



Erradicación de la Tuberculosis Bovina en España

Santander, 29 y 30 de junio de 2010

El diagnóstico de laboratorio y las nuevas herramientas de epidemiología molecular. Experiencias de los últimos años.

Estudios y datos representativos.

Mesa B.

Presidente: Lucas Domínguez Rodríguez. VISAVET.

Reporter: Manuel Durán Ferrer. LNR Santa Fe (M.A.R.M.)



TUBERCULOSIS2

Pruebas de diagnóstico oficial

- Técnicas de rutina:
 - IDTB simple
 - IDTB comparada (cuando proceda)
- Técnicas de laboratorio
 - test de detección de IFN- γ (complementaria)
 - Identificación del agente:
 - Análisis microbiológico
 - PCR directa
 - Estudio post-mortem de lesiones
- Diagnóstico clínico y anatomopatológico (matadero)



IDTB SIMPLE

- Conlleva la inoculación de una única dosis de tuberculina bovina
- Interpretaciones: en función de la situación epidemiológica (estricta, severa, estándar)
- Ventajas:
 - Buena sensibilidad (63.2-100%)
 - Buena especificidad (75.5-99%)
 - Probada eficacia (utilizada en otros países)
- Limitaciones:
 - Interpretación individual compleja
 - Reacciones cruzadas

Excelente prueba de rebaño, valor individual más limitado



IDTB DE COMPARACIÓN

- Inyección de tuberculina bovina y aviar (discriminación de reacciones inespecíficas)
- Utilización en explotaciones calificadas y en zonas/UVL de baja prevalencia (≈ausencia de tuberculosis)
- Ventajas
 - Mayor especificidad (78-100%) → ↓ falsos positivos
- Limitaciones
 - Menor sensibilidad (52-100%) → Uso exclusivo en ausencia de tuberculosis!!

Gran utilidad en casos de reacciones inespecíficas



DETECCIÓN DE IFN- γ

- Prueba complementaria a técnicas de rutina
- Uso para permitir la detección del máximo número de animales infectados/enfermos en una explotación o región
 - Utilización exclusivamente en situaciones donde la presencia de la enfermedad ha sido comprobada
- Ventajas
 - Incrementa la sensibilidad diagnóstica (S=73-100%)
 - Detección de infecciones tempranas
 - Complementariedad con la prueba de IDTB: uso paralelo
 - Acelera la erradicación de la enfermedad
- Inconvenientes:
 - Detección de respuestas inmunes sutiles: en ocasiones, especificidad comprometida (85-99%)



DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO (1)

- Demostración de la presencia del agente (complejo *M. tuberculosis*) en un animal/rebaño
- Un resultado positivo confirma inequívocamente la presencia de la enfermedad
- Un resultado negativo NUNCA excluye la enfermedad
- Técnicas directas:
 - Observación macroscópica de lesiones
 - Ventajas: gran utilidad para detectar falsos negativos en matadero
 - Limitaciones: poco sensible
 - Detección directa del patógeno (ADN) mediante PCR sobre tejido
 - Ventajas: rápido y específico
 - Limitaciones: sensibilidad muy variable, presencia de inhibidores



DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO (2)

- Aislamiento bacteriológico del agente: confirmación de enfermedad (reactores, decomisos)
 - Ventajas
 - Método 100% específico
 - Imprescindible para aplicar técnicas de caracterización molecular → epidemiología
 - Monitorización de los progresos del programa de erradicación
 - Limitaciones
 - Muy dependiente de la muestra de partida
 - Sensibilidad variable: resultado negativo NO excluye la enfermedad
 - Personal/equipamiento cualificado
 - Método laborioso, crecimiento lento (42-90 días para cultivos negativos)



DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO (3)

- Caracterización molecular del agente causal: análisis de regiones variables de su ADN
- Varias técnicas disponibles: espoligotipado (base de datos nacional), VNTRs...
 - Ventajas
 - Establecimiento/comprobación de vínculos epidemiológicos: trazado de brotes
 - Detección de cepas de alta circulación
 - Inconvenientes
 - Personal/equipamiento especializado
 - Es necesario el aislamiento previo del patógeno



PROBLEMAS DIAGNÓSTICOS

- Relacionados con pruebas diagnósticas
 - Problemas de sensibilidad
 - Fases prealérgicas – anérgicas (latencia, generalización)
 - Presencia de otras bacterias
 - Inmunosupresión (fármacos, patógenos, estrés)
 - Realización de la prueba



PROBLEMAS DIAGNÓSTICOS (2)

- Relacionados con las pruebas diagnósticas (2)
 - Problemas de especificidad:
 - Reacciones cruzadas (otras micobacterias)
 - En ocasiones: difíciles de caracterizar

➤ **APLICACIÓN DE LAS HERRAMIENTAS DIAGNÓSTICAS DISPONIBLES (\uparrow S Vs. \uparrow E)**

➤ **ANÁLISIS DE TODA LA INFORMACIÓN (ANIMAL-ENTORNO-AGENTE)**



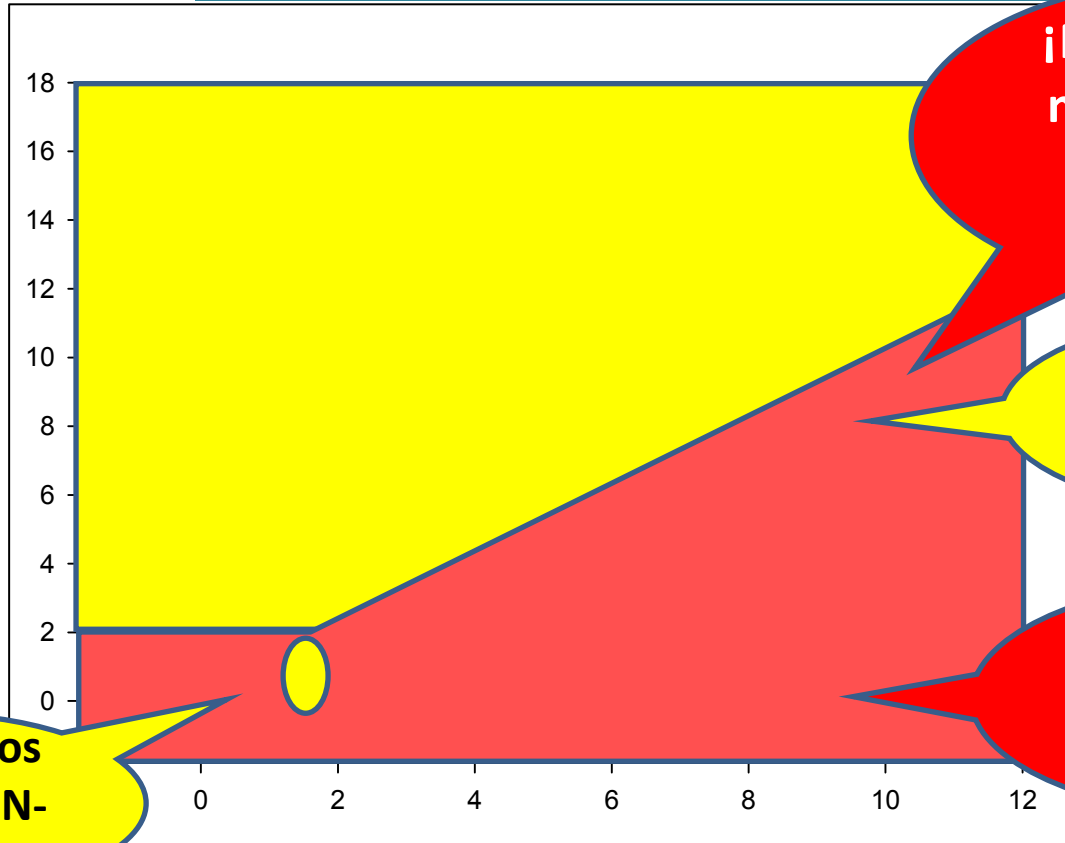
- EJEMPLO 1: Utilidad del uso paralelo de IDTB simple y IFN- γ con distintos puntos de corte

APLICACIÓN DE PRUEBAS DIAGNÓSTICAS

● IFN+
▲ IFN-

Dif. Bov.

Animales con tuberculosis (n=131)



¡Detectados solo por IFN- γ ! (26/38)

¡No detectados mediante IDTB comparada! (75/131)

¡Detectados por IDTB simple! (93/131)

¡No detectados mediante IDTB simple! (38/131)

Dif. Aviar.

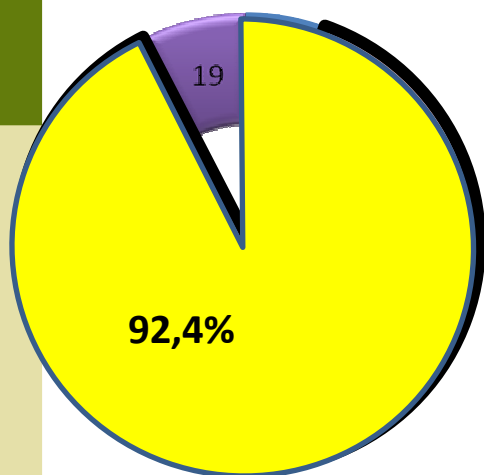


APLICACIÓN DE PRUEBAS DIAGNÓSTICAS

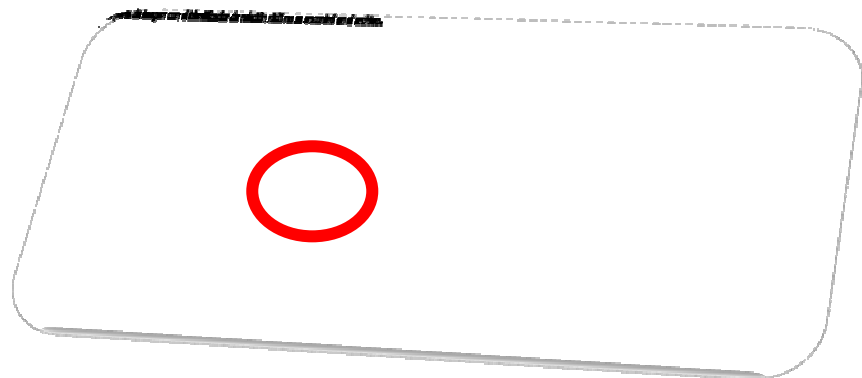
■ EJEMPLO 2: utilidad del IFN- γ como técnica complementaria a la IDTB: 1120 animales con cultivo (251 cultivos positivos) de explotaciones detectadas por IDTB

- 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





PRUEBAS DE LABORATORIO: CONCLUSIONES

- ❑ Siempre complementarias
- ❑ ¿Son necesarias? ¿por qué?
- ❑ Limitaciones y mejoras necesarias
- ❑ ¿Cuándo se aplican?
- ❑ Uso paralelo de IDTB y IFN- γ
- ❑ Utilidad del diagnóstico etiológico y espoligotipado
- ❑ Importancia del análisis de animales con lesiones en matadero



Recomendaciones??

- ❑ - Experiencia del auditorio sobre el uso en paralelo de la IDTB y el interferón gamma.
- ❑
- ❑ - La información sobre el diagnóstico etiológico. ¿es realmente útil y utilizado por los servicios veterinarios?
- ❑
- ❑ - La información sobre el espoligotipado ¿se utiliza para programar las actuaciones sobre las explotaciones?
- ❑
- ❑ - Los protocolos disponibles (manuales de procedimiento editados) ¿son prácticos y suficientes para garantizar un diagnóstico de laboratorio coordinado entre todos los agentes implicados?
- ❑
- ❑ - ¿Sería necesario un protocolo para la investigación de sospechas de falsas reacciones positivas?
- ❑
- ❑ - La capacidad de diagnóstico de laboratorio de la TB ¿es suficiente? ¿es necesario ampliarla? ¿mejorar su coordinación? ¿en qué aspectos?
- ❑
- ❑ - ¿Cuales serían los cauces a establecer para que las lesiones compatibles con la TB en los mataderos por los servicio de salud pública sean enviadas a los laboratorio para su investigación etiológica?