

Herramientas disponibles para el diagnóstico de tuberculosis bovina: fortalezas y debilidades

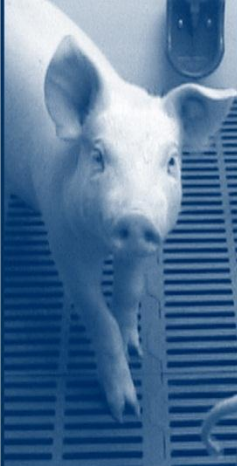


Julio Álvarez Sánchez
Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET) –
Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos (IREC)
Toledo, 26 de enero de 2011





Sanidad Animal



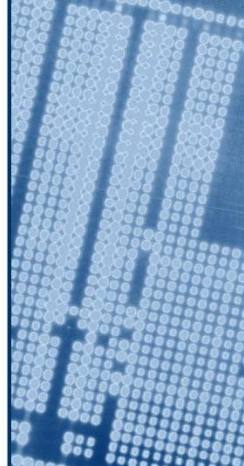
Salud Pública



Seguridad Alimentaria



Medio Ambiente



Nivel 3 Bioseguridad



CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE



Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET)
Universidad Complutense

Avenida Puerta de Hierro s/n
28040 Madrid
Spain

Tel.: (+34) 913 943 975
Fax: (+34) 913 943 795
email: visavet@visavet.ucm.es



www.vigilanciasanitaria.es



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
MADRID



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID



**FACULTAD
DE VETERINARIA**



CENTRO VISAVET

HOSPITAL CLÍNICO VETERINARIO



CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA

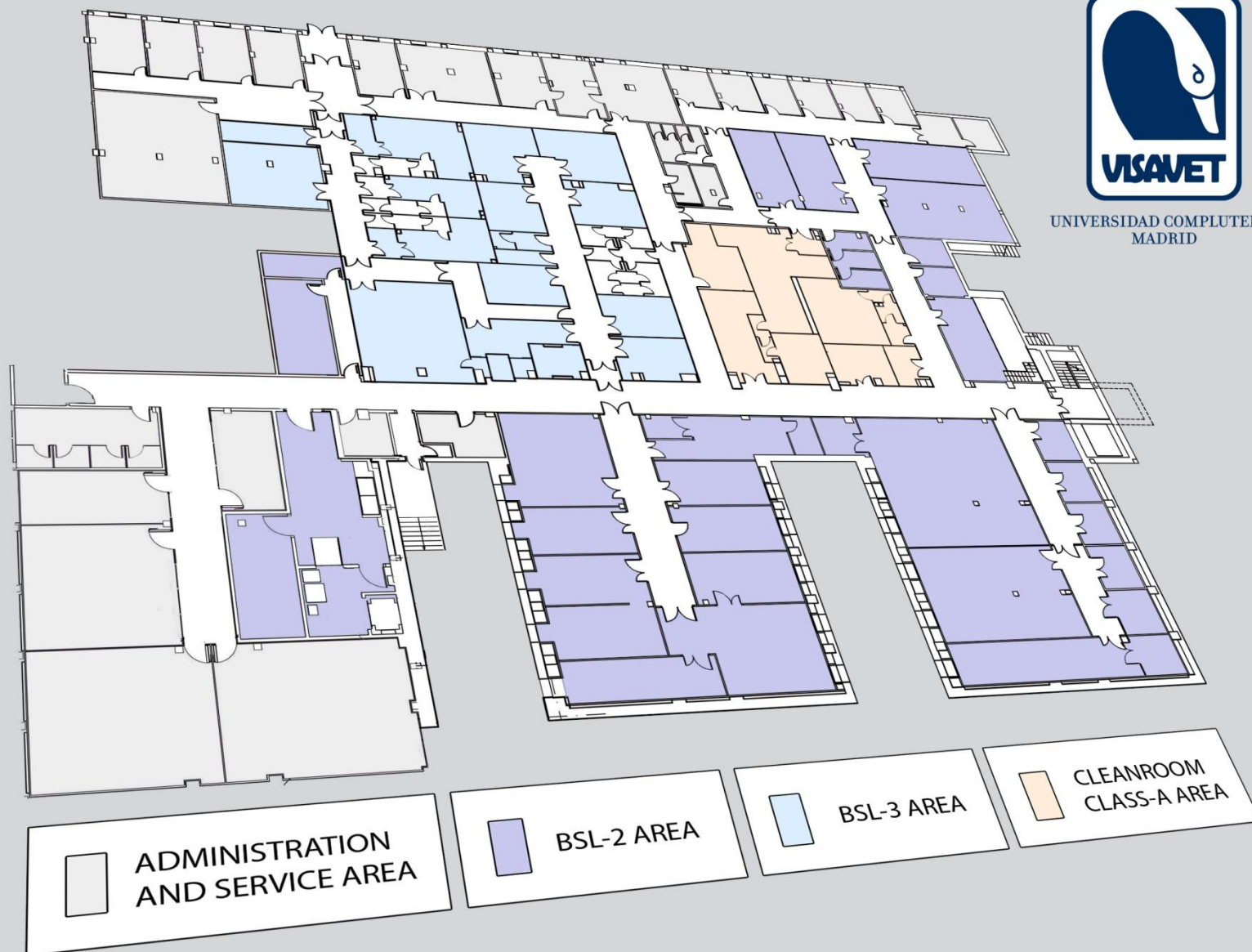
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE



www.vigilanciasanitaria.es



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
MADRID



CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

Servicio de Micobacterias

www.vigilanciasanitaria.es

MYC



Personal	86
Catedráticos	4
Profesores	9
Investigadores Doctores	9
Investigadores	34
Técnicos	30



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



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





CENTRO DE
VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
Universidad Complutense

HOME
VISAVET
INVESTIGACIÓN
DIVULGACIÓN
DOCENCIA
SERVICIOS
ACTUALIDAD
CONTACTO
LINKS

Memoria
2008



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...

English

Universidad Complutense Madrid

m+d

VENOMYC

ParaTBtools

MD-VET-NET

Medronet

EU Safe Food

DEUSIST AGROPECUARIO SOSTENIBLE

SANIDAD ANIMAL

Programa Vigilancia Sanitaria

Weblog de Seguridad Alimentaria

Organización Mundial de Sanidad Animal

Dirección General de Salud y Protección del Consumidor

efsa Agencia Europea de Seguridad Alimentaria

Red VAV

VENOMYC

MED-VET-NET

mycoDB.es

Base de Datos Nacional de Micobacterias Animal

mycoDB

Spoligotyping Search

ISOLATE SEARCH

ISOLATE MAPS

Documents

HOME
VISAVET
RESEARCH
TEACHING
OUTREACH
SERVICES
NEWS
CONTACT
LINKS

la Sanitaria

enfermedades

Scientific research

Research

HEALTH SURVEILLANCE CENTRE | COMPLUTENSE UNIVERSITY

HOME | Research

Research Lines
Scientific Research lines of VISAVET Centre

Research Networks
Research networks of VISAVET Centre

Thesis
PhD Thesis and scientific dissertations of VISAVET Centre

Scientific Publications
ISI Scientific Publications of VISAVET Centre

Last research news

October 1st, 2010

Moraxella porci sp. nov., a new species isolated from pigs

Investigation published in International journal of systematic and evolutionary microbiology

Gram-negative, catalase- and oxidase-positive coccus-shaped bacteria were isolated from pigs affected of different pathological processes. Phenotypic and genotypic methods were performed to determine the relationships of these isolates to species belonging to the genus Moraxella. Analysis of the 16S rRNA gene sequence demonstrated that the clinical isolates represent a new sub-line within the genus Moraxella. The isolates were closely related to Moraxella cuniculi and Moraxella plurimimalium with a 16S rRNA gene sequence similarity of 99.1% and 99.1%, respectively. The isolates displayed ... Lear más

September 28th, 2010

Experimental infection of European red deer (Cervus elaphus) with bluetongue virus serotypes 1 and 8

Veterinary microbiology publish this investigation article

VISAVET Outreach Journal

HEALTH SURVEILLANCE CENTRE | COMPLUTENSE UNIVERSITY

HOME | Outreach | VISAVET Outreach Journal

"Swine flu". Human cases due to H1N1 Influenza virus, an issue that so far only affects Public Health

Swine influenza (also known as "swine flu") is an acute respiratory disease of pigs caused by type A influenza virus. Its characteristic symptoms are cough, respiratory problems, fever and depression, and although the disease usually has a sudden start animals rapidly recover from the disease. Typically, mortality levels are very low. Swine influenza was first described as an animal disease during the 1918-1919 pandemic, known as "Spanish flu".

The subjects of the virus that are commonly found worldwide in the swine population are H1N1, H1N2 and H3N2. It is not unusual to find some strains infecting humans, although it is considered an occupational disease that usually affects people that are in close contact with pigs. However, so far an epidemiological link between pigs and the cases infected with the subtype H1N1 reported in Mexico and USA has been found. In fact, no evidence of contacts between patients and swine has been described. The genetic analysis of the virus isolated in these outbreaks has demonstrated it has fragments described on human influenza viruses, as well as segments from swine and avian influenza viruses from North America. In addition it harbours fragments from European swine viruses. This is a very unusual fact, and actually constitutes the first report of such a quadruple genetic combination in the world.

To date what has been confirmed is the spatial and temporal coincidence between the outbreaks in Mexico and the cases in the USA. Anyway, these are very unusual facts, and therefore the implementation of surveillance systems, not only in the affected countries but all over the world, is a rational approach. Due to the likely person-to-person transmission of the virus, and because of the short space of time required to travel very long distances, the pathogen could be introduced in countries located far away from the affected region in a few days. Measures adopted after the emergence of SARS (Severe Acute Respiratory Syndrome) and the fast spread in November 2002, and of subtype H5N1 of avian influenza in 1997, 2003 and the following years, have allowed the National and International authorities to give a rapid and efficient response. At this moment they only have to adapt these measures to the current needs.

The fact that the food-borne transmission of this virus has not been demonstrated so far must be highlighted, and this consumption of pork derived food products is still as safe as it has always been. However, if this virus would be transmitted from human to swine, and would spread in our pig production, veterinary control systems already put in place in Spain (and in the European Union) would prevent any contaminated food product derived from an infected animal to enter to the consumption chain. In addition, this virus is extremely sensitive to high temperatures, and thus normal cooking of food products would inactivate it.

Therefore, the name "swine flu" given to the outbreak reported in Mexico and in USA these days has been used just because of the history of the evolution of this virus combined with the discovery of elements typically found in swine influenza viruses isolated from pigs. The fact that the origin of the strain and how it has reached human population is still unknown, added to the lack of evidence of contact between infected patients and swine, demonstrate that, from an epidemiological point of view, this pathogen should be named exclusively as a H1N1 type A influenza virus, thus removing the term "swine flu".

Article data

Title
"Swine flu". Human cases due to H1N1 Influenza virus, an issue that so far only affects Public Health

Author
Joaquín Goyache Gali

Online publication date
April 27th, 2009

Keywords
Swine response, Immune recognition, Influenza, Mycobacterium bovis

Author data

Joaquín Goyache Gali
VISAVET Health Surveillance Centre
Complutense University
Madrid (Spain)

Biography
Investigation
Contact

More information

1 CDC Swine Influenza
2 ECDC
3 WHO Swine Influenza

HOME
VISAVET
RESEARCH
TEACHING
OUTREACH
SERVICES
NEWS
CONTACT
LINKS

RSS Feed Subscription

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 microorganism by vitamin K2

Progress in the Control of Bovine Tuberculosis in Spanish Wildlife

Ante-mortem testing valid fallow deer for bovine tuberculosis

Phylogenetic analysis of a new Cetacean morbillivirus from a short-finned pilot whale stranded in the Canary Islands

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 Ficedula hypoleuca: environmental and maternal factors

Scientific publications
Last published

October 2010
Moraxella porci sp. nov., a new species isolated from pigs



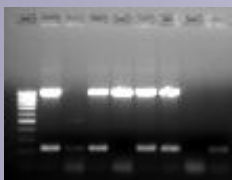
LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

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

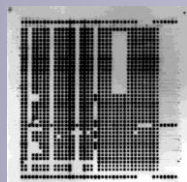
TRABAJO DE SERVICIO



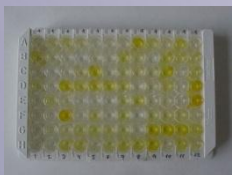
•Cultivo microbiológico: tuberculosis y paratuberculosis.



•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.



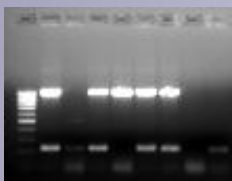
•Pruebas inmunológicas:

- Detección de interferón-gamma (PPD aviar y PPD bovina).
- Detección de anticuerpos frente a *M.a.paratuberculosis*.

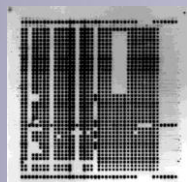
TRABAJO DE SERVICIO



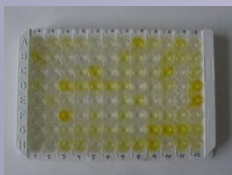
•Cultivo microbiológico: tuberculosis y paratuberculosis.



•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.

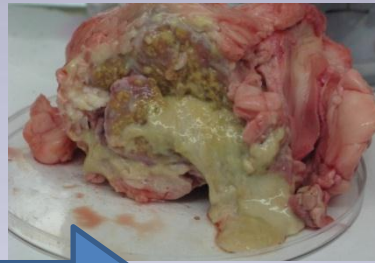


•Pruebas inmunológicas:

- Detección de interferón-gamma (PPD aviar y PPD bovina).
- Detección de anticuerpos frente a *M.a.paratuberculosis*.

TUBERCULOSIS BOVINA

- Enfermedad consuntiva
- Descenso en las producciones
- Restricciones comerciales
- ZOONOSIS



Erradicación

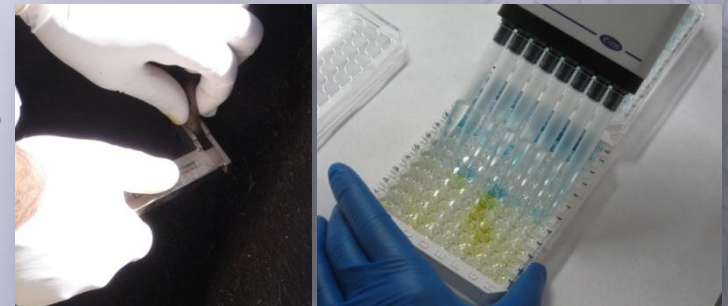


- Vacunación
- Eliminación de animales infectados (test y sacrificio)
- Bioseguridad

Estrategias disponibles

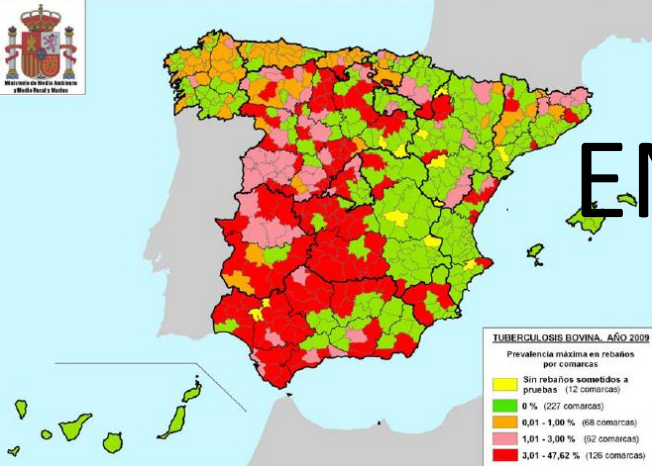
IMPRESINDIBLE LA APLICACIÓN DE HERRAMIENTAS DE DIAGNÓSTICO FIABLES Y EFICACES

1. Clínico
2. Inmunológico de base celular: IDTB, γ -IFN
3. Tests serológicos
4. Anatomopatológico (matadero)
5. Microbiológico



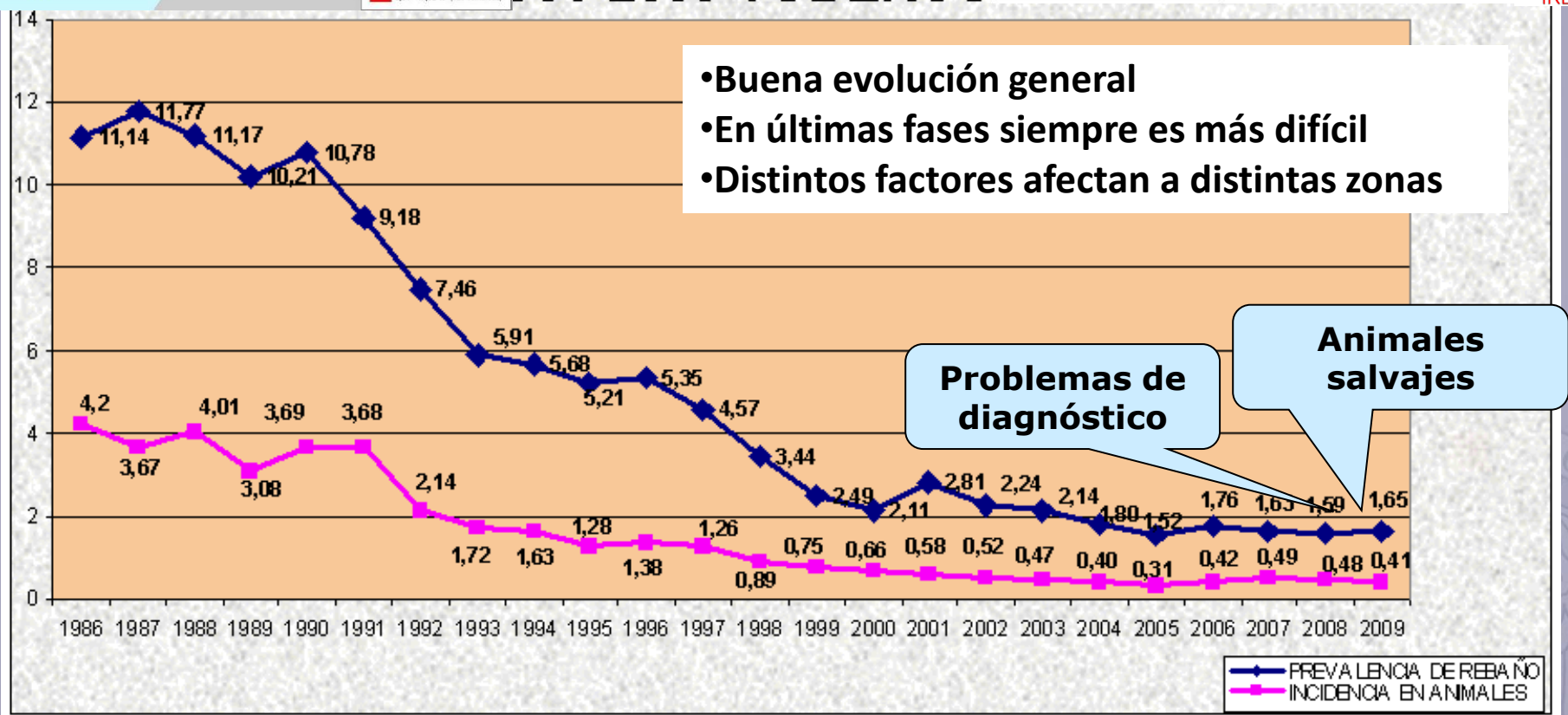
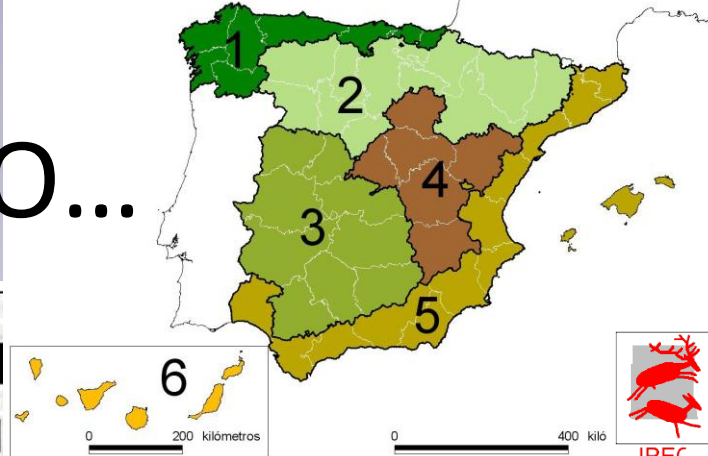
La erradicación de la tuberculosis bovina es posible siempre y cuando se mantenga la integridad del rebaño (considerado como unidad epidemiológica) y todos los reservorios y factores de riesgo se eliminen o controlen



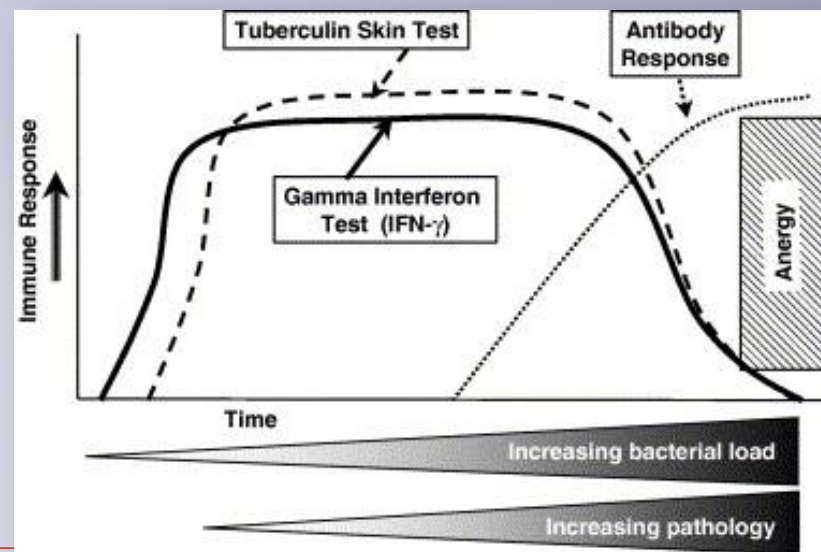
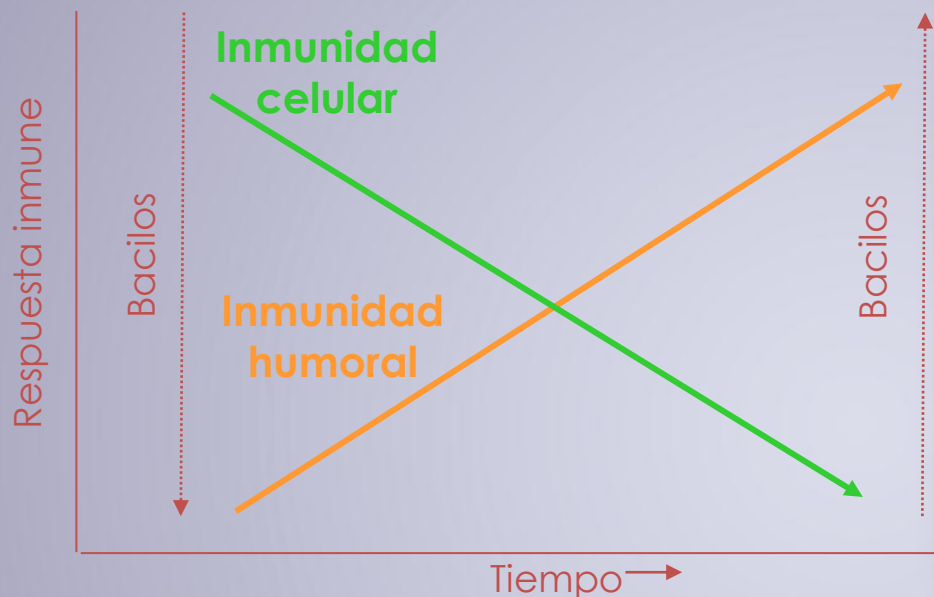


EN CONJUNTO...

EVOLUCIÓN DE REBAÑO E INCIDENCIA EN ANIMALES 1986-2009 TUBERCULOSIS BOVINA



TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS IN VIVO



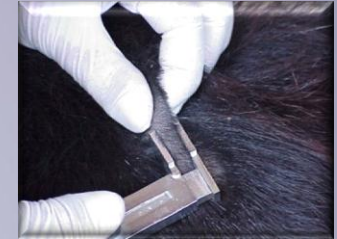
Interferencias

- Infección tuberculosis
- Infección paratuberculosis
- Infección mixta
- Vacunación de paratuberculosis

1. TESTS CUTÁNEOS

1. 1. INTRADERMOTUBERCULINIZACIÓN SIMPLE (SIT):

- Valora la respuesta inmune de base celular (CMI) *in-vivo*



- Test de diagnóstico oficial en la mayoría de los casos en España

• Reacciones cruzadas con micobacterias ambientales: ↓ Especificidad



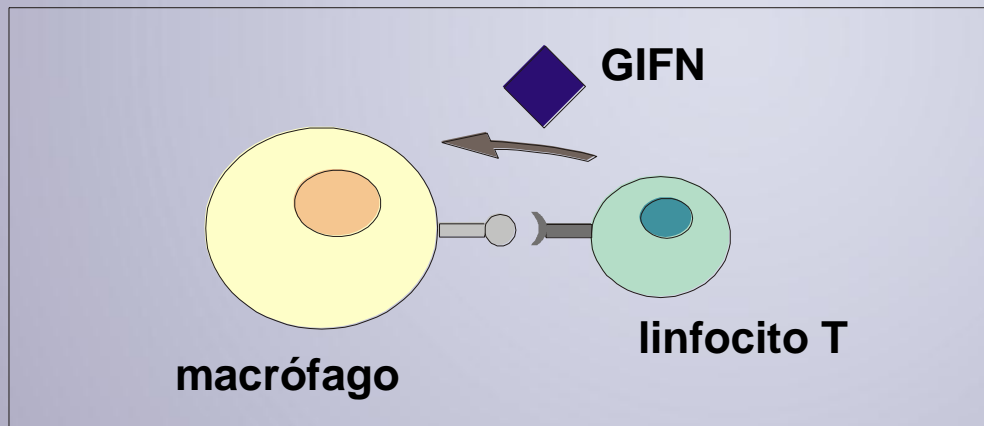
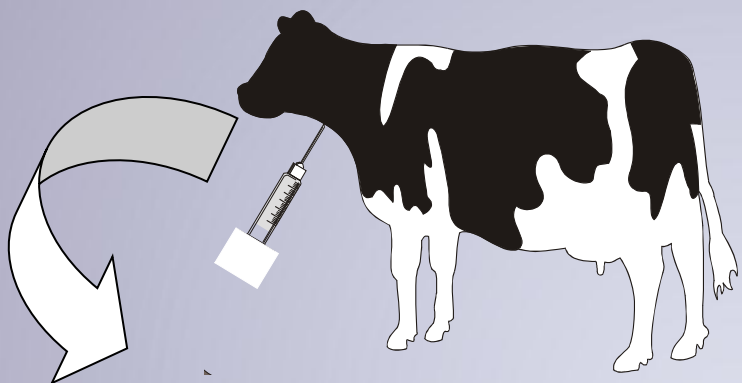
1. 2. INTRADERMOTUBERCULINIZACIÓN COMPARATIVA (SICCT):

- Tiene en cuenta la posible sensibilización con otras micobacterias (MAC)
- ↑ especificidad, pero ↓ sensibilidad → USO SOLO EN CIERTOS CASOS!!

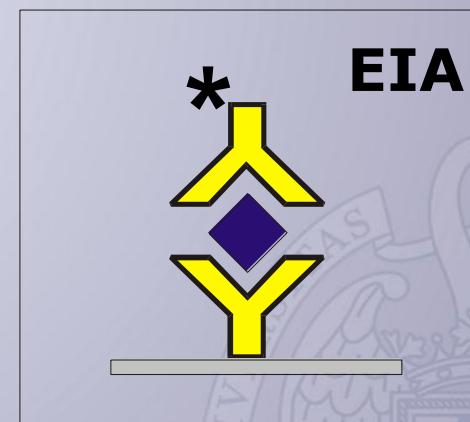
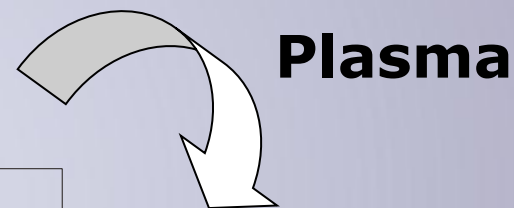
“Un buen test de rebaño, con un valor individual limitado”

Técnica de detección del interferón-gamma

Fundamento de la técnica



Cultivo *in vitro* de la sangre



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



7. Incubación

- Temperatura: 37°C.
- Tiempo: 18-24h.



8. Recogida plasma tras centrifugación

- 500-800 g / 10-15 minutos



9. Realización del ELISA



10. Interpretación de los resultados

▪ IFN- γ bovino POSITIVO:

$$\text{DO PPD}_{\text{bov}} - \text{DO PBS} \geq 0,05$$

$$\text{DO PPD}_{\text{bov}} > \text{PPD}_{\text{av}}$$

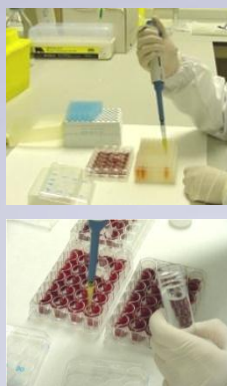
▪ IFN- γ bovino NEGATIVO

▪Cualquier otra posibilidad

Ejemplos

DO PBS	DO PPD _{av}	DO PPD _{bov}	IFN _{av}	IFN _{bov}	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

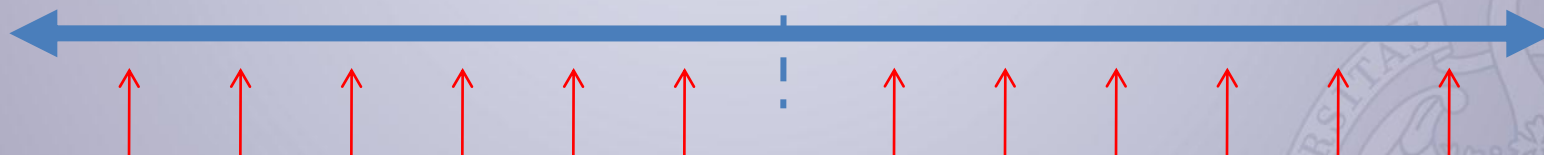
Ensayo IFN- γ : dos fases distintas



RECOGIDA Y ESTIMULACIÓN

ELISA

¡¡¡PUNTOS CRÍTICOS!!!

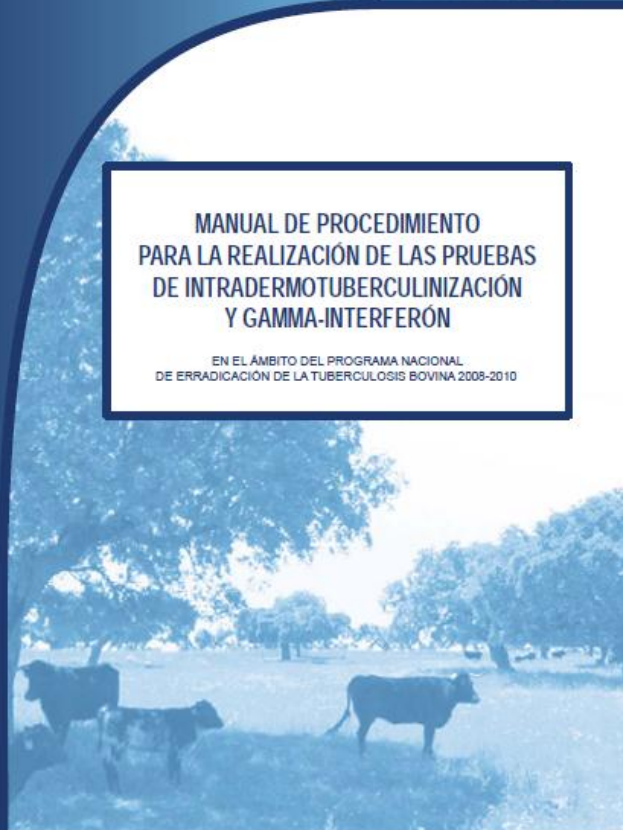


2008

*Manuales de
procedimiento*

MANUAL DE PROCEDIMIENTO PARA LA REALIZACIÓN DE LAS PRUEBAS DE INTRADERMOTUBERCULINIZACIÓN Y GAMMA-INTERFERÓN

EN EL ÁMBITO DEL PROGRAMA NACIONAL
DE ERRADICACIÓN DE LA TUBERCULOSIS BOVINA 2008-2010



2008



Índice

Pag.:

Ámbito de aplicación	3
Intradermotuberculinización de comparación	4
Justificación y objetivos	
Técnica de administración de las tuberculinas	
Interpretación de los resultados	
Intradermotuberculinización simple	9
Utilización en paralelo del test del gamma-interferón	10
Test de gamma-interferón	
Descripción de la técnica	
Realización del ensayo	

ÍNDICE

1. IDTB

- Hace más de 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



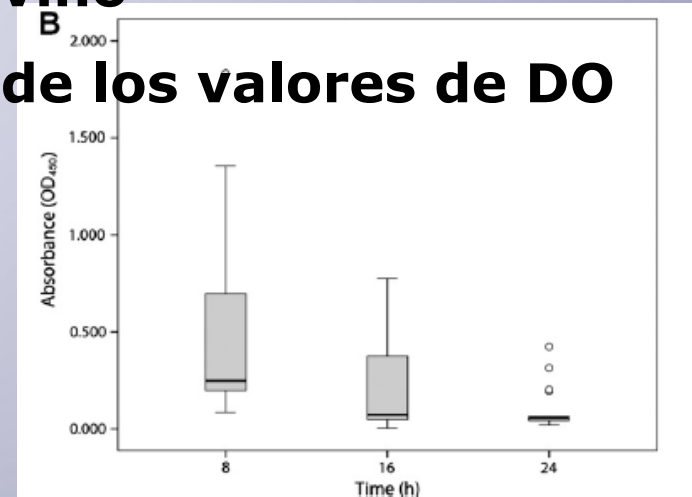
3. Transporte al laboratorio

- 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 IFN- γ en bovino
- Retraso de 24 horas: disminución de los valores de DO



- **Prueba complementaria**
- **Recomendado por la Task Force en situaciones de alta prevalencia**

Ventajas de la técnica:

- **Detecta animales en una fase de infección más temprana → detecta una mayor proporción de animales.**
- **Interpretación menos subjetiva e influenciada por causas que interfieren con la IDTB.**
- **Obtención de valor numérico (definición de punto de corte).**

Inconvenientes de la técnica:

- **Muy sensible a alteraciones del protocolo**
- **Especificidad (ojo!!)**

CAUSAS DE FALLOS DE LOS TESTS DIAGNÓSTICOS

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

1. Tuberculinas (uso deficiente)

2. Realización de la prueba

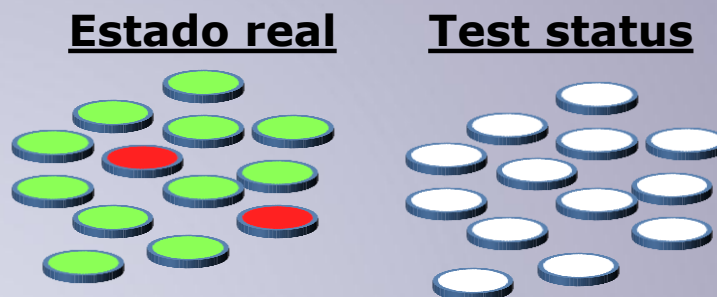
Evitables (más o menos!!)

3. El estado inmunitario del animal analizado

Tenemos que enfrentarnos a ellos!!

Animales falsos negativos

- Mantienen la infección en el rebaño



- Ralentizan la erradicación → implicaciones económicas

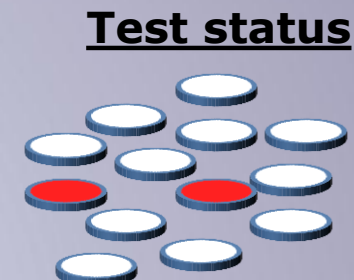
- Varias posibles causas → las más comunes y conocidas:

- Demasiado pronto (pre-alérgico) / demasiado tarde (anérgico)
- Infección con (Mico)bacterias ambientales

A VECES MUY DIFÍCILES DE CARACTERIZAR!!!

Animales falsos positivos

- Sacrificio innecesario de animales



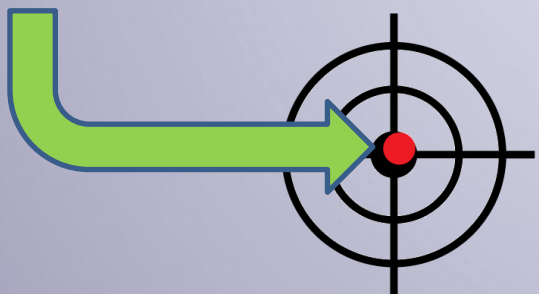
- Origen complejo (reacciones de hipersensibilidad inespecíficas)
 - Vacunación vs. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*
 - Infección con (Mico)bacterias ambientales
- Pérdidas económicas
- Disminuye la confianza y el compromiso de los ganaderos

DIAGNÓSTICO DE TBC BOVINA *IN VIVO* EN ESPAÑA

- Precisión aproximada de las pruebas diagnósticas utilizadas (variabilidad)

	Sensibilidad	Especificidad
IDTB simple	63.2-100% (83.9%)	75-99% (96.8%)
IFN- γ	73-100% (87.6%)	85-99% (95%)


- Estrategia diagnóstica actual:
 - Utilización de prueba muy sensible a nivel de rebaño (IDTBs)
 - Aplicación complementaria de prueba muy sensible a nivel individual (IFN γ) en rebaños infectados




- Buena especificidad a nivel de rebaño (>95%)
- Buena sensibilidad a nivel individual...
y especificidad individual?

EJEMPLO 1

Nº explotaciones	Nº anim analizados	Animales + IDTBs	Animales + IFN-γ	Animales +a ambas pruebas
54	7364	226	871	150

 Tuberculosis confirmada

 1169 animales sacrificados (794 cultivados)

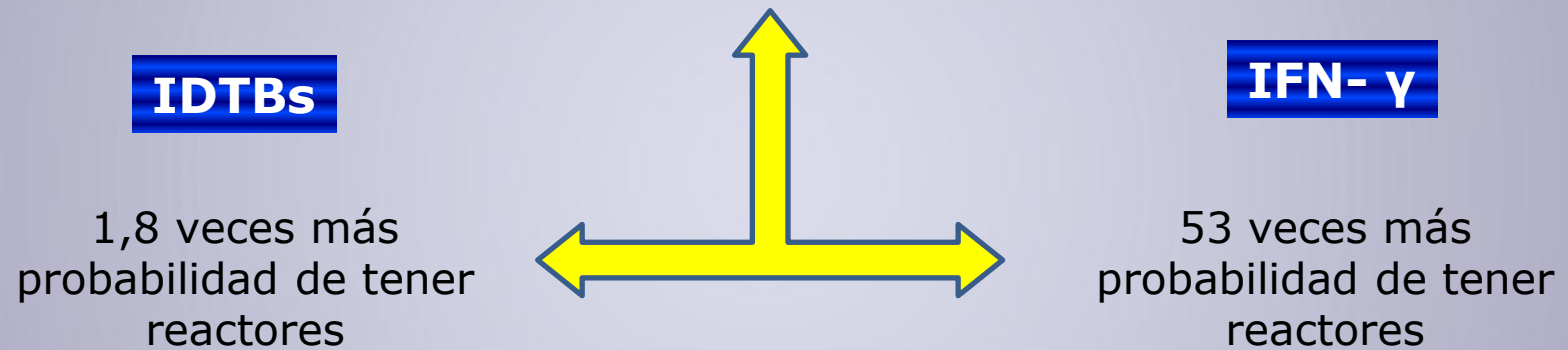
1. Explotaciones

- 54 explotaciones positivas en cultivo bacteriológico
 - Proporción de explotaciones C+ con reactores a **ambas**: 34/54 (**62,9%**)
 - Proporción de explotaciones C+ con reactores a **IDTBs**: 35/54 (**64,8%**)
 - Proporción de explotaciones C+ con reactores en **IFN-γ**: 53/54 (**98,1%**)

19 explotaciones con reactores
SOLO a IFN- γ : (35,2%)

	IFN γ +	IFN γ -	
IDTBs +	34	1	35
IDTBs -	19	0	19
	53	1	54

Explotaciones con cultivos+ (tuberculosis incuestionable) (n=54)



Explotaciones IDTBs+ tienen 4,5 veces más riesgo de tener cultivos que las IDTBs negativas

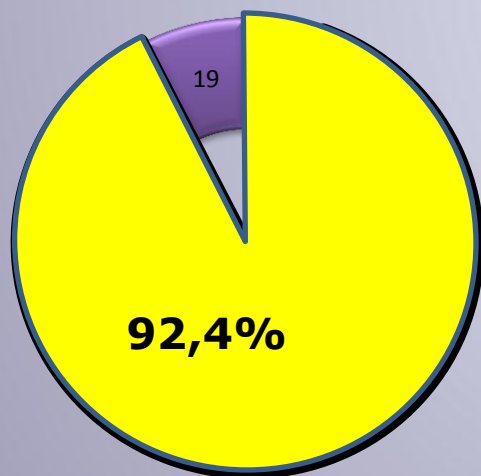
Explotaciones IFN- γ + tienen 14,6 veces más riesgo de tener cultivos que las IFN- γ negativas

2. Animales

▪ 1120 animales con cultivo bacteriológico y resultados a las pruebas diagnósticas (251 cultivos positivos)

- Proporción de animales C+ detectados por IDTBs: 58/251 (23,1%)
- Proporción de animales C+ detectados por IFN- γ : 218/251 (86,5%)
- Proporción de animales C+ detectados por ambas: 44/251 (17,5%)

174 animales detectados **SOLO** por IFN- γ : (69,3%)



- IDTB+ solo
- IDTB y IFN +
- IFN+ solo
- Negativos a ambas

	IFN γ +	IFN γ -	
IDTBs +	44	14	58
IDTBs -	174	19	193
	218	33	251

EJEMPLO 2 (2006-2008)

- 130 explotaciones analizadas con IDTB y IFN-γ
- 15.243 animales testados (IDTBs/IDTBc + IFN-γ)
- 959 animales sacrificados y analizados por bacteriología



➤ 656 animales con resultados de cultivo (139 cultivos positivos)

	IDTBs		IDTBc*		IFN-γ	
Analizados	464		413		654	
Positivos	106	40+	47	20+	511	126+
		66-		27-		385-
negativos	358	48+	366	69+	143	13+
		310-		297-		130-

IDTBs

Proporción de animales C+ detectados: 40/88 (**45,45%**)

IDTBc

Proporción de animales C+ detectados: 20/89 (**22,47%**)

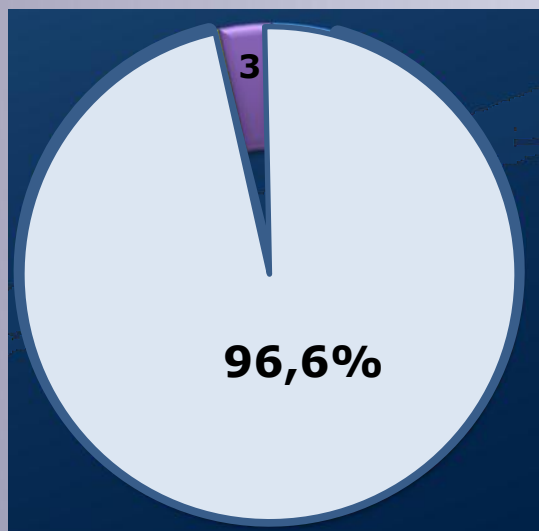
IFN-γ

Proporción de animales C+ detectados: 126/139 (**90,65%**)

Comparación IDTBs / IFN- γ (n=462)

- **IDTBs** → proporción de animales C+ detectados: 40/88 (**45,45%**)
- **IFN- γ** → Proporción de animales C+ detectados: 81/88 (**92,04%**)
- **Ambas** → Proporción de animales C+ detectados: 85/88 (**96,6%**)

45 animales detectados **SOLO** por IFN- γ : (55,5%)



	IFN γ +	IFN γ -	
IDTBs +	36	4	40
IDTBs -	45	3	48
	81	7	88

- Animales cultivo+ detectados solo por IDTBs
- Animales cultivo+ detectados por ambas
- Animales cultivo+ detectados solo por IFN- γ
- Animales cultivo+ no detectados

Explotación ejemplo de aplicación del IFN- γ (lidia)

Utilización cuidadosa de las herramientas diagnósticas

Análisis de todos los animales (n=250) mediante IDTBs y IFN- γ (211)

Sacrificio de todos los animales positivos (n=97), cultivo bacteriológico

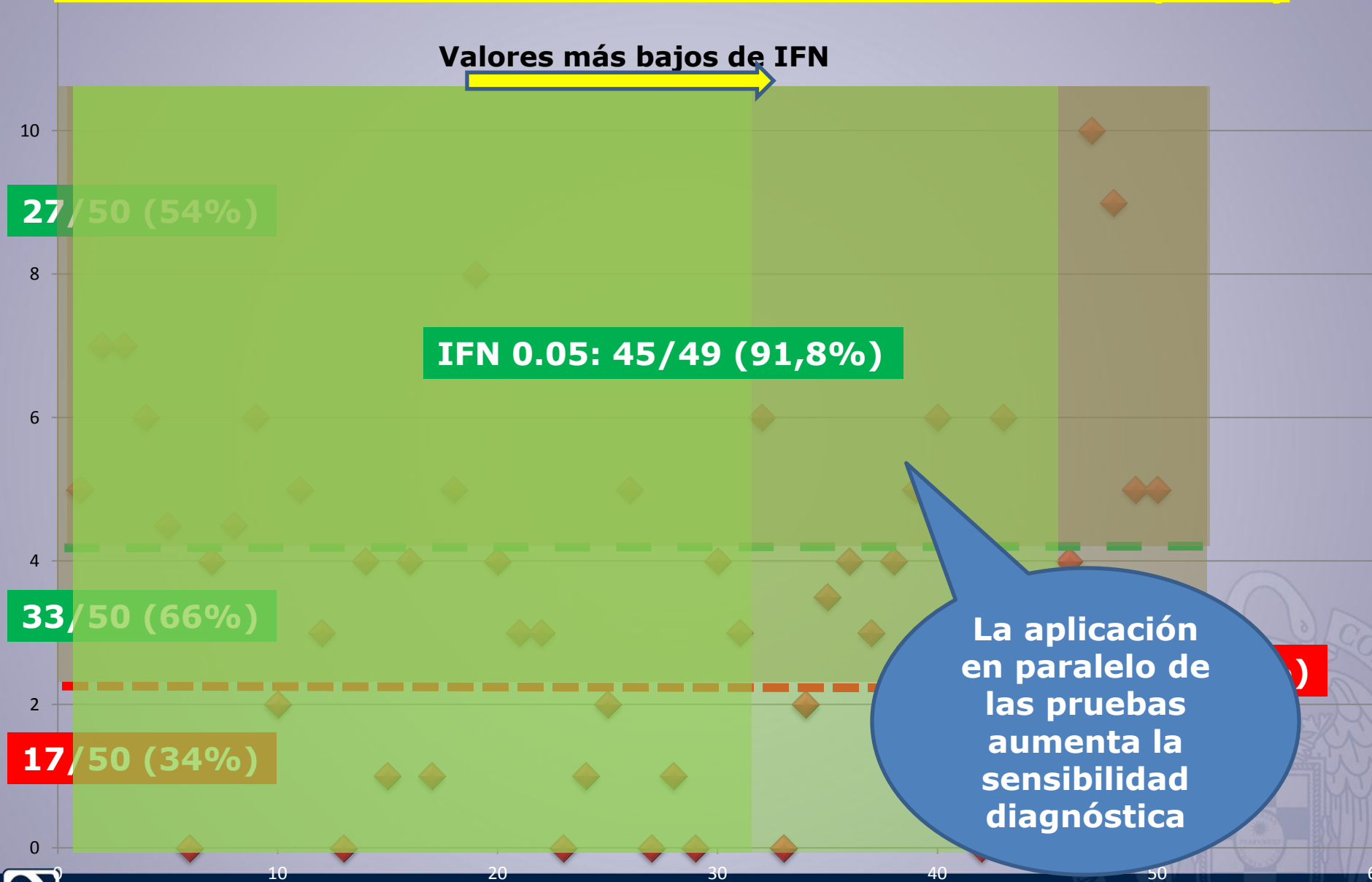
Proporción de animales
C+ detectados

- IDTBs (criterio severo): 33/50 (66%)
- IDTBs (criterio standard): 27/50 (54%)
- IFN- γ (0,05): 45/49 (91,8%)
- IFN- γ (0,1): 31/49 (63,3%)

IFN γ (0.05)	IFN γ +	IFN γ -	
IDTBs +	28	4	32
IDTBs -	17	0	17
	45	4	49

IFN γ (0.1)	IFN γ +	IFN γ -	
IDTBs +	20	12	32
IDTBs -	11	6	17
	31	18	49

12 RESPUESTA EN LA IDTBs DE LOS ANIMALES CULTIVO+(n=50)



DIAGNÓSTICO DE TBC BOVINA *IN VIVO* EN ESPAÑA

- Especificidad “aparente” del IFN γ (SIT) es baja:
muchos reactores no tienen lesiones (cultivo)**



¡¡SOLO ES APARENTE!!

- Repetición abundante de pruebas: TODAS LAS INFECCIONES SERÁN RECIENTES (ausencia de lesiones, ↓ carga bacteriana que complica el aislamiento...)
- Cultivo y/o presencia de lesiones macroscópicas NO son un indicador fiable de infección en animales recientemente infectados!!
- Maneras alternativas de evaluar las pruebas...

DIAGNÓSTICO DE TBC BOVINA *POST-MORTEM*

Explotaciones calificadas – hallazgo de matadero



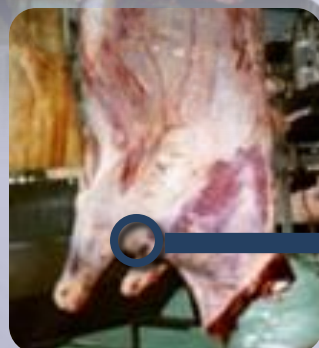
Seguimiento de explotaciones

Fallos diagnósticos.

En algunas CCAA ~ 50% de casos nuevos se detectan en matadero

Resultados	E	F	M	A	My	J	J	A
Día	20				25			
Nº animales	24				23			
IDTB	0				0			
IFNbov	ND				9			
Pchek	ND				2			
Cultivo	ND				6/9			

Explotaciones suspendidas – confirmación



¡IMPORTANTE!

Animales positivos a pruebas diagnósticas sin lesiones evidentes.

Problema de los NVLRs: se magnifica a medida que el % de los animales positivos a la tuberculina disminuye (a menor n de animales positivos a la tuberculina, mayor número de animales positivos sin lesiones). Cortez, 1975; Benet, 1984; García Díez, 1985).

Es importante intentar aplicar la inspección al mayor número de órganos de cada animal (a pesar de que las lesiones pueden no ser visibles macroscópicamente o encontrarse en otros órganos distantes no examinados).

2006

Manuales de
procedimiento

MANUAL DE PROCEDIMIENTO
PARA LA TOMA Y ENVÍO DE MUESTRAS
PARA EL CULTIVO MICROBIOLÓGICO
DE TUBERCULOSIS

EN EL ÁMBITO DEL PROGRAMA NACIONAL DE
ERRADICACIÓN DE LA TUBERCULOSIS BOVINA 2006

<http://rasve.mapa.es>

Manual de procedimiento para la toma y envío de muestras para el cultivo microbiológico de tuberculosis

- **Ámbito de aplicación.**
- Muestras de tejido y órganos para el cultivo microbiológico.
- Envío de cultivos de *M. bovis*/*M. caprae*.
- Envío de ADN de *M. bovis* / *M. caprae*.
- Envío de perfiles de espoligotipado.
- Documentación a adjuntar.

Toma de muestras

Directiva 64/432/CEE (Anexo B)



Lesiones compatibles



No lesiones patológicas

1. Cabeza: **retrofaríngeo y mandibular**.
2. Cavidad torácica: **mediastínico y bronquial**.
3. Miembro torácico: preescapular (cervical superficial).
4. Cavidad abdominal: **mesentérico** y hepático (**hígado**).
5. Glándula mamaria: **supramamario**.

¡IMPORTANTE!

OK

NO

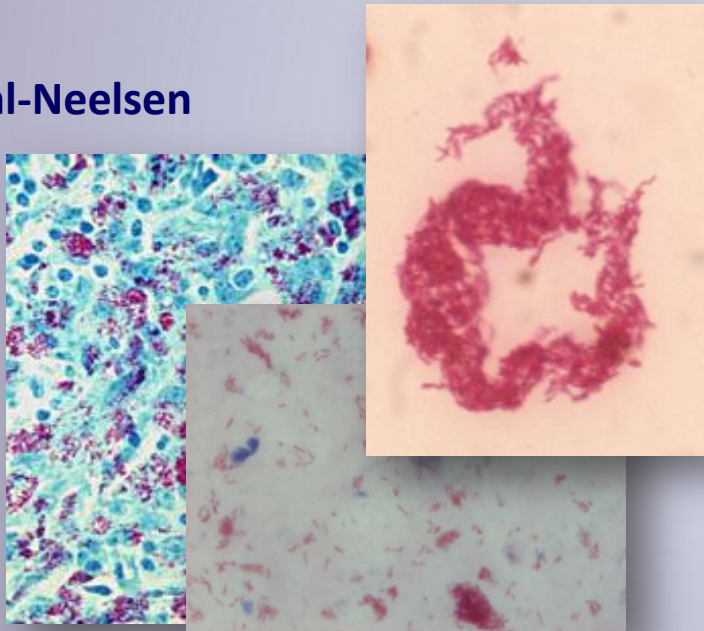


Recogida aséptica, botes roscados y sin seccionar si fuera posible.
(separar mesentéricos)

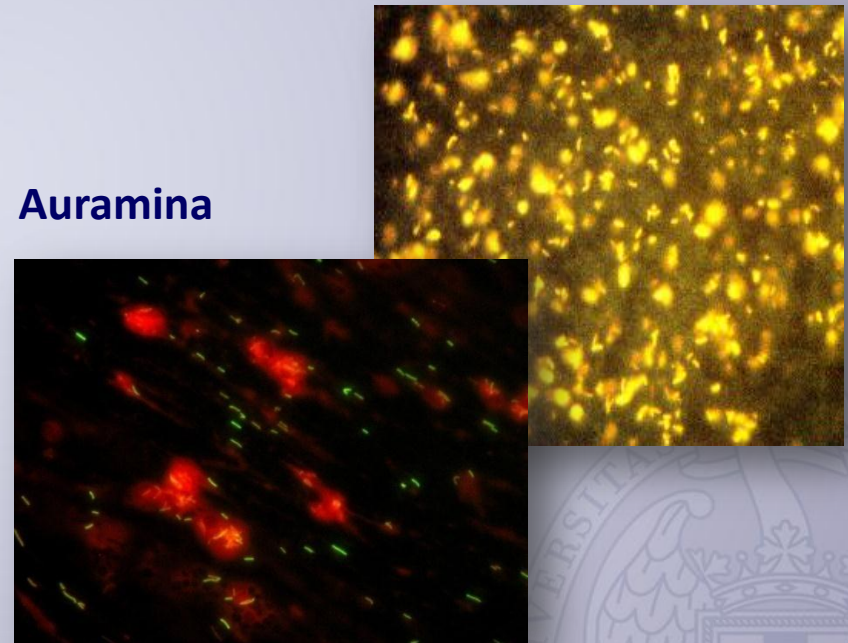
DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO

- Imprescindible confirmar la infección mediante cultivo
- Cultivo más sensible que lesiones (lesión-, cultivo+)
- Permite estudios epidemiológicos

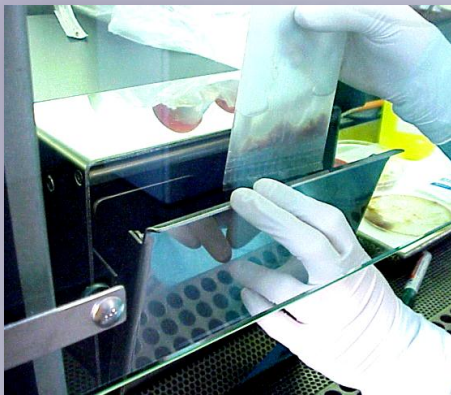
Ziehl-Neelsen



Auramina



Homogeneización de la muestra



Descontaminación HPC

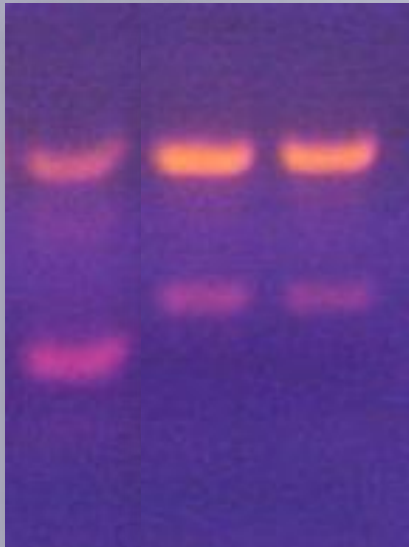


Coletsos, Löwenstein-Jensen



IDENTIFICACIÓN POR PCR Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR

PCR Múltiple



Identificación

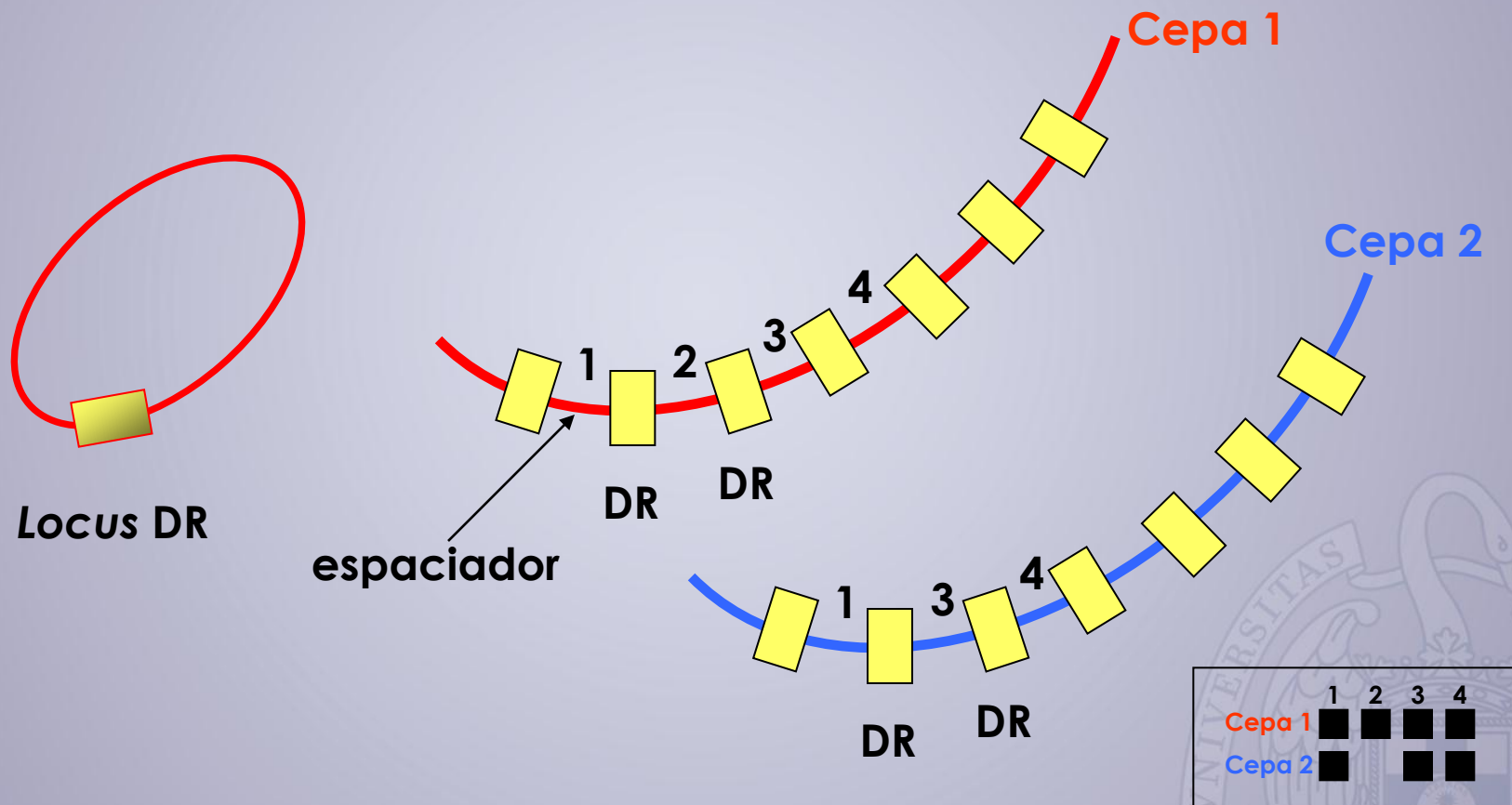
→ Género *Mycobacterium*

→ Complejo *Mycobacterium tuberculosis*

→ *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*



Direct Variable Repeat - Spacer Oligonucleotide Typing DVR-SPOLIGOTYPING



Caracterización molecular: DVR-spoligotyping

M. bovis

spb-4

spb-13

spb-23

M. tuberculosis

spt-1

M. caprae

spc-3

spc-2

spc-3

Transmisión entre explotaciones



Isolate Search: *M. bovis* en salvajes



**Base de Datos Nacional de Micobacteriosis Animal****GOBIERNO DE ESPAÑA****MINISTERIO DE MEDIO AMBIENTE Y MEDIO RURAL Y MARINO**

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA | UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

English 

[HOME](#)
[VISAVET](#)
[INVESTIGACIÓN](#)
[DOCENCIA](#)
[DIVULGACIÓN](#)
[SERVICIOS](#)
[NOTICIAS](#)
[CONTACTO](#)
[LINKS](#)

HOME \ Servicios \ Bases de datos \ mycoDB \ Isolate Search

RSS Feed Suscripción 

ISOLATE SEARCH 

Búsqueda por distintos criterios

Espoligotipo

Año

Identificación

CCAA

Provincia

Municipio

Especies animales:

☐ ALPACA (*Lama pacos*)
☐ BOVINA (*Bos taurus*)
☐ CAPRINA (*Capra aegagrus hircus*)
☐ FELINA (*Felis silvestris catus*)
☒ JABALI (*Sus scrofa*)
☐ MUFLON (*Ovis musimon*)
☐ PECARI (*Tayassus 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

Buscar


BD Nacional de Micobacteriosis Animal
Datos actualizados a 5 de octubre de 2010
Copyright © 2010 VISAVET

SPOLIGOTYPE SEARCH
Spoligotype Search: búsqueda de un espoligotipo por su código estandarizado.

ISOLATE MAPS
Isolate Maps: mapas anuales de distribución de aislamientos de micobacterias en España.
 Manual de usuario

Isolate Search: *M. bovis* en salvajes



**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](#)
[VISAVET](#)
[INVESTIGACIÓN](#)
[DOCENCIA](#)
[DIVULGACIÓN](#)
[SERVICIOS](#)
[NOTICIAS](#)
[CONTACTO](#)
[LINKS](#)

HOME \ Servicios \ Bases de datos \ mycoDB \ Isolate Search \ Resultados

ISOLATE SEARCH

2005 30 

MAPA Ciervo, Gamo, Jabali » **M. Bovis**



No mostrar leyendas ▼



Municipios

ShowMap ►

vd.90

Resultados

AISLADOS:	856
CCAA:	9
PROVINCIAS:	22
MUNICIPIOS:	95
SP. ANIMALES:	3
SP. MYCO.:	1

Accesos directos

[IsolateTable](#)
[RegionTable](#)
[AnimalTable](#)
[SpoligoTable](#)
[DataTable](#)



Información

BD Nacional de Micobacteriosis Animal
Datos actualizados a 5 de octubre de 2010
Copyright © 2010 VISAVET

Si no puede ver el mapa, [haga click aquí](#)

Basado en ALOV Map Applet (C) 2003
ALOV Software y TimeMap Project,
University of Sydney

**CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA**
UNIVERSIDAD COMPLUTENSEServicio de Micobacterias
MYC
www.vigilanciasanitaria.es

En conclusión...

- Tuberculosis bovina es enfermedad crónica, lenta... **DIFÍCIL DTO**
- Herramientas diagnósticas disponibles **MUY BUENAS**, pero hay que utilizarlas (e interpretarlas!) correctamente
- Fundamental prevenir reinfecciones (movimientos, fauna salvaje...)
- A pesar de todo... situaciones problemáticas (animales anérgicos, FP...) → % muy reducido del total (y sigue bajando!)



Muchas gracias



Julio.Alvarez@uclm.es
jalvarez@visavet.ucm.es



CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

Servicio de Micobacterias

www.vigilanciasanitaria.es

