

PROCINORTE
Grupo de Trabajo en Salud Animal

**COLOQUIO EN LÍNEA
NORTEAMERICANO**

SOBRE

**ENFERMEDADES ANIMALES
PRIORITARIAS EN 2024:
VIRUS DE LA INFLUENZA
EMERGENTES Y ZONÓTICOS,
PESTE PORCINA AFRICANA
Y TUBERCULOSIS BOVINA**

11 al 13 de junio, 2024



www.iica.int

[@procinorte](https://twitter.com/procinorte)



www.procinorte.net

RESÚMENES



www.iica.int

[@procinorte](https://twitter.com/procinorte)



www.procinorte.net



11 de junio

Virus de la Influenza emergentes y zoonóticos



www.iica.int

[@procinorte](https://twitter.com/procinorte)



www.procinorte.net



MMC Carlos Javier Alcázar Ramiro
SENASICA, México

Situación actual de la Influenza aviar en México

La influenza aviar es causada por los virus del género Influenzavirus A, de la familia Orthomyxoviridae, los cuales están ampliamente distribuidos entre las aves silvestres sin causarles problemas significativos; sin embargo, bajo ciertas condiciones pueden infectar a las aves de corral que podrían no enfermarse, presentar un cuadro clínico leve, o bien enfermarse severamente.

Desde su aparición, los virus de la influenza aviar han causado graves repercusiones a la industria avícola de casi todos los países del mundo, aunado a los estragos que ha provocado en otras especies animales susceptibles, así como las afectaciones a la salud pública considerando su potencial zoonótico.

Por lo anterior, en nuestro país el Senasica lleva a cabo una vigilancia epidemiológica para detectar oportunamente la presencia de esta enfermedad en la avicultura nacional y fauna silvestre, por lo que, durante el periodo del 01 de enero de 2023 al 25 de mayo de 2024, se detectaron 86 casos positivos de influenza aviar de los subtipos H5N1, H5N2 y H7N3 en diferentes estados de la república mexicana.

H5N1

Se detectaron 33 casos positivos en Aguascalientes (4), Baja California (3), Chihuahua (2), Estado de México (1), Guanajuato (2), Jalisco (8), Oaxaca (1), Puebla (2), Sonora (2), Veracruz (1) y Yucatán (7), de los cuales 11 fueron identificados en aves comerciales, 7 en aves de traspatio, 1 en aves de un centro de acopio y 14 en aves silvestres, con una población aproximada de un millón 147 mil 737 aves afectadas.

H5N2

Se confirmaron 25 casos positivos en el Estado de México (3), Guanajuato (6), Jalisco (12), Michoacán (1), Puebla (2) y Tabasco (1), de los cuales 13 fueron identificados en aves comerciales, 11 en aves de traspatio y 1 en aves silvestres, con una población aproximada de un millón 536 mil 084 aves afectadas.

MMC Carlos Javier Alcázar Ramiro
SENASICA, México

H7N3

Se detectaron 28 casos positivos en Aguascalientes (2), Guanajuato (8), Jalisco (3), Michoacán (1), Puebla (12), San Luis Potosí (1) y Zacatecas (1), de los cuales 11 fueron identificados en aves comerciales y 17 en aves de traspatio, con una población aproximada de 2 millones 505 mil 719 aves afectadas.

En las unidades de producción y predios de traspatio se aplicaron las medidas contraepidémicas que consistieron en la matanza de las aves y su disposición sanitaria, limpieza, lavado y desinfección de las instalaciones, material y equipo, así como un periodo de vacío sanitario, lo que ha contribuido a controlar exhaustivamente la circulación del virus en las parvadas comerciales.

Derivado de las acciones oportunas que ha implementado el Senasica, se ha logrado controlar todos los casos de influenza aviar por lo que no se ha puesto en riesgo la avicultura nacional; no obstante, se continúa incentivando a los productores para que fortalezcan las medidas de bioseguridad en las unidades de producción avícola, teniendo hasta el 30 de abril de 2024 un total de 2 mil 712 unidades registradas con constancia de bioseguridad vigente, contando con la colaboración de más de 400 Médicos Veterinarios Responsables Autorizados en aves.

Acciones regionales y situación en influenza zoonótica en países miembros de OIRSA

Introducción:

La influenza aviar (IA) es una enfermedad viral altamente contagiosa que afecta a aves domésticas y silvestres, y ocasionalmente a mamíferos, incluidos los humanos. Existen dos tipos principales de IA: la de baja patogenicidad (IABP) y la de alta patogenicidad (IAAP), siendo esta última la más preocupante debido a su severidad y rápida propagación. Los subtipos H5 y H7 están particularmente asociados con la alta patogenicidad.

Situación Actual y Transmisión:

Desde 2020, una variante del virus de influenza aviar A(H5N1), perteneciente al clado H5 2.3.4.4b, ha causado muertes significativas en aves silvestres y de corral en África, Asia y Europa. En 2021, el virus se propagó a América del Norte, y en 2022 a América Central y del Sur, reportándose varios brotes en las Américas en 2023. La influenza aviar se transmite principalmente por vía fecal-oral, a través de alimentos y agua contaminados, así como por fómites como equipos, ropa y vehículos. La capacidad del virus para variar antigénicamente facilita la aparición de nuevos brotes.

Impacto en Aves y Mamíferos:

La IAAP afecta múltiples órganos en aves, llevando a una enfermedad severa y frecuentemente fatal. Los signos clínicos incluyen secreciones oculares y nasales, tos, hinchazón, cianosis, falta de coordinación y diarrea. En mamíferos, la detección del virus en especies como zorros, focas y visones, y la reciente identificación en vacas lecheras en Estados Unidos, genera preocupación sobre su posible adaptación para infectar a humanos con mayor facilidad.

MVZ Epi. Néstor Avendaño
OIRSA, República Dominicana

Casos Humanos y Vigilancia:

Desde 2022, se han identificado casos esporádicos de infecciones humanas por el virus A(H5N1) de la IAAP, generalmente asociados a exposiciones a aves de corral. Aunque el riesgo de transmisión de persona a persona es bajo, la evolución rápida del virus y la prevalencia global de brotes requieren vigilancia continua. En 2024, se notificaron los primeros casos probables de transmisión de mamíferos a humanos en Texas y Michigan, asociados a vacas lecheras infectadas.

Situación Regional:

En Costa Rica, Guatemala, Honduras, México y Panamá, se han detectado múltiples focos de IAAP en aves silvestres y de traspasio desde finales de 2022. Hasta la fecha, no se han identificado casos humanos en estos países, pero la vigilancia y las medidas de bioseguridad continúan siendo cruciales. La OMSA recomienda mantener y reforzar los sistemas de vigilancia y las medidas de bioseguridad en granjas, además de la notificación oportuna de brotes.

Apoyo Internacional:

Organizaciones como OIRSA apoyan a los países en la prevención y control de la IAAP mediante la provisión de materiales divulgativos, promoción de talleres de capacitación y fortalecimiento de laboratorios regionales. Se llevan a cabo proyectos específicos para la detección y control de zoonosis respiratorias en Centroamérica y República Dominicana.

Conclusión:

La presentación ofrece una actualización integral sobre el estado actual de la influenza aviar de alta patogenicidad, sus implicaciones para la salud pública y la economía, y las estrategias de prevención y control efectivas. Es esencial para profesionales en sanidad animal, productores avícolas y responsables de políticas de salud animal, mantenerse informados y preparados ante esta amenaza global.

Dr. Oliver Lung
CFIA, Canadá

Secuenciación de alto rendimiento, análisis bioinformático y notificación de virus de alta consecuencia durante la pandemia de COVID-19 y el brote de gripe aviar H5N1 - Perspectiva del Centro Nacional de Enfermedades Animales Extranjeras de la CFIA

La secuenciación permite la identificación inequívoca y la caracterización genómica exhaustiva de patógenos microbianos de infecciones conocidas, desconocidas, inesperadas y mixtas, lo que la convierte en una herramienta inestimable para las investigaciones epidemiológicas de brotes de enfermedades infecciosas. La Unidad de Genómica del Centro Nacional de Enfermedades Animales Extranjeras (NCFAD) de la Agencia Canadiense de Inspección Alimentaria (CFIA) proporciona apoyo genómico y bioinformático para brotes, diagnósticos, vigilancia e investigación de enfermedades infecciosas conocidas, nuevas e inesperadas en animales. Además de las capacidades de secuenciación de nivel de contención (CL) 2, la Unidad de Genómica del NCFAD opera una instalación única de secuenciación CL3, que permite la secuenciación conveniente de muestras de laboratorios CL3 y CL4. El uso por parte de la Unidad de Genómica del NCFAD de las tecnologías de secuenciación de lectura corta Illumina y de lectura larga Oxford Nanopore, junto con la automatización tanto en el laboratorio húmedo como en el seco, le ha permitido desarrollar la capacidad de secuenciar, analizar y caracterizar con precisión grandes volúmenes de muestras diversas. La Unidad de Genómica del NCFAD apoya y participa en proyectos de colaboración con una amplia gama de socios gubernamentales y ONG. La presentación tratará de cómo hemos estructurado nuestras operaciones para maximizar la eficiencia y la reproducibilidad mediante la automatización y el despliegue de sistemas de gestión de datos e información genómica, análisis y elaboración de informes para apoyar mejor la investigación científica y la respuesta a emergencias zoonosológicas como el actual brote de gripe aviar H5N1 y la vigilancia del SARS-CoV-2.

Dr. Anthony Signore et al
CFIA, Canadá

La filodinámica del brote de gripe aviar H5N1 en Norteamérica revela la aparición de reordenamientos con mayor aptitud física

En noviembre de 2021 se detectó por primera vez en Norteamérica un virus de la gripe aviar altamente patógena (VIAAP) de linaje A/Goose/Guangdong/1/96 con el gen de la hemaglutinina (HA) del clado 2.3.4.4b (subtipo H5N1). Esta incursión inicial dio lugar a un brote que se extendió por todo el continente, se detectó en más de 80 especies de fauna silvestre y afectó a más de 90 millones de aves domésticas en Canadá y Estados Unidos. A partir de muestras recogidas en Canadá durante este brote, el Centro Nacional de Enfermedades Animales Extranjeras ha secuenciado 2.124 genomas completos del H5N1. Estos datos, junto con otros publicados anteriormente, se utilizaron para realizar análisis filodinámicos multifacéticos. Mediante el análisis conjunto de secuencias de genomas completos, fechas de recogida, ubicaciones e información sobre hospedadores, aportamos datos sustanciales sobre la aparición, evolución, propagación espaciotemporal y dinámica de hospedadores del H5N1 en Norteamérica. Nuestros análisis revelan una importante diversificación viral, ya que 37 genotipos H5N1 distintos surgieron en Norteamérica en los 18 meses siguientes a su introducción. Pese a compartir un ancestro común reciente, estos genotipos muestran claras diferencias en cuanto a dinámica de hospedadores, distribución geográfica y aptitud relativa. Aunque los Anseriformes y los Charadriiformes son reservorios bien conocidos de los virus de la gripe aviar, nuestros análisis concluyen que los Charadriiformes desempeñaron un papel reducido en la propagación de los virus H5N1 en Norteamérica. Las reconstrucciones filogeográficas revelaron regiones geográficas que son clave para la propagación transcontinental del virus y fomentan la aparición de nuevos reagrupantes con mayor aptitud. Estos conocimientos sobre la diversificación, la dinámica de los hospedadores y la difusión espaciotemporal del virus H5N1 de la gripe aviar de alta patogenicidad servirán de base a los esfuerzos de vigilancia en curso para minimizar los daños a la salud ecológica, animal y humana a medida que estos virus sigan circulando por Norteamérica.

Dr. José Iván Sánchez Betancourt
UNAM, México

Influenza porcina en México

La influenza porcina es una enfermedad mundial que causa daño en el tracto respiratorio de los cerdos (Bouvier & Palese, 2008). El virus de influenza pertenece a la familia Orthomixoviridae y tiene un genoma compuesto por ocho segmentos de ssRNA (-), donde cada uno de ellos codifica para una o dos proteínas (Flint, J; Racaniello, 2001; King, Adams, Carstens, & Lefkowitz, 2012). La evolución de este virus ocurre a través de la deriva antigénica (Drift), caracterizada por modificaciones virales que generan cambios de aminoácidos en las proteínas hemaglutinina (HA) y en la neuraminidasa (NA); estos cambios son responsables de infecciones de influenza estacional en los cerdos (Carrat & Flahault, 2007; Treanor, 2004). Por otro lado, estos virus pueden tener cambios genéticos rearrreglantes (Shift) que pueden estar asociados con la aparición de nuevos virus pandémicos; esto ocurre cuando una célula hospedera es infectada por más de un virus de influenza de diferente subtipo y parte del genoma viral se integra (rearrregla), generando una nueva variante viral (Boni, 2008; Webster, Laver, Air, & Schild, 1982; Zambon, 1999). Esta investigación fue realizada usando muestras de diferentes tejidos de 486 cerdos provenientes de 12 estados de la república Mexicana (Jalisco, estado de México, Guanajuato, Sonora, Michoacán, Puebla, Morelos, Yucatan, Queretaro, Hidalgo, Veracruz y Nuevo Leon). El criterio utilizado para la obtención de muestras fue que los cerdos presentaran signos clínicos sugestivos a una infección por influenza. Las muestras fueron remitidas y procesadas en el Laboratorio de Medicina y Zootecnia de Cerdos (DMZC) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ), de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

Las muestras de tejido fueron procesadas por qRT-PCR y posteriormente por RT-PCR simple para obtener las secuencias. A través de la secuenciación y el análisis filogenético de los ocho segmentos del genoma viral, fueron identificados los siguientes subtipos: H1N1, H3N2, H1N2 and H5N2; de los cuales el subtipo H1N1 tiene una alta relación genética con el virus de influenza humana. Adicionalmente el subtipo H1N2 está relacionado con el virus reportado en Estados Unidos, así como, dos virus más del subtipo H5N2 previamente reportado en aves. Particularmente, este es el primer reporte del subtipo H5N2 aviar, encontrado en cerdos de México.

Dr. José Iván Sánchez Betancourt
UNAM, México

El análisis de las secuencias demuestra que en la población porcina de México, circulan virus que han sufrido mutaciones puntuales-específicas, así como rearrreglos de sus proteínas con diferentes subtipos virales, los cuales han tenido éxito en la adaptación en la población porcina Mexicana.

Origen de los segmentos genéticos de los virus de influenza porcina identificados en México

SEGMENT	1	2	3	4	5	6	7	8
PROTEIN	PB2	PB1	PA	HA	NP	NA	M	NS
<i>A/swine/Mexico/GtoDMZC01/2014(H1N2)</i>	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>A/swine/Mexico/GtoDMZC02/2014(H5N2)</i>	C	C	C	C	C	C	C	C
<i>A/swine/Mexico/EdoMexDMZC03/2015(H5N2)</i>	C	C	C	C	C	C	C	C
<i>A/swine/Mexico/GtoDMZC04/2015(H1N1)</i>	H	H	H	H	H	H	H	H
<i>A/swine/Mexico/JalDMZC05/2015(H1N1)</i>	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>A/swine/Mexico/GtoDMZC09/2015(H1N1)</i>	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>A/swine/Mexico/HgoDMZC11/2015(H3N2)</i>	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>A/swine/Mexico/JalDMZC12/2015(H3N2)</i>	S	S	S	S	S	S	S	S

Los aislamientos virales mexicanos están localizados en la columna izquierda y los segmentos de cada proteína está representado con un color dependiendo del subtipo viral al que pertenecen. H1N1 (azul), H3N2 (rosa), H1N2 (gris) and H5N2 (naranja). Las letras que están dentro de los cuadros indican las especies que corresponde: cerdo (S), ave (C) y humano (H).

Este estudio da evidencia de nuevos subtipos virales de influenza que están genéticamente relacionados y son rearrreglantes con virus humanos y otras especies.

Referencia principal de la información:

- Saavedra Montañez Manuel, Vaca Luis, Ramírez Mendoza Humberto, Gaitán Peredo Carmen, Bautista-Martínez Rebeca, Segura-Velázquez René, Cervantes-Torres Jacquelynne, Sánchez-Betancourt José Ivan. Identification and genomic characterization of influenza viruses with different origin in Mexican pigs, *Transbound Emerg Dis*, 2018, DOI: 10.1111/tbed.12998.

Dr. José Iván Sánchez Betancourt
UNAM, México

Referencias:

- Bouvier, N. M., & Palese, P. (2008). The biology of influenza viruses. *Vaccine*, 26, D49–D53. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2008.07.039>.
- Flint, J; Racaniello, V. (2001). Principles of virology. Knipe DM, Howley PM (Eds) Fields Virology. Lippincot Williams and Wilkins, Philadelphia.
- King, A. M. Q., Adams, M. J., Carstens, E. B., & Lefkowitz, E. J. (2012). Virus Taxonomy Classification and Nomenclature of Viruses Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses.
- Carrat, F., & Flahault, A. (2007). Influenza vaccine: The challenge of antigenic drift. *Vaccine*. 25,6852-6862. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2007.07.027>.
- Treanor, J. (2004). Influenza Vaccine – Outmaneuvering Antigenic Shift and Drift. *New England Journal of Medicine*, 350, 218–220. <https://doi.org/10.1056/NEJMp038238>.
- Boni, M. F. (2008). Vaccination and antigenic drift in influenza. *Vaccine*, 26,C8-C14 <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2008.04.011>
- Webster, R. G., Laver, W. G., Air, G. M., & Schild, G. C. (1982). Molecular mechanisms of variation in influenza viruses. *Nature*, 296, 115–121. <https://doi.org/10.1038/296115a0>
- Zambon, M. C. (1999). Epidemiology and pathogenesis of influenza. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 44, 3-9. https://doi.org/10.1093/jac/44.suppl_2.

Dr. Alberto Jorge Galindo Barboza et al
UNAM, México

Influenza porcina: Situación serológica y molecular en el estado de Jalisco

Se realizó un estudio de conveniencia en granjas porcinas. Se recogieron muestras de hisopos nasales y fluidos orales de cerdos de 13 granjas con un historial clínico de enfermedad respiratoria asociada al virus de la gripe porcina. Se recogieron 5 muestras individuales de suero de la línea de producción (3-21 semanas de edad). Se identificaron 4 granjas positivas en muestras de hisopos nasales (5/33,15%) y dos granjas en muestras de fluidos orales (2/7,28%) mediante RT-PCR en tiempo real. La secuenciación permitió identificar dos subtipos principales, H3N1 y H3N2. En todos los casos, las secuencias obtenidas de HA corresponden a subtipos de origen porcino, identificados en Norteamérica o EEUU; para NA, cuatro secuencias obtenidas son de origen porcino y dos de virus identificados como influenza humana; las muestras corresponden a cepas mexicanas o de EEUU. En relación a la detección de anticuerpos, se identificó positividad en todas las granjas analizadas, sin embargo, hubo individuos negativos o con títulos bajos. Los títulos promedio más altos para el subtipo H1N1 se identificaron entre las semanas 12 y 18. En el caso del subtipo H3N2, los títulos medios más elevados se registraron en las semanas 6 y 9.

Proyecto de financiamiento: SIGI No. 7285536076 y FONSEC SADER-CONACYT 2017-06-292826.

12 de junio

Peste porcina africana



www.iica.int

[@procinorte](https://twitter.com/procinorte)



www.procinorte.net



**Dra. Silvia Kreindel
Dra. Yussaira Castillo et al
USDA, USA y República Dominicana**

Peste porcina africana en la República Dominicana - Actualización del USDA/APHIS a los tres años de su detección

En 2021, la PPA se detectó en la República Dominicana (RD) y Haití. Juntos, estos países forman la isla de La Española. Ambos países se vieron afectados anteriormente por la PPA en 1978, a lo que hicieron frente erradicando todos los cerdos susceptibles de la isla. En respuesta a la reintroducción de 2021, el Gobierno de la República Dominicana y la autoridad veterinaria, con apoyo internacional, emplearon una serie de estrategias de emergencia centradas en contener y erradicar la enfermedad.

Desde que la peste porcina africana (PPA) se detectó en la República Dominicana en julio de 2021, ha afectado negativamente al sector porcino del país. Evaluar la situación epidemiológica es crucial para ayudar a las autoridades locales y a las partes interesadas del sector a controlar la enfermedad. Aquí se evaluaron los datos sobre brotes notificados en la República Dominicana. Se clasificaron y resumieron los datos sobre presentación clínica, medidas de bioseguridad y presuntas razones de introducción. La mayoría (78%) de los brotes se produjeron en granjas de traspatio con una bioseguridad generalmente deficiente. En todos los tipos de explotaciones, la mayoría de los cerdos seguían vivos en el momento de la despoblación.

Estos resultados proporcionan información crítica sobre el estado de la epidemia de PPA en la República Dominicana y ayudarán a los funcionarios del gobierno y a los líderes regionales de la industria porcina a desarrollar estrategias efectivas de control de la PPA.

Dr. Aruna Ambagala
Dra. Kalhari Goonewardene
CFIA, Canadá

Nuevas herramientas de diagnóstico para la detección precoz de la PPA

El virus de la peste porcina africana (VPPA) sigue propagándose por todo el mundo y se ha acercado a Norteamérica. En consecuencia, se han intensificado las medidas de vigilancia para proteger a las cabañas porcinas norteamericanas. Los científicos han desarrollado y explorado nuevas herramientas de diagnóstico, centrándose en tipos de muestras alternativas menos invasivas y ensayos desplegados sobre el terreno para mejorar la capacidad de detección precoz.

El fluido oral es un tipo de muestra agregada no invasiva que se utiliza ampliamente en la industria para detectar varios patógenos porcinos endémicos. Utilizando cuatro experimentos independientes con animales demostramos que el material genómico del ASFV puede ser detectado en muestras de fluido oral basadas en corrales tan pronto como 3-5 días post infección (dpi) en la prevalencia de corrales en su punto más bajo (4-5%). Una validación de campo a gran escala llevada a cabo durante 2021 - 2023 en Vietnam soportando condiciones de campo altamente incontrolables indicó la detección genómica del ASFV dentro de 0-3 días de la identificación de la primera viremia en un corral dado.

Los fluidos de procesado (PF) son otro tipo de muestra agregada generada a partir de la práctica industrial del procesado de lechones. Utilizando dos cepas moderadamente virulentas del virus de la peste porcina africana, demostramos que el genoma del virus de la peste porcina africana podía detectarse en los fluidos de procesado tan pronto como a los 3-4 días. La vigilancia pasiva de cerdos muertos basada en las muestras de tejido individuales recomendadas por la WOAHP requiere abrir los canales. Esto lleva mucho tiempo, requiere mano de obra cualificada y a menudo provoca la contaminación de las instalaciones. Demostramos que los ganglios linfáticos inguinales superficiales (SILN), que pueden recogerse en minutos sin contaminación ambiental o con una contaminación mínima de cerdos muertos, pueden utilizarse para detectar cerdos sucumbidos a cepas de VPPA de virulencia alta y moderada con una sensibilidad del 100%.

Dr. Aruna Ambagala
Dra. Kalhari Goonewardene
CFIA, Canadá

El virus de la peste porcina africana puede sobrevivir en la carne y los productos cárnicos durante varios meses, lo que conduce a la transmisión a larga distancia de la enfermedad. Utilizando cepas de alta, moderada y baja virulencia del virus de la peste porcina africana, hemos demostrado que el exudado de la carne puede utilizarse para detectar tanto material genómico como anticuerpos contra el virus de la peste porcina africana.

Los ensayos portátiles desplegados sobre el terreno pueden utilizarse cuando el acceso al laboratorio es limitado. Los termocicladores portátiles alimentados por batería proporcionan una capacidad de análisis molecular práctica sobre el terreno. Las pruebas de validación sobre el terreno realizadas con un instrumento portátil de PCR en tiempo real han demostrado la transferencia satisfactoria del ensayo de PCR en tiempo real de diagnóstico del VPPA para realizar pruebas sobre el terreno con alta sensibilidad y especificidad.

Los ensayos de flujo lateral (LFA) basados en anticuerpos son baratos, rápidos y fáciles de realizar en el campo. Se evaluaron algunos ensayos comerciales de LFA para la detección del antígeno del virus de la peste porcina africana. Los ensayos fueron menos sensibles comparados con los moleculares, pero pueden usarse a nivel de rebaño cuando no es posible el acceso a ensayos moleculares portátiles o a laboratorios centrales.

En conclusión, estos nuevos tipos alternativos de muestras, que permiten una recogida eficaz para la vigilancia y el control de brotes, y las plataformas de pruebas con portabilidad y utilidad sobre el terreno, están beneficiando definitivamente a los países que luchan actualmente contra la PPA y a la región norteamericana para mantener la PPA fuera de su suelo.

Dra. Sandra Julieta Cuevas Romero et al
INIFAP, México

Desarrollo de capacidades para el diagnóstico de la PPA en México: Generación de reactivos necesarios para ensayos serológicos

La peste porcina africana (PPA) es una enfermedad que afecta tanto a cerdos domésticos como salvajes y se ha extendido por Europa Central, Asia Oriental y Sudoriental y África. Recientemente se ha detectado el virus de la PPA en la República Dominicana y Haití, lo que supone el primer diagnóstico de la enfermedad en el hemisferio occidental en casi 40 años. Este hecho supone un riesgo significativo para el resto de las Américas y supone una carga importante para las autoridades sanitarias a la hora de implementar medidas apropiadas para evitar la propagación de la PPA a cualquier otra nación de las Américas. El objetivo de este Proyecto de Investigación titulado «Desarrollo de capacidades para el diagnóstico de la PPA en México: Generación de reactivos requeridos para ensayos serológicos» es sentar las bases para el desarrollo de herramientas de diagnóstico para la detección temprana y a gran escala de la PPA que puedan ser utilizadas en laboratorios de bioseguridad nivel 2 en México. El objetivo general es producir dos proteínas recombinantes (p30 y p72 del virus de la PPA) en nuestro sistema de vectores E. coli de bajo coste. Estos antígenos pueden utilizarse para crear técnicas serológicas como ELISA indirecto (I-ELISA), que detecta anticuerpos en un ensayo sensible y específico. La cepa de referencia para este experimento fue la peste porcina africana, identificada en Georgia en 2007. Se utilizaron cinco ORF de cinco proteínas diferentes de la PPA (p, 30, 54, 72, 49 y 205) para convertir la cepa de Escherichia coli (E. coli) TOP10, que sirvió de huésped de clonación, con el plásmido PASK 33 BSA. Estas dos proteínas (p30 y 72) fueron elegidas como antígenos potenciales para este estudio. Se realizó una investigación bioinformática de las proteínas p72 ASF utilizando la técnica de Máxima Verosimilitud, y en este análisis participaron 34 secuencias de aminoácidos, con un total de 647 localizaciones en el conjunto de datos final indican un 99,54% de identidad relacionada con las secuencias del Genotipo I, 100% de identidad con el Genotipo II (20/30), y 97,83% con otros genotipos.

Dra. Sandra Julieta Cuevas Romero et al
INIFAP, México

El mismo estudio se realizó con la proteína p30 de la PPA, y los resultados muestran un 97,85% de identidad con las secuencias del Genotipo I, un 100% de identidad con el Genotipo II (9/42) y un 83,94% con otros genotipos. Esta investigación demuestra que p72 y p30 son proteínas conservadas y son proteínas representativas adecuadas del virus de la PPA para crear en un sistema de expresión recombinante y obtener las proteínas para su adaptación al ELISA indirecto.

Dr. José Luis Cerriteño Sánchez et al
INIFAP, México

Construcción de un sistema de expresión de proteínas recombinantes de la PPA

La producción de carne y productos porcinos es un reto constante para la industria debido a las enfermedades epidémicas que afectan a este sector. Los ensayos serológicos, especialmente ELISA, son críticos para la vigilancia con el fin de recuperar la libertad después de un potencial brote de peste porcina africana (PPA). Actualmente todos los kits de ELISA para ASFV se producen fuera de México y son caros. El objetivo de este trabajo fue producir dos proteínas recombinantes (p30 y p72 del ASFV) que puedan ser utilizadas para desarrollar herramientas serológicas como ELISA indirecto. La antigenicidad de las proteínas p30 y p72 de la peste porcina africana se caracterizó en análisis in silico para predecir los sitios antigénicos y seleccionar la región proteica adecuada para la expresión, que contiene los epítomos y el sitio antigénico más representativos. La caracterización in silico de la antigenicidad de la proteína p30 estaba compuesta por 194 residuos de aminoácidos y un peso de 22,39 kDa. La proteína amplificada pesaba 19,983 kDa y contenía 174 residuos de aminoácidos, empezando por el ácido glutámico (Glu, E) en el residuo 12 y terminando con la leucina (Leu, L) en el residuo 186. El índice de antigenicidad se determinó utilizando la probabilidad de superficie, y las regiones hidrofílicas revelaron la presencia de 7 determinantes antigénicos (epítomos) y un sitio glucosilado. Por otra parte, la secuencia completa de la proteína p72 estaba formada por 646 residuos de aminoácidos y un peso de 73.155 kDa. El fragmento de proteína tiene un peso de 28.651 kDa con 254 residuos de aminoácidos, comienza con ácido glutámico (Glu, E) en el residuo 73 y termina con prolina (Pro, P) en el residuo 326, seleccionado de la región N terminal con mayor índice de antigenicidad, probabilidad de superficie, con regiones hidrofílicas, con presencia de diez determinantes antigénicos (epítomos) y un sitio glicosilado. La transformación de dos proteínas se llevó a cabo en la bacteria *E. coli* Top10 para obtener el inserto, que luego se utilizó para obtener cepas productoras transformadas. En este enfoque, la cepa BL21 sirvió como vector de expresión recombinante. Una vez generado el vector en *E. coli* TOP 10, puede transformarse en *E. coli* BL21, una cepa diseñada específicamente para la producción de proteínas recombinantes.

Dr. José Luis Cerriteño Sánchez et al
INIFAP, México

Esta estrategia se utiliza para garantizar la estabilidad y la correcta replicación del vector antes de su introducción en la cepa BL21, optimizando así la producción de la proteína recombinante. La antigenicidad, especificidad y expresión de las proteínas recombinantes (p30 y p72) se evaluaron mediante análisis de Western Blot (WB). Por último, se desarrolló con éxito un sistema de expresión recombinante en E.coli como vector de expresión de las proteínas p72 y p30 del virus de la peste porcina africana, lo que permitirá la etapa de adaptación a la técnica ELISA indirecta. Para ello se utilizarán sueros de referencia para la PPA disponibles en el CFIA-National Centre for Foreign Animal Disease, Winnipeg, Canadá. NCFAD.

MVZ Alonso Steffani
OIRSA, República Dominicana

Peste porcina africana. Situación actual y acciones en países libres de la región (OIRSA)

El 28 de julio del 2021 se confirma diagnóstico de PPA en muestras porcinas de la RD. Las muestras fueron analizadas en Foreign Animal Disease Diagnostic Laboratory (FADDL) en los Estados Unidos. El virus fue aislado y secuenciado. Oficialmente, fue notificada a la Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA) y declarada emergencia sanitaria en el país.

APOYO DEL OIRSA EN RD

El OIRSA, por solicitud del Ministerio de Agricultura y la Dirección General de Ganadería de RD (MARD- DIGEGA), asiste y acompaña la respuesta del país ante la emergencia por vPPA desde la creación de un plan de acción e implementación de la primera Comisión de Alto Nivel para desarrollar las acciones a tomar en lo inmediato hasta las acciones en la actualidad.

En este sentido, se han llevado a cabo acciones desde la contención del brote, desarrollo de jornadas de capacitación continua al servicio veterinario oficial de RD, fortalecimiento de la capacidad diagnóstica en el laboratorio oficial de salud animal (LAVECEN), incluyendo la acreditación internacional de las pruebas para PPA y PPC bajo la norma ISO 17025: 2017; campañas de divulgación al público en general, la sistematización de los procesos a través del aplicativo oficial del MARD, sistema de información agropecuaria SIDIAGRO, lo que permite contar con la información sobre explotaciones porcinas a nivel nacional.

Así mismo, se ha fortalecido la capacidad de los servicios cuarentenarios nacionales, a través de la formación y puesta en operación de unidades caninas detectoras agropecuarias con énfasis en productos y subproductos derivados del cerdo, gracias al apoyo brindado por la Escuela Canina de SENASICA, MEXICO, y la Escuela Canina de Panamá.

MVZ Alonso Steffani
OIRSA, República Dominicana

Dichos binomios también sirvieron de soporte en la campaña de divulgación sobre la PPA para viajeros en aeropuertos.

Adicionalmente, a través de la alianza estratégica entre el MARD, El Servicio de Inspección de Plantas y Animales del Departamento de Agricultura de EEUU (USDA-APHIS), y el OIRSA, se implementaron acciones que le han permitido al país fortalecer la respuesta en campo, manteniendo y aumentando las acciones de control y erradicación, así como el incremento de la bioseguridad y digitalización de procesos en el LAVECEN, y el fortalecimiento de los servicios cuarentenarios nacionales, tanto de salida como de entrada al país.

APOYO DEL OIRSA EN PAÍSES LIBRES

En los países libres de la región OIRSA, se acompaña a los países en la elaboración de planes de trabajo que incluyen acciones como:

- El fortalecimiento de la capacidad diagnóstica en la región
- Fortalecimiento de la capacidad técnica y respuesta en campo de los Servicios Veterinarios Oficiales de los países.
- Creación, actualización y divulgación de material informativo para todo público sobre el vPPA.
- Implementación y puesta en operación de inspecciones no intrusivas en las cuarentenas de entrada de los países utilizando binomios caninos detectores agropecuarios, gracias a la colaboración de las escuelas caninas de México y Panamá.
- Creación de una Comisión Técnica Regional de Sanidad Porcina.
- Gestión constante de recursos para fortalecer los planes de prevención y exclusión del vPPA.

CONCLUSIÓN

Gracias a las medidas tomadas por los países y la disposición de grandes cooperantes para brindar apoyo estratégico, el vPPA se ha contenido dentro del territorio dominicano, manteniendo así los países del centro y el norte del continente americano libres de la enfermedad, como fruto de la implementación de inspección no intrusiva utilizando binomios caninos detectores agropecuarios en la salida de los aeropuertos internacionales, y la puesta en marcha de regulaciones nacionales que fortalecen esta actividad.

MVZ Alejandro Zaldívar Gómez
MVZ Andrés Josafat Iniesta Valencia
SENASICA, México

Avances en el desarrollo de una herramienta cuantitativa para evaluar el riesgo de introducción de la PPA en México

México enfrenta una amenaza constante por la Peste Porcina Africana (PPA), una enfermedad viral altamente contagiosa que afecta a los cerdos y que ha causado importantes pérdidas en la industria porcina global. La implementación de herramientas para el análisis y la gestión del riesgo de PPA es crucial para proteger la salud animal y la economía del país. Actualmente, las plataformas de análisis de riesgo disponibles son costosas o requieren capacitación especializada para su manejo, lo que limita su accesibilidad para los Servicios Veterinarios y otros profesionales del sector. En respuesta a esta necesidad, se tiene como objetivo desarrollar una plataforma interactiva, accesible y escalable que facilite los análisis de riesgo tanto cualitativos como cuantitativos, para evaluar el riesgo de introducción y diseminación de la PPA en México.

En la fase inicial del proyecto, se han identificado las bases de datos necesarias para la evaluación del riesgo de introducción y diseminación de la PPA en México. En dicha estrategia, se ha reconocido la importancia de enfocar el análisis en la diseminación de la enfermedad, debido a la ausencia de estudios previos sobre este aspecto, ya que los Servicios Veterinarios nacionales principalmente han evaluado el riesgo de introducción de la enfermedad.

La plataforma se ha desarrollado utilizando Shiny, una librería de RStudio que permite la creación de aplicaciones web interactivas. Mientras que, la programación se ha realizado en R, un lenguaje de programación de libre acceso, diseñado para el análisis estadístico y la visualización de datos. Además, ofrece ventajas competitivas, incluyendo la escalabilidad y una comunidad activa que contribuye continuamente a su desarrollo y mejora.

MVZ Alejandro Zaldívar Gómez
MVZ Andrés Josafat Iniesta Valencia
SENASICA, México

De igual manera, el diagnóstico inicial reveló la necesidad de enfocar los esfuerzos en la optimización de la entrada de datos y la construcción de los árboles de escenarios que permitan operacionalizar las funciones de la plataforma. Este enfoque sistemático asegura que los datos sean integrados y analizados de manera consistente para garantizar la coherencia y reproducibilidad de los análisis de riesgo.

La plataforma, busca desarrollar un entorno intuitivo que simplifique la entrada y análisis de datos, así como, construir una rutina de trabajo que permita a los usuarios realizar análisis de riesgo cualitativos y cuantitativos, además de generar reportes y visualizaciones que faciliten la toma de decisiones informadas.

Los resultados preliminares señalan que la plataforma tiene el potencial de convertirse en una herramienta para la gestión del riesgo de PPA, lo que representa un paso significativo en la capacidad de México para abordar dicho riesgo. En las siguientes etapas del proyecto, se plantea llevar a cabo evaluaciones de riesgo regionales y profundizar los análisis cuantitativos.

Durante el proceso se ha conseguido encaminar la herramienta para que esta pueda ser de utilidad en diversos aspectos sanitarios. Asimismo, a través de la información con la que se nutre al desarrollo del proyecto, relativa al análisis de riesgo, se espera tener una transición del análisis cualitativo a cuantitativo a nivel interno.

Se han realizado diversas reuniones entre los desarrolladores y el área técnica, donde se ha logrado identificar que el proyecto puede ser transversal, y si se cambian algunas variables, la herramienta podría ser utilizada para realizar análisis de otras enfermedades.

Para consolidar lo anterior, se debe tener conocimiento del programa R, por ello los desarrolladores han capacitado al área, para poder manejar de este lenguaje, ya que se considera de suma importancia que la misma trascienda y no sea estática para una sola enfermedad.

Dr. Aruna Ambagala
Dra. Kalhari Goonewardene et al
CFIA, Canadá

Caracterización de un aislado de campo del virus de la peste porcina africana con deleciones en la región MGF de Vietnam

Desde la introducción del virus de la peste porcina africana en Asia, la aparición de cepas atenuadas de forma natural o introducidas ilegalmente ha sido motivo de gran preocupación. Estas preocupaciones se hicieron realidad más tarde, cuando China informó de la identificación de cepas vivas atenuadas del virus de la PPA que circulaban en granjas porcinas. Aquí presentamos la caracterización de una cepa de campo del VPA atenuada genéticamente aislada de una granja familiar que experimentó brotes de VPA en el norte de Vietnam. El aislado, ASFV-GUS-Vietnam, pertenece al genotipo II p72, tiene eliminados seis genes de la familia multigénica (MGF) e insertado un gen GUS (GUS) de *Escherichia coli*. Cuando se inoculó el virus por vía oro-nasal a seis cerdos de 6-8 semanas de edad (2×10^5 TCID₅₀/cerdo), éstos desarrollaron viremia, fiebre leve, letargo e inapetencia, y eliminaron el virus en secreciones orales y nasales y en las heces. Uno de los cerdos desarrolló signos clínicos graves y fue eutanasiado 12 días después de la infección, mientras que los cinco restantes se recuperaron. Cuando se inoculó ASFV-GUS-Vietnam por vía intramuscular (2×10^3 TCID₅₀/cerdo) a cuatro cerdos de 6-8 semanas de edad, éstos también desarrollaron viremia, fiebre leve, letargia, inapetencia y eliminaron el virus en sus secreciones orales y nasales y en las heces. Dos cerdos de contacto alojados junto con los cuatro cerdos inoculados por vía intramuscular, empezaron a desarrollar fiebre, viremia, pérdida de apetito y letargo 12 días después del contacto, confirmando la transmisión horizontal del virus de la peste porcina africana-GUS-Vietnam. Uno de los cerdos de contacto murió de PPA el día 23 post-contacto, mientras que el otro se recuperó. Los cerdos que sobrevivieron a la exposición al virus de la PPA-GUS-Vietnam por vía mucosa o parenteral estaban totalmente protegidos contra el desafío altamente virulento de Georgia 2007/1.

Este estudio muestra que el aislado de campo ASFV-GUS-Vietnam es capaz de inducir una protección completa contra el desafío homólogo altamente virulento del ASFV en

Dr. Aruna Ambagala
Dra. Kalhari Goonewardene et al
CFIA, Canadá

la mayoría de los cerdos, pero tiene el potencial de transmisión horizontal, y puede ser fatal en algunos animales. El estudio subraya la necesidad de un seguimiento y una vigilancia adecuados cuando se utilicen vacunas a base de virus vivos atenuados contra la PPA en países endémicos.

Dr. Douglas Gladue
Veterinary Pharmaceuticals Seek Labs, USA

Entender la genómica del virus de la peste porcina africana y sus implicaciones para los enfoques terapéuticos o preventivos

El virus de la peste porcina africana (VPPA) contiene un complejo genoma de ADN que suele contener entre 180 y 190 marcos de lectura abiertos. Aunque el virus de la peste porcina africana lleva causando brotes desde 1921, el análisis de su genoma se ha limitado sobre todo a la secuenciación de un único gen para el seguimiento de la enfermedad, y sólo unos pocos genomas seleccionados se han secuenciado por completo. Sin embargo, desde el reciente coste relativamente bajo de la secuenciación de nueva generación, muchos investigadores han secuenciado completamente aislados del virus de la PPA. Recientemente, el análisis comparativo de los genomas completos del ASFV ha dado lugar a la caracterización mediante el análisis del genoma completo o de los biotipos. Esta información proporciona información adicional sobre posibles dianas para uso terapéutico, así como la posibilidad de determinar agrupaciones para la predicción de coincidencias de vacunas. Esta nueva información ha sido fundamental para determinar posibles tratamientos universales para el VPA. Aquí discutiremos el potencial del tratamiento CRISPR del VPA, con un tratamiento CRISPR de primera generación que resultó en un 57% de protección contra el desafío intramuscular del VPA virulento de la cepa del brote actual en Asia.

13 de junio

Tuberculosis bovina



www.iica.int

[@procinorte](https://twitter.com/procinorte)



www.procinorte.net



Dra. Olga Andrievskaia
CFIA, Canadá

Diversidad genética de las cepas de *Mycobacterium bovis* en Canadá: actualización

La tuberculosis bovina (TBb) es una importante enfermedad infecciosa que supone un riesgo para la salud pública, el ganado y la fauna salvaje. En Canadá, el Programa Nacional de Erradicación de la Tuberculosis Bovina, obligatorio desde hace un siglo, ha eliminado prácticamente la enfermedad en el ganado, con sólo algunos brotes esporádicos. En los últimos diez años, se han notificado tres brotes localizados de bTb en ganado canadiense: en Alberta en 2016 (AB2016), en Columbia Británica en 2018 (BC2018) y en Saskatchewan en 2023 (SK2023). La tuberculosis no se ha detectado en cérvidos salvajes en el Parque Nacional de Riding Mountain (RMNP), Manitoba, desde 2014. Sin embargo, aún persiste un reservorio de bTb en una población de bisontes de bosque en libertad en el Parque Nacional Wood Buffalo (WBNP) y sus alrededores, situado en el norte del país.

Históricamente, los brotes de bTb en el ganado canadiense se asociaban a los espoligotipos SB0130, SB0140, SB0145, SB0265, SB0673, SB1069, SB1070 y SB1071 de *Mycobacterium bovis*. La tuberculosis en la fauna silvestre fue causada por *M. bovis* spoligotypes SB130 en WBNP, y SB1071 en RMNP. Desde 2016, el genotipado basado en el polimorfismo de nucleótido único (SNP) del genoma completo se aplicó rutinariamente en investigaciones epidemiológicas para evaluar la relación genética entre los nuevos casos de bTb y los aislamientos históricos de *M. bovis*. La secuenciación del genoma completo (WGS) se realizó utilizando bibliotecas de ADN Illumina Nextera XT y la plataforma Illumina MiSeq, y los datos de secuenciación se analizaron utilizando la herramienta bioinformática vSNP (<https://github.com/USDA-VS/vSNP>).

Se utilizaron diferencias de polimorfismo de nucleótido único (SNP) para determinar las relaciones filogenéticas entre los aislados. El genotipado WGS SNP demostró claramente que cada uno de los tres brotes de bTb (AB2016, asociado con el espoligotipo SB0673 de *M. bovis*; BC2018, espoligotipo SB0971; SK2023, espoligotipo

Dra. Olga Andrievskaia
CFIA, Canadá

SB0971) fue causado por nuevas cepas genéticamente distintas que presentaban diferencias significativas de SNP en comparación con los aislados canadienses históricos de origen animal. Nuestro análisis de las secuencias genómicas disponibles de cepas canadienses de *M. bovis* de origen humano reveló una mayor diversidad de genotipos de *M. bovis*; sin embargo, no había pruebas de eventos de transmisión zoonótica y zoonótica inversa de *M. bovis* en Canadá. No se determinaron de forma concluyente las vías por las que las nuevas cepas de *M. bovis* se introdujeron esporádicamente en el ganado durante la última década.

Dr. José Ángel Gutiérrez Pabello
UNAM, México

Mayor respuesta proinflamatoria en granulomas de becerros naturalmente infectados por *Mycobacterium bovis*

Los granulomas son lesiones características de la tuberculosis bovina; el estudio de esta estructura ha mejorado nuestra comprensión de la patogénesis de la tuberculosis. Sin embargo, la respuesta inmunitaria que se desarrolla en los granulomas de bovinos jóvenes infectados naturalmente por *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*) no se ha estudiado a fondo. Nuestro trabajo anterior describió un patrón atípico en las lesiones granulomatosas de bovinos menores de 4 meses (terneros) infectados de forma natural previamente por *M. bovis* que no se correspondía con la clasificación histológica propuesta previamente. Desde el punto de vista histológico, los granulomas de terneros carecen de cápsula de tejido conjuntivo y presentan menos células gigantes multinucleadas (CGM) y más bacilos ácido-resistentes (BA) que las lesiones tuberculosas clásicas halladas en bovinos mayores de 1 año (adultos); esto sugiere una respuesta inmunitaria deficiente frente a la infección por *M. bovis* en animales jóvenes. Por lo tanto, utilizamos la IHC y el análisis de patología digital para caracterizar la respuesta inmunitaria in situ de los granulomas de bovinos jóvenes y adultos. Además, los granulomas de terneros mostraron una menor inmunomarcación de células MAC387+, CD79+ y WC1+ sin tejido conectivo alrededor de la lesión y se asociaron con menos vimentina, alfa-actina de músculo liso (α -SMA) y TGF- β en comparación con los granulomas de bovinos adultos. Nuestros resultados sugieren que las respuestas inmunitarias en los granulomas de bovinos infectados naturalmente por *M. bovis* pueden depender de la edad. Esto implica que una respuesta proinflamatoria exacerbada puede estar asociada a la tuberculosis activa, produciendo más necrosis y una menor capacidad microbicida en los granulomas de terneros infectados naturalmente por *M. bovis*.

Dr. Om Surujballi et al
CFIA, Canadá

Uso de la prueba de detección de anticuerpos contra *Mycrobacterium bovis* de IDEXX en la investigación de tres brotes de tuberculosis bovina en ganado canadiense

Canadá experimentó tres brotes de tuberculosis bovina (bTB) en ganado vacuno causada por *Mycobacterium bovis*, en los últimos diez años; en 2016, 2018 y más recientemente en 2023. En Canadá, la bTB es una enfermedad de declaración obligatoria regulada por la Agencia Canadiense de Inspección Alimentaria (CFIA). El objetivo de la política de la CFIA es erradicar la bTB en el ganado mediante la detección de todos los casos de *M. bovis*, la prevención de una mayor propagación de la enfermedad y la determinación de la extensión y el origen de la enfermedad.

La respuesta al brote tras cada detección incluyó pruebas ante mortem con la prueba cutánea del pliegue caudal (CFT), la prueba ELISA y, en un número limitado de rebaños, la prueba de interferón gamma (Bovigam®).

Los rebaños infectados/índice, así como los rebaños vinculados epidemiológicamente (rebaños de contacto, de rastreo de entrada, de rastreo de salida y de proximidad) se sometieron a protocolos de pruebas ante mortem estructurados para una sensibilidad acorde con el nivel de riesgo de la categoría del rebaño, por ejemplo, en pruebas paralelas con CFT, ELISA y, cuando fue factible, Bovigam, en rebaños con un alto riesgo de estar expuestos/infectados. ELISA se utilizó en 2016 y 2018 en diferentes categorías de rebaños, mientras que en 2023, ELISA solo se utilizó en el rebaño índice. La prueba ELISA se aplicó siempre en paralelo con la CFT.

Se aplicó una política de sacrificio sanitario en virtud de la cual se destruyeron todos los bovinos de las explotaciones de referencia y se examinaron post mortem los animales de más de 6 meses de edad.

Dr. Om Surujballi et al
CFIA, Canadá

Todos los animales reaccionantes a la prueba de la lengua azul y/o positivos a la prueba ELISA fueron sometidos a un examen post mortem reforzado, mientras que los animales negativos a la prueba fueron sometidos a un examen post mortem estándar. En los rebaños epidemiológicamente relacionados, todos los animales reaccionantes a la CFT y/o positivos a ELISA también fueron destruidos con un PM reforzado. Independientemente de los resultados de las pruebas realizadas a los animales vivos, todos los animales rastreados fueron destruidos con un examen PM.

Durante cada examen PM, se recogió un conjunto estándar de tejidos y todas las lesiones compatibles con la bTB y se enviaron para pruebas de confirmación. Las pruebas de confirmación de la tuberculosis bovina incluyen el examen histopatológico de los tejidos y la prueba PCR de los tejidos fijados en formol e incluidos en parafina (PEFF) en los que se observan organismos acidorresistentes y el cultivo bacteriológico de los tejidos para el aislamiento de *Mycobacteria* spp.

Los bovinos cuyas muestras de PEFF den resultados positivos en la PCR para organismos del Complejo *Mycobacterium Tuberculosis* (MTC) y/o en los que se cultive *M. bovis* se clasifican como infectados por tuberculosis bovina (patrón oro).

El ELISA utilizado en las tres investigaciones fue el kit Idexx® *Mycobacterium bovis* Antibody Test, que figura en el registro de kits de diagnóstico de la Organización Mundial de Sanidad Animal. Para las tres investigaciones, en la mayoría de los rebaños, el suero para ELISA se recogió el día de la inyección de tuberculina para la CFT. En algunos rebaños, el suero se recogió el día de la lectura de la CFT. Sin embargo, sólo para la investigación de 2023, se obtuvo adicionalmente una segunda serie de muestras de suero después de la CFT (en el momento del sacrificio) de 89/108 bovinos del rebaño índice.

Esta presentación se centrará en el rendimiento de la prueba serológica (Idexx ELISA) que se utilizó en las tres investigaciones y discutirá el potencial de esta o una prueba similar para ser utilizada como un diagnóstico en las investigaciones de la tuberculosis bovina, ya sea para complementar la prueba cutánea, o, como una prueba independiente para la identificación de los animales expuestos a la tuberculosis bovina. También se examinará la posibilidad de utilizar la prueba ELISA como prueba de cribado en un programa de vigilancia de la tuberculosis bovina.

Dra. Paola Boggiatto et al
USDA, USA

Vacunación oral de ciervos de cola blanca contra la tuberculosis bovina mediante la encapsulación de BCG en esferas de alginato

En Estados Unidos, el venado de cola blanca (*Odocoileus virginianus*) es un reservorio en la fauna salvaje de *Mycobacterium bovis*, el agente causante de la tuberculosis bovina. Identificado inicialmente en Michigan en 1975 y de nuevo en 1994, la prevalencia aparente de *M. bovis* en venados de cola blanca en libertad en la península baja del noreste de este estado se ha mantenido en un 1-2% durante más de una década. A pesar de los grandes esfuerzos realizados, *M. bovis* sigue siendo endémico en los ciervos y constituye una amenaza continua para los ganaderos del norte de Michigan. Anteriormente hemos demostrado que la vacunación oral de los ciervos con la vacuna contra la tuberculosis humana, el bacilo de Calmette-Guérin (BCG), puede proporcionar protección a los ciervos de cola blanca frente al desafío experimental con *M. bovis* virulento. Esta protección se caracteriza por la reducción de la gravedad de las lesiones, pero requiere la administración directa de la vacuna líquida en la cavidad oral posterior. Pese a su éxito, este método no funcionaría para la administración de vacunas en poblaciones de animales salvajes en libertad. En el trabajo que presentamos aquí, desarrollamos una plataforma de administración de vacunas utilizando alginato de sodio. Mediante un proceso de esferificación inversa, se utilizó alginato de sodio para generar esferas con un exterior blando-membranoso y un interior líquido que contenía BCG. Utilizamos estas esferas para cargar BCG y vacunar a los ciervos por vía oral permitiéndoles consumirlas. Tras la vacunación, realizamos un seguimiento de las respuestas inmunitarias de las células T periféricas para determinar si el BCG contenido en las esferas de alginato de sodio inducía respuestas inmunitarias mensurables. Nuestros datos demostraron que el consumo de las esferas provocaba la exposición al BCG y el desarrollo de respuestas inmunitarias, similares a las observadas cuando se vacuna parenteralmente a los ciervos con BCG. El trabajo aquí presentado demuestra que las esferas de alginato de sodio pueden utilizarse para administrar BCG oral a ciervos de cola blanca.

Dr. Feliciano Milián Suazo et al
UQA, México

Estrategias de vacunación contra la tuberculosis bovina

La tuberculosis bovina (TBb) se mantiene como una de las enfermedades que mayor daño causa a la ganadería de muchos países del mundo, además de ser un riesgo para la salud pública (Phillips et al., 2003). Países desarrollados han logrado reducir la prevalencia de la TBb a tasas mínimas con la estrategia de “prueba y sacrificio”, contrario a lo sucedido en países en desarrollo, donde dicha estrategia no es factible por costosa. Dada esta limitante, los productores solicitan alternativas de solución que no implique el sacrificio de animales, es aquí donde entra la posibilidad de la vacunación con la BCG; vacuna que, a pesar de ser utilizada por aproximadamente 100 años en niños, no se utiliza en el ganado.

Trabajos experimentales de la BCG con diferentes cepas, vías de aplicación y dosis vacunales y dosis de desafío, en animales domésticos y salvajes, han demostrado que la vacuna reduce significativamente el daño patológico en animales vacunados contra no vacunados. Se ha observado que dosis bajas son mejores que dosis altas, que la edad de aplicación no es un factor importante, y que el uso de un refuerzo con proteínas mejora la protección.

En estudios de campo se observó que la vacuna induce respuesta inmune similar a la observada experimentalmente, y que es totalmente segura en animales gestantes. En estos trabajos se ha observado una eficacia entre el 22 y el 86%, diferencia que puede ser debida a los parámetros usados como respuesta, desde la positividad a la prueba de la tuberculina, hasta el conteo y la clasificación de lesiones, y el aislamiento y conteo de bacterianas; son estas últimas las que reportan eficacias aproximadas al 86%. Un trabajo reciente ha demostrado que, de manera combinada, prevención de desarrollo de lesiones con prevención de diseminación, la vacuna puede alcanzar una eficacia tan alta como del 89%. Se ha demostrado también que la vacunación con BCG y/o Filtrado Proteico (CFP) no induce respuesta de IFN-gamma con los antígenos CFP-10 y ESAT-6, lo que permite hacer diagnóstico diferencial, vacunados vs infectados.

Dr. Feliciano Milián Suazo et al
UQA, México

La conclusión global es que, la vacuna, sola o combinada con proteínas como refuerzo es una herramienta que puede ayudar significativamente a los actuales programas de control para eliminar a la tuberculosis de los hatos ganaderos.

Cómo y cuándo vacunar. Depende de un diagnóstico de riesgo de infección de becerras en el hato, estudios han demostrado que la edad de los animales a vacunar no es crítica en eficacia de la vacuna. **Cepa BCG a utilizar.** Se ha demostrado que no existe diferencia significativa entre las cepas más usadas, Danish 1331; Pasteur 1173; Glaxo 107; Tokyo 172-1; Rusia-Ir; Brasil y Phipps. **Tiempo vacunando.** Depende de metas y actividades comprometidas para lograrlas, aproximadamente entre 7 y 10 años. **Vía de aplicación.** La vía subcutánea. **Dosis.** Dosis de 1×10^4 a 1×10^6 unidades formadoras de colonias. **Estrategias de vacunación.** Se puede iniciar vacunando todo el hato, vacunando vaquillas o vacunando becerras, depende de metas y tiempos para lograrlas.

Dra. Carly Kanipe
USDA, USA

Diferencias histopatológicas en los granulomas de bovinos vacunados y no vacunados contra la tuberculosis bovina

Mycobacterium bovis (*M. bovis*) es la bacteria zoonótica responsable de la tuberculosis bovina. Una forma atenuada de *M. bovis*, el bacilo de Calmette-Guerin (BCG), es una vacuna viva modificada de la que se sabe que proporciona una protección variable en bovinos y otras especies. La protección de esta vacuna se define como una reducción de la gravedad de la enfermedad más que como la prevención de la infección y se determina mediante la evaluación de la lesión característica de la tuberculosis: el granuloma. A pesar de su reconocida capacidad para disminuir la gravedad de la enfermedad, el mecanismo por el cual la BCG imparte protección sigue siendo poco conocido. Comprender las diferencias histopatológicas entre los granulomas que se forman en los vacunados con BCG y los no vacunados puede ayudar a identificar cómo la BCG imparte protección y conducir a una vacuna mejorada. Utilizando tinciones especiales y software de análisis de imágenes, examinamos 88 ganglios linfáticos obtenidos de animales vacunados con BCG y no vacunados infectados experimentalmente con *M. bovis*. Se evaluó el número de granulomas, su tamaño, gravedad (grado), densidad de células gigantes multinucleadas (MNGC) y la cantidad de necrosis, mineralización y fibrosis. Los vacunados con BCG tenían menos granulomas en general y granulomas de alto grado más pequeños con menos necrosis que los no vacunados. El número relativo de lesiones de alto y bajo grado fue similar, al igual que las cantidades de mineralización y la densidad de MNGC. La cantidad de fibrosis fue mayor en los granulomas de bajo grado de los vacunados en comparación con los no vacunados. En conjunto, estos hallazgos sugieren que la vacunación BCG reduce el establecimiento bacteriano, lo que resulta en la formación de menos granulomas. En los granulomas que se forman, la BCG tiene un efecto protector al contener su tamaño, reducir la cantidad relativa de necrosis y aumentar la fibrosis en las lesiones de bajo grado. La vacunación no afectó a la cantidad de mineralización ni a la densidad de MNGC.

Dra. Olga Andrievskaia
CFIA, Canadá

Evaluación de la secuenciación Oxford Nanopore Long Read como herramienta versátil para el genotipado de *Mycobacterium bovis* y la investigación de brotes de tuberculosis bovina

La tuberculosis bovina (bTb) es una enfermedad bacteriana zoonótica de declaración obligatoria causada principalmente por *Mycobacterium bovis*, un miembro del complejo *Mycobacterium tuberculosis* (MTC). El genotipado de los aislados de *M. bovis* es esencial para la investigación epidemiológica de los brotes de bTb y para justificar las acciones reguladoras. El espoligotipado, la tipificación por repetición en tándem de número variable (VNTR) y la tipificación por polimorfismo de nucleótido único (SNP) basada en la secuenciación del genoma completo (WGS) son métodos de genotipado que se basan en diferentes plataformas tecnológicas y varían en cuanto a su poder de resolución. En todo el mundo, estos métodos se aplican de forma desigual en los laboratorios veterinarios y de salud humana, lo que complica el intercambio de información entre las distintas jurisdicciones y la comparación con las bases de datos internacionales de genotipos de MTC. Nuestro estudio tenía como objetivo evaluar si la secuenciación de lectura larga de Oxford Nanopore puede proporcionar un único enfoque técnico para generar información precisa in silico derivada de spoligo-, VNTR-, y WGS SNP-.

Se analizaron 90 aislados canadienses de *M. bovis* recogidos entre 1985 y 2023, que representaban distintos grupos genéticos. Los aislados se secuenciaron utilizando kits de código de barras nativos, varios formatos de celda de flujo (R9.4, R10.3, R10.4) y un dispositivo Nanopore MinION MK1B. Las lecturas de secuenciación por nanoporo se marcaron en el modo de superprecisión y se analizaron con herramientas bioinformáticas:

Spoligotyper (<https://github.com/duceppemo/Spoligotyper>),
MIRUReader (<https://github.com/phglab/MIRUReader>),
and vSNP3 (<https://github.com/USDA-VS/vSNP>).

Dra. Olga Andrievskaia
CFIA, Canadá

Los resultados de la genotipificación in silico basada en la secuenciación Nanopore se compararon con los tipos spoligo- y VNTR generados mediante protocolos tradicionales de laboratorio húmedo, y con la tipificación SNP de Illumina WGS. Los tipos VNTR se identificaron con una precisión del 100% a partir de lecturas de secuenciación R9.4 Nanopore con una cobertura >50X y a partir de lecturas R10 con una cobertura >22X. La secuenciación R9.4 no generó datos para un espoligotipado in silico preciso o una asignación de clusters basada en SNP. En la secuenciación Nanopore R10 con cobertura >22 X, los espoligotipos in silico fueron identificados con una precisión del 98%, y la asignación de cepas de *M. bovis* a clusters filogenéticos basados en SNP fue concordante con la agrupación basada en Illumina y los datos epidemiológicos. Las distancias entre genomas basadas en las diferencias de SNP de Nanopore fueron mayores que las basadas en SNP de Illumina.

En general, la secuenciación de lectura larga de Oxford Nanopore puede considerarse como una alternativa versátil y rentable a los protocolos convencionales de laboratorio húmedo de genotipado de *M. bovis*. Puede proporcionar datos completos de genotipado in silico para investigaciones epidemiológicas de bTb de alta resolución e intercambio de información a gran escala entre laboratorios.

CONOCE MÁS SOBRE NOSOTROS



www.iica.int

[@procinorte](https://twitter.com/procinorte)



www.procinorte.net

