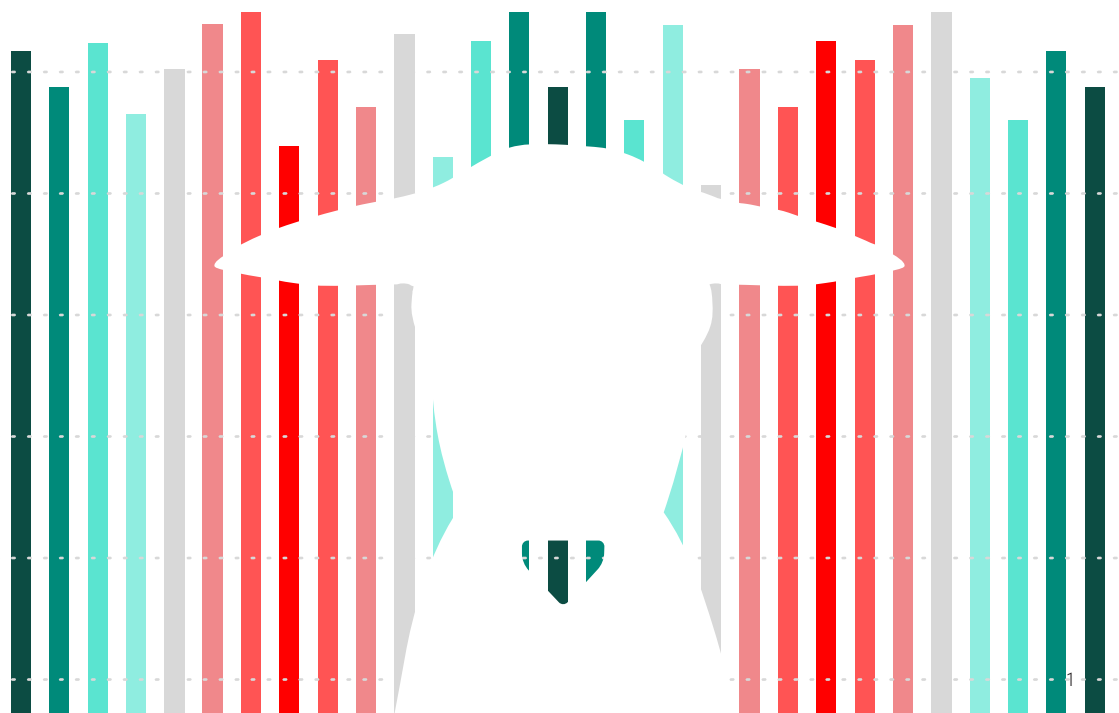


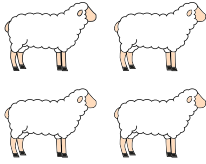
pequeños rumiantes:
etiología en
estadísticas

exopol



pequeños rumiantes:
etiología en
estadísticas

¿qué muestras debo seleccionar?



analizar **más de un animal** para que los resultados sean representativos del grupo de animales afectados

en nuestros paneles diagnósticos se incluye el análisis de hasta 5 muestras salvo en leche, que puede incluir el análisis de hasta 9.



seleccionar **animales con sintomatología clínica al inicio del proceso**: permitirá evaluar los agentes primarios desencadenantes del mismo



enviar muestras **antes de instaurar el tratamiento antibiótico**, ya que este interfiere en los resultados microbiológicos



en caso de mandar **órganos o animales**, es preferible que sean **sacrificados o en su defecto que hayan muerto recientemente**, ya que la autólisis de las muestras afecta en gran medida al éxito diagnóstico

el tipo de muestra se seleccionará en función de:

el tipo de proceso

el agente patógeno a estudiar

la técnica diagnóstica solicitada

el objetivo del análisis: monitorización o diagnóstico

toma de muestras: condiciones y plazos

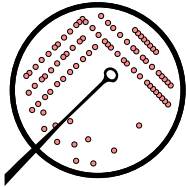
✂ t° ambiente 🌡 refrigerado ❄ congelado

		<24h	>24h	observaciones
 tubos con EDTA	 sangre entera			congelar solo para estudios de qPCR
 tubos sin anticoagulante	 suero			no congelar sueros con coágulo
 tubos estériles	 leche			en casos de mamitis puntuales congelar hasta tener varias muestras
	 lavados broncoalveolares			la congelación afectará al cultivo microbiológico
 hisopos con medio	 animales vivos o necropsias			no congelar los hisopos
 recipientes con cierre hermético	 heces			la congelación afectará al cultivo microbiológico
	 órganos		 	envío no inmediato: tomar un hisopo (para microbiología) y congelar el órgano (no sirve para histopatología)
 muestras ambientales y de superficies	 CORIOLIS (aire)			congelar y enviar siempre con acumuladores de frío
	 calzas (s. sucias)			
	 toallitas (s. limpias)			

cultivo microbiológico

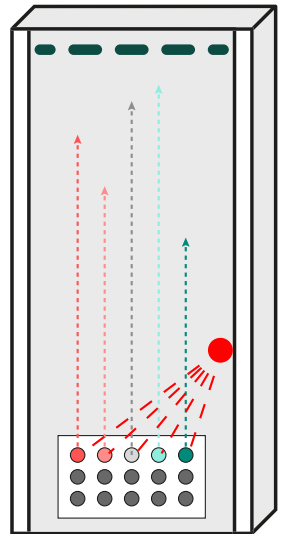
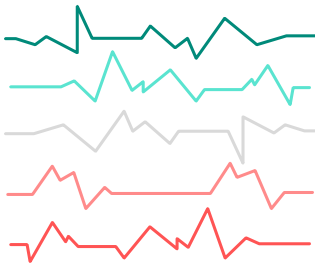
aislamiento e identificación de bacterias por MALDI-TOF

¿en qué consiste?



las **muestras** clínicas son sembradas en el **medio de cultivo** adecuado para conseguir colonias de **cepas bacterianas** de interés clínico

las **colonias** que crecen se identifican con la técnica de espectrometría de masas (MALDI-TOF), que permite una **identificación a nivel de género y/o de especie** gracias a la "huella molecular" detectada por esta técnica y que es característica de cada bacteria



hay algunas bacterias cuyo crecimiento es más costoso que el de otras

¿qué bacterias son de difícil crecimiento?

Dichelobacter nodosus, Mycoplasma sp.

antibiogramas

estudio de la sensibilidad antibiótica (técnica Kirby Bauer)

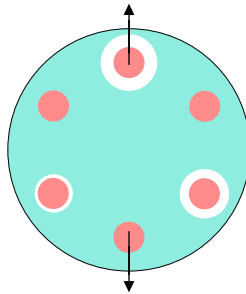
las **cepas bacterianas aisladas** en el cultivo microbiológico pueden sembrarse en el medio de crecimiento apropiado donde se colocan **discos que contienen una concentración estandarizada de antibiótico**

en función del **diámetro del halo** y los **puntos de corte** se determina si la bacteria es sensible o resistente

¿cómo se interpreta?

sensible:

el antibiótico inhibe el crecimiento de la bacteria:
no puede crecer alrededor del disco porque es sensible a él



resistente:

el antibiótico no inhibe el crecimiento de la bacteria:
es capaz de crecer alrededor del disco porque el antibiótico no hace efecto

puedes consultar la lista de

antibióticos que se analizan en pequeños rumiantes

en antibiogramas y en los distintos paneles de CMI
en el apartado de diagnóstico de nuestra web

(www.exopol.com/es/diagnostico)

concentración mínima inhibitoria (CMI)

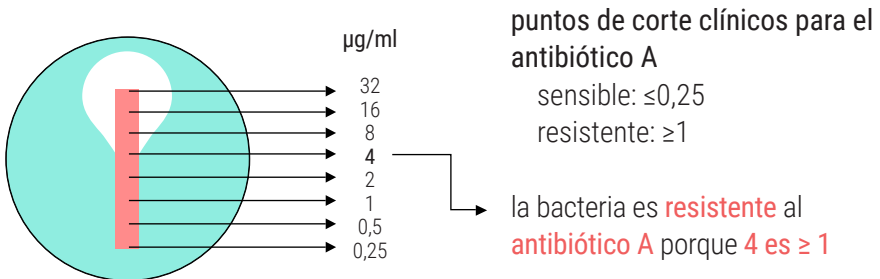
estudio de la sensibilidad antibiótica

mínima concentración de antibiótico que inhibe el crecimiento de la bacteria

en **exopol** la realizamos por dos métodos distintos:

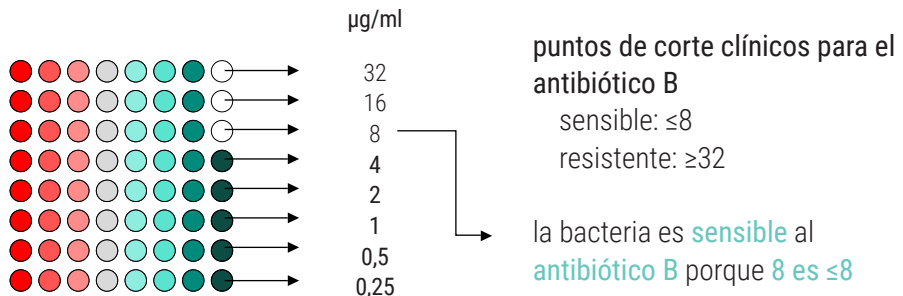
CMI en tira de celulosa (sistema E-test)

la **tira de celulosa tiene un gradiente de antibiótico** que se coloca sobre una **placa de cultivo** donde previamente se ha inoculado la bacteria a estudiar



CMI por microdilución en caldo

se realiza en placas de 96 pocillos donde la bacteria a testar se enfrenta a diferentes concentraciones de antibiótico



clasificación de antibióticos de uso veterinario (EMA)

Categoría D: uso con prudencia

Aminoglucósidos: espectinomicina

Tetraciclinas: clortetraciclina, doxiciclina, oxitetraciclina, tetraciclina, minociclina¹

Penicilinas del grupo G y M: cloxacilina, penetamato, bencilpenicilina (G), fenoximetilpenicilina (V)

Sulfamidas, diaminopirimidinas y combinaciones: sulfadiazina, sulfadimetoxina, sulfadoxina, sulfadimidina, sulfametoxazol, sulfametoxipiridazina¹, sulfaquinoxalina, trimetoprima

Aminopenicilinas: amoxicilina, metampicilina, ampicilina

Nitroimidazoles: metronidazol

Polipéptidos cíclicos: bacitracina

Derivados de nitrofurano: nitrofurantoína¹

Antibacterianos esteroideos: ácido fusídico (solo en animales de compañía)

Categoría C: uso con precaución

Aminoglucósidos: neomicina, gentamicina, estreptomina, apramicina, frameticina, kanamicina, paromomicina, amikacina¹

Aminopenicilinas combinadas con inhibidores de betalactamasas: amoxicilina-clavulánico

Macrólidos: eritromicina, espiramicina, gamitromicina, tildipirosina, tilmicosina, tilosina, tilvalosina, tulatromicina, azitromicina¹, claritromicina¹

Pleuromutilinas: tiamulina, valnemulina

Lincosamidas: lincomicina, clindamicina, pirlimicina

Antenicoles: florfenicol, tianfenicol, cloranfenicol²

Cefalosporinas (1ª y 2ª generación): cefacetilo, cefadroxilo, cefalexina, cefalonio, cefapirina, cefalotina¹, cefazolina¹

Rifamicinas: rifaximina

Categoría B: uso restringido

Polimixinas: colistina

Quinolonas: enrofloxacino, danofloxacino, difloxacino¹, marbofloxacino, flumequina, pradofloxacino, ciprofloxacino¹

Cefalosporinas (3ª y 4ª generación): cefovecina, cefquinoma, ceftiofur, cefotaxima¹, ceftazidima¹, cefpodoxima¹

Categoría A: evitar

Los antibióticos de esta categoría no están autorizados como medicamentos veterinarios. No deben usarse en animales de producción. Pueden administrarse a animales de compañía en circunstancias excepcionales. Por ejemplo: imipenem, ticarcilina + ácido clavulánico y rifampin.

¹ No autorizado como medicamento veterinario en España.

² Su uso está prohibido en animales productores de alimentos destinados al consumo humano.

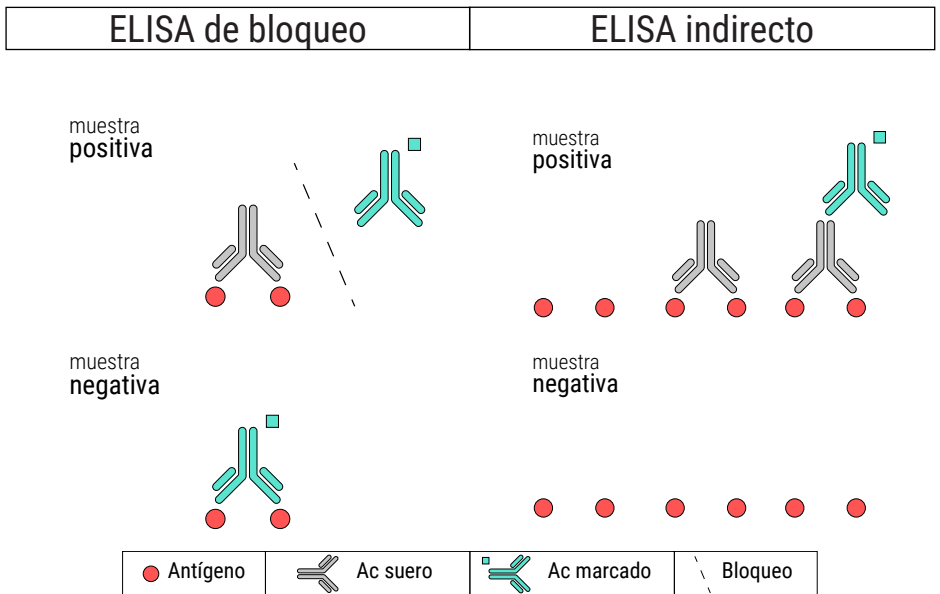
serología

¿en qué consiste?:

detección de anticuerpos generados frente a los patógenos

positivo el animal ha sido vacunado o ha estado infectado

negativo el animal nunca ha estado infectado o no ha seroconvertido



✓ diagnósticos individuales

✗ no es útil para valorar la tasa de anticuerpos a nivel de rebaño

✓ más específico

✓ prevalencia a nivel de explotación

✓ valorar tasa de anticuerpos a nivel de rebaño

✗ posibilidad de falsos positivos si la prevalencia esperada es baja

ELISA tipo DIVA

✓ diferenciación entre anticuerpos por infección de campo y de animales vacunados

Real Time PCR (qPCR)

¿en qué consiste?:

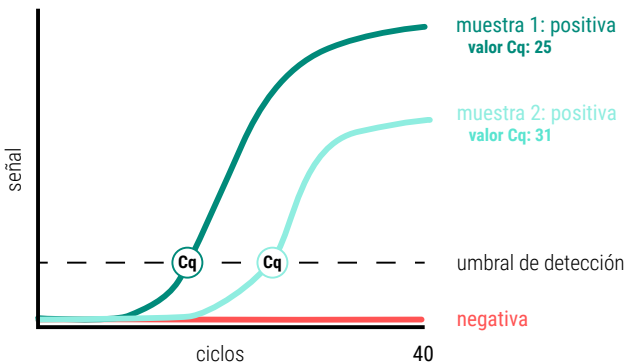
detección de patógenos mediante la amplificación de genes específicos

- positivo** se confirma la presencia del patógeno en la muestra
- negativo** indica la ausencia del patógeno en la muestra o en cantidades por debajo del límite de detección

¿qué ventajas nos da la qPCR?

- ✓ analizar muestras en pool al ser una técnica muy sensible
- ✓ caracterizar y tipificar patógenos, lo que permite diseñar las autovacunas a aplicar o elegir la vacuna que proteja frente a los serotipos identificados
- ✓ diferenciar entre cepas de campo y cepas vacunales
- ✓ realizar estudios epidemiológicos
- ✓ cuantificar: conocer la concentración de patógeno que hay en la muestra gracias al valor Cq*

*Valor Cq: es el ciclo en el que el número de copias supera el umbral de detección: a menor valor Cq, mayor concentración inicial de patógeno hay en la muestra



secuenciación

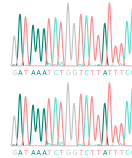
¿en qué consiste?:

determinar la secuencia de los nucleótidos de uno o más genes

¿qué aplicaciones tiene?

secuenciación (ej. Border disease)

comparamos las secuencias obtenidas con las de cepas vacunales o muestras anteriores secuenciadas

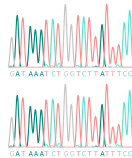


→ generamos árboles filogenéticos



secuenciación + genotipado (ej. Rotavirus A)

comparamos las secuencias obtenidas con las de cepas vacunales o muestras anteriores secuenciadas



→ generamos árboles filogenéticos

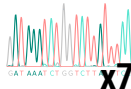


→ obtenemos el genotipo de la cepa



técnica MLST (ej. Mycoplasma ovipneumoniae)

secuenciamos siete genes

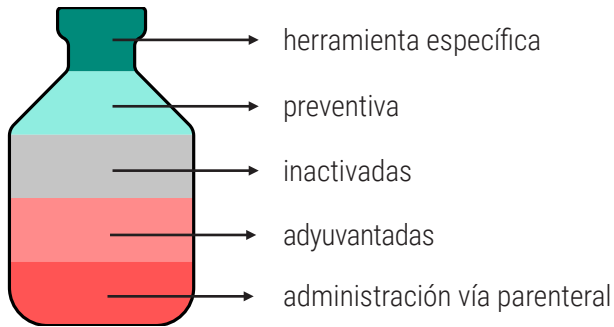


a través de los cambios en las secuencias determinamos los alelos de cada gen: la combinación de los alelos de los 7 genes determinan el ST (tipo de secuencia)

autovacunas

¿qué son?






medicamentos veterinarios inmunológicos fabricados a partir de patógenos aislados de una unidad epidemiológica, inactivados y destinados a la misma



¿cuándo están indicadas?

- ✓ cuando no existe una vacuna veterinaria estándar registrada
- ✓ cuando no existe una vacuna razonablemente eficaz (ej. alta variabilidad antigénica)

¿qué requisitos deben cumplirse?

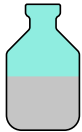
-  enfermedad infecciosa presente
-  diagnóstico de laboratorio confirmatorio
-  selección de las cepas o serotipos implicados
-  bajo prescripción veterinaria
-  producidas por un laboratorio autorizado (N^º REG Exopol: 235/50/015-A)

son específicas para cada granja

frente a algunos patógenos la vacuna no es efectiva si no contiene los serotipos o variantes antigénicas presentes en la explotación.

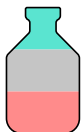
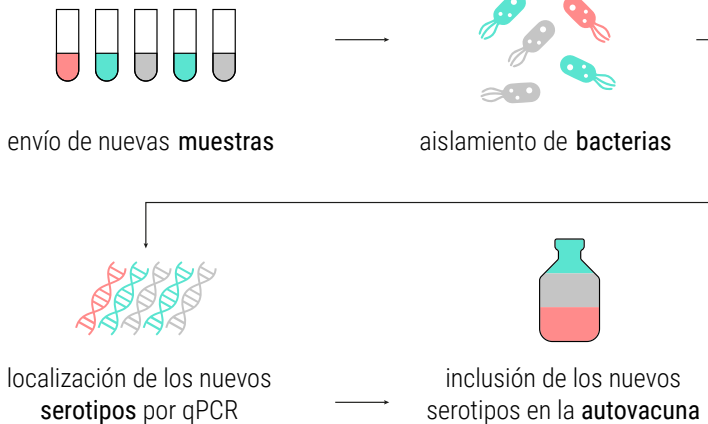
identificamos los **serotipos, factores de virulencia, toxinotipos o secuencias genéticas** específicos de las cepas aisladas en cada caso para incorporar en la autovacuna todas ellas, garantizando así la máxima eficacia de las mismas

un ejemplo:



autovacuna inicial: dos serotipos

→ envío de nuevas muestras para monitorizar la explotación



autovacuna final: tres serotipos

autovacunas disponibles en pequeños rumiantes

Bibersteinia trehalosi

Clostridium perfringens tipo A

Corynebacterium pseudotuberculosis

Dichelobacter nodosus

Erysipelothrix rhusiopathiae

Escherichia coli

Klebsiella spp.

Listeria monocytogenes

Mannheimia haemolytica

Moraxella ovis

Mycoplasma spp.

Pasteurella multocida

Pseudomona aeruginosa

Salmonella spp.

Staphylococcus spp.

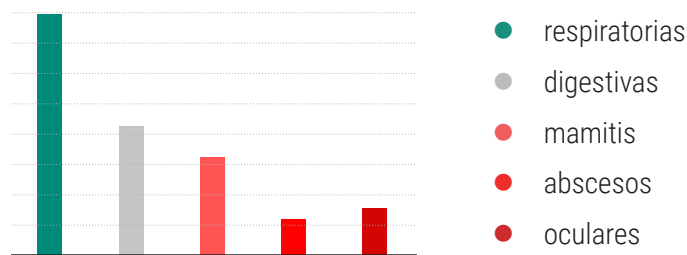
Streptococcus spp.

Trueperella pyogenes

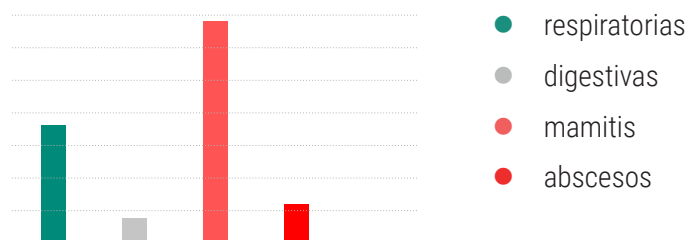
Elaboramos autovacunas específicas para explotación o unidad epidemiológica basadas en el diagnóstico laboratorial y en las que es posible combinar distintos patógenos

principales autovacunas producidas en 2020:

ovino



caprino



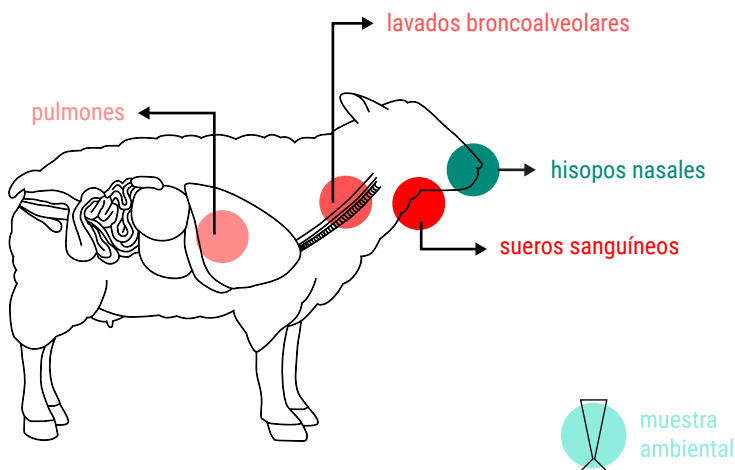
● **resultados estadísticos:**

hemos recopilado los datos obtenidos desde 2016 en nuestro laboratorio para poder ofrecerte estadísticas acerca de la presencia e incidencia de patógenos en los distintos procesos, evolución de la sensibilidad antibiótica en las granjas españolas, qué serotipos están presentes, autovacunas producidas...

- **procesos respiratorios**
- **procesos articulares y podales**
- **procesos digestivos**
- **procesos reproductivos**
- **mamitis y agalaxia**
- **procesos causantes de abscesos**
- **otros procesos: oculares, nerviosos y hemoparásitos**

● procesos respiratorios

● toma de muestras



● paneles diagnósticos

Respiratorio animales lactantes y cebo:

Microbiología: Cultivo, Antibiograma

qPCR: *Mycoplasma ovipneumoniae*, *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica*, *Bibersteinia trehalosi*, Parainfluenza 3, Tipado de *P. multocida*, Identificación de serotipos de *M. haemolytica*

Respiratorio animales de reposición y adultos:

Microbiología: Cultivo, Antibiograma

qPCR: *Mycoplasma ovipneumoniae*, *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica*, *Bibersteinia trehalosi*, Maedi-Visna/CAE, Adenocarcinoma Pulmonar Ovino (APO), Parainfluenza 3, Tipado de *P. multocida*, Identificación de serotipos de *M. haemolytica*

Tipado de *Pasteurella multocida*:

qPCR: A, B, D, E, F

Identificación de serotipos de *M. haemolytica*:

qPCR: serotipos 1, 2, 6



Cuando existen problemas respiratorios en la explotación podemos tomar diferentes tipos de muestras. Siempre eligiendo los animales no tratados, con signos clínicos de aparición reciente y valorando un número adecuado de animales.

hisopos nasales

- ✓ fácil de tomar en animales vivos
- ✓ valoración de problemas respiratorios en vías altas
- ✗ no toma muestra de pulmón
- ⚠ posibles falsos positivos al detectar bacterias que forman parte del microbioma de las fosas nasales y no alcanzan el pulmón

pulmones

- ✓ permite un diagnóstico completo
- ✓ valoración de problemas respiratorios en vías bajas
- ✗ requiere animales muertos recientemente o sacrificados
- ⚠ puede no ser una muestra representativa del grupo

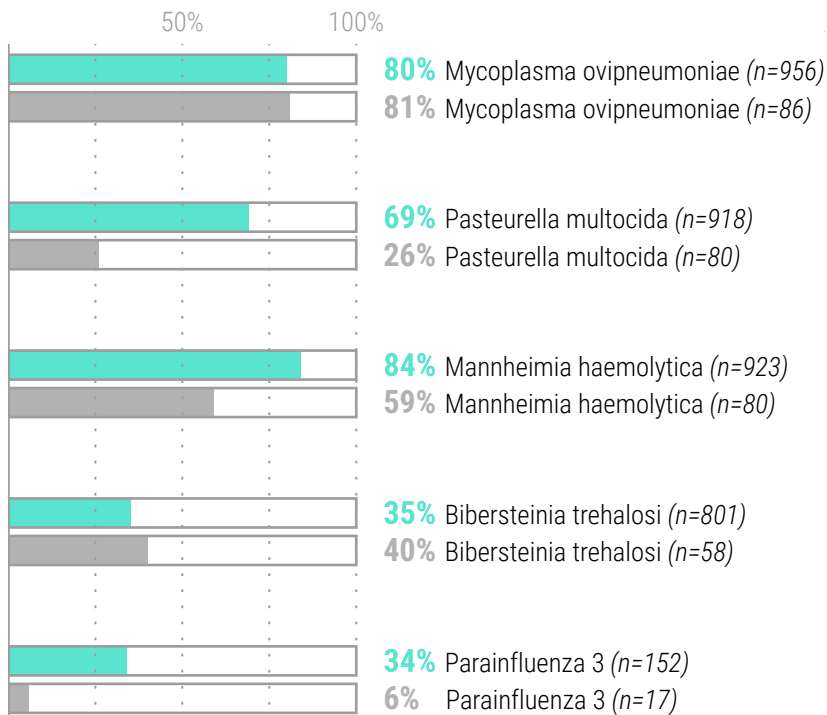
lavados broncoalveolares

- ✓ en animales vivos
- ✓ permite muestrear a un mayor número de animales
- ✓ aporta información de los agentes presentes en pulmón
- ⚠ requiere material específico y personal cualificado

• resultados estadísticos: diagnóstico

patógenos analizados en el panel respiratorio en animales lactantes y cebo en **ovino** y **caprino**

% positivos analizados mediante qPCR

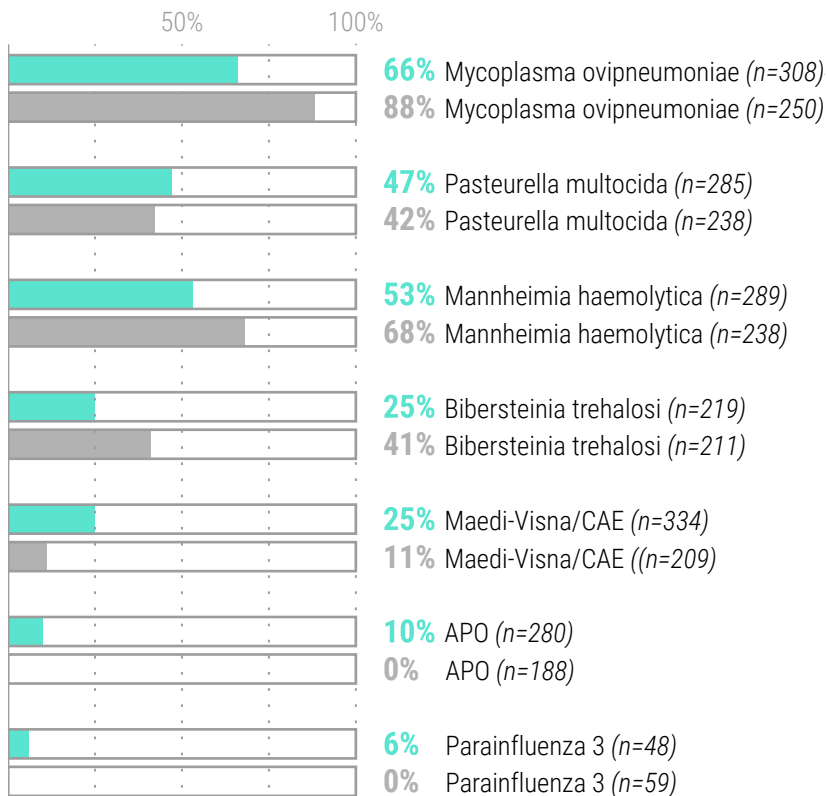


Los agentes detectados más frecuentes son Mycoplasma ovipneumoniae y Mannheimia haemolytica en animales jóvenes.

En la mayoría de los casos analizados se trata de complejos respiratorios con presencia de más de un agente implicado.

patógenos analizados en el panel respiratorio en animales de reposición y adultos en ovino y caprino

% positivos analizados mediante qPCR



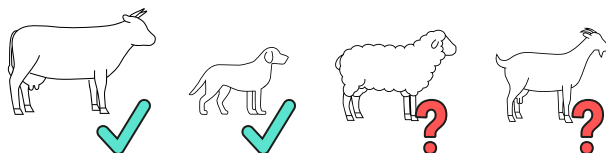
Al igual que en animales jóvenes, encontramos *Mycoplasma ovipneumoniae* y *Mannheimia haemolytica* como principales agentes detectados y suelen tratarse de casos multietiológicos (con más de un agente presente).

Las enfermedades de Maedi-Visna/CAE (Artritis y Encefalitis Caprina) y APO (Adenocarcinoma Pulmonar Ovino) se incluyen en el diferencial de respiratorio en estas edades debido a que son enfermedades de lenta evolución que aparecen en adultos. El análisis de los mismos en la reposición permite seleccionar las futuras reproductoras.



estudio de Parainfluenza 3 en procesos respiratorios de pequeños rumiantes

virus causante de **problemas respiratorios** ampliamente descrito en bovinos y cánidos pero de desconocido efecto en pequeños rumiantes



genotipo Parainfluenza 3 bovino
 \neq
 genotipo Parainfluenza 3 en pequeños rumiantes

hasta el momento **se desconocía su implicación** en los problemas respiratorios de ovejas y cabras **por falta de técnicas diagnósticas**, aunque sí se han observado lesiones asociadas en animales jóvenes y presencia de seropositivos



ahora es posible **valorar su presencia** en pequeños rumiantes gracias al **ensayo de qPCR específico para ovino y caprino**

detección de patógenos respiratorios según el tipo de muestra analizada

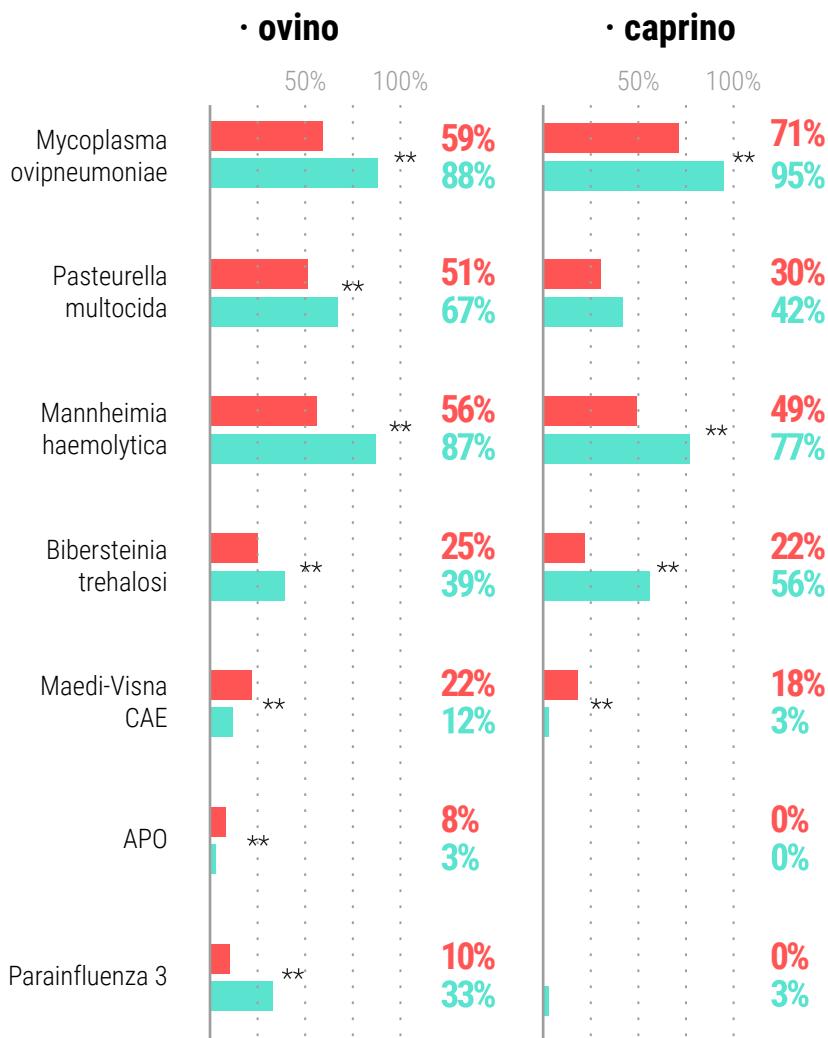
% positivos analizados mediante qPCR



pulmones



lavados broncoalveolares



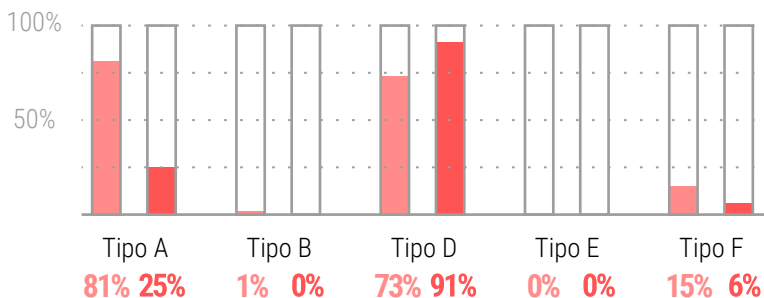
Se ha evaluado la diferencia del número de positivos de cada uno de los patógenos analizados en el panel respiratorio en función del tipo de muestra: pulmón o lavado broncoalveolar, mediante la prueba estadística Chi-cuadrado. Se ha considerado que existen diferencias significativas entre % de positivos de pulmones y lavados, si p-valor <0,05 (*) y <0,01 (**). Estos resultados se han obtenido a partir de muestras no pareadas.

Los virus causantes de APO y Maedi-Visna/CAE, analizados únicamente en reposición y adultos, se detectan con mayor frecuencia en pulmón, pues su eliminación a la luz alveolar ocurre cuando se lesiona una parte importante de pulmón, por ello su detección mediante lavados broncoalveolares es limitada.

El resto de patógenos se detectan en un mayor porcentaje en lavados broncoalveolares. Esa diferencia puede deberse a que el análisis de lavados permite aumentar el número de animales muestreados y seleccionar aquellos con signos respiratorios iniciales, que todavía no han recibido tratamiento antibiótico y sin necesidad de sacrificarlos para obtener la muestra. Además, en verano los órganos suelen sufrir autólisis y contaminaciones dificultando el aislamiento y la detección de patógenos de interés.

detección de tipos capsulares de *Pasteurella multocida* sobre muestra clínica en **ovino** y **caprino**

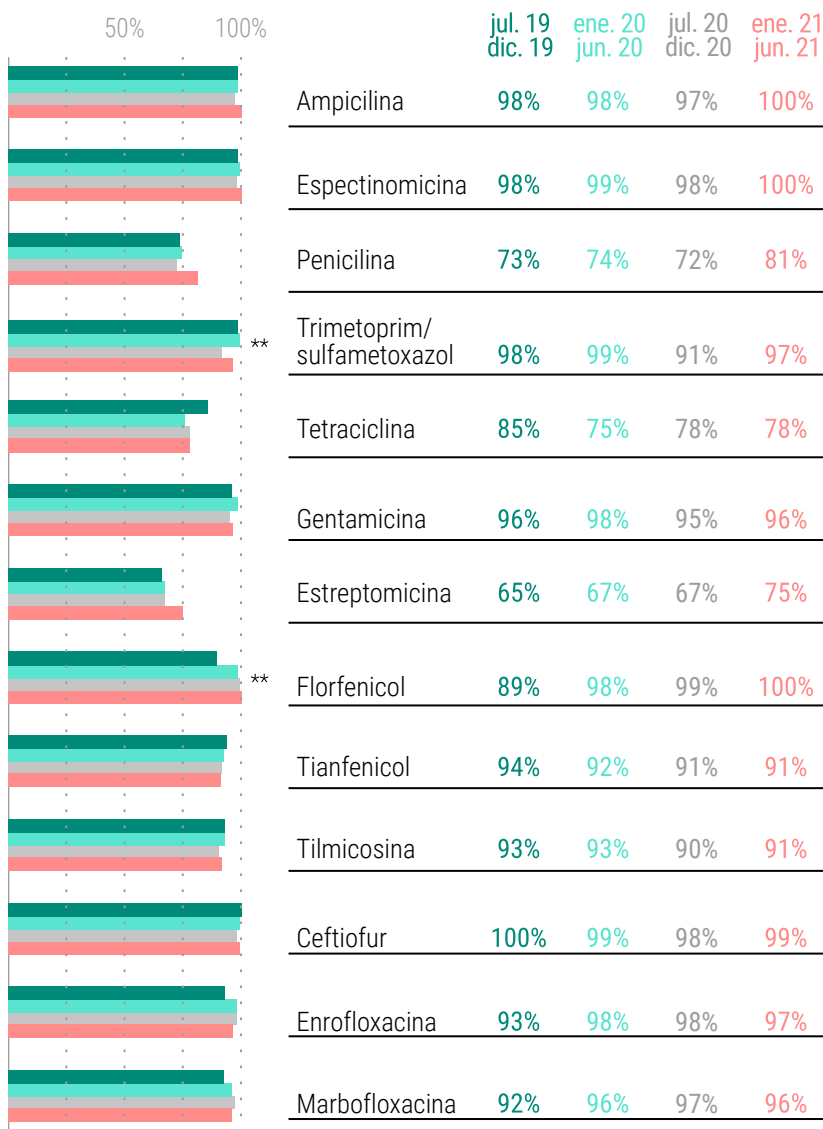
analizados 360 y 75 casos desde febrero de 2018 mediante qPCR



En el 61% de los casos de ovino y el 22% de caprino se detectó una coinfección de distintos tipos capsulares de *Pasteurella multocida*, siendo la más frecuente la coinfección de tipos A y D (en ovino el 46% y en caprino el 19%).

estudio de la sensibilidad antibiótica (Kirby Bauer) de *Pasteurella multocida* en ovino y caprino

comparación del porcentaje de sensibilidad de 458 antibiogramas realizados en los siguientes semestres:



Se ha evaluado la evolución de la sensibilidad de cada antibiótico a lo largo del tiempo mediante la prueba estadística Chi-cuadrado. Se ha considerado que las variables tiempo y sensibilidad son dependientes, es decir, que existen diferencias significativas entre % de sensibles de los diferentes periodos de tiempo, si p -valor $< 0,05$ (*) y $< 0,01$ (**).

En general, son cepas con baja resistencia antibiótica, presentando más resistencia a estreptomycin, penicilina y tetraciclina.

Aunque en este gráfico no se muestran los resultados divididos por especies, se han obtenido mayores porcentajes de sensibilidad en los antibiogramas de caprino para casi todos los antibióticos, destacando una diferencia de hasta un 20% en la estreptomycin.

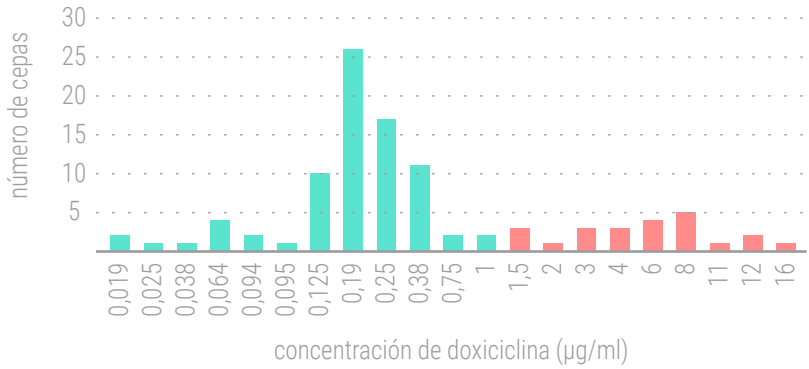
Concentración Mínima Inhibitoria - P. multocida

CMIs realizadas desde 2019

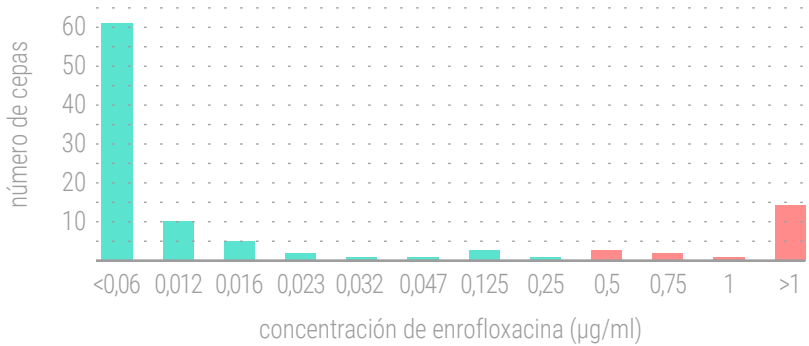
Antibiótico	CMI50 (µg/mL)	CMI90 (µg/mL)	sensible si: (µg/mL)	muestras analizadas
Amoxicilina	0,094	0,19	4	42
Clindamicina	>8	>8	0,5	43
Colistina	1	1,5	4	43
Doxiciclina	0,25	6	1	102
Enrofloxacin	<0,06	>1	0,25	104
Florfenicol	0,5	1	2	43
Gamitromicina	2	>4	4	43
Penicilina	0,125	0,5	0,25	43
Espectinomycin	16	32	32	43
Tetraciclina	1	>4	2	108
Tilmicosina	>8	>8	8	43
Tulatromicina	8	16	16	43
Tilosina	16	>16	8	43

distribución de las CMI de:

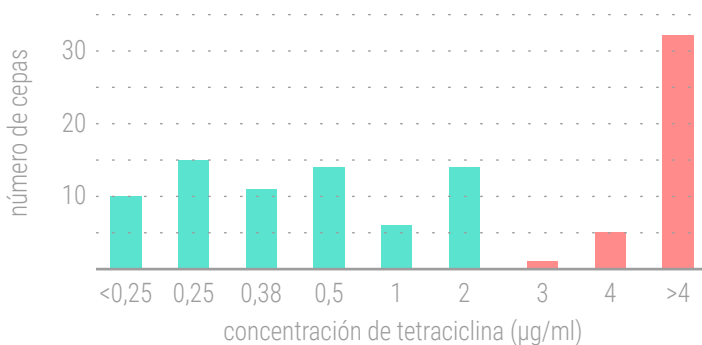
• doxiciclina



• enrofloxacina



• tetraciclina



Se muestran en la tabla los valores de CMI50 y CMI90 de los diferentes antibióticos frente a *Pasteurella multocida*, entendiéndose estas como la concentración mínima de antibiótico que es capaz de inhibir el crecimiento del 50% y 90% de las cepas analizadas, respectivamente. Las cepas se consideran como sensibles o resistentes en función de los puntos de corte clínicos establecidos por organismos oficiales (CLSI o VetCast).

Se puede observar una importante diferencia entre las CMI50 y 90 de la gamitromicina, penicilina, doxiciclina, enrofloxacina y tetraciclina, por ello para estos tres últimos antibióticos se muestran gráficos de frecuencia de la distribución de los valores de CMI.

El gráfico de la doxiciclina sigue un perfil de distribución normal. En el caso de la enrofloxacina observamos la existencia de una población de cepas muy sensible, aunque 19% de las cepas analizadas fueron resistentes. Sin embargo, para la tetraciclina se puede observar una subpoblación resistente muy numerosa, lo que pone en valor la necesidad de realizar pruebas de sensibilidad antibiótica para poder elegir el tratamiento más adecuado.

Estos resultados pueden estar sesgados, ya que el estudio de CMI suele realizarse en los casos más complicados como por ejemplo cuando el tratamiento antibiótico no está funcionando.



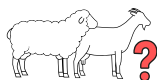
serotipado de *Mannheimia haemolytica*

12 serotipos diferentes reconocidos:

A1, A2, A5, A6, A7, A8, A9, A12, A13, A14, A16, A17



serotipos más prevalentes:
A1, A2 y A6

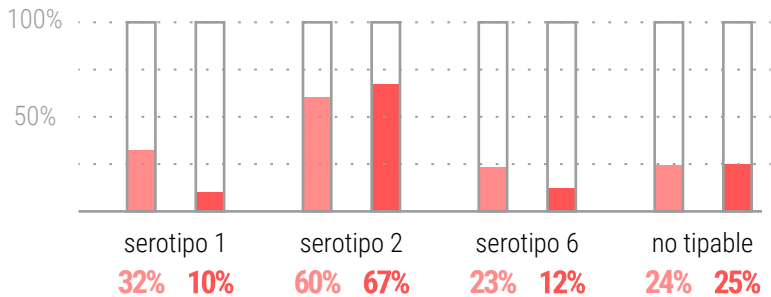


escasos estudios de prevalencia publicados

ahora realizamos el estudio de estos serotipos para ver su implicación

detección de serotipos de *Mannheimia haemolytica* sobre muestra clínica en **ovino** y **caprino**

analizados 435 y 129 casos desde febrero de 2018 mediante qPCR



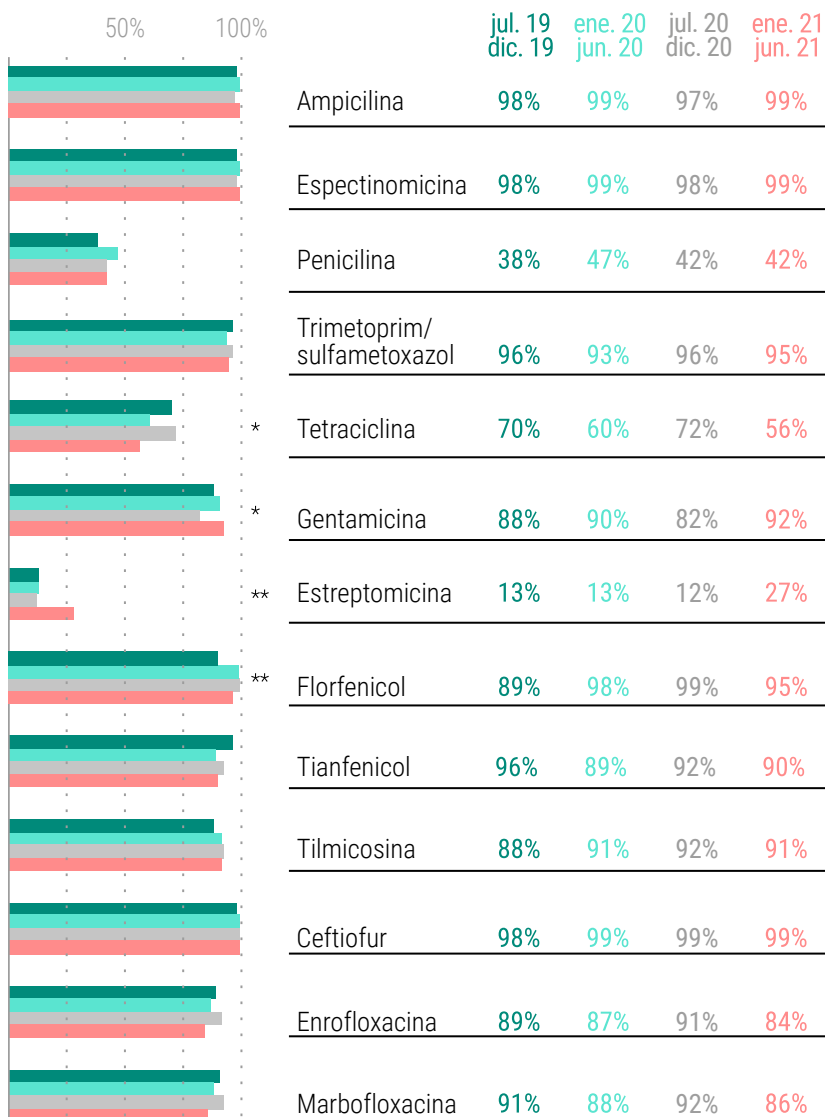
El serotipo de *Mannheimia haemolytica* más detectado es el 2. Encontramos un 25% de las muestras clínicas en las que la detección de *Mannheimia haemolytica* es distinta a los serotipos analizados (serotipos 1, 2 y 6).

En el 37% de los casos de ovino y el 12% de caprino hay una coinfección de dos o tres serotipos detectables de *Mannheimia haemolytica*.

El perfil de sensibilidad de *Mannheimia haemolytica* es similar al obtenido con *Pasteurella multocida*. Para la estreptomicina, penicilina y tetraciclina aparecen porcentajes más bajos, observando una disminución de la sensibilidad en función del tiempo para la tetraciclina. Los resultados en caprino presentaban también una sensibilidad más alta.

estudio de la sensibilidad antibiótica (Kirby Bauer) de *Mannheimia haemolytica* en ovino y caprino

comparación del porcentaje de sensibilidad de 651 antibiogramas realizados en los siguientes semestres:



Se ha evaluado la evolución de la sensibilidad de cada antibiótico a lo largo del tiempo mediante la prueba estadística Chi-cuadrado. Se ha considerado que las variables tiempo y sensibilidad son dependientes, es decir, que existen diferencias significativas entre % de sensibles de los diferentes periodos de tiempo, si p-valor <0,05 (*) y <0,01 (**).

Concentración Mínima Inhibitoria - *M. haemolytica*

CMIs realizadas desde 2019

Antibiótico	CMI50 (µg/mL)	CMI90 (µg/mL)	sensible si: (µg/mL)	muestras analizadas
Amoxicilina	0,125	0,25	4	46
Clindamicina	>8	>8	0,5	47
Colistina	1	1,5	4	47
Doxiciclina	0,38	4	1	120
Enrofloxacina	0,064	>1	0,25	119
Florfenicol	1	1	2	47
Gamitromicina	4	>4	4	47
Penicilina	0,5	1	0,25	47
Espectinomicina	32	>32	32	47
Tetraciclina	2	8	2	123
Tilmicosina	>8	>8	8	47
Tulatromicina	32	>32	16	47
Tilosina	>16	>16	8	47

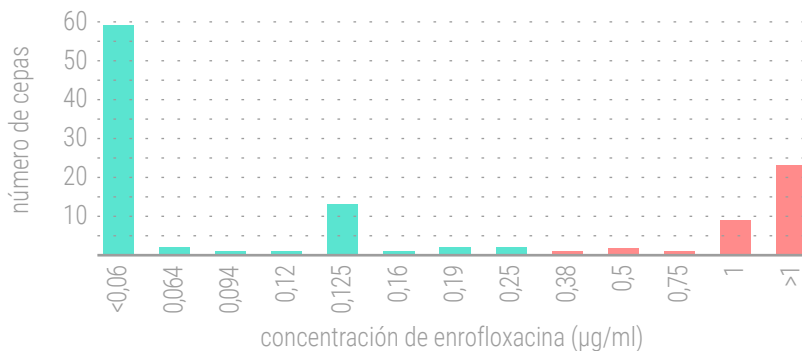
Los resultados de clindamicina, penicilina, tilmicosina, tulatromicina y tilosina muestran que al menos el 50% de las cepas analizadas son resistentes a estos antibióticos. En el gráfico de frecuencias de la distribución de los valores CMI de tulatromicina, se observa que la mayoría de las cepas analizadas son resistentes, y las sensibles tienen una CMI próxima al punto de corte. Para enrofloxacina, aparece un grupo amplio de cepas muy sensibles al antibiótico, aunque el 30% fueron resistentes.

En el caso de tetraciclina, se observa que la distribución del 50% de las cepas tiene valores de CMI por debajo del punto de corte, pero gran parte de las cepas resistentes presentan valores de CMI muy altos, evidenciando una subpoblación con alta resistencia.

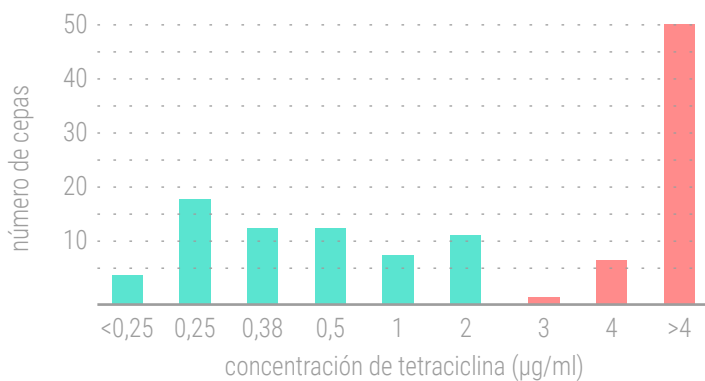
Estos resultados pueden estar sesgados, el estudio de CMI suele realizarse en los casos más complicados, por ejemplo, si el tratamiento antibiótico no está funcionando.

distribución de las CMI de:

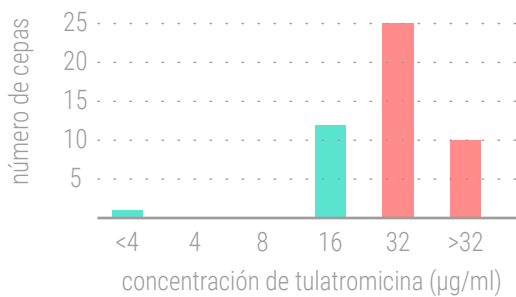
• enrofloxacin



• tetraciclina

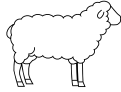


• tulatromicina





Maedi-Visna / CAE



respiratorios
mamitis



nerviosos
articulares

al no existir un tratamiento efectivo, se realizan **programas de control y erradicación**: la sensibilidad serológica depende del kit comercial utilizado y la variante del virus, por lo que interesa **aumentar la sensibilidad** mediante **diagnóstico por qPCR sobre sangre con EDTA**

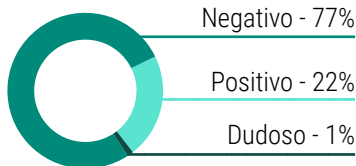
1 diagnóstico serológico: valoración de prevalencia de la enfermedad en la explotación

2 diagnóstico por qPCR: analizar a los animales con resultado negativo por serología

estudio serológico de Maedi-Visna/CAE

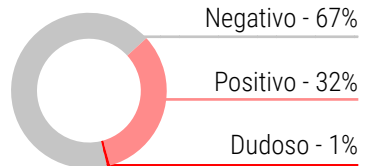
% de sueros positivos respecto al total de sueros analizados

• **ovino**: 3099 sueros



38% de granjas positivas

• **caprino**: 1921 sueros



64% de granjas positivas

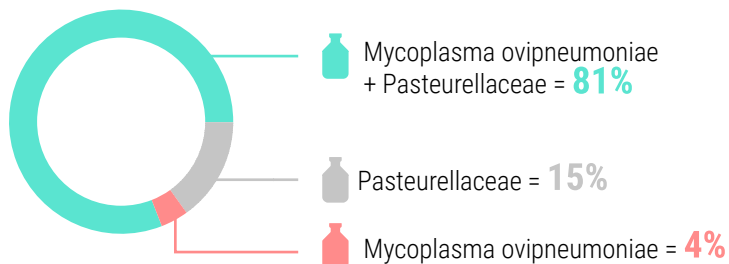
Estos resultados proceden de animales de explotaciones con sintomatología compatible con Maedi-Visna/CAE (muestras segadas) y no deben ser tomados como datos de prevalencia.

• resultados estadísticos: autovacunas

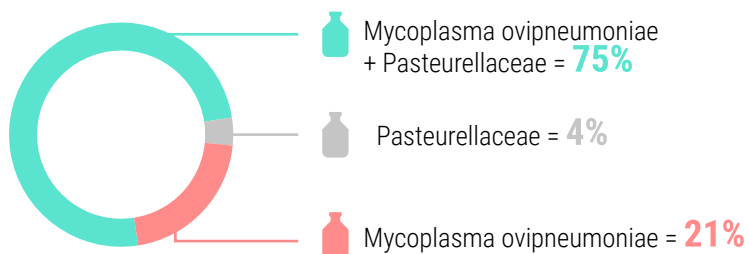
autovacunas producidas frente a procesos respiratorios


% de autovacunas que incluyen los distintos agentes

ovino




caprino

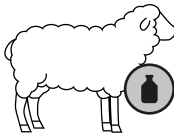





se elaboran **autovacunas específicas** para:

cebaderos de corderos granjas de **reproductoras**





↓

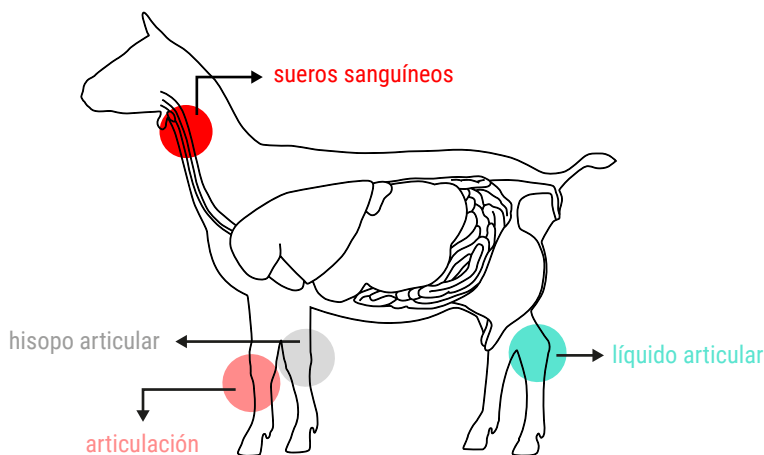


100% = Mycoplasma ovipneumoniae + serotipos de todas las especies Pasteurellaceae



● procesos articulares

● toma de muestras



● paneles diagnósticos

Articular ovino lactante:

Microbiología: Cultivo, Antibiograma

qPCR: *Mycoplasma agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*

Articular caprino lactante:

Microbiología: Cultivo, Antibiograma

qPCR: *Mycoplasma agalactiae*, *Mycoplasma mycoides* cluster, *Mycoplasma putrefaciens*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*

Articular ovino adulto:

Microbiología: Cultivo, Antibiograma

qPCR: *Mycoplasma agalactiae*, Maedi-Visna/CAE

Articular caprino adulto:

Microbiología: Cultivo, Antibiograma

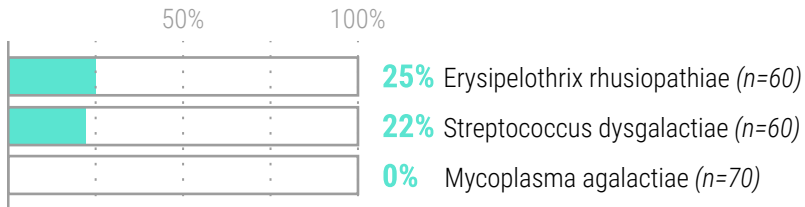
qPCR: *Mycoplasma agalactiae*, *Mycoplasma mycoides* cluster, *Mycoplasma putrefaciens*, Maedi-Visna/CAE

● resultados estadísticos: diagnóstico

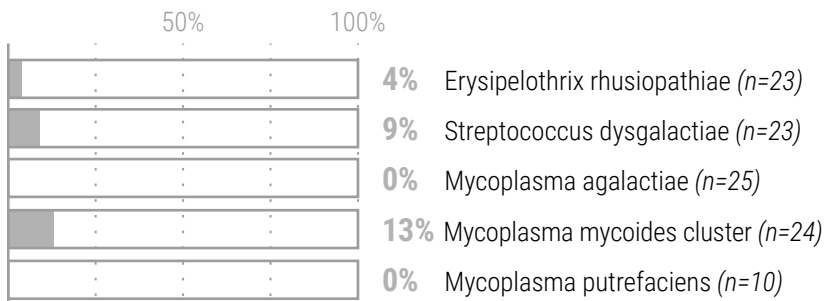
patógenos analizados en el panel articular lactantes

% positivos analizados mediante qPCR

• ovino



• caprino

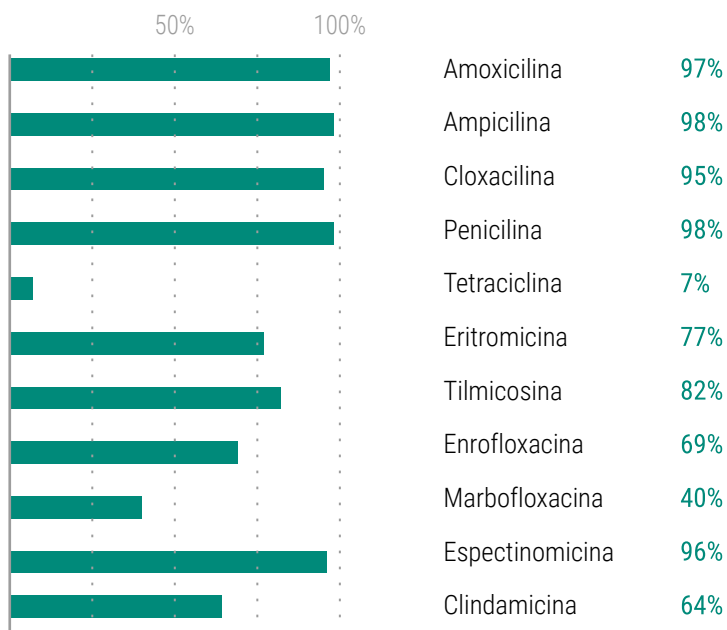


En animales jóvenes es frecuente una infección bacteriana como etiología de artritis. En corderos se detectan *Erysipelothrix rhusiopathiae* y *Streptococcus dysgalactiae* con mayor frecuencia.

Para una correcta toma de muestras es importante seleccionar animales con artritis inicial pues la presencia de un proceso inflamatorio crónico o articulaciones con abundante contenido (purulento, hemorrágico o fibroso) dificultan el diagnóstico.

estudio de la sensibilidad antibiótica (Kirby Bauer) de *Streptococcus dysgalactiae* en ovino y caprino

comparación del porcentaje de sensibilidad de 45 antibiogramas realizados desde 2016*:



* cepas aisladas en procesos articulares y mamitis

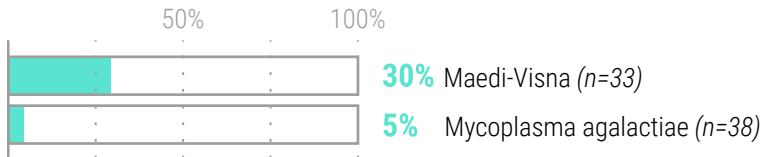
Los resultados de sensibilidad de las cepas de *Streptococcus dysgalactiae* analizadas muestran que la mayoría de ellas son sensibles a ampicilina, penicilina, tilmicosina, cloxacilina y amoxicilina. Siendo la tetraciclina y la marbofloxacina los antibióticos con mayor resistencia.

Esto concuerda con la literatura, que describe genes de resistencia para tetraciclina que aparecen con mucha frecuencia en esta bacteria.

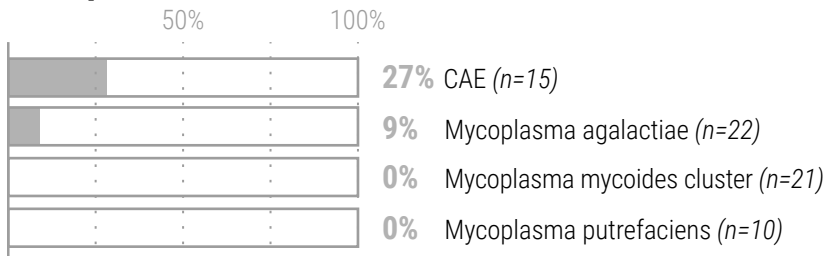
patógenos analizados en el panel articular adultos

% positivos analizados mediante qPCR

• ovino

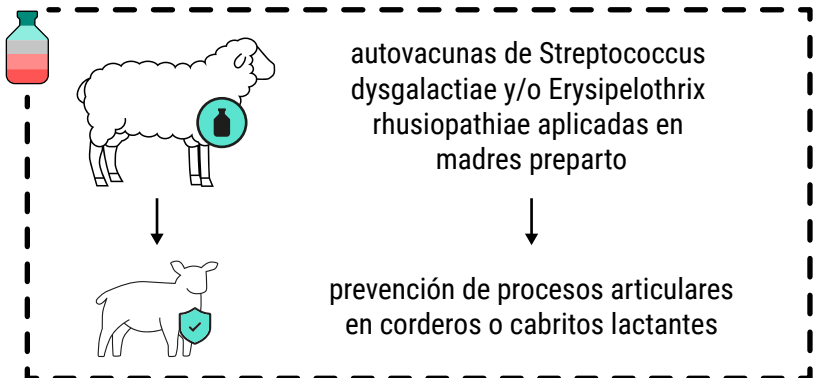


• caprino



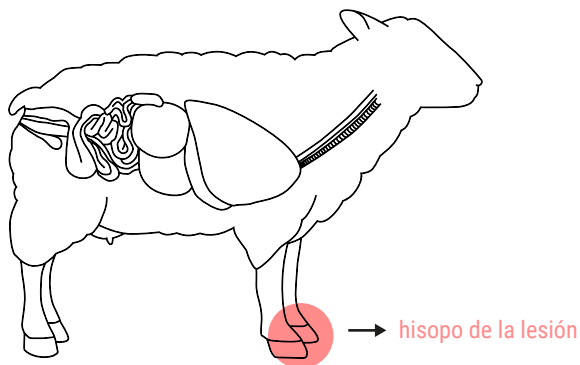
Al igual que en animales jóvenes, la selección de individuos con artritis iniciales es importante.

En estas edades, la causa más frecuente de artritis infecciosas es Maedi-Visna/CAE. El diagnóstico de las mismas se suele realizar en muestras más sencillas de recoger como leche o suero.



● procesos podales

● toma de muestras



● paneles diagnósticos

Panel podal:

qPCR: *Dichelobacter nodosus*, *Dichelobacter nodosus* - cepas virulentas, *Fusobacterium necrophorum*, *Treponema* sp., *Treponemas* filogrupos patógenos

Tipado de *Dichelobacter nodosus*:

qPCR: serogrupos A, B, C, D, E, F, G, H, I, M

Treponemas filogrupos patógenos:

qPCR: *Treponema pedis*, *Treponema phagedenis*, *Treponema medium*



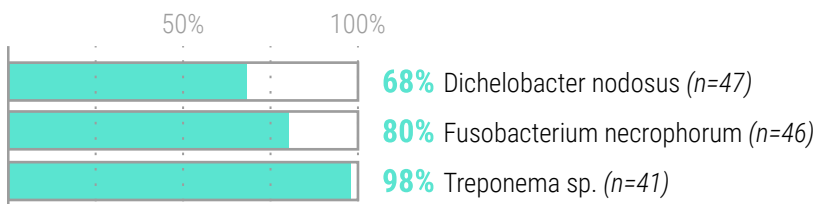
En la enfermedad podal es importante **realizar un buen muestreo** para llegar a un diagnóstico laboratorial de la enfermedad. Para ello es necesario hacer una **buena selección de los animales**:

- ✓ signos podales recientes, no tratados con antibióticos sistémicos ni baños podales
- ✓ lesiones iniciales-moderadas, nunca graves
- ⚠ En caso de interés en el aislamiento de la cepa el envío debe realizarse en condiciones de anaerobiosis

● resultados estadísticos: diagnóstico

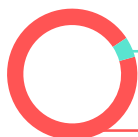
patógenos analizados en el panel podal ovino

% positivos analizados mediante qPCR desde noviembre de 2018



identificación de cepas virulentas y avirulentas de **Dichelobacter nodosus**

% de los 40 casos analizados desde noviembre de 2018 mediante qPCR

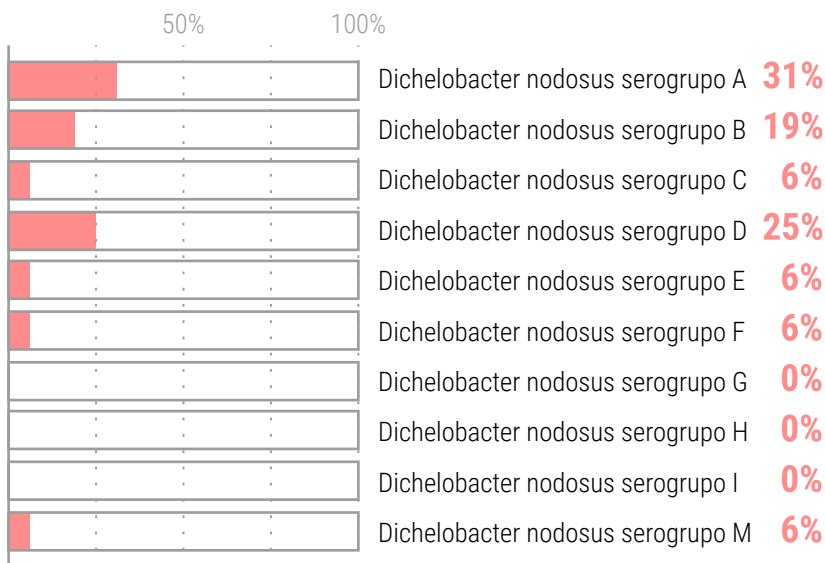


Dichelobacter nodosus no virulento = **5%**

Dichelobacter nodosus virulento = **95%**

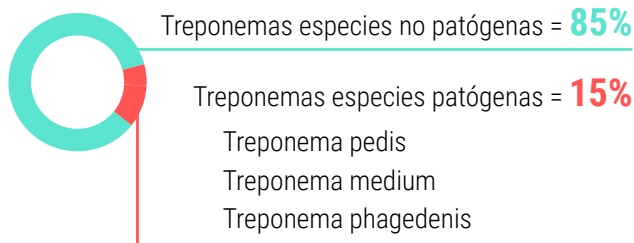
serotipado sobre cepa de *Dichelobacter nodosus*

de 16 casos analizados mediante qPCR



identificación a nivel de especie de *Treponema sp.*

de 40 casos en los que se ha detectado desde noviembre de 2018 mediante qPCR



En el 68% de los casos analizados se detecta *Dichelobacter nodosus*, agente etiológico primario del pedero.

El estudio de las cepas aisladas determina que el 95% son cepas virulentas, positivas al gen aprV. Además el resultado del tipado de las mismas determina que el 76% pertenecen a los serogrupos A, B y D. Este resultado corresponde a lo descrito en estudios anteriores en la península ibérica, sin embargo, es necesario continuar ampliando el estudio para valorar la presencia del resto de serogrupos.

Otros agentes implicados en procesos podales son *Fusobacterium necrophorum* (agente de la escaldadura) y filogrupos patógenos del género *Treponema* (causantes de la Dermatitis Digital Contagiosa Ovina, CODD). La detección de *F. necrophorum* y *Treponema* sp. en la mayoría de las muestras se debe a su presencia de manera habitual en el ambiente, por ello es importante valorar las lesiones presentes.

En un 15% de los casos se detectan filogrupos patógenos de *Treponema* sp. confirmando la presencia de CODD en España, aunque son escasos los estudios sobre esta enfermedad en la península, en otros países como Reino Unido su prevalencia puede llegar hasta el 50%.

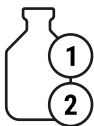


Dichelobacter nodosus

- ✓ gran diversidad antigénica
- ✓ descritos distintos serogrupos:



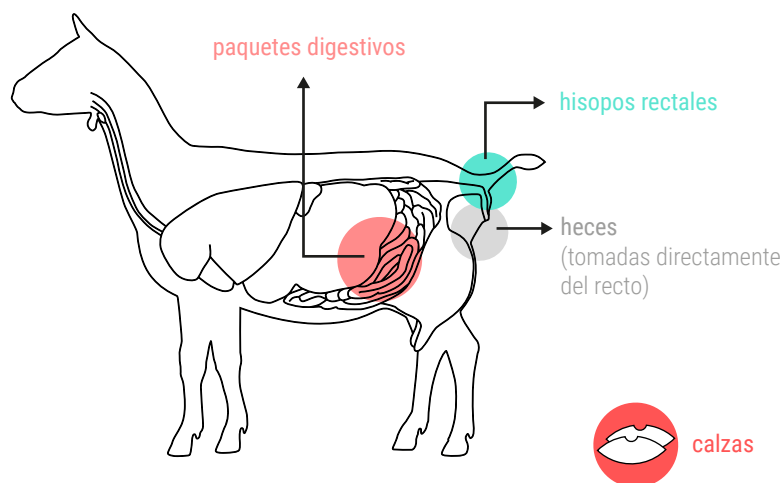
autovacunas frente a *Dichelobacter nodosus*



- ✓ máximo dos serogrupos
- ✓ altamente eficaces en el control reduciendo su prevalencia y transmisión

● procesos digestivos

● toma de muestras



● paneles diagnósticos

Digestivo corderos y cabritos:

Microbiología: Cultivo, Antibiograma

qPCR: Rotavirus tipo A, Escherichia coli F17, Escherichia coli gen eae, Clostridium perfringens, Cryptosporidium parvum, Eimeria sp., Toxinotipo de Clostridium perfringens

Toxinotipo de Clostridium perfringens:

qPCR: Alpha, Beta, Epsilon, Iota, Enterotoxina, Beta-2

Panel coprológico:

qPCR: Eimeria sp., Nemátodos, Céstodos, Tremátodos

Panel coccidios ovino:

qPCR: Eimeria sp., Eimeria ovinoidalis, Eimeria crandallis/ahsata

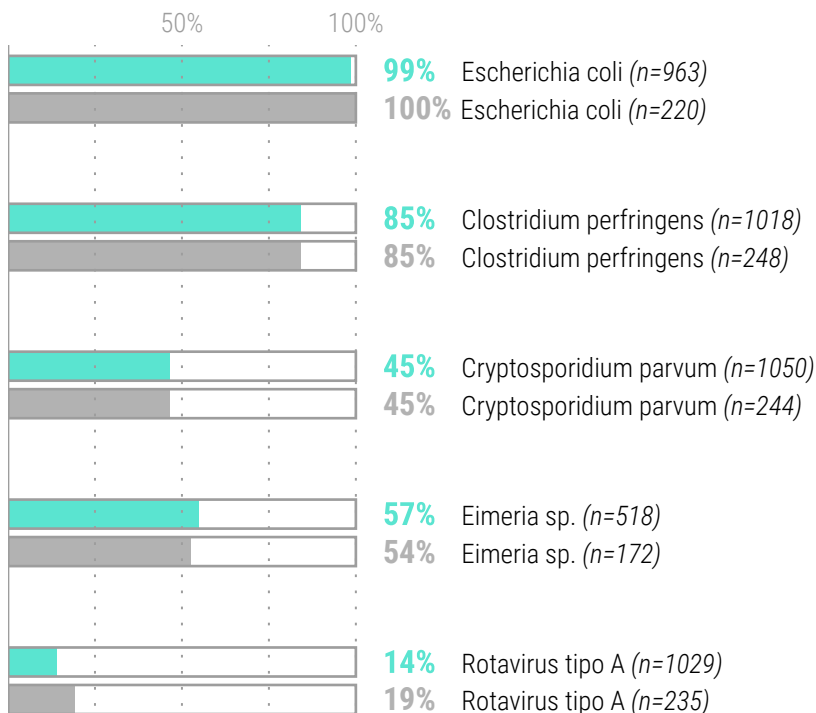
Panel coccidios caprino:

qPCR: Eimeria sp., Eimeria arloingi, Eimeria ninakohlyakimovae, Eimeria christenseni

● resultados estadísticos: diagnóstico

patógenos analizados en el panel digestivo en **corderos** y **cabritos**

% positivos analizados mediante qPCR



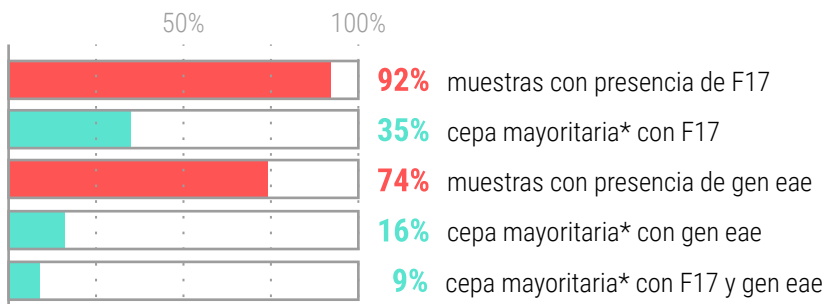
En la mayoría de los casos se detecta más de un agente infeccioso, confirmando que las diarreas de animales jóvenes son de carácter multietiológico.

Se observa un mayor porcentaje de detección de agentes bacterianos: *Escherichia coli* y *Clostridium perfringens*. Para confirmar su implicación en el proceso digestivo se debe valorar la concentración detectada y los factores de virulencia.

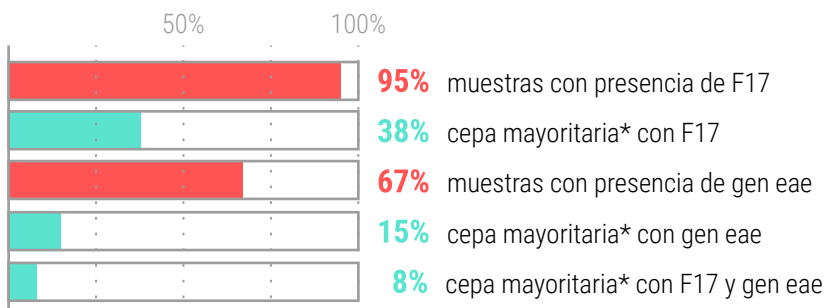
En pequeños rumiantes se describen únicamente dos factores de virulencia de *Escherichia coli* (F17 y gen eae).

identificación de factores de virulencia de E. coli

- **ovino:** 932 casos analizados mediante qPCR



- **caprino:** 210 casos analizados mediante qPCR



*Los resultados se obtienen comparando la concentración (inferida del valor Cq) de los genes codificantes de fimbrias e intiminas entre sí y con la concentración total de Escherichia coli en la muestra.

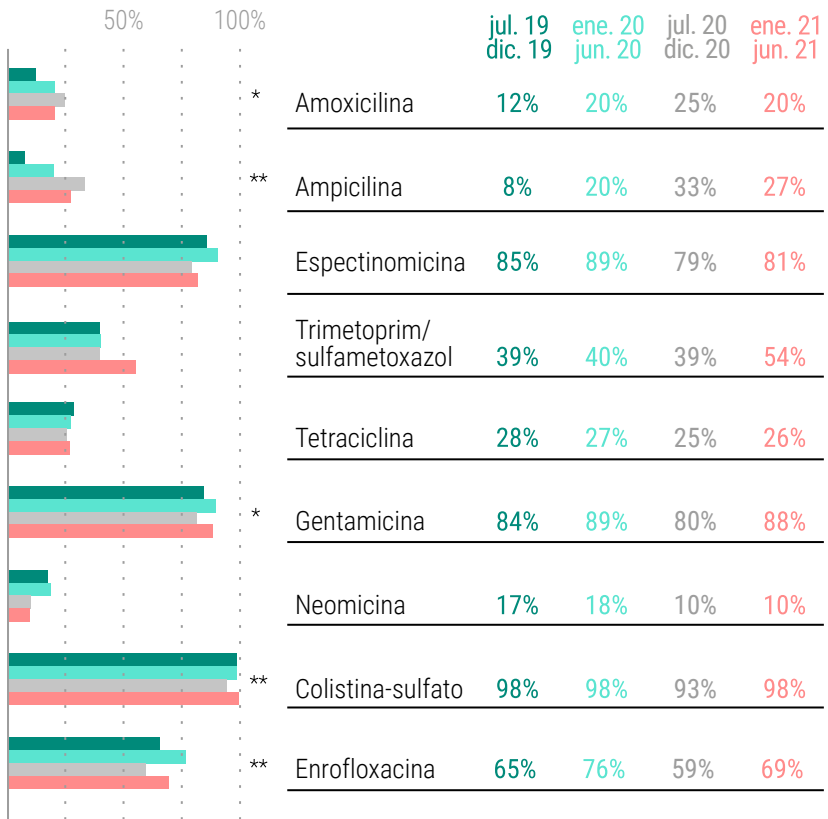
La fimbria F17 se detecta en la mayoría de los casos y la intimina gen eae en aproximadamente el 70%.

Sin embargo, se confirma la implicación clínica de cepas de Escherichia coli portadoras de factores de virulencia si se encuentran en alta concentración. En ese caso, se reduce el porcentaje de cepas enteropatógenas, menos del 40% presentan F17 como cepa mayoritaria y en menos del 20%, gen eae. Por último, aproximadamente un 10% de los casos presentan ambos factores de virulencia en concentraciones elevadas.

Cabe destacar que en casos de colibacilosis septicémicas, las cepas implicadas pueden resultar negativas a ambos factores de virulencia.

estudio de la sensibilidad antibiótica (Kirby Bauer) de *Escherichia coli* en ovino y caprino

comparación del porcentaje de sensibilidad de 926 antibiogramas realizados en los siguientes semestres:



Se ha evaluado la evolución de la sensibilidad de cada antibiótico a lo largo del tiempo mediante la prueba estadística Chi-cuadrado. Se ha considerado que las variables tiempo y sensibilidad son dependientes, es decir, que existen diferencias significativas entre % de sensibles de los diferentes periodos de tiempo, si p -valor $<0,05$ (*) y $<0,01$ (**).

En general, son cepas con media-elevada resistencia antibiótica, presentando más resistencia a amoxicilina, ampicilina, sulfatrimetoprim, tetraciclina y neomicina mostrando porcentajes similares tanto en el ganado caprino como en el ovino.

Estos resultados pueden estar relacionados con la existencia de genes de resistencias descritos en la literatura, aunque se ha observado un aumento de la sensibilidad a amoxicilina y ampicilina en función del tiempo.

Concentración Mínima Inhibitoria - *Escherichia coli*

CMIs realizadas desde 2019

Antibiótico	CMI50 (µg/mL)	CMI90 (µg/mL)	sensible si: (µg/mL)	muestras analizadas
Amoxicilina	4	>256	4	30
Ampicilina	4	>16	8	31
Clindamicina	>16	>16	0,5	31
Colistina	1,5	3	4	26
Enrofloxacina	≤0,12	≤0,12	0,25	48
Florfenicol	8	>8	2	31
Espectinomicina	32	>64	32	31
Tetraciclina	8	>256	2	47
Trimetoprim/sulfametoxazol	>2	>2	2	48

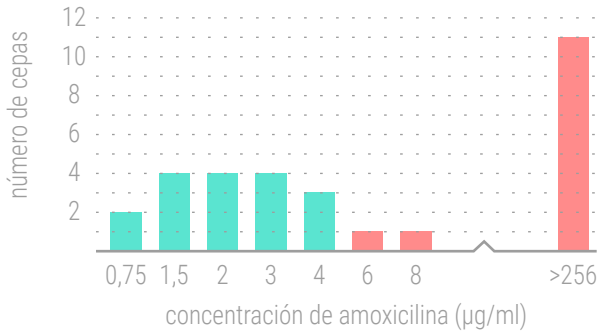
Se puede observar una importante diferencia entre las CMI 50 y 90 de amoxicilina, ampicilina y tetraciclina. Por ello se muestran gráficos de frecuencias de la distribución de los valores de CMI de algunos de estos antibióticos.

En los gráficos de la amoxicilina y ampicilina podemos observar la existencia de una subpoblación más resistente. Esto pone en valor la necesidad de realizar pruebas de sensibilidad antibiótica para poder elegir el tratamiento más adecuado.

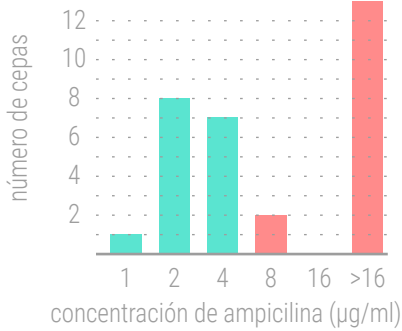
Sin embargo, las cepas analizadas mostraron una alta sensibilidad a enrofloxacina y colistina, siendo para este último todas las cepas sensibles.

distribución de las CMI de:

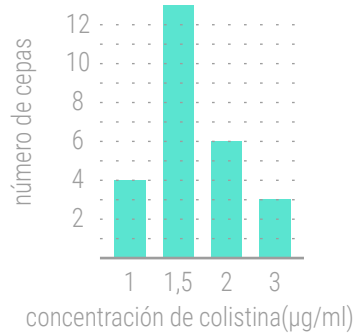
• amoxicilina



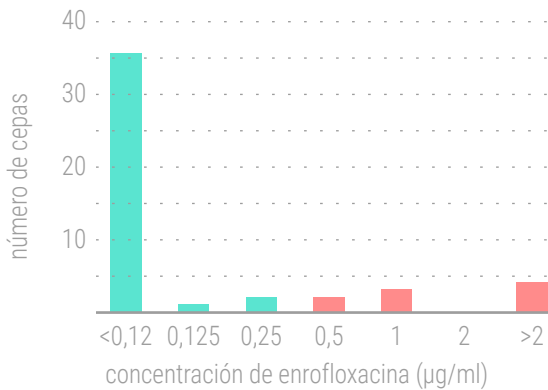
• ampicilina



• colistina



• enrofloxacin





El **toxintipado de Clostridium perfringens** nos ayuda a saber qué tipo de toxinas produce la cepa que hemos detectado. Al ser un patógeno que forma parte del microbioma intestinal, nos permite **completar el diagnóstico**, pues su detección no indica necesariamente que sea la causa del proceso.

Además, nos servirá para **tomar decisiones sobre las medidas de prevención** como la elección de vacunas que incluyan los toxintipos presentes en la explotación.

• toxintipado de Clostridium perfringens

- A** produce: enterotoxemia hemolítica o icterica
edad: corderos y cabritos mayoritariamente
- B** produce: disenteria
edad: corderos y cabritos
- C** produce: enterotoxemia hemorrágica en lactantes
produce: Struck en adultos
- D** produce: enterotoxemia o basquilla
edad: animales de cebo y adultos
- E** produce: enteritis necrotico-hemorrágica
edad: animales jóvenes

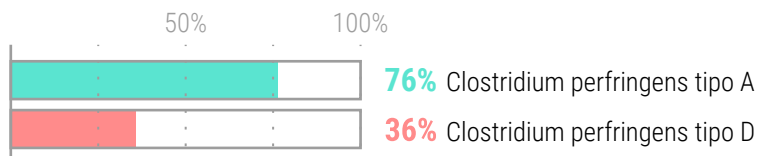
Clostridium perfringens se agrupa en **5 toxintipos (A, B, C, D, E)** de acuerdo a la producción de **4 toxinas (alpha, beta, epsilon, iota)**.

Las cepas de estos toxintipos pueden ser también **productoras de la enterotoxina (ENT) y toxina β2**

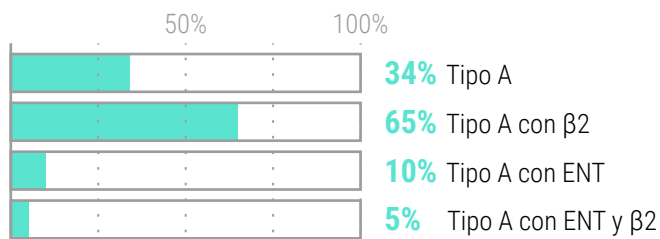
	A	B	C	D	E
alpha	+	+	+	+	+
beta	-	+	+	-	-
epsilon	-	+	-	+	-
iota	-	-	-	-	+

tipificación de Clostridium perfringens desde 2016 en ovino lactante y cebo

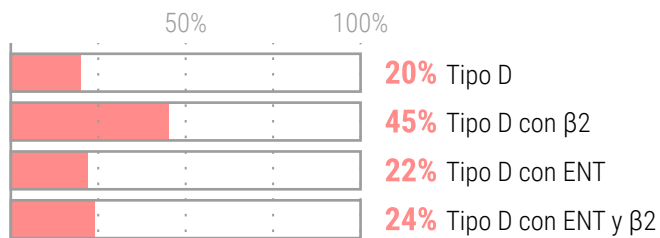
analizados 387 casos clínicos de 316 granjas mediante qPCR



Clostridium perfringens tipo A - 76%



Clostridium perfringens tipo D - 36%

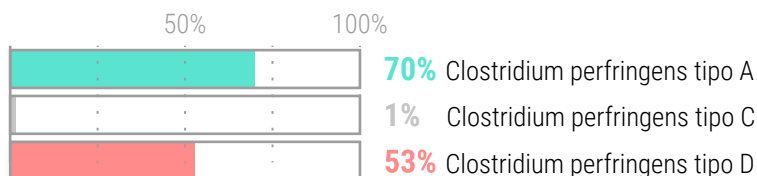


En el caso de corderos se observa que los toxinotipos mayoritarios de Clostridium perfringens son el A y el D, encontrando minoritariamente los toxinotipos E y B (0,3%). La coinfección más frecuente es el de toxinotipo A con D.

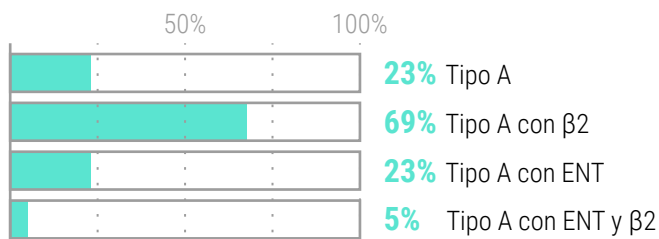
Respecto a Clostridium perfringens tipo A, se observa una elevada presencia de cepas productoras de toxina $\beta 2$. En otras especies animales esta toxina se ha relacionado con cepas de Clostridium perfringens tipo A de mayor capacidad patógena.

tipificación de *Clostridium perfringens* desde 2016 en caprino lactante y cebo

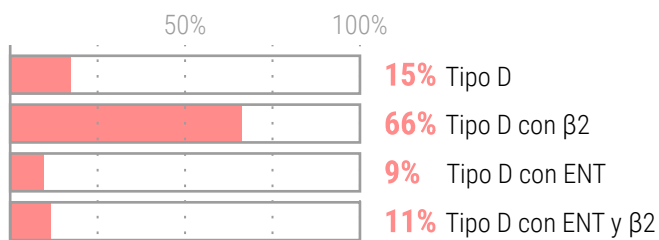
analizados 89 casos clínicos de 74 granjas mediante qPCR



Clostridium perfringens tipo A - 70%



Clostridium perfringens tipo D - 53%



Dentro de los casos de diarreas de cabritos positivos a *Clostridium perfringens*, el 70% se trata de tipo A, mientras que el 53% es tipo D. En el 37% de los casos se ha detectado una coinfección de los toxinotipos A y D. De nuevo se encuentra una presencia minoritaria de los demás tipos.



los problemas digestivos en cebaderos...

¿son siempre coccidiosis?

resultados laboratoriales → procesos multifactoriales

ante **procesos multifactoriales** se recomienda realizar un **diagnóstico diferencial**

✓ virus ✓ bacterias ✓ parásitos

1

realizar una correcta selección de muestras

2

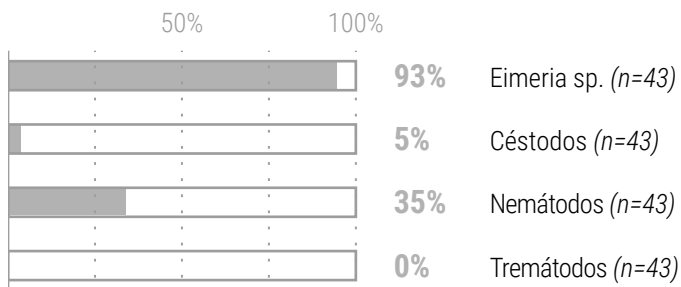
para llegar a un diagnóstico concluyente

3

y establecer así medidas preventivas

patógenos analizados en el panel coprológico

% positivos analizados mediante qPCR desde noviembre de 2020

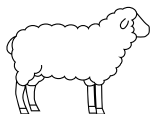


Se observa la presencia de un elevado porcentaje de *Eimeria* sp. Los nemátodos se detectan en segundo lugar, encontrando un 35% de muestras positivas.

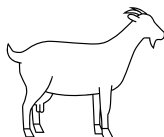
La detección de parásitos mediante qPCR aporta mayor sensibilidad, especificidad, reproducibilidad, automatización y rapidez de los resultados. Además, permite identificar a nivel de género y especie como en el caso de *Fasciola* hepática, *Dricocoelium dendriticum*, etc.



***Eimeria* sp.**



Eimeria crandalis/ahsata
Eimeria ovinoidalis



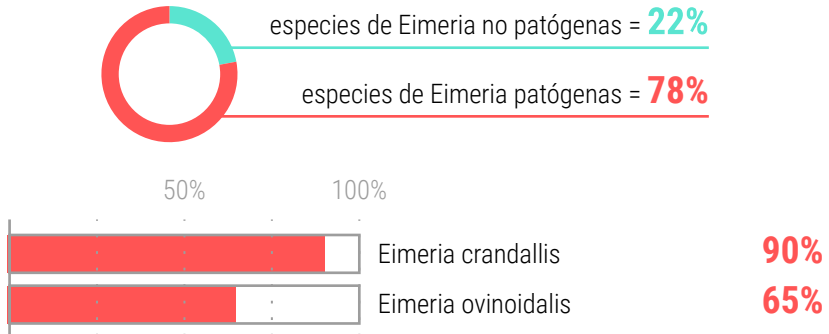
Eimeria ninakohlyakimovae
Eimeria arloingi
Eimeria christenseni

diagnóstico por qPCR sobre pools de heces

- ✓ permite valorar la infestación por lotes, edades, etc.
- ✓ valorar la eficacia de un tratamiento evaluando la concentración (Cq)
- ✓ detección de las especies patógenas de *Eimeria* sp. en cada especie animal

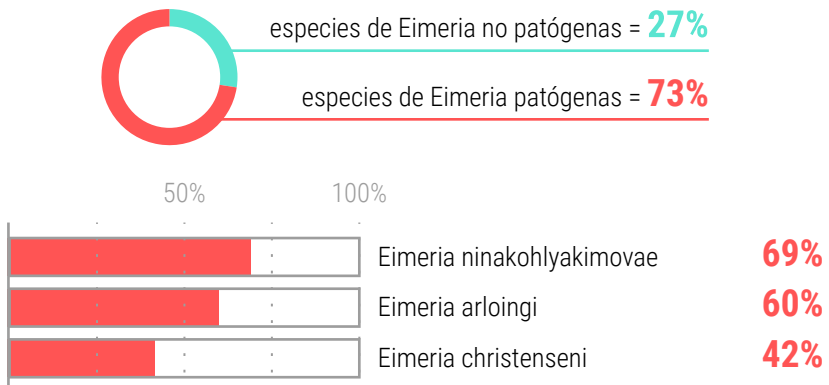
identificación a nivel de especie de Eimeria en ovino

analizados 145 casos mediante qPCR



identificación a nivel de especie de Eimeria en caprino

analizados 62 casos mediante qPCR

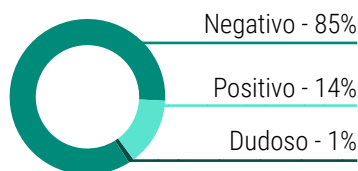


En más del 70% de los casos se ha detectado presencia de especies patógenas de Eimeria sp. Estos datos implican su amplia distribución en las explotaciones, siendo necesario valorar el tratamiento aplicado así como la realización de rotación de medicamentos.

estudio serológico de Paratuberculosis

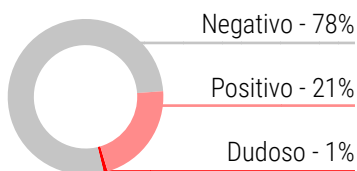
% de sueros positivos respecto al total de sueros analizados

• **ovino:** 1077 sueros



37% de granjas positivas

• **caprino:** 2399 sueros



66% de granjas positivas

Estos resultados proceden de animales adultos de explotaciones con sintomatología digestiva o para controles sanitarios (muestras sesgadas) y no deben ser tomados como datos de prevalencia.

Un resultado positivo es indicativo de un animal infectado de Paratuberculosis, mientras que en animal seronegativo se deberá ampliar el estudio mediante qPCR sobre heces para aumentar la sensibilidad diagnóstica.



Paratuberculosis: enfermedad infecciosa crónica causante de adelgazamiento y diarrea

• **diagnóstico serológico**

sobre suero
más económica

• **diagnóstico por qPCR**

sobre heces, digestivos
e hisopos

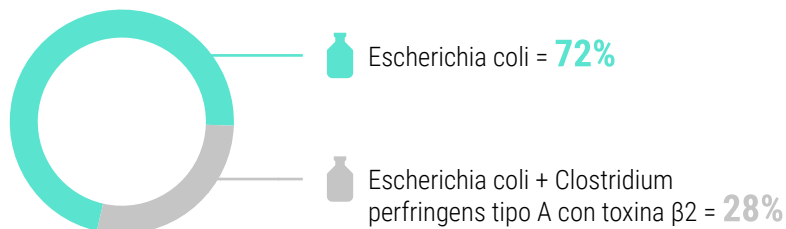
si el resultado serológico es	y el resultado por qPCR es	se confirma que el animal es
-	-	-
-	+	+
+	no es necesario	+

● resultados estadísticos: autovacunas

autovacunas producidas frente a procesos digestivos

% de autovacunas que incluyen los distintos agentes

ovino



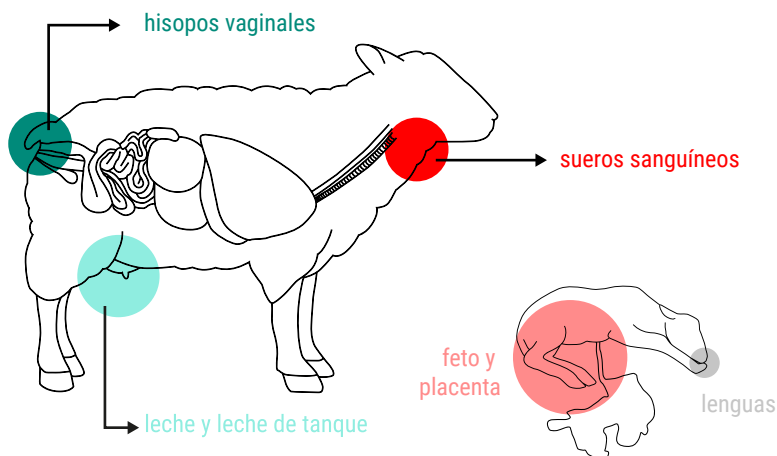
caprino



las cepas de **Escherichia coli** incluidas en las autovacunas digestivas son seleccionadas en base a los **factores de virulencia** que presentan (F17 y gen eae)

• procesos reproductivos

• toma de muestras



• paneles diagnósticos

Abortos:

qPCR: Coxiella burnetii, Salmonella sp., Chlamydia abortus, Campylobacter sp., Brucella sp., Toxoplasma gondii, Neospora caninum, Pestivirus

Chlamydia abortus: diferenciación cepas vacunales de cepas campo:

qPCR: CAB175 vacuna, CAB283 vacuna, CAB636 vacuna, CAB175 campo, CAB283 campo, CAB636 campo

Reproductivo en leche de tanque:

qPCR: Pestivirus, Coxiella burnetii, Chlamydia abortus, Toxoplasma gondii

Serología Reproductivo:

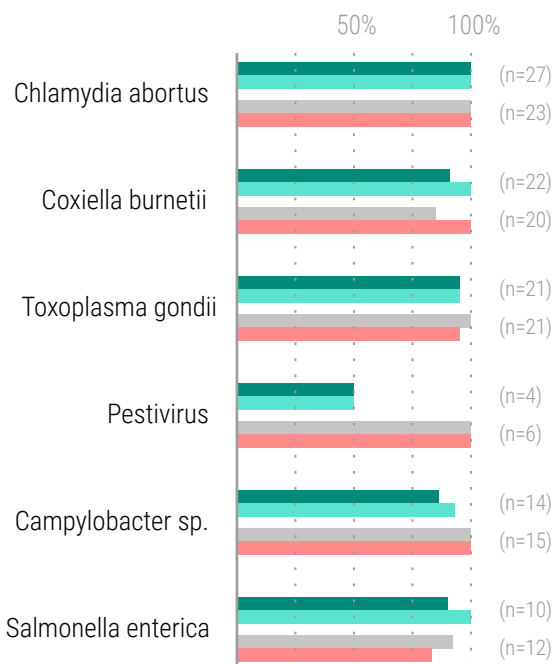
Serología: BVD p80/Border, Coxiella burnetii, Chlamydia abortus, Brucella spp. (Rosa Bengala), Toxoplasma gondii



nuevos tipos de muestreo para analizar problemas reproductivos causantes de abortos: **lenguas e hisopos de placenta**

- ✓ muestras fáciles de tomar
- ✓ posibilidad de aumentar el número de animales analizados

■ hisopos de placenta ■ placentas ■ fetos ■ lenguas



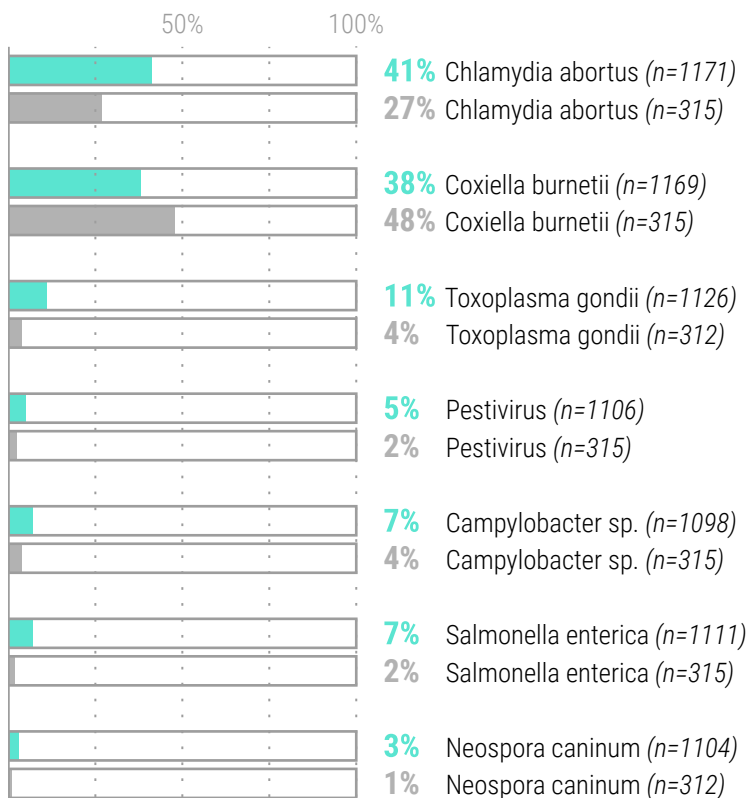
hisopos + lenguas ≈ feto + placenta

- ✓ facilita la recogida y envío de muestras al laboratorio
- ✓ aumenta hasta 5 el número de abortos a incluir (ahora analizamos máximo 2 fetos por panel)

• resultados estadísticos: diagnóstico

patógenos analizados en el panel abortos en **ovino** y **caprino**

% positivos analizados mediante qPCR

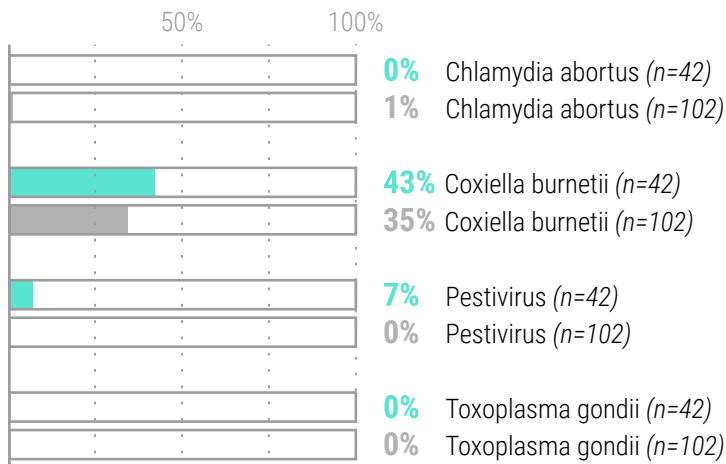


Chlamydia abortus y Coxiella burnetii son los agentes más prevalentes en casos de abortos.

De los 203 casos positivos en ganado caprino y 816 en ovino, encontramos más de un agente etiológico en el 30% en caprino y 39% en ovino. En estos casos, se debe valorar la concentración de cada agente para evaluar su implicación en el aborto. La presencia de algunos de ellos, como Border disease, es relevante independientemente de su concentración.

patógenos analizados en el panel reproductivo sobre leche de tanque en **ovino** y **caprino**

% positivos analizados mediante qPCR



La monitorización de estos patógenos en la explotación a través del análisis en tanque ayuda a realizar el seguimiento de las enfermedades tras un proceso clínico y anticiparse a los problemas tanto de infertilidades como de abortos.

Su eliminación por leche no es continua, por lo que un resultado negativo en tanque no garantiza estar exento de enfermedad.



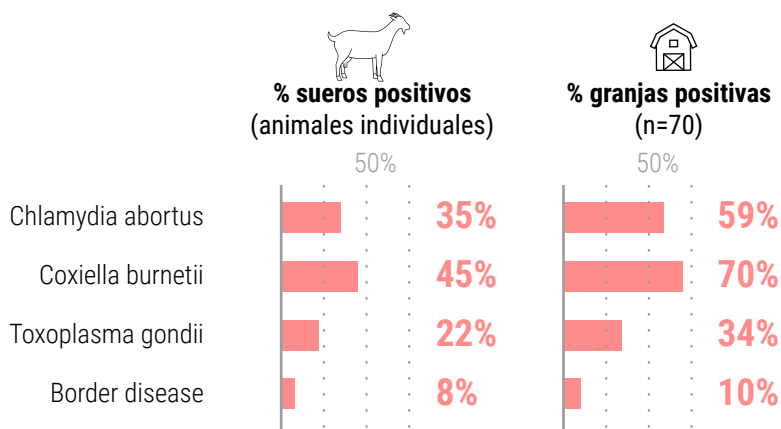
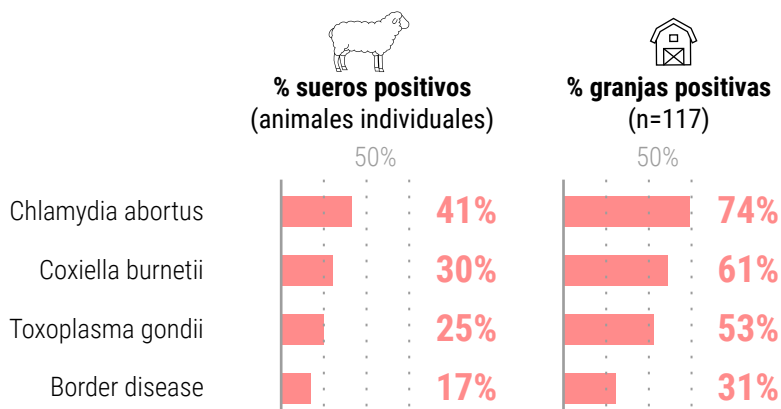
panel de diferenciación de cepas de *C. abortus*

✓ positivo a cepa vacunal
se descarta la implicación de *C. abortus* en el aborto

✗ negativo a cepa vacunal
presencia de cepa de campo con posible implicación

patógenos analizados en el panel serológico reproductivo

seropositividad a nivel de individuo y de granja mediante técnicas de ELISA



Estos resultados no deben ser tomados como datos de prevalencia, ya que son muestras sesgadas de animales de explotaciones con problemas reproductivos

Un resultado positivo puede indicar infección reciente, presencia de anticuerpos vacunales o contacto previo con el agente.



Brucella ovis

agente etiológico de la epididimitis contagiosa ovina:

- carneros: infertilidad por inflamación de órganos genitales
- reproductoras: abortos esporádicos

¿diagnóstico por palpación?



- ✓ machos con lesiones evidentes
- ✗ animales infectados sin signos clínicos que
⚠ mantienen la enfermedad en la explotación ⚠

diagnóstico por serología

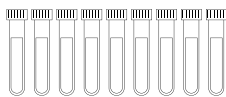
- ✓ detección de animales con infección inaparente
- ✓ valorar la prevalencia de la enfermedad en la explotación

diagnóstico por qPCR

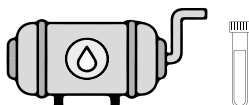
- ✓ epididimitis, infertilidad, control de portadores sobre muestra de semen
- ✓ abortos sobre muestras de fetos, placentas e hisopos vaginales

● mamitis y agalaxia

● toma de muestras



9 muestras de leche individuales



1 muestra de leche de tanque

● paneles diagnósticos

Mamitis ovina 9 + tanque:

Microbiología: Cultivo, Antibiograma

qPCR: Mycoplasma agalactiae, Maedi-Visna/CAE, Staphylococcus spp, Staphylococcus aureus, Streptococcus equi, Pestivirus, Coxiella burnetii, Chlamydia abortus, Toxoplasma gondii

Mamitis ovina tanque:

qPCR: Mycoplasma agalactiae, Maedi-Visna/CAE, Staphylococcus spp, Staphylococcus aureus, Streptococcus equi, Pestivirus, Coxiella burnetii, Chlamydia abortus, Toxoplasma gondii

Mamitis caprina 9 + tanque:

Microbiología: Cultivo, Antibiograma

qPCR: Mycoplasma agalactiae, Mycoplasma mycoides cluster, Mycoplasma putrefaciens, Maedi-Visna/CAE, Staphylococcus spp, Staphylococcus aureus, Streptococcus equi, Pestivirus, Coxiella burnetii, Chlamydia abortus, Toxoplasma gondii

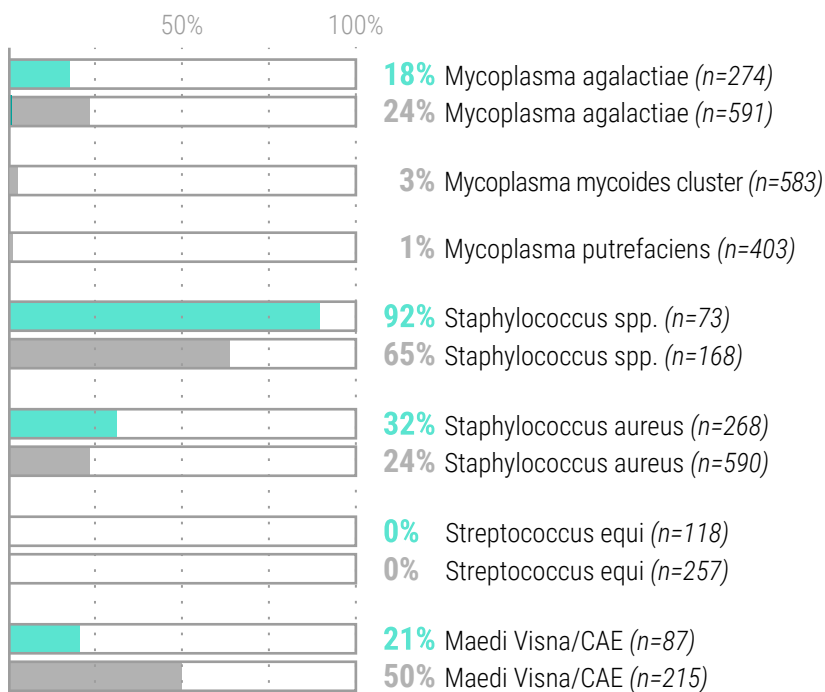
Mamitis caprina tanque:

qPCR: Mycoplasma agalactiae, Mycoplasma mycoides cluster, Mycoplasma putrefaciens, Maedi-Visna/CAE, Staphylococcus spp, Staphylococcus aureus, Streptococcus equi, Pestivirus, Coxiella burnetii, Chlamydia abortus, Toxoplasma gondii

● resultados estadísticos: diagnóstico

patógenos analizados en el panel mamitis sobre muestras de leche de tanque en **ovino** y **caprino**

% positivos analizados mediante qPCR



Se observa un alto porcentaje de detección de Staphylococcus sp. en muestra de tanque. Este género de bacterias, la mayoría ambientales, sirve como parámetro de calidad de leche.

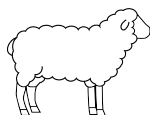
En el caso de caprino, se detecta un 50% de positivos al virus del CAE indicando su alta prevalencia en las explotaciones de cabras lecheras.

La monitorización en tanque sirve para detectar patógenos que se eliminan a través de la leche aunque no se observe enfermedad.

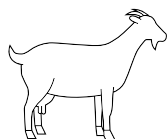


detectar portadores asintomáticos de *Mycoplasmas*:

- ✓ disminuir la transmisión de la enfermedad en la explotación
- ✓ evitar la introducción de infectados en granjas libres



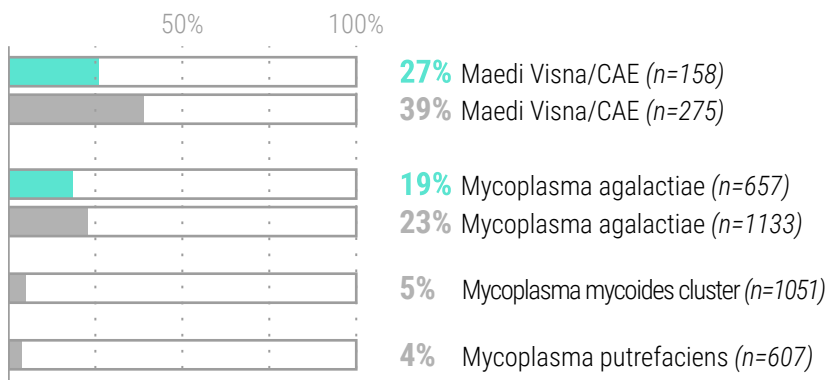
hisopos nasales - qPCR
 leche en lactación - qPCR
 sueros (no vacunados) - serología



hisopos auriculares - qPCR
 leche en lactación - qPCR
 sueros (no vacunados) - serología

patógenos analizados en el panel mamitis sobre muestras individuales de leche en **ovino** y **caprino**

% positivos analizados mediante qPCR

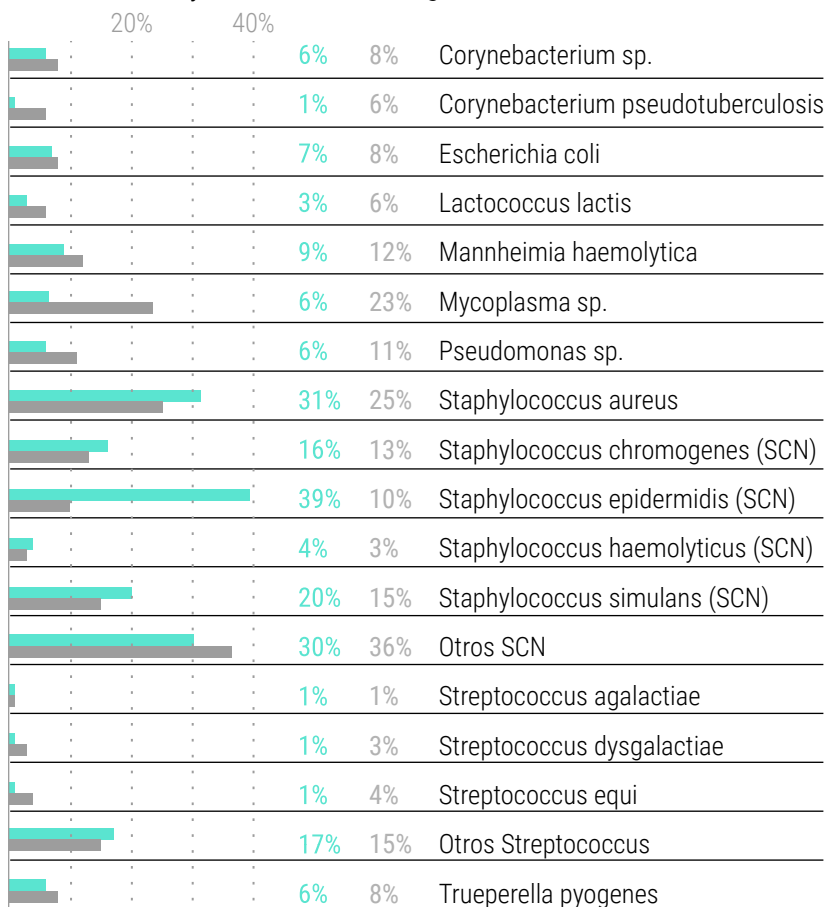


En leches individuales también se observa un importante porcentaje de detección del virus de Maedi-Visna/CAE al igual que en los análisis de tanque, indicando la presencia de la enfermedad de manera habitual en las explotaciones.

En caprino los casos de agalaxia contagiosa se pueden producir por diferentes especies de mycoplasmas, siendo *Mycoplasma agalactiae* el más prevalente.

bacterias aisladas más frecuentemente en casos de mamitis en **ovino** y **caprino**

analizados 438 y 674 casos desde agosto de 2018

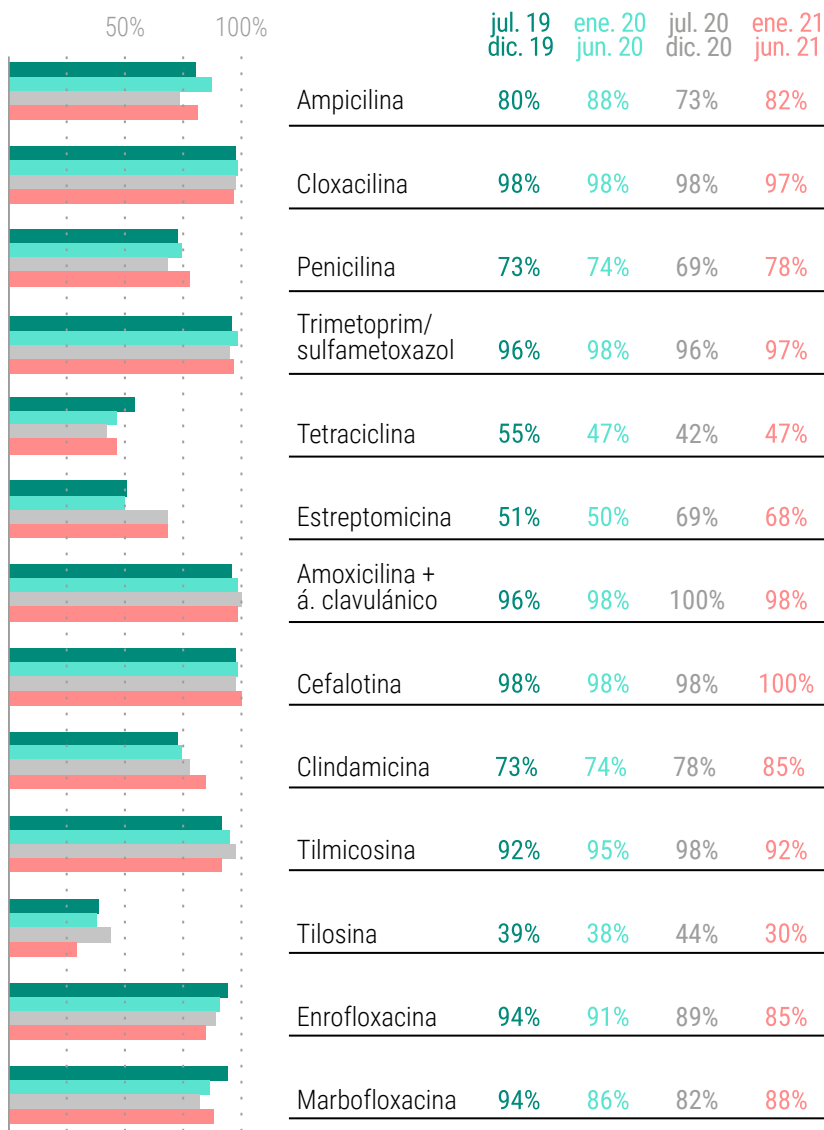


Mediante cultivo microbiológico de las leches individuales se han obtenido mayoritariamente aislamientos de *Staphylococcus aureus* (mamitis gangrenosa) y *Staphylococcus coagulasa* negativo (SCN).

El aislamiento de *Mycoplasma* se realiza mediante cultivo específico, siendo más difícil la obtención de la cepa pura. Por ello es importante en el diagnóstico de agalaxia combinar ambas técnicas (qPCR y cultivo microbiológico) para aumentar la sensibilidad diagnóstica.

estudio de la sensibilidad antibiótica (Kirby Bauer) de *Staphylococcus aureus* en ovino y caprino

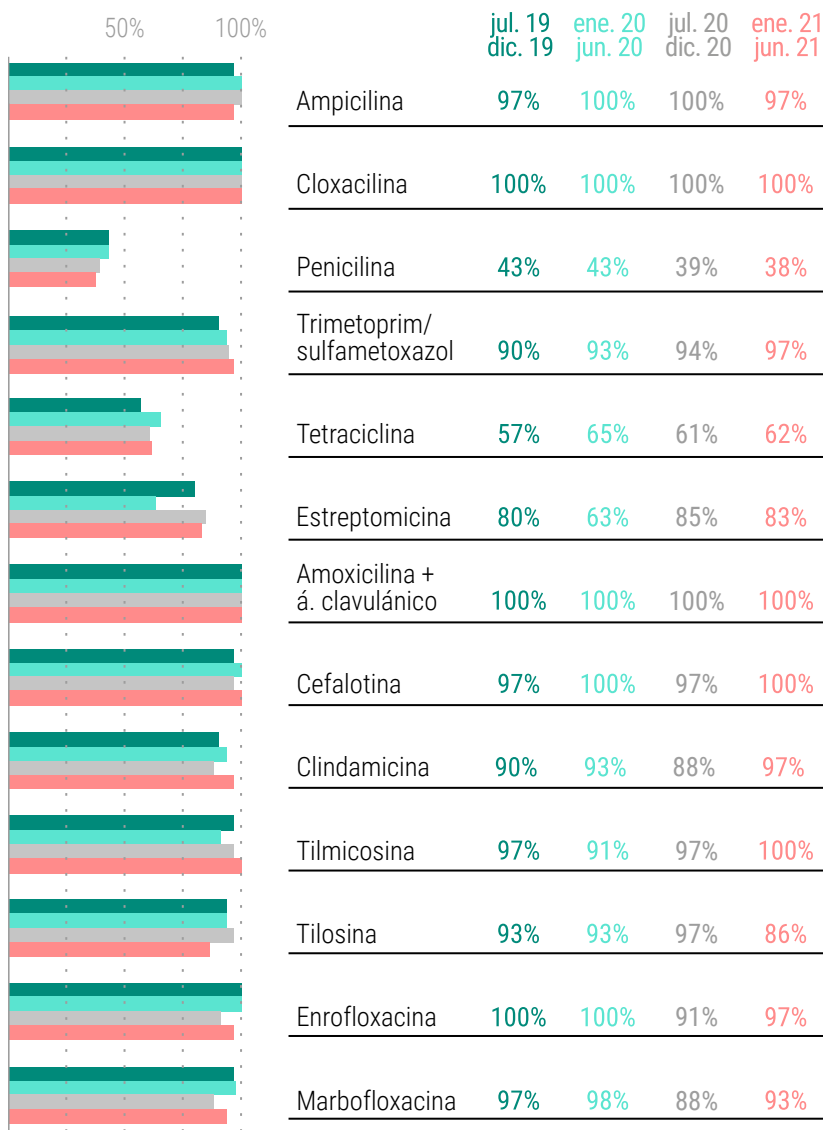
comparación del porcentaje de sensibilidad de 222 antibiogramas realizados en los siguientes semestres:



Se ha evaluado la evolución de la sensibilidad de cada antibiótico a lo largo del tiempo mediante la prueba estadística Chi-cuadrado. No se han obtenido diferencias significativas para ningún antibiótico.

estudio de la sensibilidad antibiótica (Kirby Bauer) de *Staphylococcus epidermidis* en ovino y caprino

comparación del porcentaje de sensibilidad de 143 antibiogramas realizados en los siguientes semestres:



Se ha evaluado la evolución de la sensibilidad de cada antibiótico a lo largo del tiempo mediante la prueba estadística Chi-cuadrado. No se han obtenido diferencias significativas para ningún antibiótico.

Los porcentajes de sensibilidad para *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* son similares para la gran mayoría de los antibióticos.

En el caso de *Staphylococcus aureus* se observa una menor sensibilidad para ampicilina, penicilina, tetraciclina, estreptomina, clindamicina y especialmente para tilosina.

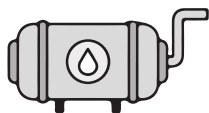
Por otro lado, las cepas analizadas de *Staphylococcus epidermidis* presentan porcentajes de sensibilidad menores frente a penicilina, y además muestran una tendencia a disminuir su sensibilidad frente al tiempo.



Listeria monocytogenes

- ✗ no causa mastitis en pequeños rumiantes
- ✓ zoonosis
 - ⚠ excreción a través de la leche, que conlleva su retirada por parte de las centrales lecheras

¿cómo podemos monitorizar la presencia de *Listeria monocytogenes* en nuestras explotaciones?



muestra:
 leche de tanque de
 varios días consecutivos:
 ⚠ la excreción es intermitente

técnicas diagnósticas para su detección:

- ✓ cultivo microbiológico
- ✓ técnicas moleculares (qPCR)

En Exopol, el 55% de los casos recibidos por sospecha de *Listeria monocytogenes* han resultado positivos.



para controlar la presencia de *Listeria monocytogenes* en tanque:

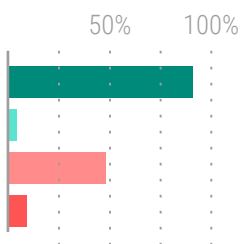
- ✓ higiene y desinfección periódica de la máquina y conductos de ordeño
- ✓ detección de portadores analizando muestras de leche individual y eliminando los animales positivos
- ✓ aplicación de una autovacuna frente a esta bacteria para controlar la excreción a través de la leche

● resultados estadísticos: autovacunas

autovacunas producidas frente a procesos causantes de mastitis

% de autovacunas que incluyen los distintos agentes

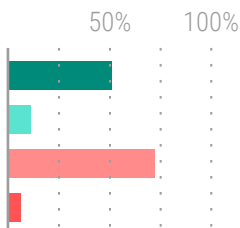
ovino



Staphylococcus sp. **91%**
Streptococcus sp. **4%**
Mycoplasma sp. **48%**
Otros **9%**



caprino

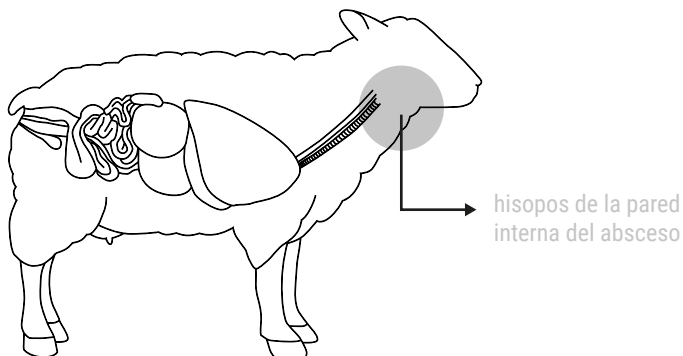


Staphylococcus sp. **51%**
Streptococcus sp. **11%**
Mycoplasma sp. **72%**
Otros **6%**



● procesos causantes de abscesos a nivel cutáneo

● toma de muestras

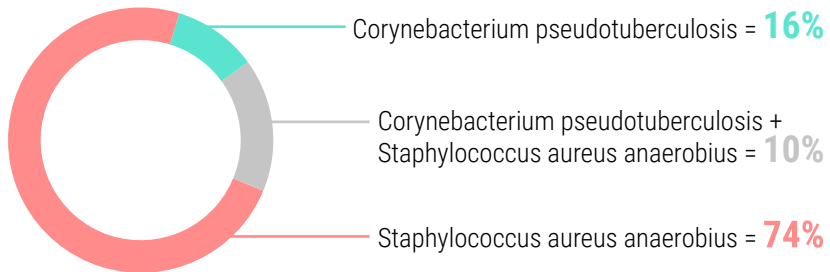


	enfermedad de los abscesos	linfadenitis caseosa
distribución	● Europa - Asia ● África occidental	● mundial
etiología	● Staphylococcus aureus anaerobius	● Corynebacterium pseudotuberculosis
morbilidad	● alta	● baja
edad afectados	● jóvenes	● reposición y adultos
presentación	● solo superficial (no siempre en linfonodo)	● superficial (siempre linfonodos), visceral
tamaño abscesos	● Ø hasta 7 cm	● Ø 0,5-15 cm
contenido del absceso	● pus cremoso semilíquido	● pus caseoso concéntrico calcificaciones

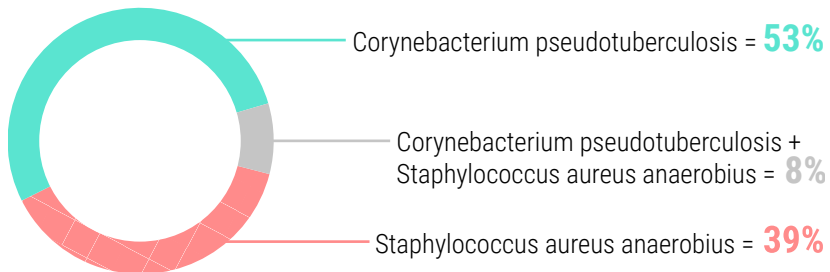
● resultados estadísticos: diagnóstico

bacterias causantes de la enfermedad de Morel y linfadenitis

• ovino



• caprino



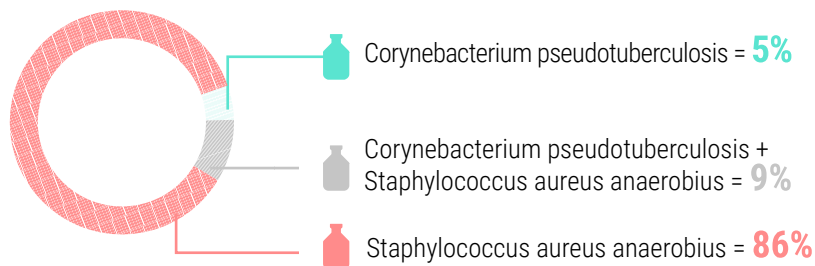
Se observa un mayor aislamiento de linfadenitis (53%) en el ganado caprino que en el ovino, donde es más común encontrar la enfermedad de Morel (74%).

• resultados estadísticos: autovacunas

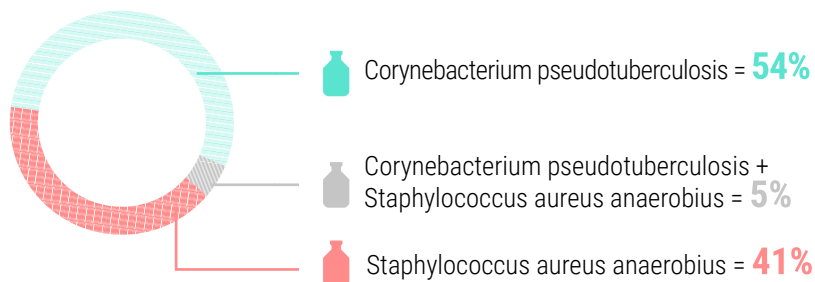
autovacunas producidas frente a procesos causantes de abscesos

% de autovacunas que incluyen los distintos agentes

ovino



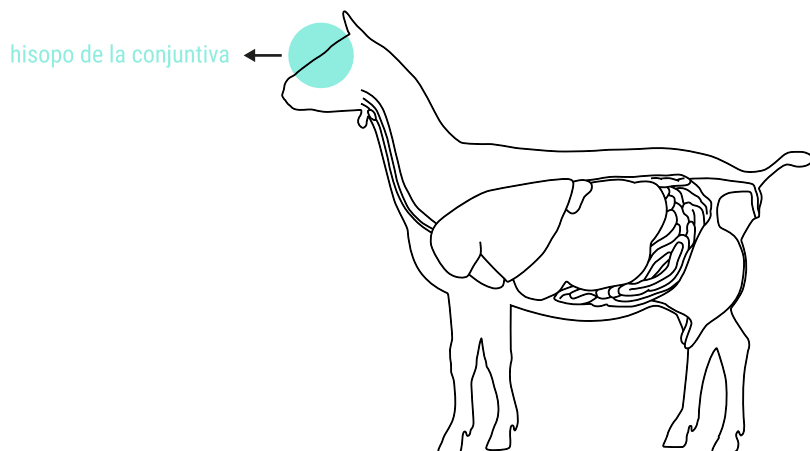
caprino





● procesos oculares

● toma de muestras



● paneles diagnósticos

Ocular ovino:

Microbiología: Cultivo, Antibiograma

qPCR: *Mycoplasma agalactiae*, *Moraxella ovis*, *Mycoplasma conjunctivae*

Ocular caprino:

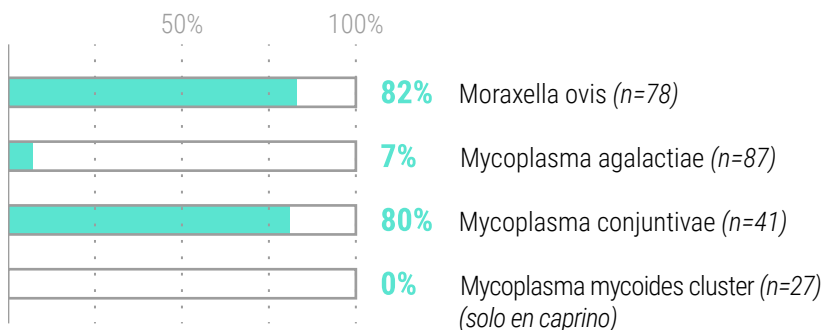
Microbiología: Cultivo, Antibiograma

qPCR: *Mycoplasma agalactiae*, *Mycoplasma mycoides* cluster, *Moraxella ovis*, *Mycoplasma conjunctivae*

● resultados estadísticos: diagnóstico

patógenos analizados en el panel ocular ovino y caprino

% positivos analizados mediante qPCR

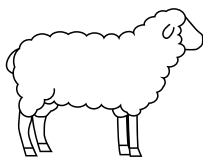


Se detecta en la mayoría de los casos analizados (82%) *Moraxella ovis*, agente causal de la queratoconjuntivitis ovina. Además, en el 80% de los casos se detecta *Mycoplasma conjunctivae*, sin embargo no está demostrada su implicación como agente primario en los procesos oculares.



autovacunas frente a *Moraxella ovis*

eficaces para el control de la queratoconjuntivitis ovina



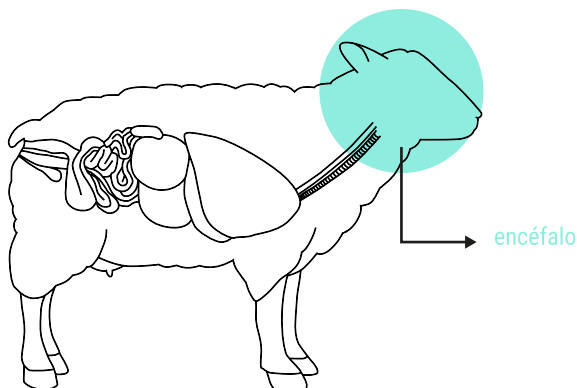
aplicadas en granjas de reproductoras con problemas



aplicadas en cebaderos de ovino

● procesos nerviosos

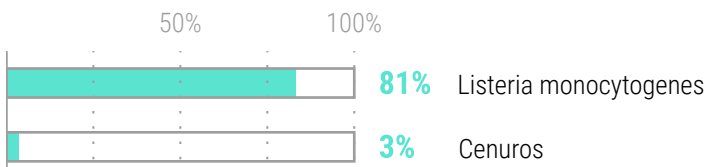
● toma de muestras



● resultados estadísticos: diagnóstico

patógenos analizados en procesos nerviosos

analizados 189 casos mediante qPCR y microbiología

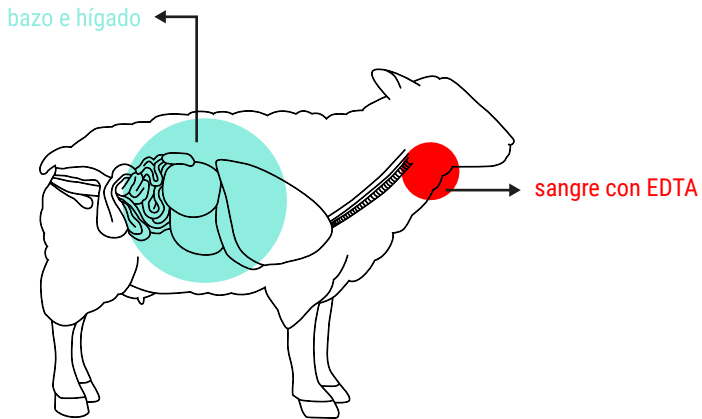


En los casos analizados, principalmente de reposición y adultos, se observa un 81% diagnosticado como listeriosis, mientras que un 3% son casos de cenurosis, confirmada mediante estudios anatomopatológicos.

La necrosis cerebrocortical o polioencefalomalacia es una patología nerviosa causada por un déficit de vitamina B1 (tiamina). No se incluye en el gráfico ya que apenas se reciben muestras en el laboratorio. Su diagnóstico suele ser clínico, pues ante la sospecha de esta enfermedad, el tratamiento con tiamina corrige el problema.

● hemoparásitos

● toma de muestras



enfermedades producidas por hemoparásitos

Anaplasmosis

síntomas: fiebre, ictericia, anemia y caquexia

⚠️ casos de carácter crónico asociados a *Anaplasma* sp. ⚠️



corderos aparentemente sanos con canales ictericas



factor predisponente para otras enfermedades infecciosas en corderas y ovejas adultas

Piroplasmas: *Babesia* y *Theileria*

Babesia ovis y *Babesia mutasi*

- ✓ especies patógenas en pequeños rumiantes añadidas recientemente al panel diagnóstico

• paneles diagnósticos

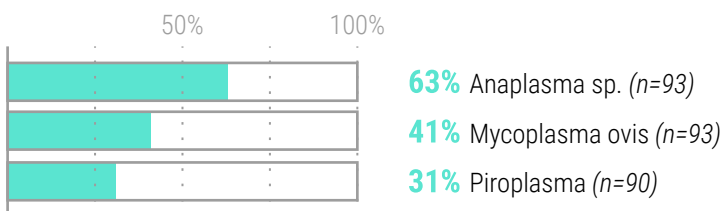
Hemoparásitos:

qPCR: Piroplasmas, Anaplasma sp., Mycoplasma ovis, Babesia ovis, Babesia mutasi

• resultados estadísticos: diagnóstico

patógenos analizados en el panel hemoparásitos ovino

% positivos analizados mediante qPCR



En la especie ovina se encuentra un alto porcentaje de casos positivos a Anaplasma sp. Los problemas causados por hemoparásitos son más prevalentes en rebaños de ovejas que pastorean, siendo esporádicos los casos en la especie caprina (resultados no mostrados).



Polígono Río Gállego D/14
50840, San Mateo de Gállego
Zaragoza, España

www.exopol.com
976 69 45 25
exopol@exopol.com

