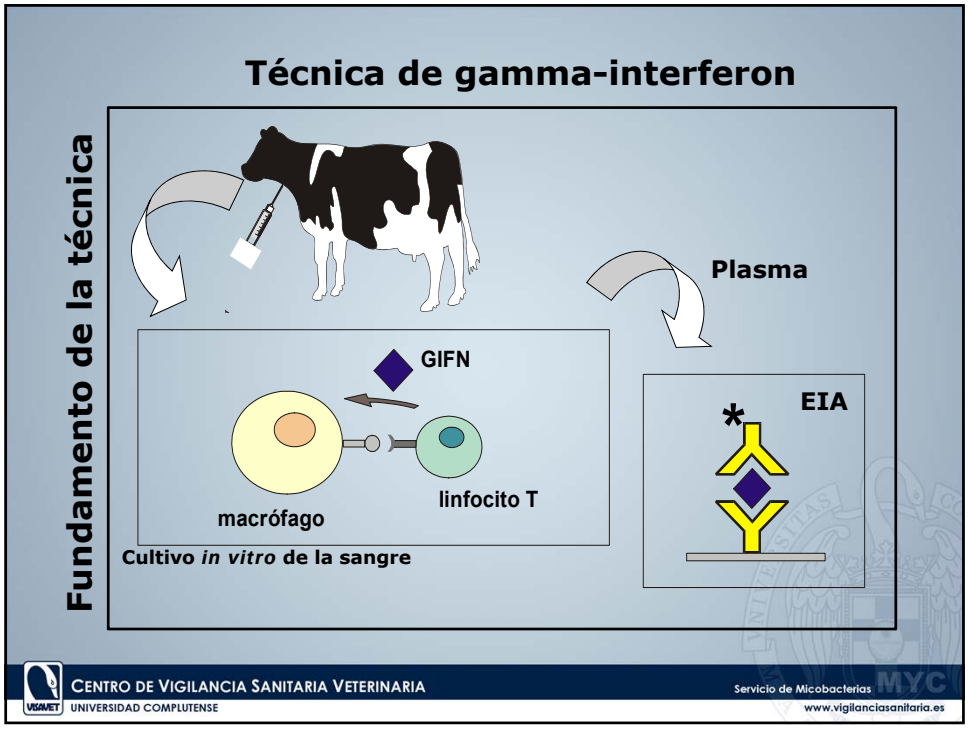
EMPLEO COMO UN TEST COMPLEMENTARIO PARA DETECTAR EL MAYOR NÚMERO DE ANIMALES INFECTADOS EN CIERTAS SITUACIONES EPIDEMIOLÓGICAS

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

Prueba del gamma-interferón (SANCO/10200/2006)

- Prueba complementaria para permitir la detección del máximo número de animales infectados (Directiva 64/432/CEE).
- En paralelo con la IDTB para aumentar sensibilidad.
- Punto de corte autorizado en el expendiente del registro del kit (0,05).
- En rebaños o regiones de alta prevalencia.
- En rebaños positivos confirmados, en la primera repetición junto a la IDTB.
- -- No uso como técnica de screening en áreas de baja prevalencia.
- Los requerimientos logísticos implican dificultades en áreas remotas.

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es


Técnica de gamma-interferon
Fundamento de la técnica
Plasma
GIFN
macrófago
linfocito T
Cultivo *in vitro* de la sangre
EIA
*
CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

Ensayo γ-IFN: dos fases distintas
RECOGIDA Y ESTIMULACIÓN
ELISA
¡¡¡PUNTOS CRÍTICOS!!!
CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

Portal de la Red de Alerta Sanitaria Veterinaria: www.rasve.mapa.es
Centro VISAVET: www.vigilanciasanitaria.es

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

1. IDTB

- **> 60 días IDTB**
- **Animales hipersensibilizados por la IDTB → Falsos positivos**
- **Animales > 6 meses IFN**
- **Tomar las muestras de sangre antes de inocular las tuberculinas**

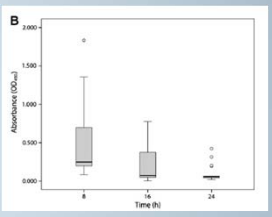
2. Extracción de sangre

- **Material estéril, agujas para extracción de sangre**
- **Tubos con anticoagulante (heparina de litio)**
- **Volumen sangre > 4,5 ml (recomendado 5 ml)**
- **Volumen de los tubos: 10 ml.**
- **Invertir el tubo para homogeneizar la heparina**
- **Personal especializado**

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

3. Transporte al laboratorio

- **Temperatura ambiente (no refrigerada)**



4. Tiempo de estimulación

- **Inferior a 8h tras su recogida**
- **Soporte científico: Se ha demostrado que es un factor que afecta al ensayo de γ-IFN en bovino**
- **Retraso de 24 horas: disminución de los valores de DO**

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

5. Dispensar la sangre

- **Invertir el tubo para homogeneizar la sangre**
- **Para una muestra dispensar en tres pocillos consecutivos:1,5 ml**

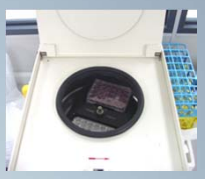
6. Estimulación sangre con PPDs

- **PPDs de campaña de erradicación**
- **Concentración óptima: 20 μg PPD/ml sangre**
- **Concentración trabajo PPDs = 300 μg/ml**
- **Volumen: 100 μl PPD/1,5 ml sangre**

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

7. Incubación

- Temperatura: 37ºC.
- Tiempo: 18-24h.



8. Recogida plasma tras centrifugación

- 500-800 g / 10-15 minutos

9. Realización del ELISA

10. Interpretación de los resultados

- γ-IFN bovino POSITIVO:
  - DO PPDbov – DO PBS ≥ 0,05
  - DO PPDbov > PPDav
- γ-IFN bovino NEGATIVO
  - Cualquier otra posibilidad

Ejemplos

DO PBS	DO PPDav	DO PPDbov	IFNav	IFNbov	RESULTADO IFN bovino
0,0086	0,0132	0,1717	0,0046	0,1631	POSITIVO
0,0089	0,0325	0,0681	0,0236	0,0692	POSITIVO
0,0072	0,0067	0,0077	-0,0005	0,0005	NEGATIVO
0,0072	0,0779	0,0763	0,0707	0,0691	NEGATIVO
0,0077	0,2071	0,0086	0,1994	0,0009	NEGATIVO-REACTOR AVIAR
0,0101	0,2539	0,1606	0,2438	0,1505	NEGATIVO-REACTOR AVIAR

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

Causas potenciales de fallos diagnósticos

- **Tipo de explotación** (manejo: carne-extensivo *vs*. leche-intensivo)

- **Transmisión interespecífica:**

  - **Pastoreo mixto (ovejas, cabras)**
  - **Reservorios de vida salvaje**

- **Factores relacionados con los tests diagnósticos disponibles:**
  - **Falta de sensibilidad: no se detectan animales infectados**
  - **Falta de especificidad: resultados positivos de animales libres**

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

- **La existencia de Falsos Positivos/Negativos puede ser debida a factores relacionados con:**

1. Reactivos (tuberculinas)

NRL

EU-RL Bovine Tuberculosis
European Union Reference Laboratory

2. Realización de la prueba

Formación personal

Evitables

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

➢ **La existencia de Falsos Positivos/Negativos puede ser debida a factores relacionados con:**

MINISTERIO
DE MEDIO AMBIENTE
Y MEDIO RURAL Y MARINO

2010.es

CONCLUSIONES JORNADAS DE DEBATE DE LA ERRADICACIÓN DE LA TUBERCULOSIS BOVINA

1. Necesidad de **formación de los profesionales** que intervienen en la ejecución del programa de tuberculosis. Los equipos de campo son los responsables del diagnóstico, y deben ser conscientes de la importancia de su actuación. La formación debe ser reglada y completa en varios aspectos teóricos, prácticos, base legal etc. Las administraciones públicas (entre ellas la Universidad) deben jugar un papel importante en la formación de los equipos responsables del diagnóstico fundamentalmente en la etapa de postgrado.

2. La correcta realización e interpretación de la prueba de tuberculina es crítica, debiendo ser complementada con los datos clínicos y epidemiológicos de forma que vaya más allá de la simple lectura de la tuberculina. Es necesario realizar una **validación** de la homogeneidad de la prueba de campo.

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

➢ **La existencia de Falsos Positivos/Negativos puede ser debida a factores relacionados con:**

1. **Reactivos (tuberculinas)**

NRL

EU-RL Bovine Tuberculosis
European Union Reference Laboratory

2. **Realización de la prueba**

Formación personal

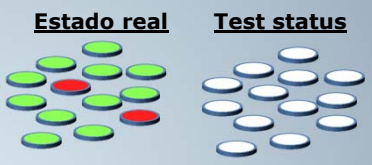
Evitables

3. **El estado inmunitario del animal analizado**

Difícil

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

Animales falsos negativos

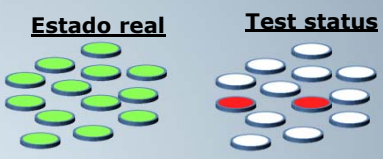


- **Mantienen la infección en el rebaño**
- **Ralentizan la erradicación → implicaciones económicas**
- **Varias posibles causas → las más comunes y conocidas:**
  - **Demasiado pronto (pre-alérgico) / demasiado tarde (anérgico)**
  - **Infección con (Mico)bacterias ambientales**

A VECES MUY DIFÍCILES DE CARACTERIZAR!!!

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

Animales falsos positivos



- **Sacrificio innecesario de animales**
- **Origen complejo (reacciones de hipersensibilidad inespecíficas)**
  - **Vacunación *vs. Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis***
  - **Infección con (Mico)bacterias ambientales**
- **Pérdidas económicas**
- **Disminuye la confianza y el compromiso de los ganaderos**

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

En tuberculosis….

- **Prueba de referencia: <u>cultivo bacteriológico</u>**
- **Ventajas del cultivo: E=100%; S≈100% en casos avanzados**

- **Inconvenientes:**

S: en campañas NO hay (apenas) casos avanzados → sensibilidad limitada (y variable en función del curso de la enfermedad)

E: necesario medirlo en ausencia de enfermedad (por la limitada S) → situaciones epidemiológicas distintas

Por ello…

- **Resultados muy variables de los estudios de campo (de la Rua-Domenech, 2006)**

  - **IDTB:**
    - **Sensibilidad=63,2-100% (83,9%)**
    - **Especificidad=75,5-99% (96,8%)**
  - **IFN-γ:**
    - **Sensibilidad=73-100% (87,6%)**
    - **Especificidad=85-99,6% (96,6%)**

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

Abordaje tradicional *vs.* bayesiano

- **Tradicional: no incorporamos experiencia**
- **Bayesiano: distribución a posteriori de un parámetro es consecuencia de una distribución a priori más el efecto de los datos observados…**
- **Es decir: además de tener en cuenta los datos, introducimos nuestra experiencia sobre el tema (más información)**

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

Junta de Castilla y León

Evaluación de las pruebas diagnósticas de tuberculosis bovina mediante análisis bayesiano (IDTB y IFN-γ)

MATERIAL Y MÉTODOS:

6062 bovinos de 42 rebaños una vez detectada la infección en la explotación.

RESULTADOS:

IDTB: S muy variable (40-92%)
E muy elevada (>99%)
⇒ Limitada sensibilidad a la hora de detectar animales recientemente infectados tras repetirse la prueba en un mismo rebaño 3-6 meses después del anterior test.

IFN-γ: S mayor (>80% dependiendo del punto de corte aplicado)
E aceptable (>80%)
⇒ Confirma su utilidad como prueba complementaria

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

Ejemplos prácticos de interpretación

España: diagnóstico en cuatro posibles situaciones

- TBC PTB •Rebaño con infección mixta tuberculosis-paratuberculosis
- PTB •Rebaño libre de tuberculosis /infectado con paratuberculosis
- TBC •Rebaño con tuberculosis libre de paratuberculosis
- •Rebaño libre de ambas enfermedades

Ejemplos
1. Falsos negativos
2. Falsos positivos
3. Situación epidemiológica complicada
4. Latencia

1. FALSOS NEGATIVOS

Diagnóstico en un rebaño caprino con una infección mixta de tuberculosis y paratuberculosis

Resultados de cultivo (n=163)

Resultados de cultivo	*Map* +	*Map* -	Total
Tuberculosis+	24	107	131
Tuberculosis -	6	26	32
Total	30	133	163

1. FALSOS NEGATIVOS

IDTB simple *vs.* IDTB comparada
Animales con tuberculosis (n=131)

	IDTB COMP+	IDTB COMP -	Total
IDTB SIMPLE+	56	37	93 (S=71%)
IDTB SIMPLE-	0	38	38
Total	56 (S=42.7%)	75	N=131

- **Animales TBC+/PTB- (n=61)**

	IDTB COMP+	IDTB COMP -	Total
IDTB SIMPLE+	29	19	48 (S=78.7%)
IDTB SIMPLE-	0	13	13
Total	29 (S=47.5%)	34	N=61

- **Animales TBC+/PTB+ (n=24)**

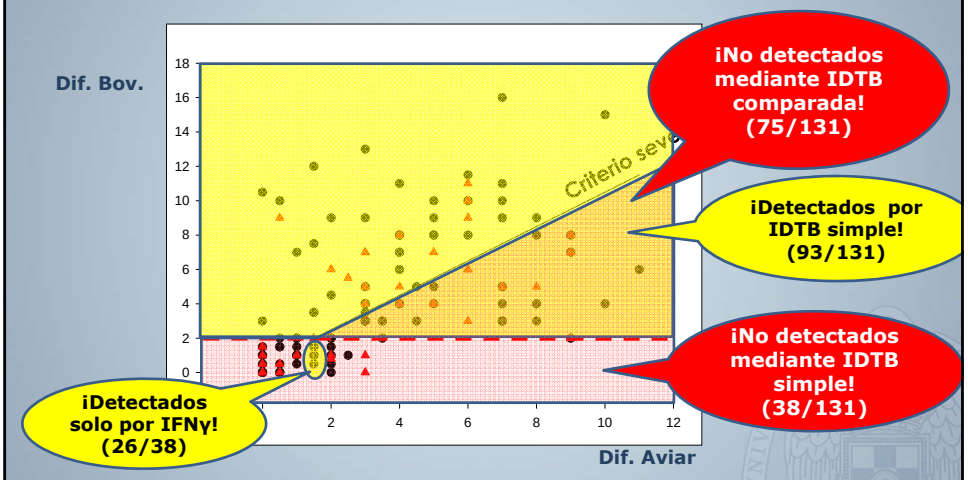
	IDTB COMP+	IDTB COMP -	Total
IDTB SIMPLE+	7	6	13 (S=54.2%)
IDTB SIMPLE-	0	11	11
Total	7 (S=29.2%)	17	N=24

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

1. FALSOS NEGATIVOS

IDTB simple *vs.* IDTB comparada
Animales con tuberculosis (n=131)

● IFN+
▲ IFN-



CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

1. FALSOS NEGATIVOS

Sensibilidad de las pruebas diagnósticas según resultados de cultivo

Table 5. Sensitivities with confidence intervals (95%) of the tests in the groups formed based on culture results

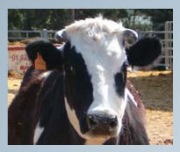
Diagnostic test	Tbc+ [a] (n=131)	Tbc+/Ptb+ [b] (n=24)
Severe SIT	71 (62.4-78.6)	54.2 (33-74)
Severe SICCT	42.7 (34.1-51.7)	29.2 (13-51)
Standard IFN-γ detection test (0.1)	58 (49.1-66.6)	58.3 (37-78)
Severe IFN-γ detection test (0.05)	71 (62.4-78.6)	66.7 (45-84)
Severe SIT + Standard IFN-γ	87.8 (80.9-92.9)	75 (53-90)
Severe SIT + Severe IFN-γ	90.8 (84.5-95.2)	79.2 (58-93)
Severe SICCT + Standard IFN-γ	75.6 (67.3-82.7)	70.8 (49-87)
Severe SICCT + Severe IFN-γ	82.4 (76.5-89.8)	75 (53-90)

[a] Animals with *M. caprae* positive cultures, regardless *Map* culture results.

[b] Animals with positive cultures of both *M. caprae* and *Map*.

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

2. FALSOS POSITIVOS



Diagnóstico en un rebaño bovino libre de tuberculosis e infectado de paratuberculosis

- **Explotación de leche, en UVL de baja prevalencia**
- **<u>Primer saneamiento</u>: 627 animales analizados**
- **IFN-γ: 66+ (121+ sin PPD aviar)**
- **Cultivo: 21 animales sacrificados** { **C.tbc: Neg!** / **C.ptb: 1+**
- **IDTB:**

Interpretación	IDTB	Positivo	Dudoso	Negativo
Standard	Simple	4	17	606
	Comparada	1	16	610
Estricta	Simple	21		606
	Comparada	17		610

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

2. FALSOS POSITIVOS

Segundo saneamiento: 550 animales analizados

- **IFN-γ: 48+ (133+ sin PPD aviar)**
- **Cultivo: 10 animales sacrificados → todos negativos**
- **IDTB:**

Interpretación	IDTB	Positivo	Dudoso	Negativo
Standard	Simple	0	1	549
	Comparada	0	1	549
Estricta	Simple	1		549
	Comparada	1		549

Tercer saneamiento: 769 animales analizados

- **IFN-γ: 25+ (90+ sin PPD aviar)**
- **IDTB:**

Interpretación	IDTB	Positivo	Dudoso	Negativo
Standard	Simple	2	1	766
	Comparada	0	2	767
Estricta	Simple	3		766
	Comparada	2		767

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

3. SITUACIÓN EPIDEMIOLÓGICA COMPLICADA/ ANIMALES ANÉRGICOS

Diagnóstico en un rebaño bovino con una infección mixta de tuberculosis y paratuberculosis

- **Más de 600 animales**
- **Infección por *M. bovis* y *Map* confirmada por cultivo**
- **Situación epidemiológica compleja:**
  - ***M. bovis*: 6 spoligotipos diferentes**
  - ***Map*: cepas de tipo II y III**
- **Más de 200 animales sacrificados dependiendo de resultados de diagnóstico (SICCT, IFN-γ, serología paratuberculosis) en los últimos saneamientos**

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

3. SITUACIÓN EPIDEMIOLÓGICA COMPLICADA / ANIMALES ANÉRGICOS

Resultados de cultivo (n=218)

Resultados de cultivo	*Map* +	*Map* -	Total
Tuberculosis+	18	30	48
Tuberculosis -	94	76	170
Total	112	106	218

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

3. SITUACIÓN EPIDEMIOLÓGICA COMPLICADA / ANIMALES ANÉRGICOS

Sensibilidad de la pruebas diagnósticas

Table 2. Sensitivity of the diagnostic tests performed in the herd (n=218)

Diagnostic test	Positive reactors	True positives	S
SICCT test (severe interpretation)	17	9	18.7
Standard IFN-γ detection test (cut-off point=0.1)	72	32	66.7
Standard IFN-γ detection test (no avian PPD)	86	35	72.9
Severe IFN-γ detection test (cut-off point=0.05)	93	37	77.1
Severe IFN-γ detection test (no avian PPD)	118	41	85.4
Severe SICCT + Standard IFN-γ	80	35	72.9
Severe SICCT + Severe IFN-γ	99	39	81.2

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

4. LATENCIA

Diagnóstico en un rebaño bovino infectado con tuberculosis y paratuberculosis

Resultados	J	J	A	S	O	N	D	E	F	M-A	M	J-A	S	O	N	E	F	M	A	M-A	S	E-F	M	A	M	J-O	N	E	F
Día	6		6		15		17		18		5-8		29		24		9		14		14		10		4		1		28
Nº animales	1439		989		933		917		920		901		–		968		974		1295		1222		940		974		1154		1100
IDTBS / IDTBC	13	Nd	38	ND	15	ND	4	ND	7	ND	0	ND	0	ND	7	ND	5	ND	0	ND	0	ND	1	ND	0	ND	0	ND	0	ND
IFNbov	Nd		157		81		43		68		41		ND		18		37		ND		ND		ND		ND		ND		ND
IFNov	Nd		160		344		195		353		265		ND		168		432		ND		ND		ND		ND		ND		ND
Pchek	Nd		15		2		7		8		12		14		13		23		ND		ND		ND		ND		ND		ND
Cultivo TBC	3/13		19 (17 IDTB+)/55		7 (5 IDTB+)/59		1 (1 IDTB+)/26		2 (2 IDTB+)/29		1/7		ND		2/7		0/9		ND		ND		1/1		ND		ND		ND
Cultivo PTB	NO		7/14		1/20		NO		NO		NO		NO		NO		NO		NO		ND								
Perfil spoligo/ptb	SPB-016		SPB-016 Tipo II		SPB-016 Tipo II		SPB-016		SPB-016		SPB-016				SPB-016								SPB-016						

- Animales infectados que no responden a pruebas diagnósticas

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

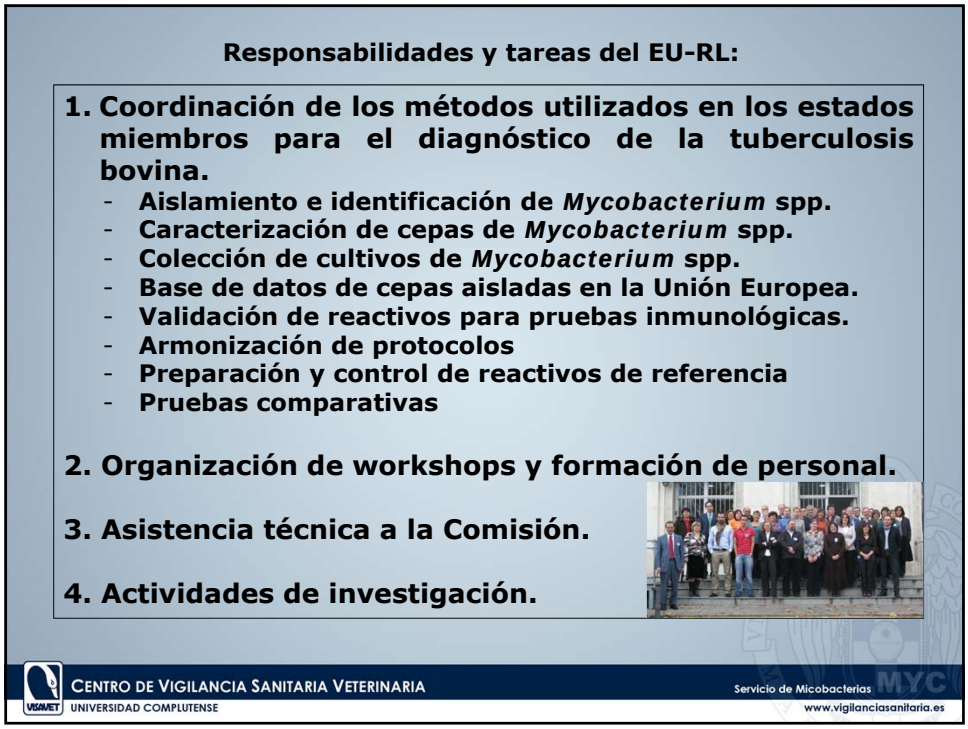
En resumen…

- Valorar la presencia/ausencia de tuberculosis y <u>paratuberculosis</u>
- En zonas de tuberculosis (y paratuberculosis) el empleo de pruebas comparadas (SICCT) DISMINUYE LA SENSIBILIDAD DIAGNÓSTICA
  - → Progreso lento de erradicación de la tuberculosis.
  - → Calificación de rebaños infectados – fuente de infección.
  - → Existencia de animales coinfectados anérgicos (positivos a serología de paratuberculosis)
- En zonas libres de tuberculosis el uso de pruebas comparadas permite la diferenciación de falsos reactores → disminuye el sacrificio innecesario de animales

Abordar cada problema de forma individual NO HAY FÓRMULAS MÁGICAS

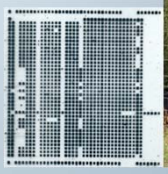
CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

EU-RL
EUROPEAN UNION REFERENCE LABORATORY
FOR BOVINE TUBERCULOSIS
COMMISSION REGULATION (EC) No 737/2008
1. Maximizar las interacciones entre los Estados Miembros mediante colaboraciones activas
2. Armonizar los protocolos entre los países de la Unión Europea
3. Contribuir a los objetivos científicos, técnicos y relacionados con la regulación que sean propuestos por la Comisión.
CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es


Responsabilidades y tareas del EU-RL:
1. Coordinación de los métodos utilizados en los estados miembros para el diagnóstico de la tuberculosis bovina.
- Aislamiento e identificación de Mycobacterium spp.
- Caracterización de cepas de Mycobacterium spp.
- Colección de cultivos de Mycobacterium spp.
- Base de datos de cepas aisladas en la Unión Europea.
- Validación de reactivos para pruebas inmunológicas.
- Armonización de protocolos
- Preparación y control de reactivos de referencia
- Pruebas comparativas
2. Organización de workshops y formación de personal.
3. Asistencia técnica a la Comisión.
4. Actividades de investigación.
CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

Programa de trabajo EU-RL 2011
Principales actividades

1. Validación de las tuberculinas
2. Diagnóstico de tuberculosis en camélidos.
3. Determinar la eficacia de la pruebas diagnósticas en ganado bovino infectado con *M. caprae*.
4. Membrana de spoligos a NRL.
5. Manual de revisión de los protocolos.
6. Interlaboratorios.
7. Misiones.
8. Grupo de trabajo.



CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

Subgrupo de la Task Force

- Comisión Europea, Suecia, Irlanda, Reino Unido, Italia, Portugal, EU-RL for Btb.

- Asesoría técnica

Ministerio
Veterinarios
Matadero
Laboratorio
Ganadero

→

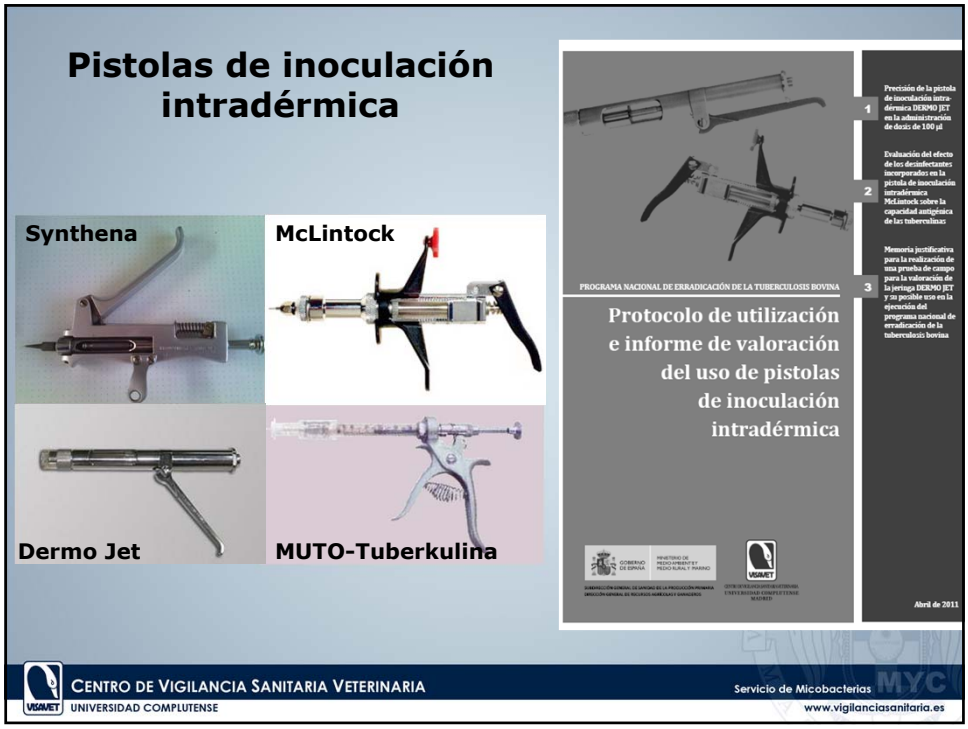
Programa de erradicación
Estrategia largo plazo
Fases finales

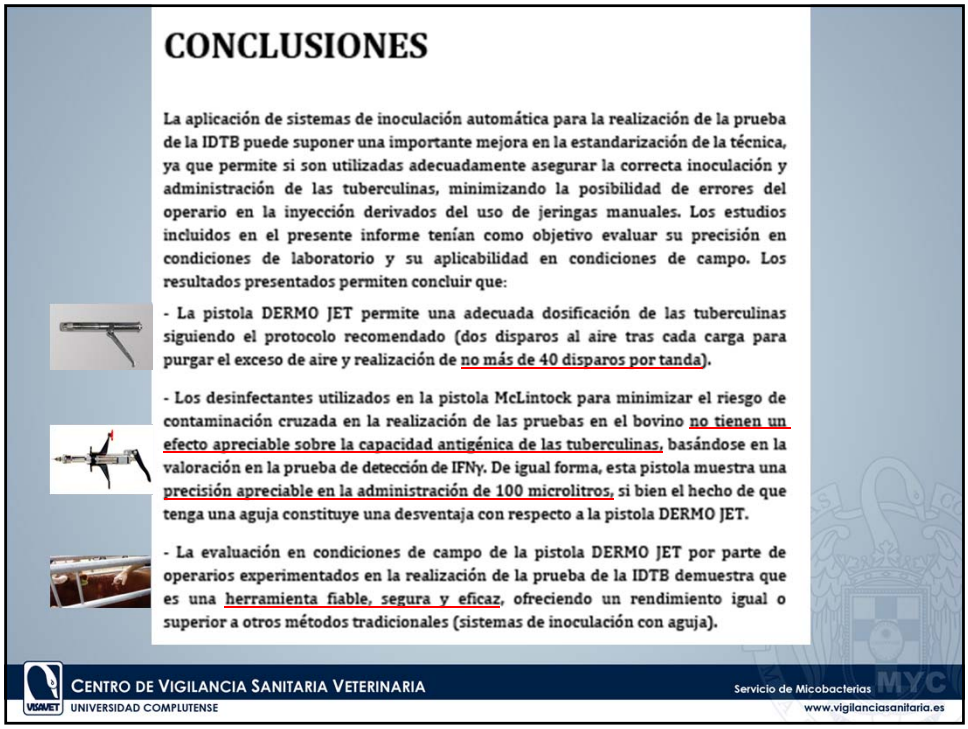
- Desarrollo del programa
- Identificación de los animales (bases de datos)
- Compensaciones
- Problemas específicos
- Estudios especiales (lidia, búfalo, fauna salvaje)

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

En Europa…
- Distinta prevalencia.
- Análisis de los datos.
- Animales positivos: reactores IDTB vs. cultivo y/o lesión.
- Diferente epidemiología: gran variedad de sistemas de explotación (pastos comunes, tipo explotación, …) y epidemiología compleja (fauna).
- Diferentes programas: si/no, edad animales, interpretación prueba, puntos de corte, frecuencia, etc.
- Regionalización.
CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

Comparación de la sensibilidad (ensayos de potencia) de diferentes tuberculinas europeas en vacuno
CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es





CONCLUSIONES

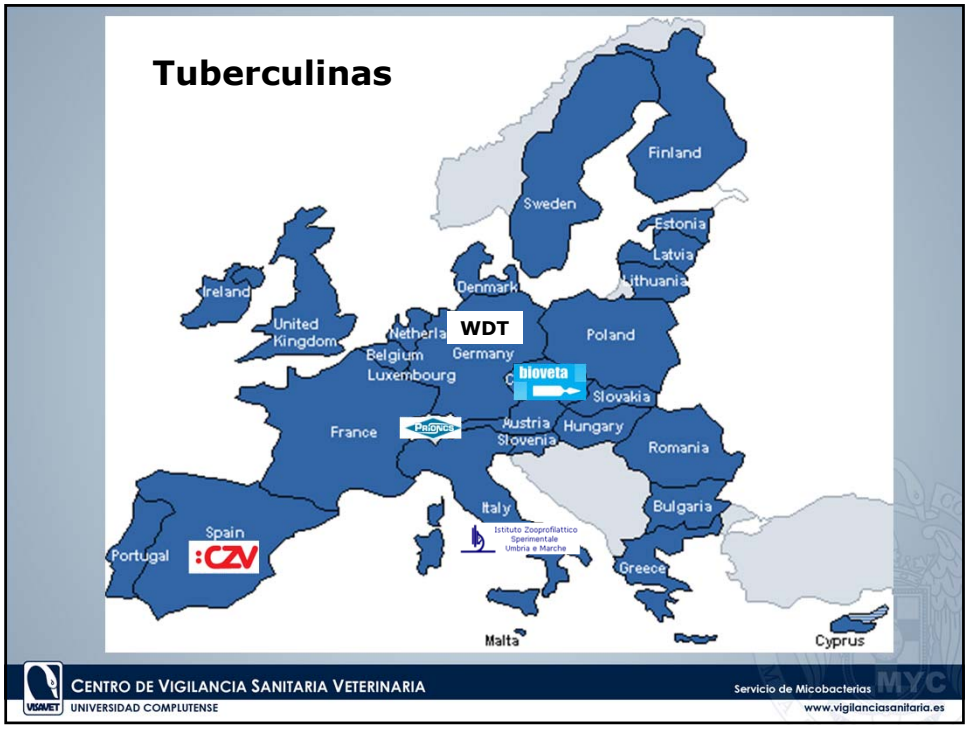
La aplicación de sistemas de inoculación automática para la realización de la prueba de la IDTB puede suponer una importante mejora en la estandarización de la técnica, ya que permite si son utilizadas adecuadamente asegurar la correcta inoculación y administración de las tuberculinas, minimizando la posibilidad de errores del operario en la inyección derivados del uso de jeringas manuales. Los estudios incluidos en el presente informe tenían como objetivo evaluar su precisión en condiciones de laboratorio y su aplicabilidad en condiciones de campo. Los resultados presentados permiten concluir que:

- La pistola DERMO JET permite una adecuada dosificación de las tuberculinas siguiendo el protocolo recomendado (dos disparos al aire tras cada carga para purgar el exceso de aire y realización de no más de 40 disparos por tanda).

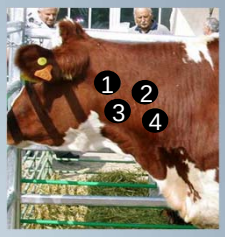
- Los desinfectantes utilizados en la pistola McLintock para minimizar el riesgo de contaminación cruzada en la realización de las pruebas en el bovino no tienen un efecto apreciable sobre la capacidad antigénica de las tuberculinas, basándose en la valoración en la prueba de detección de IFNγ. De igual forma, esta pistola muestra una precisión apreciable en la administración de 100 microlitros, si bien el hecho de que tenga una aguja constituye una desventaja con respecto a la pistola DERMO JET.

- La evaluación en condiciones de campo de la pistola DERMO JET por parte de operarios experimentados en la realización de la prueba de la IDTB demuestra que es una herramienta fiable, segura y eficaz, ofreciendo un rendimiento igual o superior a otros métodos tradicionales (sistemas de inoculación con aguja).

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es



Material y métodos:



Animales:

- Animales infectados naturalmente.
- 8 animales por cada tuberculina a analizar.
- ≥ 60 días desde anterior IDTB.
- Ideal: animales mansos, de fácil manejo.

Tuberculinas:

- International Standard (IS): 32.500 U.I.
- Tuberculinas a analizar: se compararán frente al IS (1mg/ml, 0,2 mg/ml).

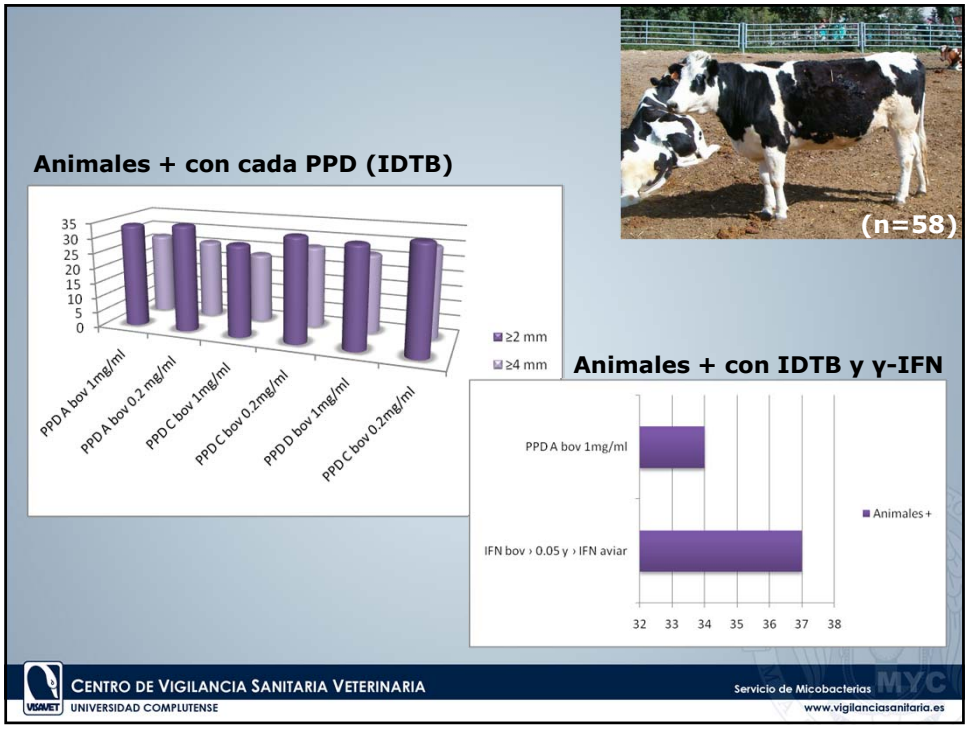
Metodología:

- Rasurar 4 zonas a cada lado del cuello, separadas entre sí 10-12 cm, en cada animal.
- Medir espesor de piel con cutímetro de cada zona.

Inyectar las tuberculinas: rotando las posiciones entre animales.

- Lectura a las 72 horas.

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

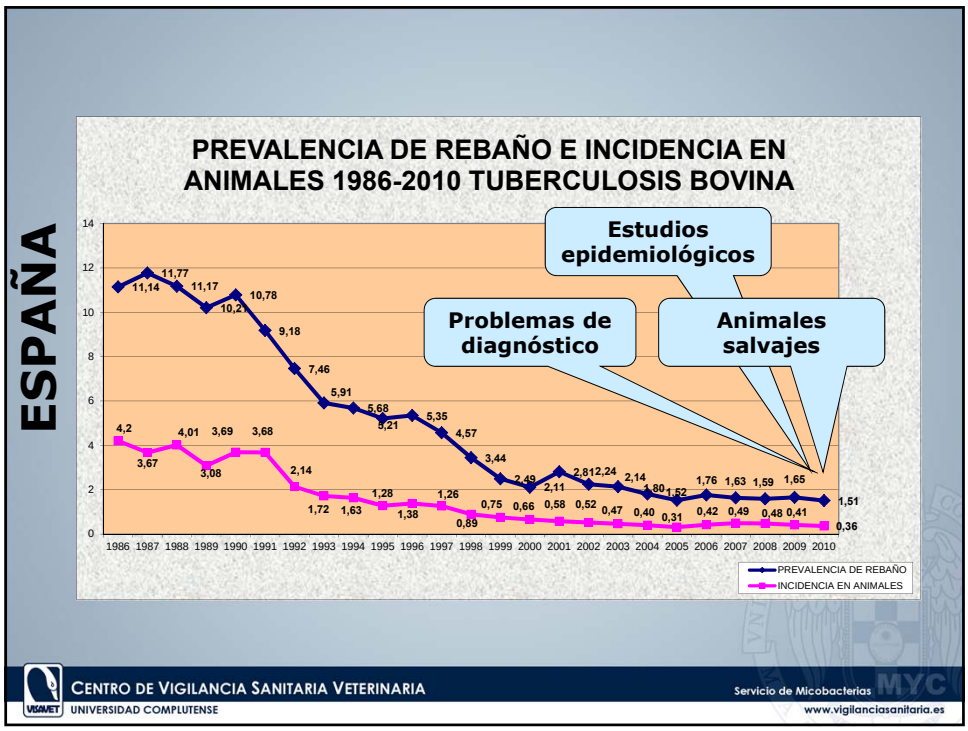


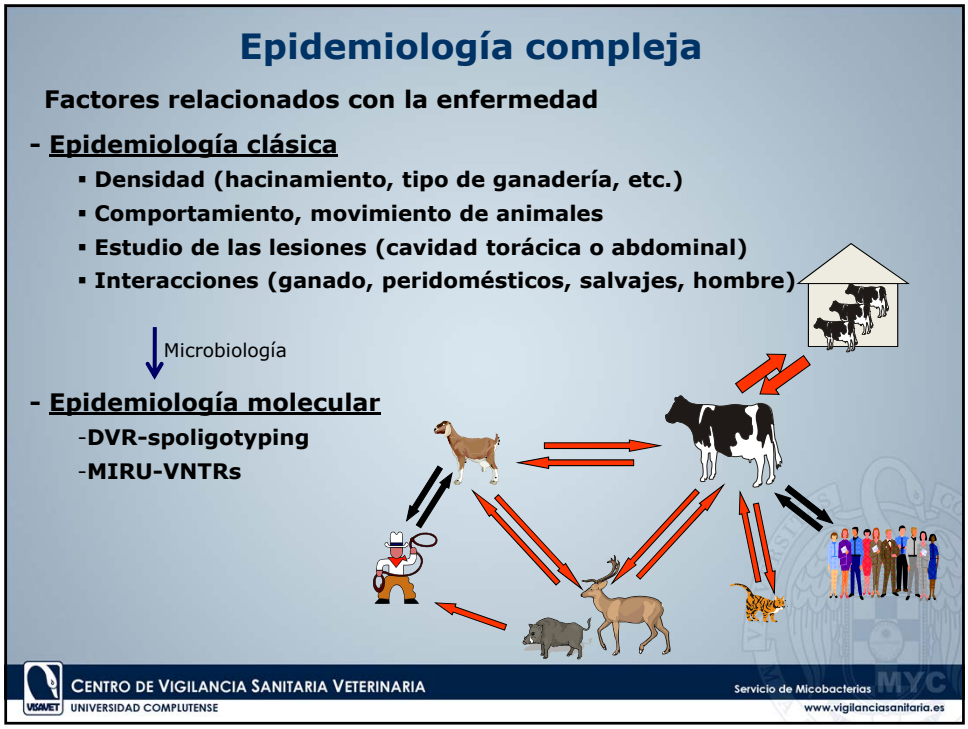
International Standard (IS): 32.500 U.I.

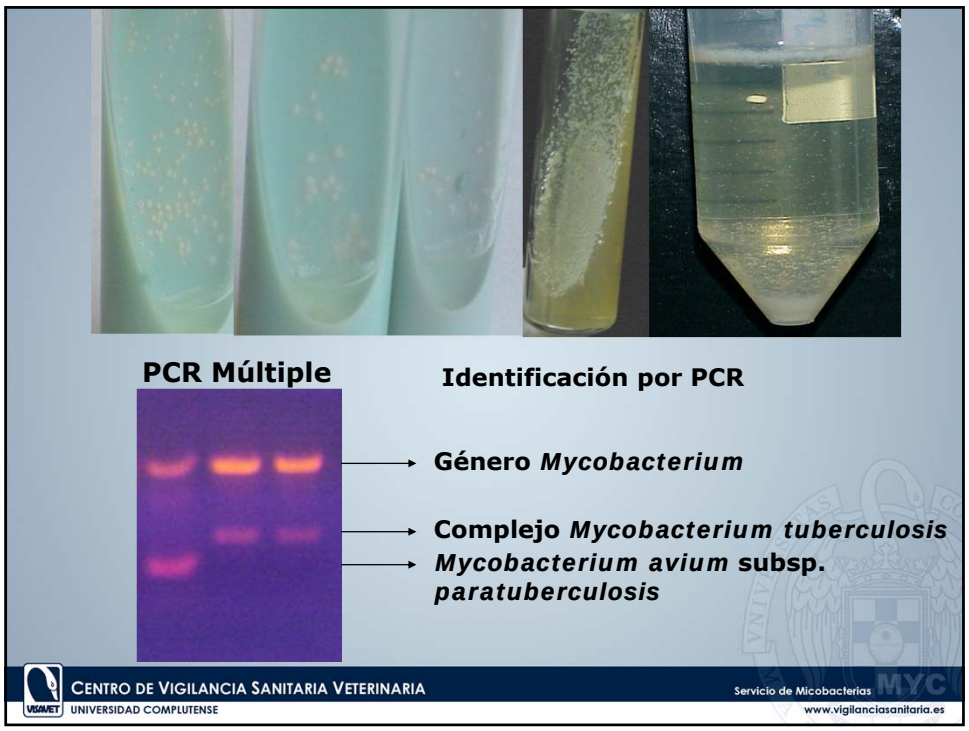
Según la OIE la potencia estimada de la tuberculina bovina debería estar comprendida entre el 66% y el 150% de la potencia del IS.

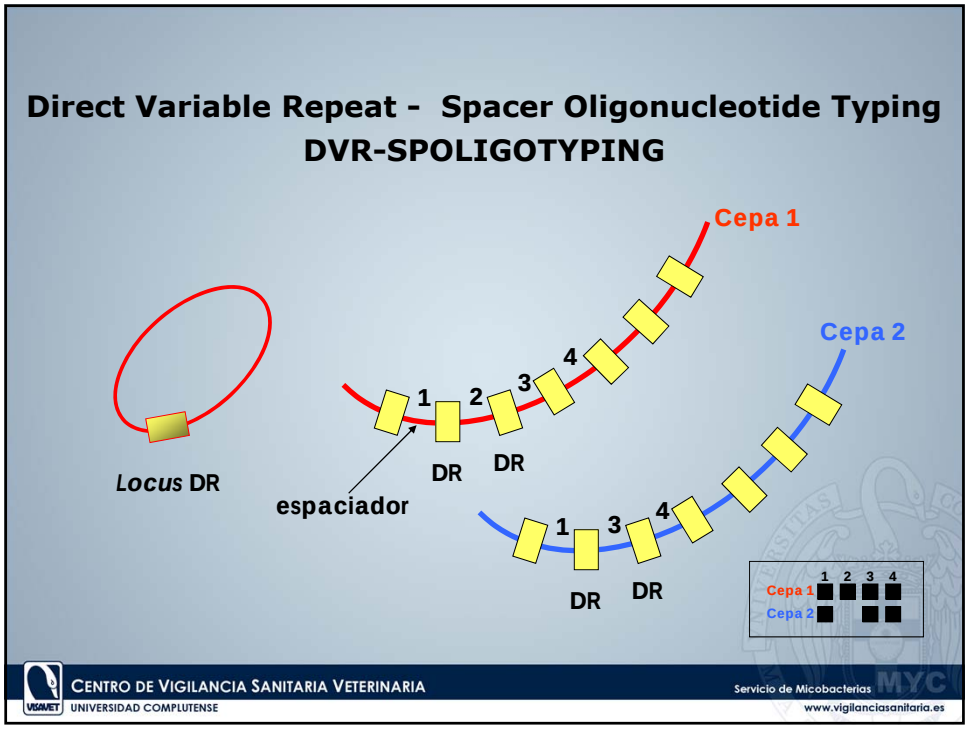
- **4/5 PPD empleadas aptas.**
- **Mayor nº de animales detectados a concentración 1mg/ml.**
- **Mayor nº de animales positivos detectados por γ-IFN.**
- **Situación idónea realización de ambas pruebas en paralelo.**

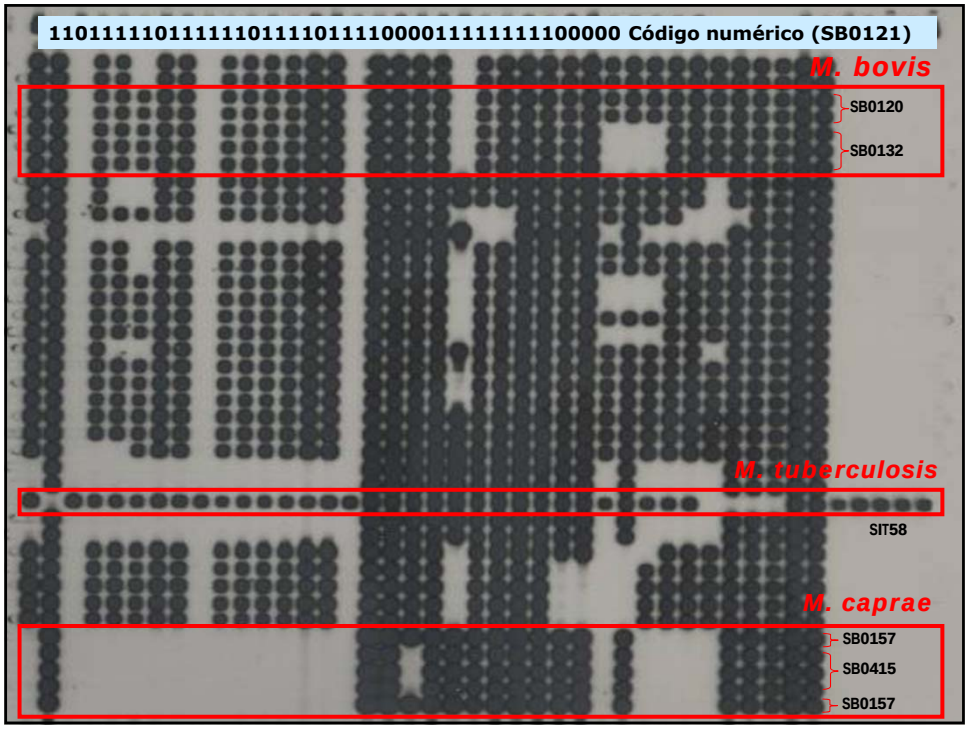
CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es


ESPAÑA
PREVALENCIA DE REBAÑO E INCIDENCIA EN ANIMALES 1986-2010 TUBERCULOSIS BOVINA
Estudios epidemiológicos
Problemas de diagnóstico
Animales salvajes
PREVALENCIA DE REBAÑO
INCIDENCIA EN ANIMALES
CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es


Epidemiología compleja
Factores relacionados con la enfermedad
- Epidemiología clásica
▪ Densidad (hacinamiento, tipo de ganadería, etc.)
▪ Comportamiento, movimiento de animales
▪ Estudio de las lesiones (cavidad torácica o abdominal)
▪ Interacciones (ganado, peridomésticos, salvajes, hombre)
Microbiología
- Epidemiología molecular
-DVR-spoligotyping
-MIRU-VNTRs
CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es


PCR Múltiple
Identificación por PCR
Género *Mycobacterium*
Complejo *Mycobacterium tuberculosis*
Mycobacterium avium subsp. *paratuberculosis*
CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es


Direct Variable Repeat - Spacer Oligonucleotide Typing
DVR-SPOLIGOTYPING
Cepa 1
Cepa 2
Locus DR
espaciador
DR
1
2
3
4
Cepa 1
Cepa 2
CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es



Epidemiología y su aplicación al diagnóstico de campo de la tuberculosis bovina y caprina. Importancia del uso de pruebas complementarias

Objetivos:

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

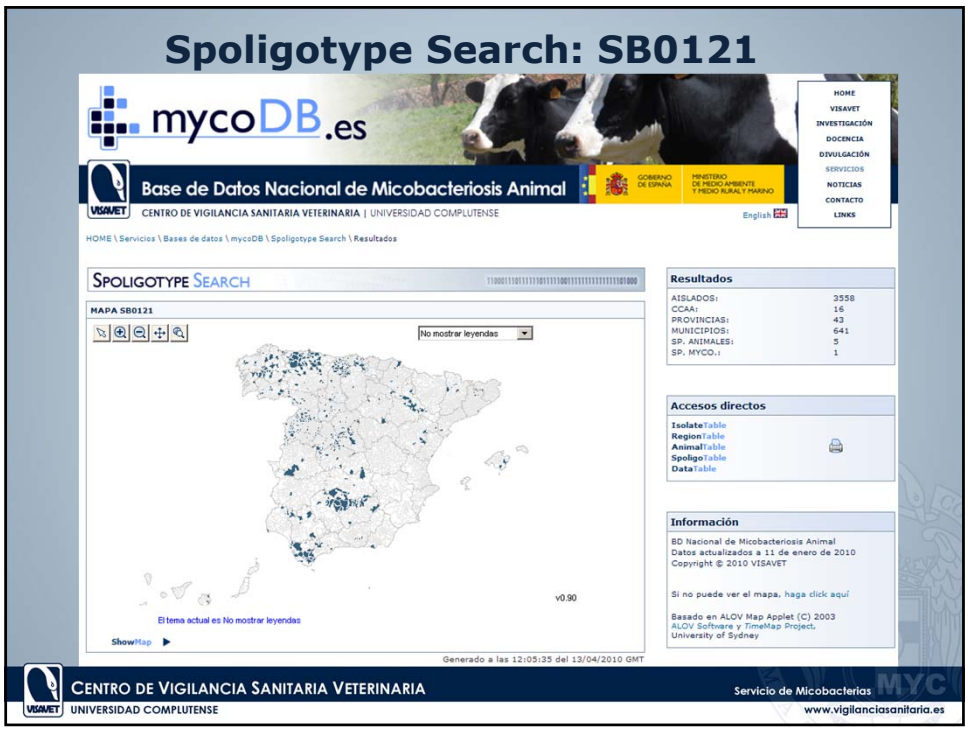
Datos epidemiológicos:

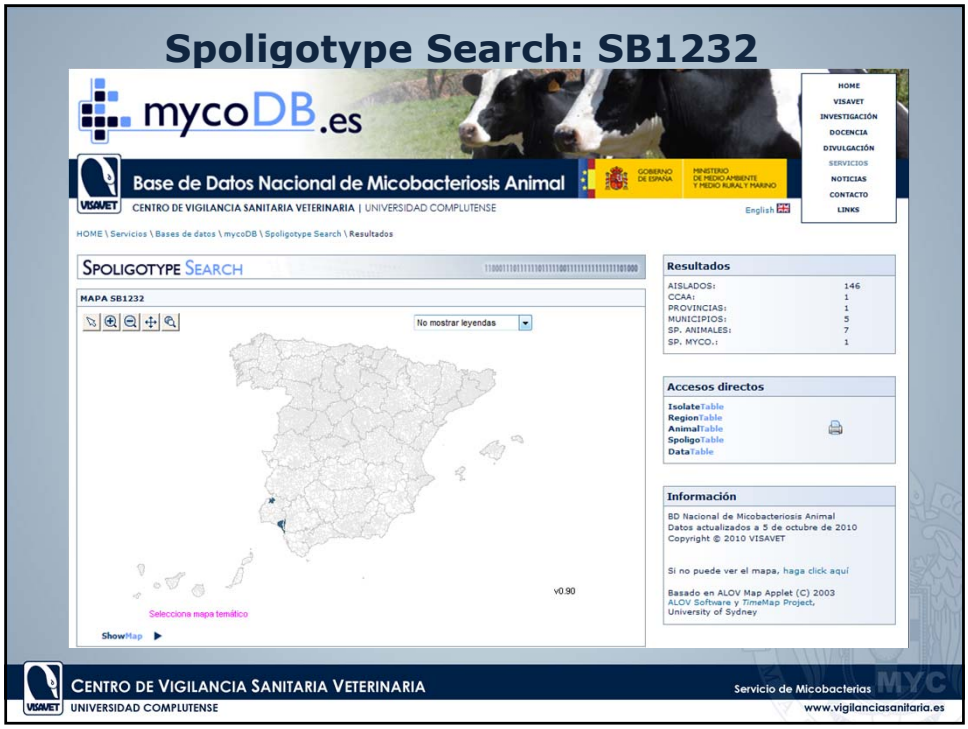
1. **Perfil espoligotipo www.Mbovis.org**
2. **Fecha de recepción de la muestra**
3. **Comunidad Autónoma y su código oficial**
4. **Provincia y municipio y su código oficial**
5. **Especie animal**
6. **Identificación (*Mycobacterium* sp.)**

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

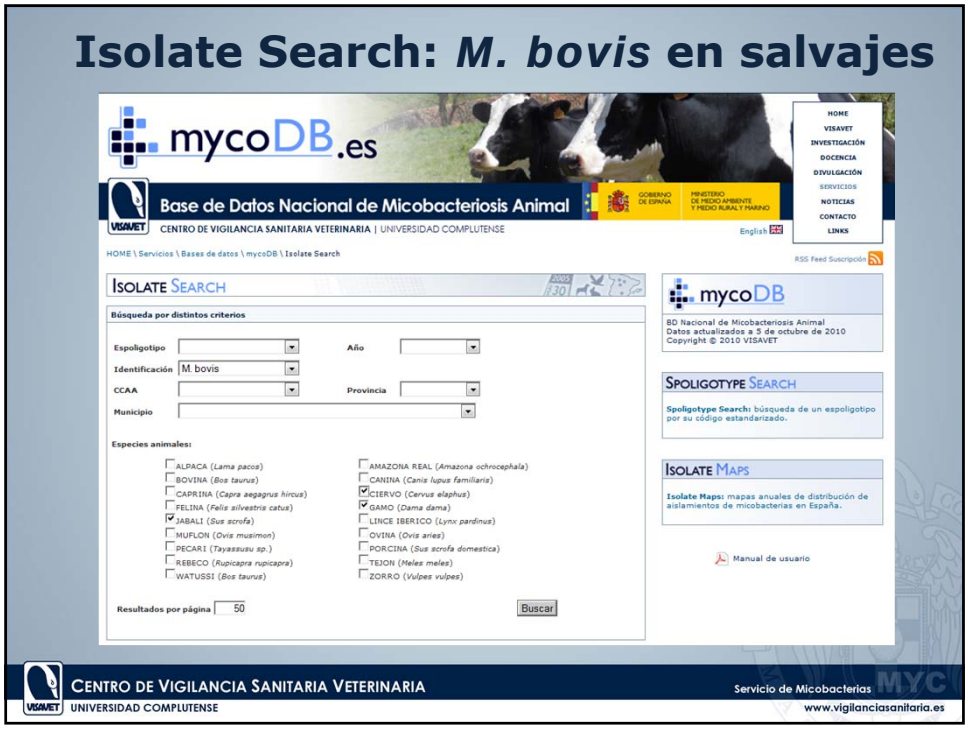
Spoligotype Search

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es


Spoligotype Search: SB0121
mycoDB.es
Base de Datos Nacional de Micobacteriosis Animal
CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA | UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
HOME \ Servicios \ Bases de datos \ mycoDB \ Spoligotype Search \ Resultados
SPOLIGOTYPE SEARCH
MAPA SB0121
No mostrar leyendas
El tema actual es No mostrar leyendas
Resultados
AISLADOS: 3558
CCAA: 16
PROVINCIAS: 43
MUNICIPIOS: 641
SP. ANIMALES: 5
SP. MYCO.: 1
Accesos directos
Información
BD Nacional de Micobacteriosis Animal
Datos actualizados a 11 de enero de 2010
Copyright © 2010 VISAVET
Generado a las 12:05:35 del 13/04/2010 GMT
CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es


Spoligotype Search: SB1232
mycoDB.es
Base de Datos Nacional de Micobacteriosis Animal
CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA | UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
HOME \ Servicios \ Bases de datos \ mycoDB \ Spoligotype Search \ Resultados
SPOLIGOTYPE SEARCH
MAPA SB1232
No mostrar leyendas
Selecciona mapa temático
Resultados
AISLADOS: 146
CCAA: 1
PROVINCIAS: 1
MUNICIPIOS: 5
SP. ANIMALES: 7
SP. MYCO.: 1
Accesos directos
Información
BD Nacional de Micobacteriosis Animal
Datos actualizados a 5 de octubre de 2010
Copyright © 2010 VISAVET
CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

Transmisión entre explotaciones
Trazar información
✓ Movimiento de un animal?
✓ Fallo diagnóstico?
✓ Nueva infección?
CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es


Isolate Search: M. bovis en salvajes
mycoDB.es
Base de Datos Nacional de Micobacteriosis Animal
CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA | UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
ISOLATE SEARCH
Búsqueda por distintos criterios
Espoligotipo
Identificación M. bovis
CCAA
Municipio
Año
Provincia
Especies animales:
ALPACA (Lama pacos)
BOVINA (Bos taurus)
CAPRINA (Capra aegagrus hircus)
FELINA (Felis silvestris catus)
JABALI (Sus scrofa)
MUFLON (Ovis musimon)
PECARI (Tayassuidae sp.)
REBECO (Rupicapra rupicapra)
WATUSSI (Bos taurus)
AMAZONA REAL (Amazona ochrocephala)
CANINA (Canis lupus familiaris)
CIERVO (Cervus elaphus)
GAMO (Dama dama)
LINCE IBERICO (Lynx pardinus)
OVINA (Ovis aries)
PORCINA (Sus scrofa domestica)
TEJON (Meles meles)
ZORRO (Vulpes vulpes)
Resultados por página 50
Buscar
SPOLIGOTYPE SEARCH
ISOLATE MAPS
Manual de usuario
CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

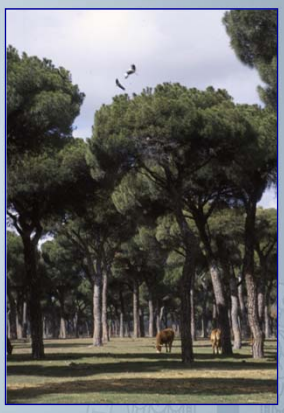
Isolate Search: *M. bovis* en salvajes

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

Importancia de la tuberculosis en animales salvajes

1. RESERVORIOS DE INFECCIÓN PARA GANADO DOMÉSTICO

Transmisión ganado ⇔ fauna salvajes:
- **Solapamiento de hábitats (pastos, agua)**
- **Cadáveres infectados**
- **Supervivencia en el ambiente**



2. ESPECIES PROTEGIDAS

Conservación de pequeñas poblaciones

3. IMPACTO EN SALUD PÚBLICA

- **Directo: cazadores, manejo de carcasas**
- **Productos (alimento) infectados: embutidos**

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

¿Qué ocurre en España?

1. **Variedad de fauna salvaje, varias especies susceptibles (jabalí, gamo, ciervo)**
2. **Proliferación especies receptoras (falta depredadores)**
3. **Alta densidad de población (alimentación animales salvajes)**
4. **Caza como actividad económica**
5. **Práctica ganaderas específicas (extensivo)**

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

Aislados de *M. bovis* 2006-2007

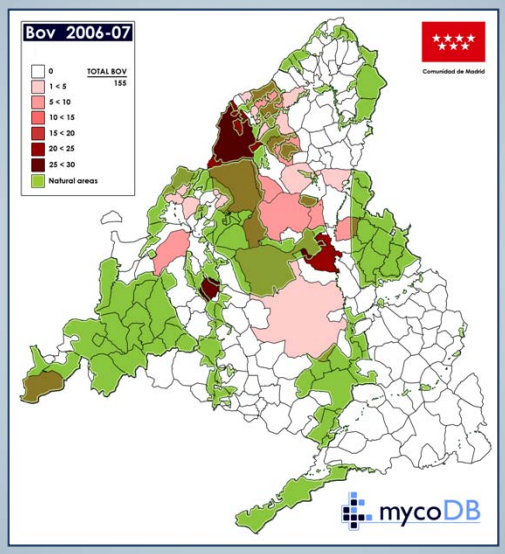
Aislados de *M. bovis* procedentes de fauna salvaje

22

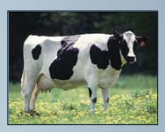
17

42

Total: 81



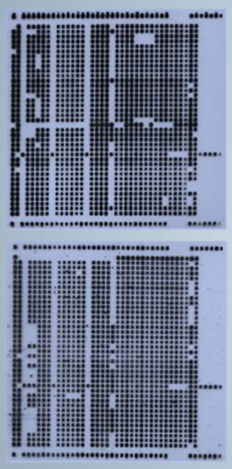
Aislados bovinos de *M. bovis*



155

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

DVR-Spoligotyping: caracterización molecular



Aislados de *M. bovis*

	Bovino		Fauna salvaje	
Perfil	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	

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

ESPECIES PROTEGIDAS

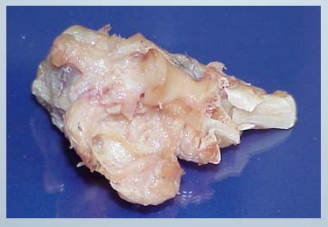
Conservación de poblaciones

Lince ibérico

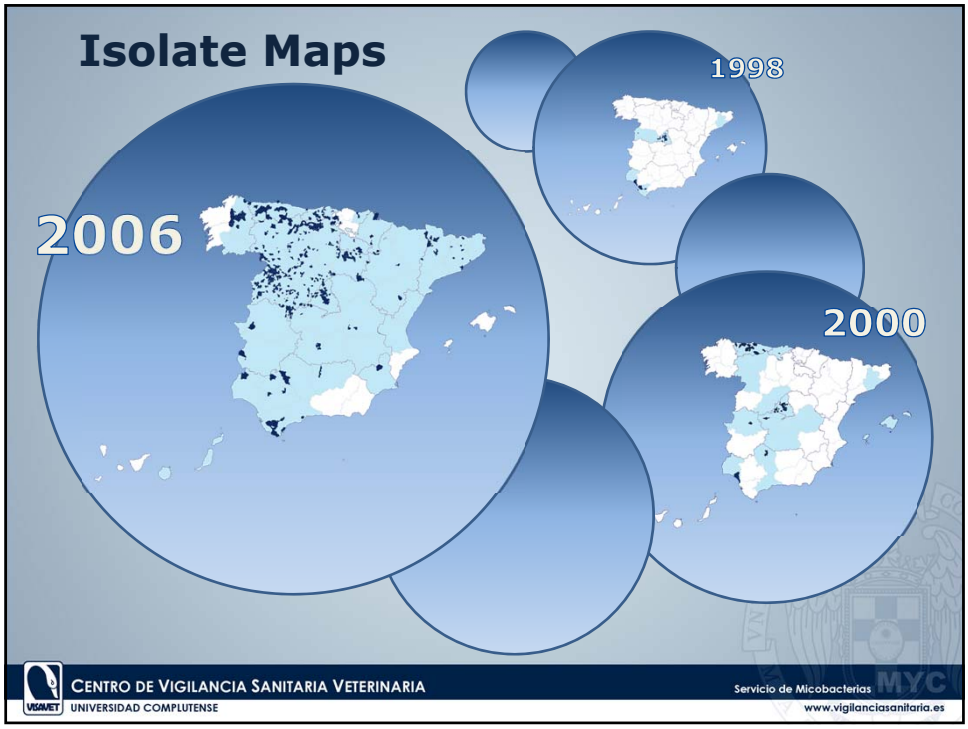
Número limitado de muestras: tejidos, articulaciones
Dos áreas de muestreo

↓

Spoligotipos SB1232, SB1230 y SB0426
Jabalí y ciervo, vacuno

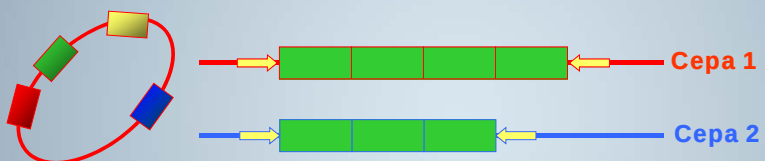


CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es



Objetivos futuros

Asesoría y apoyo a la base de datos Nacional.
Completar con:
- Otras técnicas moleculares (VNTR).



Spoligotyping	VNTR ETR-A	VNTR MIRU-4	Especie	Año de muestreo
17 cepas SB0121	5	4	7 vacuno 4 jabalí	2001-2003 2002
	7	3	5 vacuno 1 jabalí	2001 2002

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

Objetivos futuros

Asesoría y apoyo a la base de datos Nacional.
Completar con:
- **Otras técnicas moleculares (VNTR).**
- **Otras especies del complejo *M. tuberculosis.***

Humans as the Source of *Mycobacterium tuberculosis* Infection in Cattle

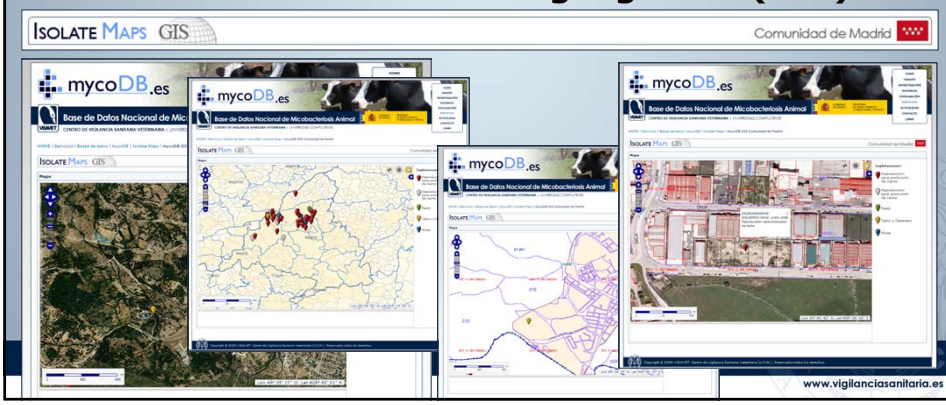
	Information	Farm 1	Farm 2	Farm 3
Cattle herd	No. animals	6	54	>200
	Production	Beef	Beef	Dairy
	Previous status	TB-free	TB-free	Non-TB free
	No. reactors	1	31	12
M. tuberculosis infection in cattle	Year of isolation	2007	2008	2009
	Age (months)	9	4	3
	IDTB/ interferon -γ	Pos/Not determined	Neg/Neg	Pos/Not determined
	TB-compatible lesion	No	No	No
	Spoligotyping profile	SIT2537†	SIT1564	SIT58
	MIRU-VNTR profile	253523233433236252211423	262334232454457251213423	254343243232325262213423
	Co-infection with other mycobacteria	Yes (*M. a.hominissuis*)	Yes (*M. bovis*)	No
M. tuberculosis infection in human	Active tuberculosis	Yes	Yes	Yes
	Spoligotyping profile	SIT 2537	Not available	SIT58
	MIRU-VNTR profile	253523233433236252211423	Not available	254343243232325262213423
	Country of origin	Spain	Eastern Europe	Spain

MDR

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es

Objetivos futuros

Asesoría y apoyo a la base de datos Nacional.
Completar con:
- **Otras técnicas moleculares (VNTR).**
- **Otras especies del complejo *M. tuberculosis.***
- **Sistema de información geográfica (GIS).**



Muchas gracias
GOBIERNO DE ESPAÑA
MINISTERIO DE MEDIO AMBIENTE Y MEDIO RURAL Y MARINO
Junta de Castilla y León
Comunidad de Madrid
Castilla-La Mancha
EUROPEAN UNION REFERENCE LABORATORY FOR BOVINE TUBERCULOSIS
CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
Servicio de Micobacterias
www.vigilanciasanitaria.es