



## ÍNDICE



## COMUNICACIONES ORALES

### ID 20

#### **DESARROLLO DE UNA qPCR PARA LA CUANTIFICACIÓN DE BACTERIAS DEL COMPLEJO *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* Y SU CONVERSIÓN A ddPCR**

Leire Fernández Veiga<sup>1</sup>; David Sánchez Martel<sup>1</sup>; Bernat Pérez de Val<sup>2</sup>; María V. Geijo<sup>1</sup>; Ramón A. Juste<sup>1</sup>; Iker Agirregomoskorta Sevilla<sup>1</sup>; Joseba Garrido<sup>1</sup>

1. NEIKER; 2. IRTA CRESA

#### **Introducción y objetivos**

La confirmación de los casos de tuberculosis animal se realiza principalmente mediante cultivo o PCR directa de tejidos, permitiendo esta última detectar y cuantificar el complejo *Mycobacterium tuberculosis* (CMT) más rápidamente.

**Objetivo:** desarrollar una PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR) dirigida a una secuencia de copia única específica del CMT, para su detección y cuantificación directamente desde tejido.

#### **Metodología**

Los oligonucleótidos se diseñaron sobre una secuencia del gen *devS* específica para el CMT y presente en copia única por bacteria. La especificidad y sensibilidad analíticas se evaluaron con cepas CMT y no CMT. Para la validación preliminar de la técnica se utilizaron 150 muestras positivas y negativas de matadero, usando como referencia el cultivo BACTEC MGIT. La correlación entre las cargas bacterianas estimadas como unidades formadoras de colonia (UFC) por el cultivo en placa y como equivalentes genómicos (EG) por la qPCR *devS*, se estudió utilizando 315 muestras de tejidos de animales experimentalmente infectados. También se estudió la concordancia entre el cultivo y la qPCR desarrollada. Posteriormente, el diseño se adaptó al formato de digital droplet PCR (ddPCR) y se aplicó a las mismas muestras.

#### **Resultados y discusión**

La qPCR mostró una especificidad analítica del 100 %. El límite de detección (95% de confianza), fue de 2 copias por reacción. La especificidad y sensibilidad diagnósticas establecidas con las muestras de matadero fueron del 100% en ambos casos. Se obtuvo un valor de correlación de Pearson general entre UFCs y EGs de 0,78. La concordancia general entre cultivo y qPCR fue del 96,7% (kappa 0,93). Una vez optimizada la técnica de ddPCR, la correlación (Pearson) entre EGs calculados por qPCR y ddPCR fue cercana a 0,7.

#### **Conclusiones**

La qPCR desarrollada constituye una herramienta de gran utilidad tanto en el diagnóstico rutinario de la tuberculosis animal, como en estudios experimentales donde estimar la carga bacteriana sea clave.

#### **Apoyo financiero y agradecimientos**

**Apoyo financiero:** Proyectos EFA115/01 INNOTUB II financiado por el Programa INTERREG-POCTEFA 2021-2027 de la UE y Proyecto PID2022-142939OR-C21 financiado por MICIU/AEI /10.13039/501100011033 y por FEDER, UE. Leire Fernández obtuvo una beca del Programa Ikertalent 2021 del Departamento de Desarrollo Económico, Sostenibilidad y Medio Ambiente del Gobierno Vasco. David Sánchez-Martel obtuvo una beca PREP2022-000469 financiada por MICIU/AEI /10.13039/501100011033 y por el FSE+.

#### **Keywords**

tuberculosis animal • complejo *Mycobacterium tuberculosis* • diagnóstico • qPCR • ddPCR • carga bacteriana • equivalentes genómicos

## COMUNICACIONES ORALES

### ID 34

#### **AVANCES EN LA VIGILANCIA AMBIENTAL DE *COXIELLA BURNETII* EN GRANJAS DE PEQUEÑOS RUMIANTES**

**Teresa García-Seco Romero<sup>1</sup>; Carmen Herranz Benito<sup>1</sup>; Carmen Bárcena Asensio<sup>1</sup>; Paloma Díez de Tejada Martín<sup>2</sup>; Rosa Díaz Suárez<sup>3</sup>; Eva Cristina Girón Romero<sup>3</sup>; Gema Benito Acero<sup>3</sup>; Julio Álvarez Sánchez<sup>4</sup>; Marta Pérez Sancho<sup>4</sup>**  
*1. Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria VISAVENT-UCM, Madrid; 2. Servema SLP, Madrid; Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense, Madrid; 3. Dirección General de Agricultura Ganadería y Alimentación, Comunidad de Madrid, Madrid; 4. Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria VISAVENT; Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense, Madrid - UCM, Madrid*

#### **Introducción y objetivos**

Los muestreos ambientales son útiles para la vigilancia de fiebre Q (causada por *Coxiella burnetii*, Cb) en granjas de rumiantes, estando contemplados en los planes de vigilancia nacional como aproximación complementaria. Este trabajo compara la capacidad de detección de Cb en muestras ambientales respecto a muestras "clásicas", e identifica variables asociadas con una mayor probabilidad de detección en granjas de pequeños rumiantes.

#### **Metodología**

El estudio consistió en tres muestreos realizados durante 10 meses en cinco explotaciones de pequeños rumiantes confirmadas a fiebre Q en las que se aplicaron medidas de control, tomándose 30 esponjas ambientales (GPSponge kit®, muestreos 1,2,3) y 10 hisopos vaginales, 10 hisopos de heces y 10 leches (muestreos 1,3). Se extrajo y analizó el ADN mediante PCR real-time para la detección del fragmento IS1111 de Cb. Mediante un modelo de regresión mixta multivariable se predijo la probabilidad de detección en función de diversas variables.

#### **Resultados y discusión**

El porcentaje de muestras ambientales positivas fue superior al de muestras clásicas en todas las granjas y muestreos (6-100% vs. 0-44%). Se redujo la carga ambiental de Cb a lo largo del estudio, con una odds de positividad tres veces mayor en el primer muestreo que en el tercero. La odds fue también mayor en muestras del entorno de animales adultos (incluyendo paridera y sala de ordeño) comparado con las del entorno de animales jóvenes y con muestras tomadas del corvejón de animales. El análisis de 10 esponjas del entorno de animales adultos aseguró la detección de Cb con una probabilidad >90% en todos los muestreos.

#### **Conclusiones**

Los muestreos ambientales son útiles para detectar granjas positivas y monitorizar la eficacia de planes de control de fiebre Q. Realizar estos muestreos en el entorno de animales adultos (corrales, comederos y bebederos, salas de ordeño) maximiza las posibilidades de detección de Cb en estos escenarios.

#### **Apoyo financiero y agradecimientos**

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto art.83 L.O.U. con referencia 155-2024.

#### **Keywords**

Fiebre Q • *Coxiella burnetii* • Muestreos no invasivos • Vigilancia epidemiológica • PCR a tiempo real • Pequeños rumiantes • ADN ambiental

## COMUNICACIONES ORALES

### ID 41

#### **DESARROLLO DE UNA NUEVA PRUEBA DE PCR EN TIEMPO REAL PARA LA DETECCIÓN DE BTV/EHDV Y SEROTIPOS DE BTV (1, 3, 4, 8 Y 12)**

**Vanessa Harjunen<sup>1</sup>; Juan Rodríguez<sup>2</sup>; Michael Angelichio<sup>3</sup>; Kathy Velek<sup>3</sup>; Hayley Webber<sup>3</sup>; Olivia Hamilton<sup>3</sup>; Lisa Gow<sup>3</sup>; Lori Plourde<sup>3</sup>; Tevy Yin<sup>4</sup>; Loïc Commun<sup>4</sup>**

**1. IDEXX Finlandia; 2. IDEXX España; IDEXX USA; IDEXX Francia**

#### **Introducción y objetivos**

El virus de la lengua azul (BTV) y el virus de la enfermedad hemorrágica epizoótica (EHDV) afectan a rumiantes domésticos y silvestres, generando importantes pérdidas económicas. Ambos virus son transmitidos por mosquitos del género *Culicoides* y presentan síntomas clínicos similares. El objetivo de este estudio fue desarrollar y validar una nueva prueba de PCR en tiempo real para la detección simultánea de BTV y EHDV, así como para la diferenciación de los serotipos de BTV más prevalentes en Europa: 1, 3, 4, 8 y 12.

#### **Metodología**

Se evaluaron seis ensayos PCR (RealPCR BTV/EHDV Multiplex RNA Test y pruebas específicas para los serotipos mencionados) utilizando muestras de campo y caracterizadas de varios países europeos. Se analizaron parámetros como exclusividad, inclusividad, límite de detección (LOD), especificidad y sensibilidad diagnóstica. También se evaluó el control interno endógeno (ISC) para la detección de ARN de hospedadores rumiantes.

#### **Resultados y discusión**

Los ensayos mostraron alta inclusividad para cepas circulantes en Europa y ausencia de reactividad cruzada. El LOD fue de 10 copias por reacción para todos los objetivos, y la especificidad diagnóstica alcanzó el 100 %. El ISC demostró eficacia comparable a métodos de referencia. Se logró detectar cepas emergentes como BTV-12 ND/2024 (Países Bajos) y BTV-1 SPA/2024 (España).

#### **Conclusiones**

Los resultados respaldan el uso de estas nuevas pruebas de PCR en tiempo real como herramientas fiables para el diagnóstico rutinario de BTV/EHDV y la tipificación de serotipos de BTV en laboratorios veterinarios europeos.

#### **Keywords**

BTV • EHDV • PCR en tiempo real • Diagnóstico veterinario • Validación diagnóstica • Rumiantes • Control interno endógeno

## COMUNICACIONES ORALES

### ID 12

#### MODIFICACIÓN Y VALIDACIÓN DE UNA RRT-PCR DE REFERENCIA PARA LA DETECCIÓN DE UNA NUEVA CEPA DEL VIRUS DE LA PESTE EQUINA AFRICANA

Jorge Morales Bello<sup>1</sup>; María José Ruano Ramos<sup>1</sup>; Cristina Tena Tomás<sup>2</sup>; Marta Valero Lorenzo<sup>1</sup>; Ana López Herranz<sup>1</sup>; Rubén Villalba Martínez<sup>1</sup>; Montserrat Agüero García<sup>1</sup>

*1. Laboratorio Central de Veterinaria, Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. Algete; 2. Tecnologías y Servicios Agrarios, S.A. (TRAGSATEC), Madrid*

#### Introducción y objetivos

El virus de la peste equina africana (AHSV) es un orbivirus de la familia *Sedoreoviridae* que afecta a los équidos. La Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA) y la Unión europea incluyen la peste equina africana como enfermedad de declaración obligatoria, por ello, es esencial disponer de métodos validados y armonizados para su detección. Actualmente, los métodos de reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa en tiempo real (rRT-PCR) descritos por Agüero 2008 y Guthrie 2013 son los de referencia en el manual de la OMSA y han sido ampliamente validados. Sin embargo, recientemente ha sido notificada en la República de Sudáfrica (RSA) una nueva cepa del virus no detectada por la rRT-PCR de Agüero. Para garantizar su detección, dicho método ha sido modificado y validado.

#### Metodología

Para evitar discordancias con la secuencia de la nueva cepa, se introdujeron nucleótidos degenerados en el cebador inverso y la sonda del método original. Dado que la nueva cepa sudafricana no estaba disponible, se diseñó un ARN sintético que contenía la secuencia diana para los métodos de rRT-PCR de referencia de esta cepa (AHSV-RSA-sRNA). Posteriormente, el método de Agüero-modificado fue validado empleando una amplia colección de aislados, muestras clínicas y el ARN sintético.

#### Resultados y discusión

La evaluación comparativa del método de Agüero-modificado frente al original no mostró diferencias significativas en su validación. Además, se confirmó que el método Agüero 2008 no es capaz de detectar el AHSV-RSA-sRNA, sin embargo, este ARN sintético sí fue detectado con los métodos Agüero-modificado y Guthrie 2013, obteniendo valores de ciclo umbral (Ct) menores con el método Agüero-modificado.

#### Conclusiones

Este estudio demuestra que la rRT-PCR Agüero-modificada presenta unos parámetros de validación equivalentes al método original y además permite la detección de la secuencia diana de la nueva cepa sudafricana.

#### Keywords

Peste equina africana • Orbivirus • rRT-PCR • validación • ARN sintético • método de referencia • nueva cepa

## COMUNICACIONES ORALES

### ID 51

### COMPARACIÓN DE ELISA EN SANGRE Y PCR EN HECES PARA EL CONTROL DE PARATUBERCULOSIS

**Ramón A. Juste Jordán;** Iker Sevilla Agirregomoskorta; Mariví Geijo Vázquez; Elena Molina Fernández;  
Joseba M. Garrido Urkullu  
**NEIKER-BRTA**

#### Introducción y objetivos

La técnica ELISA para la detección de anticuerpos específicos, tanto en sangre como en leche, es el método más utilizado en los programas de control de paratuberculosis. Se han publicado series en las que en 10 años solo se ha reducido la prevalencia de casi un 5% a algo más de un 2%

#### Metodología

En el País Vasco, en un ensayo de campo con 19 rebaños vacunados con Silirum (CZ Vaccines) y 7 rebaños en los que sólo se empleó saneamiento se ha logrado una prevalencia cero de excretores tras 15 controles anuales en al menos los dos últimos controles. En este trabajo analizamos el rendimiento comparativo del ELISA en sangre y la PCR en heces (FPCR)

#### Resultados y discusión

Tomando la FPCR como referencia de riesgo epidemiológico de difusión del agente, el ELISA tuvo un 55,6% de sensibilidad y un 97,7% de especificidad en los rebaños no vacunados y un 62,1% de sensibilidad y un 78,0% de especificidad en los vacunados. En los rebaños no vacunados se mantuvo un 0,5%, 1,4%, 2,2%, 0,0% y 0,6% de positivos en ELISA durante los últimos 5 años de control. Los resultados de la FPCR fueron de 0,0%, 0,0%, 0,7%, 0,0% y 0,0%. Estos resultados concuerdan con las observaciones del uso de ELISA en distintos países y de FPCR en Alemania y Australia

#### Conclusiones

Por lo tanto, se concluye que es posible erradicar la contaminación fecal por MAP mediante FPCR en un plazo de 10 años, pero que el ELISA sólo no permite alcanzar un nivel cero de positivos en el mismo tiempo. La FPCR fue compatible con la vacunación y permitió adelantar la erradicación tres años

#### Apoyo financiero y agradecimientos

Ganaderos colaboradores. Veterinarios clínicos. Diputaciones forales de Álava, Bizkaia y Gipuzkoa. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. European Union. INIA. Agencia Estatal de Investigación

#### Keywords

paratuberculosis • ELISA • PCR • control • vacuna

## COMUNICACIONES ORALES

### ID 10

#### **ENTEROCOCCUS HIRAE, ¿UN NUEVO INTEGRANTE DEL COMPLEJO ENTÉRICO PORCINO?**

**Héctor Puente**<sup>1</sup>; **Jhanira Meneses**<sup>2</sup>; **Lucía Pérez-Pérez**<sup>2</sup>; **Samuel Gómez-Martínez**<sup>2</sup>; **Héctor Argüello**<sup>2</sup>; **Ana Carvajal**<sup>2</sup>  
*1. Universidad de Córdoba; 2. Universidad de León*

#### **Introducción y objetivos**

El complejo entérico porcino se produce a consecuencia de la interacción de distintos agentes patógenos u oportunistas que, unidos a factores ambientales y de manejo, así como del hospedador, provocan cuadros clínicos de diarrea en cerdos de cualquier edad. El objetivo de este trabajo fue estudiar el papel de *Enterococcus hirae*, un comensal y patógeno oportunitista, en el complejo entérico de lechones, e investigar su asociación con otros agentes etiológicos de este complejo

#### **Metodología**

Se muestraron 51 explotaciones porcinas españolas, de las cuales 35 presentaban brotes de diarrea en lactación, mientras que 16 correspondían a explotaciones sin clínica. Tras extraer ADN de las heces, se detectó y cuantificó *E. hirae* mediante qPCR. Por último, se investigó la presencia de Rotavirus A, Rotavirus C, Virus de la diarrea epidémica porcina (PEDV) y *Escherichia coli* enterotoxigénico (ETEC) para valorar su relación con la eliminación de *E. hirae*

#### **Resultados y discusión**

Se confirmó la presencia de *E. hirae* en el 86,3 % de las granjas investigadas, siendo positivas el 91,4 % de las granjas con brotes entéricos y el 75,0% de granjas sin clínica. Además, se observó que la eliminación de *E. hirae* en heces era más elevada en animales enfermos a partir de los 6 días de edad. Por último, nuestros resultados sugieren una posible sinergia entre Rotavirus A y *E. hirae* al incrementarse la eliminación del enterococo en los animales infectados por ambos agentes

#### **Conclusiones**

Nuestros resultados muestran que *E. hirae* se detecta en la mayoría de los lechones, independientemente de su salud intestinal, aunque su eliminación aumenta significativamente en lechones con diarrea a partir de los 6 días de edad. Es necesario profundizar en la patogenia de *E. hirae* valorando el papel del hospedador, coinfecciones y factores de virulencia, combinando qPCR con estudios histopatológicos que ayuden a esclarecer las lesiones asociadas

#### **Apoyo financiero y agradecimientos**

Este trabajo es parte de la ayuda JDC2023-051122-I, financiado por MICIU/AEI/10.13039/501100011033 y por el FSE+

#### **Keywords**

diarrea • cerdo • qPCR • síndrome de la diarrea neonatal • de origen desconocido

## COMUNICACIONES ORALES

### ID 24

#### **ESTUDIO DE UN BROTE DE DIARREA VÍRICA BOVINA (DVB) EN UNA GRANJA DE VACUNO DE CARNE EN EL QUE SE HAN DETECTADO TERNEROS CON PRESENCIA SIMULTÁNEA DE ANTÍGENOS Y ANTICUERPOS FRENTE A LA ENFERMEDAD**

**Carmen Calvo Santalla**<sup>1</sup>; Pablo Béjar González<sup>2</sup>; Verónica Gómez Gómez<sup>1</sup>; Luis Vázquez Sande<sup>1</sup>;

Carmen Eiras Ferreiro<sup>3</sup>; Manuel López Luaces<sup>4</sup>; Ignacio Arnaiz Seco<sup>3</sup>

*1. Axencia Galega da Calidade Alimentaria-Centro de Investigacións Agrarias de Mabegondo (AGACAL-CIAM). Consellería do Medio Rural. Xunta de Galicia; 2. ADSG FONSEGA; 3. Laboratorio de Sanidade e Producción Animal de Galicia (LASAPAGA)- Subdirección Xeral de Gandaría, Dirección Xeral de Gandaría, Agricultura e Industrias Agroalimentarias. Consellería do Medio Rural. Xunta de Galicia; 4. Axencia Galega da Calidade Alimentaria- Consellería do Medio rural- Xunta de Galicia*

#### **Introducción y objetivos**

La diarrea vírica bovina (DVB) es una enfermedad infectocontagiosa ocasionada por el virus de la DVB, un pestivirus que presenta la característica de que al infectar a una vaca gestante entre los días 30 y 90 (OMSA, 2018), el feto nace persistentemente infectado (PI), no generando anticuerpos frente al virus y siendo un eliminador permanente. En Galicia, desde el año 2004, las agrupaciones de defensa sanitarias ganaderas (ADSG) desarrollan un programa de control oficial voluntario que disminuyó su prevalencia hasta unos niveles bajos aunque estables, lo que permite observar resultados anómalos en las pruebas de diagnóstico habituales.

El presente trabajo describe los resultados serológicos frente a DVB observados en una explotación de pequeño tamaño de ganado vacuno de carne con un manejo tradicional situada en la provincia de Lugo.

#### **Metodología**

Se estudió el perfil de anticuerpos frente a DVB obtenidos durante la realización del programa de ADSG durante los años 2024 y 2025. Al observarse seroconversión en los animales adultos, se investigó la presencia de animales PI mediante analíticas seriadas entre los meses de junio y agosto de 2025. Las técnicas diagnósticas utilizadas fueron la PCR y los ELISAs de detección de antígenos y de anticuerpos anti-p80.

#### **Resultados y discusión**

Las analíticas seriadas permitieron detectar un animal PI de 39 semanas de edad. En un animal se detectó la presencia simultánea de antígenos y anticuerpos a las 11 semanas de edad, y en otro con el mismo perfil (antígeno +/ anticuerpo +) la detección de anticuerpos desapareció entre las 17 y 21 semanas de edad, lo que podría contradecir la consideración de que, en animales PI, el nivel de anticuerpos calostrales detectable disminuye hasta desaparecer entre las 4 y las 8 semanas (Palfi *et al.*, 1993).

#### **Conclusiones**

Estos resultados revelan la necesidad de realizar estudios que clarifiquen la respuesta inmunitaria en estos animales.

#### **Apoyo financiero y agradecimientos**

AC2025C-03, cofinanciada por FEADER en un 60%, MAPA en un 12% y la Comunidad Autónoma de Galicia en un 28%

#### **Keywords**

DVB • PI • antígeno • anticuerpo • ternero

## COMUNICACIONES ORALES

### ID 25

### MAPA INTERACTIVO DE INFECCIONES PORCINAS: INTEGRACIÓN DE DATOS DE INFECCIONES RESPIRATORIAS Y DIGESTIVAS EN ESPAÑA

**Beatriz García Morante<sup>1</sup>; Cecilia Aguilar Vega<sup>1</sup>; Andrea Ainoza Samper<sup>2</sup>; Silvia del Caso Yagüe<sup>3</sup>; Víctor Fernández<sup>4</sup>; Laura Martínez Guinó<sup>5</sup>; Cristina Penalba Vicente<sup>6</sup>; Laura Valls Vila<sup>7</sup>; Joaquim Segalés Coma<sup>1</sup>**  
**1. IRTA-CReSA; 2. Laboratorio Eurofins Convet; 3. EXOPOL S.L.; 4. Zootecnia® S.L.P.; 5. Biofar Labratoris S.L.; 6. Labopat Nuzoa; 7. Laboratorios Hipra S.A.**

#### Introducción y objetivos

El sector porcino constituye uno de los pilares de la producción ganadera en España, con gran relevancia económica y sanitaria. En este contexto, la transparencia y el acceso abierto a datos diagnósticos de enfermedades infecciosas son esenciales para comprender su dinámica y distribución, anticipar riesgos y optimizar estrategias de prevención y control. Este mapa piloto de infecciones porcinas permite visualizar de forma interactiva la detección de patógenos endémicos mediante PCR, en función del tipo de muestra, etapa productiva, área geográfica y evolución temporal.

#### Metodología

Se recopilaron datos anonimizados de seis laboratorios veterinarios que reciben muestras porcinas procedentes de todo el territorio español, correspondientes a pruebas PCR para siete patógenos respiratorios y digestivos. Los datos se depuraron con Python y se estructuraron mediante ontologías para garantizar su interoperabilidad. Posteriormente, se integraron en Tableau para su visualización interactiva.

#### Resultados y discusión

Entre enero de 2020 y abril de 2025 se analizaron más de 360.000 casos diagnósticos, incluyendo la detección de *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Lawsonia intracellularis*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Brachyspira hyodysenteriae*, virus de la diarrea epidémica porcina, virus de la influenza porcina y virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino. Las muestras procedían principalmente de tejidos, sangre, fluidos, hisopos y heces, siendo la fase de engorde la más representada. Se logró una cobertura territorial amplia, con datos de 49 provincias. El mapa de infecciones porcinas está disponible en: <https://decide-project-eu.github.io/case-studies-website/case-studies/pig-barometer.html>

#### Conclusiones

El mapa de infecciones porcinas ofrece una herramienta accesible para apoyar la vigilancia sanitaria de patógenos endémicos y fomentar la transparencia en el sector. Aunque requiere la colaboración e integración de información de múltiples entidades, este tipo de iniciativas refuerza la cooperación entre los distintos actores del sector porcino en materia de sanidad.

#### Apoyo financiero y agradecimientos

Este trabajo forma parte del proyecto DECIDE, financiado por la Unión Europea. Agradecemos la colaboración de los laboratorios participantes y de Universiteit Gent (Bélgica).

#### Keywords

Vigilancia sanitaria • Mapa • Porcino • Diagnóstico • Respiratorio • Digestivo • Epidemiología • España



## COMUNICACIONES ORALES

**ID 39**

### **ASFV MONODOSE-LAMP®, NUEVO FORMATO INNOVADOR PARA LA DETECCIÓN GENÉTICA DEL VIRUS DE LA PESTE PORCINA AFRICANA (PPA)**

**Gema Bru Amoraga<sup>1</sup>; Aarón Navarro García<sup>1</sup>; Antonio Martínez-Murcia<sup>2</sup>**

*1. Genetic PCR Solutions™; 2. Universidad Miguel Hernández / Genetic PCR Solutions™*

#### **Introducción y objetivos**

Aunque existen ensayos genéticos eficaces para la detección del virus de la peste porcina africana (ASFV), estas metodologías suelen requerir de infraestructuras de laboratorio, equipamiento especializado y tiempos prolongados de análisis. Para facilitar el análisis rápido *in situ*, se ha desarrollado el kit ASFV MONODOSE-LAMP®, basado en la tecnología de amplificación isotérmica (Loop-mediated isothermal amplification, LAMP), que permite obtener resultados rápidos sin necesidad de termociclador. Este producto, dosificado y deshidratado en tubos individuales listos para usar, es estable a temperatura ambiente para su transporte, y ha sido diseñado para su ejecución con un equipamiento mínimo y de bajo coste.

#### **Metodología**

El kit MONODOSE-LAMP® para la detección de ASFV consiste en microtubos que contienen los reactivos deshidratados a los que únicamente es necesario añadir la muestra e iniciar la reacción. Se aplicó el protocolo especificado en el manual de instrucciones del kit. Las secuencias de los cebadores específicos del ensayo provienen de una transferencia tecnológica establecida con el Centro de Investigación en Sanidad Animal IRTA CReSA, adaptado y optimizado por GPS™ para su implementación en el formato comercial MONODOSE-LAMP®, listo para uso directo en campo.

#### **Resultados y discusión**

Las pruebas *in vitro* realizadas en los laboratorios de GPS™ con ASFV MONODOSE-LAMP® demuestran una elevada reproducibilidad, repetitividad, y sensibilidad, tras 25 minutos de tiempo de ensayo. Asimismo, el formato ha mostrado estabilidad a temperatura ambiente durante al menos 30 días. El ensayo se ha validado con muestras de 7 genotipos proporcionados por el laboratorio de referencia del CISA-INIA.

#### **Conclusiones**

El formato MONODOSE-LAMP® representa una herramienta prometedora para la monitorización sensible y rápida de ASFV directamente en campo, sin requerir de infraestructuras especializadas, posibilitando la anticipación en la toma de decisiones durante situaciones críticas. Actualmente el producto se encuentra en proceso de validación diagnóstica en colaboración con el equipo dirigido por la Dra. Ganges del IRTA CReSA.

## COMUNICACIONES ORALES

### ID 44

#### **EVALUACIÓN DEL ENSAYO DE IFN-GAMMA PARA EL DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS BOVINA EN ARGENTINA Y SU POSIBLE CONTRIBUCIÓN AL PROGRAMA DE CONTROL**

**Ximena Ferrara Muñiz<sup>1</sup>; Micaela Encinas<sup>2</sup>; Bernardo Alonso<sup>3</sup>; Carlos Garro<sup>4</sup>; Fernando Delgado<sup>4</sup>**

Javier Bezos Garrido<sup>5</sup>; Martín José Zumárraga<sup>2</sup>; Sergio Garbaccio<sup>4</sup>; María Emilia Eirin<sup>2</sup>

1. VISAVET Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España; 2. Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABI-Mo), UEDD CONICET-INTA, Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas (CICVyA)-CNA, Buenos Aires, Argentina; 3. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria, Dirección General de Laboratorio y Control Técnico (DILAB-SENASA), Buenos Aires, Argentina; 4. Instituto de Patobiología Veterinaria (IPVet), UEDD CONICET-INTA, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Buenos Aires, Argentina; 5. VISAVET Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España. Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España

#### **Introducción y objetivos**

En Argentina, por normativa (Resol. N°128/2012; SENASA), la detección antemortem de tuberculosis bovina (TB) se realiza mediante la intradermorreacción (IDR) aplicada en el pliegue ano-caudal. Si bien se demostró el valor diagnóstico de la prueba de IFN-gamma en otros países, localmente la información sobre su uso y aplicación es limitada. El objetivo fue evaluar su sensibilidad y especificidad relativas en un área endémica y libre de la enfermedad, en el contexto epidemiológico local.

#### **Metodología**

Se incluyeron en el estudio 278 bovinos. 110 provenientes de 7 establecimientos infectados, reaccionantes a la IDR (induración  $\geq 3\text{mm}$ ) y confirmados por bacteriología-colony PCR, histopatología con tinción de Ziehl-Neelsen y/o PCR-IS6110 y RV2807 de tejido. Los 168 restantes provenían de 3 explotaciones oficialmente libres de TB y previamente negativos a la IDR. Se empleó el kit comercial Bovigam TB Kit (Thermofisher) (PPDB-PBS $\geq 0,1$  y PPDB-PPDA $\geq 0,1$ ). Se determinó el coeficiente de concordancia Kappa de Cohen ( $k$ ) entre IDR e IFN-gamma empleando el entorno R (R Core Team 2021) y las proporciones (Epidat 3.1).

#### **Resultados y discusión**

En bovinos reaccionantes a la IDR (área endémica), se obtuvo una proporción de animales positivos a IFN-gamma del 58,2% (IC95%: 48,5-67,8). En bovinos negativos a la IDR (área libre), se obtuvo un 99,4% (IC95%: 0-3,2) de animales negativos a IFN-gamma. La concordancia entre IDR e IFN-gamma fue  $k=0,61$  (IC95%: 0,55-0,72). La proporción de animales positivos en área endémica fue similar a reportes previos en Argentina (52-66%;  $p > 0,05$ ), y menor a la reportada en otros países. En bovinos no reaccionantes a la IDR, la proporción de animales negativos coincidió con los registros bibliográficos de otros países (~95-99%). La concordancia fue buena, conforme con reportes internacionales.

#### **Conclusiones**

Nuevos estudios son necesarios para evaluar su impacto y la relación costo/ beneficio de su implementación en los esquemas de saneamiento regional.

#### **Keywords**

Tuberculosis bovina • IFN-gamma

## COMUNICACIONES ORALES

### ID 15

#### **NUEVO KIT qPCR EXOONE VIRUS LENGUA AZUL (TODOS LOS GENOTIPOS) ONEMIX PARA LA DETECCIÓN DEL VIRUS DE LA LENGUA AZUL EN RUMIANTES**

**Sofía Lázaro**; José Luis Arnal; Alfredo Benito; Cristina Baselga  
*EXOPOL, S.L.*

#### **Introducción y objetivos**

La enfermedad de la lengua azul, causada por el virus BTV (Bluetongue virus), ocasiona importantes pérdidas económicas por restricciones comerciales, mortalidad y disminución de la productividad ganadera. Contar con métodos diagnósticos validados es esencial para garantizar resultados fiables y comparables. Según la Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA), la qPCR constituye el método de elección para el diagnóstico oficial y la vigilancia epidemiológica, clave en la prevención y control de la enfermedad. A continuación se presenta la validación del kit EXOone Virus Lengua Azul oneMIX para su registro como reactivo de diagnóstico veterinario en el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (RD-12593).

#### **Metodología**

La inclusividad y exclusividad, además de *in silico*, se confirmó *in vitro* frente a los serotipos 1, 3, 4, y 8, y frente a 12 cepas de virus y bacterias patógenas para rumiantes incluido el virus de la enfermedad hemorrágica epizoótica (VEHE). La sensibilidad y especificidad diagnóstica se evaluó con 48 muestras clínicas de sangre, suero y órganos de bovino y ovino utilizando como referencia el método recomendado por la OMSA. También se evaluó el análisis de mezclas de sangre hasta 10 animales. Finalmente se realizaron pruebas de repetibilidad, estabilidad y robustez.

#### **Resultados y discusión**

El kit demostró 100% de inclusividad y exclusividad frente a otros patógenos, incluido VEHE. La sensibilidad y especificidad fue del 100% en el panel de muestras evaluado y se detectaron muestras hasta Cq 33 en mezclas de 10 animales. El reactivo oneMIX mostró una elevada estabilidad hasta 10 ciclos de descongelación y robustez frente a variaciones operativas del análisis. El kit incluye un control endógeno para identificar resultados falsos negativos y un control positivo ARN.

#### **Conclusiones**

Este kit fue evaluado y aprobado por el Laboratorio Central de Veterinaria de Algete y se presenta como una herramienta eficaz, robusta y de uso sencillo para el diagnóstico BTV.

#### **Keywords**

lengua azul • Bluetongue virus • BTV • RT-qPCR • diagnóstico veterinario • kit molecular • validación analítica • rumiantes



## COMUNICACIONES ORALES

**ID 57**

### **DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UN ENSAYO DE qPCR EN FORMATO TRIPLEX PARA LA DETECCIÓN DEL VIRUS DE LA PESTE PORCINA AFRICANA, CON CONTROLES ENDÓGENO Y DE PROCESO**

**Carmen Galán; Elena Vedia; Irene Gil; María José Rodríguez; Helena Redondo; Paloma Rueda**  
*Gold Standard Diagnostics Madrid (GSD Madrid), Madrid*

#### **Introducción y objetivos**

El virus de La peste porcina africana (VPPA) causa una enfermedad de alto impacto clínico y económico en el sector porcino. La técnica más sensible para su detección temprana es la PCR, compatible con diferentes muestras clínicas. Nuestro objetivo fue desarrollar y validar un ensayo de PCR a tiempo real de amplificación múltiple (triplex) para la detección simultánea del VPPA, junto con un control endógeno (para verificar la presencia de muestra) y un control de proceso (para monitorizar la extracción y amplificación).

#### **Metodología**

El ensayo se diseñó utilizando sondas de hidrólisis dirigidas al gen *B646L* del VPPA, a la  $\beta$ -actina como control endógeno y a un ADN exógeno como control de proceso. Se formuló como mezcla única lista para usar, optimizada para maximizar la sensibilidad y evitar interferencias de los controles. La validación se realizó tanto interna como externamente en el laboratorio de referencia europeo EURL (CISA-INIA) y la "French Agency for Food, Environmental and Occupational Health & Safety" ANSES.

#### **Resultados y discusión**

El ensayo se validó internamente según la norma francesa NF U47-600-2, evaluando matrices como suero, sangre, bazo, amígdala y muestras ambientales, superando en todas las matrices el límite de sensibilidad requerido por ANSES. El límite inferior de detección analítica de la PCR (LLOD) fue de 5 copias/reacción y LOD95% de 20 copias/reacción. La inclusividad fue del 100% frente a 21 aislados virales del EURL y no se observó reacción cruzada con otros virus porcinos. Los parámetros diagnósticos se evaluaron internamente con 43 muestras obtenidas de ANSES y EURL, obteniendo una concordancia del 100%. La validación externa en ambas instituciones cumplió asimismo los criterios de aceptación.

#### **Conclusiones**

El ensayo desarrollado INgene q ASFV Triplex ha sido validado para detección del VPPA ofreciendo alta sensibilidad y especificidad, formato listo para usar y controles integrados que facilitan la trazabilidad del proceso.

#### **Keywords**

Peste Porcina Africana • VPPA • INgene • qPCR triplex • Gen *B646L* •  $\beta$ -actina • control endógeno • control de proceso • EURL • ANSES



## COMUNICACIONES ORALES

### ID 50

#### EVALUACIÓN A GRAN ESCALA DEL ANTÍGENO EXPERIMENTAL DST-F EN EL ENSAYO DE LIBERACIÓN DE INTERFERÓN-GAMMA PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA TUBERCULOSIS BOVINA

Javier Ortega Martín<sup>1</sup>; Carlos Velasco Reinaldos<sup>2</sup>; Francisco Javier Lozano Barrilero<sup>1</sup>; Kelly Carvajal<sup>1</sup>;

Laura Sánchez Martín<sup>1</sup>; Cristina Viñolo Agueda<sup>1</sup>; Gareth Jones<sup>3</sup>; Beatriz Romero Martínez<sup>2</sup>; Javier Bezos Garrido<sup>2</sup>

1. Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria VISAVENT, Universidad Complutense de Madrid. Madrid, España;

2. Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria VISAVENT, Universidad Complutense de Madrid. Madrid, España.

Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid. Madrid, España;

3. TB Immunology and Vaccinology, Department of Bacteriology, Animal and Plant Health Agency, New Haw, Addlestone, Surrey, UK

#### Introducción y objetivos

La tuberculosis bovina es una enfermedad infecciosa de carácter zoonótico, causada por miembros del complejo *Mycobacterium tuberculosis*, que se encuentra sometida a programas de erradicación en diferentes países, como España, por sus repercusiones sanitarias y económicas. Para el diagnóstico ante-mortem se emplean técnicas como la IDTB o el ensayo de liberación de interferón-gamma (IGRA), ambas basadas en el empleo de derivados proteicos purificados (PPDs). Sin embargo, estas técnicas tienen sensibilidad y especificidad limitadas asociadas, entre otros factores, al empleo de PPDs. Respecto a la especificidad, en los últimos años se vienen desarrollando antígenos sintéticos como la proteína de fusión denominada DIVA skin test (DST-F), un antígeno diseñado para detectar la infección por tuberculosis en animales vacunados, que puedan mejorarla sin reducirse notablemente la sensibilidad.

El objetivo fue evaluar la reactividad al IGRA (kit comercial ID Screen Ruminant IFN-g, InnovativeDiagnostics, France) en muestras de plasma estimuladas con PPD bovina (IGRA-PPD<sub>b</sub>) y DST-F (IGRADST-F) procedentes de explotaciones infectadas. Se emplearon los puntos de corte relativos a la interpretación estándar (S/P%≥35) y severa (S/P%≥16).

#### Metodología

Se analizaron 2101 muestras de plasma procedentes de 28 explotaciones de ganado bovino infectadas por tuberculosis.

#### Resultados y discusión

El número de reactores a la técnica fue significativamente mayor ( $p<0,05$ ) al emplear PPDs con respecto al empleo de DST-F utilizando tanto interpretación estándar (28 vs 11) como la severa (41 vs 28). La mayor reactividad observada empleando PPDs en comparación al IGRA-DST-F en estos rebaños sugiere mayor sensibilidad de este antígeno en comparación al DST-F, lo que se relacionaría con la mayor especificidad atribuida a este último.

#### Conclusiones

Estos resultados ponen de manifiesto las diferencias en el rendimiento del IGRA dependiendo del antígeno utilizado y la necesidad de establecer criterios para su posible utilización en el futuro.

#### Apoyo financiero y agradecimientos

Financiación: Esta investigación ha sido posible gracias a la financiación del Laboratorio de Referencia Europeo de Tuberculosis Bovina (EU-RL), de ICRAD, una red ERA-NET cofinanciada por el programa de investigación e innovación Horizonte 2020 de la Unión Europea <https://ec.europa.eu/programmes/horizon2020/en> en virtud del acuerdo de subvención no862605, y el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades de España (MCIN/AEI/10.13039/501100011033) a través del proyecto "Improving the diagnosis of tuberculosis in domestic ruminants through the use of new antigens and test platforms" (referencia PCI2023-143368), y el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación de España.

#### Keywords

DST-F • PPDs • IGRA • Tuberculosis bovina • Antígenos sintéticos • Rendimiento • Explotaciones infectadas • Reactividad

## COMUNICACIONES ORALES

### ID 53

#### **DESARROLLO Y VALIDACIÓN DEL KIT INGEZIM EHDV COMPAC PARA LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS FRENTE AL VIRUS DE LA ENFERMEDAD HEMORRÁGICA EPIZOÓTICA (EHE)**

**Cristina Aira Pino<sup>1</sup>; Sonia Hernández Antón<sup>1</sup>; Kiko Calzado<sup>1</sup>; Juan Martínez Cano<sup>1</sup>; Leonor Muñoz Fernández<sup>2</sup>; David Cano<sup>3</sup>; María Ángeles Risalde<sup>2</sup>; Marga García Durán<sup>1</sup>; Paloma Rueda<sup>1</sup>; Alba Fresco Taboada<sup>1</sup>**

*1. Gold Standard Diagnostics Madrid; 2. Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas y Toxicología, Grupo de Investigación GISAZ, UIC Zoonosis y Enfermedades Emergentes ENZOEM, Universidad de Córdoba; 3. Departamento de Sanidad animal, Grupo de Investigación GISAZ, UIC Zoonosis y Enfermedades Emergentes ENZOEM, Universidad de Córdoba*

#### **Introducción y objetivos**

La enfermedad hemorrágica epizoótica (EHE) es una infección viral que afecta a rumiantes domésticos y silvestres, y que desde 2022 se ha expandido en Europa, principalmente entre bovinos y ciervos rojos. La transmisión se produce mediante mosquitos del género Culicoides, vectores también del virus de la lengua azul. Este estudio presenta la validación del ELISA de competición INgezim® EHDV Compac, basado en la proteína recombinante VP7 de EHDV y un anticuerpo monoclonal específico, diseñado para detectar anticuerpos frente al virus en diversas especies y matrices biológicas.

#### **Metodología**

La inclusividad del ensayo se evaluó mediante sueros de referencia representativos de todos los serotipos del virus. Se analizaron un total de 2696 muestras de campo, distribuidas en 1005 de bovino, 958 de ovino/caprino, 370 de cérvido, 203 de gamo y 160 de muflón usando como referencia ID Screen® EHDV Competition. Asimismo, se validó la aplicabilidad del ensayo en diferentes matrices analizando 115 muestras pareadas de plasma, sangre total y sangre secada en papel filtro. Para asegurar la especificidad analítica, se evaluaron 156 muestras de bovinos positivas a enfermedades con cuadros clínicos similares: 87 a virus de la lengua azul (BTV), 24 a rinotraqueítis infecciosa bovina (IBR), 24 a diarrea viral bovina (BVD) y 21 a tuberculosis.

#### **Resultados y discusión**

El ELISA mostró una sensibilidad del 100 % y una especificidad del 99,8%. Los resultados fueron consistentes al emplear sangre total o plasma, y presentaron solo una leve disminución en sensibilidad con sangre secada en papel filtro. No se observaron reacciones cruzadas con ninguna de las muestras de otras patologías, evidenciando una alta exclusividad.

#### **Conclusiones**

Estos resultados demuestran que INgezim® EHDV Compac es una herramienta diagnóstica robusta, versátil yiable, adecuada para la vigilancia epidemiológica y el diagnóstico diferencial de la EHE en entornos multiespecie, facilitando la detección precoz y el control efectivo de la enfermedad en Europa.

#### **Keywords**

Enfermedad hemorrágica epizoótica • ELISA de competición • VP7 • Multiespecie • Serología • Diagnóstico



### COMUNICACIONES ORALES

#### ID 14

#### EFECTO DEL ACEITE OZONIZADO EN EL TRATAMIENTO DE LAS VAGINITIS CRÓNICAS EN LA PERRA

Carlota Martínez Torrecilla<sup>1</sup>; Diana Cánovas Ortiz<sup>2</sup>; Marta Eulalia García<sup>3</sup>; Andrea Priego González<sup>4</sup>

Joaquín Cerdeira Lozano<sup>4</sup>; José Luis Blanco Cancelo<sup>3</sup>; María Jesús Sánchez Calabuig<sup>4</sup>; Miriam Portero Fuentes<sup>5</sup>

1. Departamento de Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria; 2. Universidad Complutense de Madrid; 3.

Departamento Sanidad Animal y Hospital Clínico Veterinario Complutense; 4. Departamento de Medicina y Cirugía Animal y Hospital Clínico Veterinario Complutense; 5. Hospital Clínico Veterinario Complutense

#### Introducción y objetivos

La vaginitis crónica es una enfermedad inflamatoria persistente que afecta el área vaginal de las perras, comprometiendo su fertilidad, bienestar y calidad de vida. El manejo clínico de esta patología resulta especialmente complejo ante la aparición de bacterias multirresistentes. Dentro de las opciones terapéuticas emergentes, la ozonoterapia surge como una opción prometedora gracias a sus propiedades antimicrobianas, inmunomoduladoras y antiinflamatorias. En particular, el aceite ozonizado destaca por su alta estabilidad y su potente actividad germicida, además de evitar el uso de antibióticos, y, con ello, el riesgo asociado al desarrollo de resistencias. El objetivo de esta investigación fue evaluar la actividad antimicrobiana del aceite ozonizado frente a bacterias implicadas en casos de vaginitis crónica en perras, mediante dos estudios: uno *in vitro* y otro *in vivo*.

#### Metodología

En el estudio *in vitro* se utilizó el aceite ozonizado con un índice de peroxidación de 600 frente a cepas de *Staphylococcus pseudintermedius*, *Escherichia coli*, *Pasteurella canis* y *Streptococcus* sp. aisladas en el Hospital Clínico Veterinario Complutense de casos de vaginitis canina. Y en el estudio *in vivo*, se administró intravaginalmente el aceite ozonizado a 10 perras diagnosticadas con vaginitis crónica, valorando su evolución clínica y respuesta a nivel citológico

#### Resultados y discusión

Los resultados del estudio *in vitro* mostraron una inhibición total del crecimiento bacteriano en todas las cepas tras 15 minutos de exposición. Además, a excepción de *E. coli*, las cepas mostraron una inhibición total desde el comienzo de la exposición al aceite. En el ensayo clínico, un 50% de las perras presentó una buena evolución clínica, observándose la recuperación completa en uno de los casos.

#### Conclusiones

Estos hallazgos sugieren que el aceite ozonizado podría constituir una alternativa terapéutica para tratar la vaginitis crónica canina, especialmente en un contexto de creciente problema de la resistencia a los antibióticos

#### Keywords

Vaginitis crónica • Bacteria • Aceite ozonizado • Inhibición • Especie canina • Ozonoterapia • *In vivo* • *In vitro*

### ID 21

## FIMBRIAS Y BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE) EN *ESCHERICHIA COLI (E. COLI)* BOVINO: CLAVES MOLECULARES PARA EL DIAGNÓSTICO DE COLIBACILOSISS NEONATAL

Verónica Gómez Gómez<sup>1</sup>; Leticia Carballeira Campa<sup>2</sup>; Antonio Méndez Gándara<sup>3</sup>; Vanesa García Menéndez<sup>4</sup>; Amada Lamas López<sup>3</sup>; Pilar Gómez Abad<sup>3</sup>; Carmen Calvo Santalla<sup>5</sup>; Luis Vázquez Sande<sup>5</sup>; Azucena Mora Gutiérrez<sup>4</sup>  
1. Centro de Investigacións Agrarias de Mabegondo, Departamento de Microbiología e Parasitología, Laboratorio de Referencia de *Escherichia coli* (LREC), U. Santiago de Compostela (USC), Lugo; 2. iARCUS Aquatic One Health Research Center, U. de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela; 3. Laboratorio de Sanidade e Producción Animal de Galicia (LASAPAGA), Subdirección Xeral de Gandaría, Dirección Xeral de Gandaría, Agricultura e Industrias Agroalimentarias. Consellería do Medio Rural. Xunta de Galicia; 4. Departamento de Microbiología e Parasitología, Laboratorio de Referencia de *Escherichia coli* (LREC), U. Santiago de Compostela (USC), Lugo. iARCUS Aquatic One Health Research Center, U. Santiago de Compostela; 5. Centro de Investigacións Agrarias de Mabegondo. Axencia Galega da Calidade Alimentaria (CIAM-AGACAL). Consellería do Medio Rural. Xunta de Galicia

### Introducción y objetivos

La colibacilosis neonatal, causada por cepas enterotoxigénicas de *Escherichia coli* (ETEC), constituye una de las principales causas de diarrea en terneros, con importantes repercusiones sanitarias y económicas. Estas cepas expresan enterotoxinas y fimbrias como K99 (F5), F41 o F17, esenciales para la adherencia al epitelio intestinal. El objetivo de este estudio fue caracterizar molecularmente dichas fimbrias en aislamientos clínicos bovinos y detectar la presencia simultánea de cepas productoras de BLEE.

### Metodología

Se analizaron 412 muestras clínicas de origen bovino remitidas al Laboratorio de Referencia de *Escherichia coli* (LREC) entre febrero y julio de 2025. Mediante PCR multiplex se detectaron los genes de fimbrias K99 (F5), F41, F17, P987 (F6) y K88 (F4). Paralelamente, se evaluó la presencia de cepas productoras de BLEE mediante siembra en medio cromogénico de una colonia representativa con morfología compatible y confirmada como *E. coli* / *E. coli* BLEE mediante los sistemas automatizados VITEK®MS/ VITEK®2 respectivamente.

### Resultados y discusión

En el 61% de las muestras (251/412) se detectaron genes de fimbrias asociadas a ETEC, con predominio de F17 (230/251; 91,6 %), seguida de F5 (33/251; 13,1 %) y F41 (15/251; 6%). En 21 de las muestras positivas se detectó más de un tipo fimbrial, ya sea por coexpresión o por la presencia simultánea de distintas cepas ETEC. Las fimbrias típicas porcinas (P987 y K88) fueron poco frecuentes, identificándose un único aislamiento positivo a K88. Además, se identificaron 57 cepas productoras de BLEE (13,8% del total) con resistencias asociadas a distintas categorías de antibióticos. El 100% de las cepas BLEE fueron multirresistentes ( $\geq 3$  categorías de antibióticos) lo que evidencia la coexistencia de factores de virulencia y mecanismos de resistencia a antibióticos críticos.

### Conclusiones

Estos resultados refuerzan la utilidad del diagnóstico molecular en la colibacilosis bovina y alertan sobre la emergencia de cepas multirresistentes con potencial impacto en la terapéutica veterinaria.

### Apoyo financiero y agradecimientos

Financiación: Proyecto PID2022-143041OB-I00 financiado por MCIN/AEI/10.13039/501100011033 y FEDER, UE. Acción de cooperación AC2025C-05 financiada por Xunta de Galicia, MAPA y FEADER, UE.

### Keywords

*Escherichia coli* • ETEC • colibacilosis bovina • fimbrias • F5 (K99) • F41 • F17 • BLEE • resistencia a antibióticos • diagnóstico molecular

### COMUNICACIONES ORALES

#### ID 23

#### DETECCIÓN Y DISEMINACIÓN DE ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE CARBAPENEMAS (ECPs) EN LA PRODUCCIÓN PORCINA ESPAÑOLA: UN NUEVO RETO EPIDEMIOLÓGICO

Iratxe Pérez Cobo<sup>1</sup>; Cristina de Frutos Escobar<sup>1</sup>; Tania Serrano García<sup>2</sup>; Bernabé Diéguez Roda<sup>2</sup>; María de los Dolores Buitrago Sánchez<sup>1</sup>; Montserrat Agüero García<sup>1</sup>; José Luis Sáez Llorente<sup>3</sup>; Julio Álvarez Sánchez<sup>4</sup>  
*1. Laboratorio Central de Veterinaria (LCV). Laboratorio Nacional de Referencia de Resistencias a antimicrobianos. Subdirección General de Laboratorios de Sanidad Animal y Vegetal. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Algete, Madrid; 2. Tecnología y Servicios Agrarios (Tragsatec), Madrid; 3. Subdirección General de Sanidad, Higiene Animal y Trazabilidad (SGSHAT), Madrid; 4. Departamento de Sanidad Animal de la Facultad de Veterinaria de Madrid (Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET))*

#### Introducción y objetivos

Los carbapenemes son antibióticos de último recurso, empleados principalmente en infecciones hospitalarias causadas por bacterias multirresistentes. Para preservar su eficacia, su uso en medicina veterinaria está prohibido. España, siguiendo las directrices de la legislación europea, ha implementado el Programa de Vigilancia de Resistencias a Antimicrobianos (PVRAM) que incluye la monitorización de enterobacterias productoras de carbapenemas (EPCs) en muestras intestinales de cerdos, bovinos y aves sacrificados en mataderos. A nivel mundial, la prevalencia de EPCs ha aumentado en las últimas dos décadas, aunque su hallazgo en animales de producción ha sido infrecuente. En España, la primera detección de EPCs en porcino se produjo en 2021. En 2023 se registró un incremento en su frecuencia, evidenciando que no fue un hecho aislado. El LCV, bajo la coordinación de la SGSHAT, realizó un seguimiento de casos positivos con el objetivo de identificar el posible origen de entrada, caracterizar su diseminación y orientar las posibles estrategias de control en la industria porcina española.

#### Metodología

Se llevaron a cabo muestreos para el aislamiento y caracterización molecular de bacterias ECPs en las distintas fases de la pirámide productiva, así como un análisis de la cobertura espacio-temporal del muestreo del PVRAM frente a la localización de los cebaderos positivos mediante las herramientas ArcGis y el modelo de permutación del test scan statistic.

#### Resultados y discusión

El estudio molecular identificó dos genes de resistencia presentes en plásmidos y cromosomas, detectados en diversos momentos en el tiempo, con cebaderos positivos en casi la mitad de las provincias muestreadas, sin un patrón definido. No obstante, se detectó la existencia de agrupamientos espacio-temporales con distinto riesgo de presentación de ECPs, destacando Aragón y Cataluña como regiones de mayor y menor riesgo respectivamente.

#### Conclusiones

El análisis refleja una compleja situación epidemiológica probablemente ligada al movimiento animal, sugiriendo factores epidemiológicos asociados a la penetración de estas cepas EPCs.

#### Keywords

Resistencias antimicrobianas • Enterobacterias productoras de carbapenemas • Vigilancia epidemiológica • Epidemiología molecular • Industria porcina • Análisis de agrupaciones



## COMUNICACIONES ORALES

**ID 36**

### **EVALUACIÓN DE LA SEGURIDAD Y ESTABILIDAD DE UN PROTOTIPO VACUNAL ATENUADO FRENTA A LA PESTE PORCINA AFRICANA ADAPTADO A UNA LÍNEA CELULAR CONTINUA**

**Mónica Sánchez Segovia<sup>1</sup>; Marta Díaz de Frutos<sup>1</sup>; Aleksandra Kosowska<sup>2</sup>; Sandra Barroso-Arévalo<sup>3</sup>; Ignacio Vargas<sup>1</sup>; José A. Barasona<sup>1</sup>**

*1. Departamento de Sanidad Animal-Facultad de Veterinaria y Centro VISAVENT, UCM; 2. SaBio Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos (IREC) CSIC-UCLM-JCCM, Ciudad Real; 3. Departamento de Medicina y Cirugía Animal. Facultad de Veterinaria. UCM*

#### **Introducción y objetivos**

La Peste Porcina Africana (PPA) constituye uno de los principales retos sanitarios para la cabaña porcina a nivel mundial. Entre las estrategias de control más prometedoras se encuentran las vacunas vivas atenuadas, aunque su producción en cultivos primarios limita la escalabilidad y complica su uso rutinario. Los objetivos principales del estudio son evaluar la inocuidad de un prototipo vacunal adaptado a una línea celular continua, analizando efectos adversos, viremia, excreción viral y posibles riesgos de transmisión, así como comprobar su estabilidad genética y seguridad mediante pases consecutivos en animales.

#### **Metodología**

En este trabajo se presenta la evaluación de seguridad e inocuidad del prototipo vacunal Lv17/WB/Rie1-ΔCD tras su adaptación a la línea celular continua MA104. Se evaluaron las reacciones locales y sistémicas, registrando la sintomatología clínica y la respuesta serológica. Además, se monitorizó la detección de viremia mediante qPCR y la excreción viral en fluidos orales y heces, junto con la posible transmisión a animales contacto. Los análisis laboratoriales incluyeron asimismo la caracterización patológica y el análisis del genoma viral para verificar su estabilidad tras pasajes consecutivos.

#### **Resultados y discusión**

Los resultados muestran ausencia de efectos adversos significativos, viremias bajas y transitorias, mínima evidencia de transmisión horizontal y ausencia de mutaciones relevantes en genes de virulencia o inmunogenicidad.

#### **Conclusiones**

Estos hallazgos refuerzan la importancia del diagnóstico laboratorial veterinario como herramienta clave para garantizar la seguridad y estabilidad de prototipos vacunales frente a la PPA, avanzando hacia soluciones viables y biosafe en el control de la enfermedad.

#### **Apoyo financiero y agradecimientos**

Esta investigación ha sido financiada por el Proyecto de Investigación CPP2023-010867, financiado por MICIU/AEI/10.13039/501100011033 y por el FEDER, UE, y por el contrato «Ramón y Cajal» (RYC2022-038060-I) financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (MCIN/AEI) y el Fondo Social Europeo Plus (FSE+).

#### **Keywords**

Peste Porcina Africana (PPA) • Vacuna viva atenuada • Lv17/WB/Rie1-ACD • Seguridad • Estabilidad • Jabalí



## COMUNICACIONES BECAS

### ID 18

#### MODELOS BAYESIANOS DE CLASE LATENTE AL ALCANCE DE TODOS: UNA HERRAMIENTA WEB PARA LA VALIDACIÓN DE PRUEBAS DIAGNÓSTICAS EN AUSENCIA DE PRUEBA DE REFERENCIA

Alberto Gómez Buendía<sup>1</sup>; Ayesha Salgadu<sup>2</sup>; Allison Cheung<sup>2</sup>; Mark Stevenson<sup>3</sup>; Simon Firestone<sup>3</sup>

1. VISAVET Health Surveillance Centre, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España & Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, España; 2. Melbourne Veterinary School, Faculty of Science, The University of Melbourne (UoM), Parkville, VIC 3010, Australia; 3. Melbourne Veterinary School, Faculty of Science, The University of Melbourne (UoM), Parkville, VIC 3010, Australia & World Organisation for Animal Health (WOAH) Collaborating Centre for Diagnostic Test Validation Science in the Asia-Pacific, ACDP-UoM-Massey University, Australia y Nueva Zelanda

#### Introducción y objetivos

Los modelos estadísticos que permiten estimar la sensibilidad y especificidad de las pruebas diagnósticas en la ausencia de una prueba de referencia perfecta son esenciales. En este contexto, los modelos Bayesianos de clase latente (BLCM) son una herramienta que permite la evaluación del rendimiento de estas pruebas si se dispone de datos de campo de un número suficiente de individuos. Sin embargo, su implementación suele ser compleja y requiere de conocimientos avanzados de estadística y programación lo que solo limita su uso a una audiencia especializada y favorece que se sigan utilizando pruebas de referencia imperfectas para la estimación del rendimiento de pruebas diagnósticas. El objetivo de este trabajo fue desarrollar una herramienta accesible que facilite la aplicación de BLCM a profesionales de la sanidad animal y la epidemiología.

#### Metodología

Se diseñó una aplicación web utilizando el paquete Shiny en R, con el fin de ofrecer una interfaz visual intuitiva que permita implementar análisis basados en BLCM utilizando el software JAGS sin necesidad de experiencia en programación.

#### Resultados y discusión

La herramienta puede estimar la sensibilidad, especificidad y prevalencia de una a cuatro pruebas diagnósticas en hasta diez poblaciones. Así mismo, contempla la posibilidad de modelar correlaciones entre pruebas basadas en principios biológicos similares como ocurre con los ensayos serológicos o moleculares, e incorporar la posibilidad de incluir poblaciones libres de enfermedad. La aplicación está disponible en la página web de la Universidad de Melbourne y se puede acceder con el link: <https://shiny.vet.unimelb.edu.au/epi/blcm/>

#### Conclusiones

Esta herramienta web ofrece una forma sencilla y accesible de evaluar el rendimiento diagnóstico de pruebas en ausencia de pruebas de referencia perfecta, contribuyendo a mejorar la toma de decisiones en programas de vigilancia y control sanitario.

#### Apoyo financiero y agradecimientos

Este proyecto ha sido cofinanciado por las “Ayudas para estancias breves en España y en el extranjero de los beneficiarios de las ayudas UCM para contratos predoctorales de personal investigación en formación de las convocatorias 2020, 2021 y 2023” (referencia EB33/24). Así como por el centro colaborador de la Organización Mundial de Sanidad Animal para la Ciencia de Validación de Pruebas de Diagnóstico en Asia-Pacífico. Agradecer la ayuda de Poppy Schlaadt (Epi-interactive) en la depuración del código implementado en la aplicación web.

#### Keywords

Modelos Bayesianos de clase latente • Rendimiento diagnóstico • Aplicación web • Estadística



### COMUNICACIONES BECAS

#### ID 33

#### EVALUACIÓN DE NUEVAS HERRAMIENTAS PARA EL DIAGNÓSTICO INMUNOLÓGICO DE LA TUBERCULOSIS CAPRINA

Carlos Velasco Reinaldos<sup>1,2</sup>; Javier Ortega<sup>1</sup>; Alberto Gómez-Buendía<sup>1,2</sup>; Gareth Jones<sup>3</sup>; Inmaculada Moreno<sup>4</sup>; Mercedes Domínguez<sup>4</sup>; Lucía de Juan<sup>1,2</sup>; Beatriz Romero<sup>1,2</sup>; Lucas Domínguez<sup>1,2</sup>; Julio Álvarez<sup>1,2</sup>; Álvaro Roy<sup>5</sup>; Javier Bezos<sup>1,2</sup>

1. Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET), Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España; 2. Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España; 3. TB Research and Development, Department of Bacteriology, Animal and Plant Health Agency, New Haw, Addlestone, Surrey, Reino Unido; 4. Unidad de Inmunología Microbiana, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España; 5. Centro Nacional de Epidemiología, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España.

#### Introducción y objetivos

El derivado proteico purificado bovino (PPDb) empleado como antígeno en el diagnóstico inmunológico (como la prueba del interferón-gamma/IGRA) de la tuberculosis (TB) caprina, contiene antígenos comunes con micobacterias no tuberculosas y puede limitar la especificidad (Sp) de estas técnicas. Por ello, el objetivo del presente estudio fue la evaluación en condiciones de campo del rendimiento diagnóstico de antígenos más específicos (la proteína de fusión DST-F y el complejo proteico P22) en el diagnóstico celular (IGRA) y humoral (ELISA P22) de la TB.

#### Metodología

Los análisis de sensibilidad (Se) y Sp de las distintas metodologías diagnósticas (IGRA-PPDb/DST-F/P22 y ELISA P22 indirecto/competitivo) se realizaron en 167 y 192 caprinos procedentes de 2 explotaciones infectadas de TB y 2 explotaciones libres, respectivamente. Se evaluaron distintos puntos de corte para cada técnica en función del estatus de infección de TB del rebaño y en el caso del IGRA-PPDb/DST-F/P22 se utilizaron dos kits diagnósticos (BOVIGAM™ TB e IDScreen® Ruminant IFN-g).

#### Resultados y discusión

En los rebaños infectados, al emplear el kit BOVIGAM™ e IDScreen® se observó un porcentaje de animales positivos similar en el IGRA-PPDb (24,0% y 21,6%), IGRA-DST-F (20,4% y 20,4%) e IGRA-P22 (22,2% y 19,2%), aunque siempre mayor al observado en el ELISA P22 indirecto (18,0%) y competitivo (14,4%). De igual modo, en rebaños libres se observó una Sp similar en el IGRA-PPDb (100% con ambos kits), IGRA-DST-F (99,5% y 99,0%) e IGRA-P22 (100% en ambos casos) al emplear el kit BOVIGAM™ e IDScreen®, respectivamente, en comparación con la Sp observada en el ELISA P22 indirecto (54,9%) y competitivo (87,0%).

#### Conclusiones

En conclusión, el ELISA P22 (base humoral) parece tener un menor rendimiento en términos de Se y Sp en comparación con el IGRA (base celular) independientemente del kit empleado, cuyo rendimiento al emplear los antígenos específicos DST-F y P22 fue similar que con la PPDb.

#### Apoyo financiero y agradecimientos

Esta investigación ha sido posible gracias a la financiación de ICRAD, una red ERA-NETcofinanciada por el programa de investigación e innovación Horizonte 2020 de la Unión Europea en virtud del acuerdo de subvención nº862605, y el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades de España (MCIN/AEI/10.13039/501100011033) a través del proyecto "Improving the diagnosis of tuberculosis in domestic ruminants through the use of new antigens and test platforms" (referencia PCI2023-143368), y el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación de España.

#### Keywords

Tuberculosis • Cabras • Diagnóstico • Inmunología • IGRA • DST-F • ELISA • P22

## COMUNICACIONES BECAS

### ID 46

### DESARROLLO DE MÉTODOS TIPO POCT BASADOS EN NANOTECNOLOGÍA PARA EL DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE VIRUS RESPIRATORIOS AVIARES

Pablo Cea Callejo<sup>1</sup>; Claudia Trenado Lorenzo<sup>1</sup>; Elías El Mansouri<sup>1</sup>; Mar Biarnés Suñé<sup>2</sup>; Ricardo Madrid González<sup>1</sup>; Ana Doménech<sup>1</sup>; Laura Benítez Rico<sup>1</sup>

*1. Universidad Complutense de Madrid; 2. Centro de Sanidad Avícola de Cataluña y Aragón (CESAC)*

#### Introducción y objetivos

Nuestro grupo trabaja en el diseño y validación de sistemas de diagnóstico rápido tipo point-of-care test (POCT) para virus respiratorios de importancia en avicultura, concretamente el virus de la laringotraqueítis infecciosa (ILT), el virus de la bronquitis infecciosa aviar (IBV) y el metapneumovirus aviar (aMPV). Estos modelos buscan proporcionar alternativas rápidas, económicas y robustas a las técnicas moleculares convencionales, a pie de campo para contribuir al control de enfermedades aviares.

#### Metodología

Los sistemas desarrollados se basan en la amplificación isotérmica LAMP acoplada a sondas de ADN con nanopartículas de oro, lo que permite la detección colorimétrica directa en muestras clínicas sin equipamiento especializado. De forma paralela, se explora la detección de antígenos virales mediante aptámeros obtenidos por SELEX frente a virus completos, con el objetivo de generar biomarcadores altamente específicos.

#### Resultados y discusión

En ILTV, el ensayo dirigido al gen gE alcanzó sensibilidad y especificidad del 100% con un límite de detección de 200 copias en menos de 45 minutos. Para aMPV, la estrategia LAMP-AuNP mostró una especificidad del 100% y una sensibilidad del 87,9% en muestras de campo, confirmando su utilidad como plataforma diagnóstica rápida, económica y robusta en condiciones de campo.

Paralelamente, la línea basada en aptámeros mediante SELEX frente a virus completos ofrece un enfoque innovador con alta afinidad y especificidad, y con ventajas sobre los anticuerpos tradicionales en estabilidad, coste y reproducibilidad. Este avance abre la puerta al desarrollo de biosensores portátiles de alta precisión para programas de vigilancia y bioseguridad en avicultura.

#### Conclusiones

Los ensayos LAMP-AuNP demostraron alta sensibilidad y especificidad, consolidándose como herramientas rápidas, económicas y aptas para uso en campo.

La estrategia con aptámeros frente a virus completos surge como alternativa prometedora a los anticuerpos, con ventajas en estabilidad y coste. Ambos enfoques ofrecen nuevas posibilidades para el desarrollo de biosensores portátiles aplicables en vigilancia y bioseguridad aviar.

#### Apoyo financiero y agradecimientos

Financiación: PID2020-114956GB-I00: 4167775 y PID2023-148120OB-I00.

#### Keywords

Laringotraqueítis infecciosa • Metapneumovirus aviar • Point-of-care test • Amplificación isotérmica mediada por bucle • Nanopartículas de oro • Aptámeros



## COMUNICACIONES BECAS

### ID 40

#### **CARACTERIZACIÓN GENÓMICA DE LINAJES EMERGENTES DE *Salmonella Choleraesuis* EN CERDOS Y HUMANOS EN ESPAÑA**

**Paula Carrizo Coronado**<sup>1</sup>; Giorgio Fedele<sup>2</sup>; Laura Torre-Fuentes<sup>3</sup>; Silvia Del Pino<sup>4</sup>; María Ugarte Ruiz<sup>3</sup>; María Gil Molino<sup>5</sup>; Alberto Quesada<sup>5</sup>; Vanessa Rodríguez<sup>4</sup>; Silvia Herrera León<sup>4</sup>; Julio Álvarez Sánchez<sup>3</sup>

*1. Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET), Universidad Complutense / Centro Nacional de Microbiología, ISCIII; 2. Istituto Superiore di Sanità; 3. Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET), Universidad Complutense; 4. Centro Nacional de Microbiología, ISCIII; 5. Hospital Clínico Veterinario, Facultad de Veterinaria, Universidad de Extremadura, Cáceres*

#### **Introducción y objetivos**

*Salmonella Choleraesuis* causa enfermedad sistémica grave en cerdos domésticos y jabalíes. En humanos, aunque es poco común se asocia principalmente a infecciones invasivas. Su detección en Europa ha sido históricamente baja, pero en los últimos años se han registrado brotes en cerdos y jabalíes. Además, ha habido un aumento de casos humanos en España a partir de 2021. Este estudio analiza cepas de origen porcino y humano recogidas en distintas regiones de España en la última década con el objetivo de caracterizar su resistencia, virulencia y relación genética, y evaluar su posible potencial zoonótico.

#### **Metodología**

Se secuenció mediante la tecnología Illumina el genoma completo de 202 aislados procedentes de cerdos domésticos (n=100), jabalíes (n=2) y humanos (n=97) seleccionados en función de su origen y año de aislamiento (2006-2025). Se determinó la presencia de genes de resistencia, factores de virulencia y replicones plasmídicos y se construyó un árbol filogenético incluyendo aislados de brotes recientes en Europa usando como referencia el genoma *S. Choleraesuis* SC-B67.

#### **Resultados y discusión**

En general, los aislados porcinos presentaron más determinantes de resistencia que los humanos, frecuentemente asociados a la presencia de plásmidos y en particular al replicón *IncH1/2A*, especialmente abundante en aislados de cerdo ibérico (56%) y menos frecuente en los de humanos (11%). Se identificaron cinco clados filogenéticos, de los cuales el clado A agrupó la mayoría de aislados europeos y algunos de cerdo blanco y humanos mientras que el clado C incluyó la mayoría de cepas de ibérico y humanas nacionales. Los clados también se diferenciaron por la distribución de genes de resistencia y plásmidos.

#### **Conclusiones**

En España circulan diversos linajes de *S. Choleraesuis*, si bien el mayoritario agrupa principalmente cepas multirresistentes de ibérico y humanos. Los aislados de cerdo blanco se encuentran en otro linaje, más relacionados con aislados Europeos.

#### **Keywords**

Secuenciación • Epidemiología • Zoonosis • *Salmonella* • *Choleraesuis* • Porcino



### COMUNICACIONES BECAS

#### ID 13

#### ESTUDIO DE ANTIBIORRESISTENCIAS EN CEPAS DE *ACINETOBACTER* AISLADAS EN UN HOSPITAL CLÍNICO VETERINARIO

Carlota Martínez Torrecilla<sup>1</sup>; Marta Eulalia García<sup>2</sup>; Marta Pérez Sancho<sup>3</sup>; Laura Torre Fuentes<sup>4</sup>; Julio Álvarez Sánchez<sup>4</sup>; Jose Luis Blanco Cancelo<sup>2</sup>

1. Universidad Complutense de Madrid; 2. Departamento Sanidad Animal y Hospital Clínico Veterinario Complutense; 3. Departamento Sanidad Animal, Hospital Clínico Veterinario Complutense y Centro VISAVET; 4. Centro VISAVET. Universidad Complutense

#### Introducción y objetivos

En los últimos años, el género *Acinetobacter*, asociado a altas tasas de resistencias antibióticas, ha sido uno de los principales causantes de importantes brotes nosocomiales en hospitales de medicina humana. La información disponible en medicina veterinaria es muy limitada, y aún más en España. Nuestro principal objetivo ha sido la caracterización de aislados de *Acinetobacter* recuperados a partir de muestras procesadas en el HCV de la UCM, profundizando en la detección de posibles resistencias a antibióticos (RAM).

#### Metodología

El estudio consta de 23 aislados, de diferentes especies animales (cánidos, félidos, équidos, bovino, ovino, aves y reptiles) y tipos de muestras (lavados y exudados traqueales, muestras de heridas e incisiones, muestras conjuntivales, muestras de piel, exudado ótico, líquido uterino, orina, y líquido cefalorraquídeo). Las bacterias se aislaron en medio Agar-sangre a 37°C durante 24-48 horas. Se realizó una identificación mediante técnica MALDI-TOF y VITEK-2. Además, se empleó un medio de cultivo cromogénico selectivo y diferencial (CHROMagar™ *Acinetobacter*) donde *Acinetobacter* crece de color rosa-rojo. Después se realizó el estudio de antibiorresistencias siguiendo el método Kirby-Bauer con 24 antibióticos y una secuenciación de genoma completo de 20 cepas para determinar la presencia de genes asociados con RAM.

#### Resultados y discusión

MALDI-TOF, VITEK-2 y medio cromogénico identificaron *Acinetobacter* en un 52,17%, 100% y 78,26% de los aislados, respectivamente. La secuenciación genómica, identificó como *Acinetobacter* 13 de las 20 aislados secuenciados, por lo que la técnica MALDI-TOF resultó ser la más fiable identificando este género (acuerdo del 100% a nivel de género).

#### Conclusiones

En función de los estudios fenotípicos de RAM, se clasificaron 21 cepas como multiresistentes, y una cepa como extremadamente resistente. La secuenciación del genoma reveló la presencia de hasta 48 mecanismos de resistencia en las cepas (media = 7 mecanismos/cepa), con algunas de ellas portando hasta 24 genes diferentes.

#### Keywords

*Acinetobacter* • Aislado • Genes • Identificación • Resistencias antibióticas • Secuenciación genómica • MALDI-TOF • VITEK-2

## COMUNICACIONES BECAS

### ID 47

#### **CORTES DE PRECISIÓN SOBRE TEJIDO INTESTINAL BOVINO: UN NUEVO MODELO PARA EVALUAR LA INTERACCIÓN ENTRE EL TEJIDO INTESTINAL Y *MYCOBACTERIUM AVIUM* SUBSP. *PARATUBERCULOSIS***

**Maitane Mugica Unamuno**<sup>1</sup>; Samruddhi Deosthali<sup>2</sup>; Natalie Werling<sup>2</sup>; Peter Olinga<sup>3</sup>; Natalia Elguezabal<sup>1</sup>; Dirk Werling<sup>2</sup>

1. NEIKER-BRTA; 2. Royal Veterinary College; 3. University of Groningen

#### **Introducción y objetivos**

La paratuberculosis es una enteritis granulomatosa crónica causada por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (Map). Causa grandes pérdidas económicas en rumiantes domésticos a nivel mundial. No existe una terapia universal y es necesario contar con modelos experimentales de rumiantes para evaluar nuevas terapias. Los cortes de precisión (bPCIS) sobre tejido intestinal bovino pueden ser un buen modelo para este fin, ya que proporcionan una complejidad celular tridimensional. En este trabajo desarrollamos bPCIS para estudiar la interacción inicial Map-intestino, para aumentar nuestra comprensión de la patogenia y poder evaluar nuevos productos que impidan la invasión de Map.

#### **Metodología**

Este modelo se desarrolló creando bPCIS a partir de yeyuno de vacas sacrificadas en matadero que se infectaban con 1x105 Map-K10-tomato. Se tomaron muestras a las 2, 6 y 24 horas post-infección para analizar la viabilidad y obtener imágenes para estudio histológico e inmunohistoquímico. Además, se cuantificó la producción de moduladores inmunitarios en el sobrenadante de los cultivos mediante ELISA.

#### **Resultados y discusión**

La morfología tisular se mantuvo durante las primeras 6 horas, deteriorándose después de 24 horas. Se obtuvieron resultados similares en el ensayo de viabilidad, los cuales mejoraron con el uso de solución Krebs-Ringer fría para la recolección de tejido y la renovación del medio de cultivo, sugiriendo que el rápido consumo de nutrientes y el alto metabolismo del tejido intestinal afectan a la viabilidad. La mayor presencia de Map se observó a las 6 horas post-infección, pudiendo estar relacionada con el aumento del tiempo de contacto y la viabilidad del tejido. Se observó un aumento significativo en IL-1 $\beta$  e IL-10, en presencia de LPS y de Map respectivamente, pero no en IFN- $\gamma$  y TNF.

#### **Conclusiones**

El modelo bPCIS permite estudiar la interacción Map-huésped durante las primeras 24 horas de exposición, siendo necesario seguir perfeccionando el protocolo para alcanzar períodos de estudio más largos.

#### **Keywords**

Sanidad animal • Intestino • Ganado bovino • Paratuberculosis • Modelos animales alternativos • Cortes de precisión sobre tejido

## COMUNICACIONES PÓSTERES

### ID 4 / PANEL 1-A

#### **ASOCIACIÓN ENTRE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA Y GENÓMICA EN LA DETERMINACIÓN DE RESISTENCIAS EN AISLADOS PATÓGENOS PORCINOS DE *ACTINOBACILLUS PLEUROPNEUMONIAE*, *STREPTOCOCCUS suis* Y *ESCHERICHIA COLI***

Anna Vilaró<sup>1</sup>; Elena Novell<sup>1</sup>; Marta Alcobé<sup>1</sup>; Lourdes Migura<sup>2</sup>; Lorenzo Fraile<sup>3</sup>

1. Grupo de Saneamiento Porcino, Lleida; 2. IRTA. Programa de Sanitat Animal. Centre de Recerca en Sanitat Animal (CReSA). Campus de la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB), Bellaterra; 3. Department of Animal Science, ETSEA, Universitat de Lleida, Lleida

#### **Introducción y objetivos**

*Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP), *Streptococcus suis* (SS) y *Escherichia coli* (EC) son bacterias patógenas que generan grandes pérdidas económicas en el sector porcino. Los estudios de sensibilidad antimicrobiana (AST) son la práctica habitual para determinar el mejor tratamiento, mientras que la secuenciación del genoma completo (WGS) está adquiriendo mayor relevancia. Este estudio evalúa la asociación entre AST y la detección de determinantes de resistencia por WGS.

#### **Metodología**

Se seleccionaron 169 cepas de APP, 154 de SS y 206 de EC aisladas de casos clínicos (2018-2022). Los AST se realizaron por microdilución en placa según las indicaciones del Clinical and Laboratory Standards Institute. Las cepas se secuenciaron con Illumina NovaSeq6000 (2x250bp) y los datos se procesaron mediante herramientas bioinformáticas. La asociación fenotipo/genotipo se evaluó mediante la prueba Kappa de Cohen.

#### **Resultados y discusión**

El análisis genómico identificó 11 genes de resistencia y 6 mutaciones puntuales en las cepas de APP siendo *tet(B)* y *blaROB* los genes más prevalentes. En SS, de los 11 genes detectados, *tet(O)* y *erm(B)* fueron los más prevalentes. Por último, en EC se detectaron 79 genes de resistencia y 16 mutaciones, siendo *tet(B)* y *floR* los más comunes. El estudio de asociación mostró buena concordancia ( $k>0,6$ ) entre fenotipo y genotipo para antibióticos analizados. En APP, la asociación fue buena con la amoxicilina, florfenicol, oxitetraciclina y enrofloxacina; en EC, con ceftiofur, enrofloxacina, gentamicina y neomicina. En SS, no se pudo evaluar debido a la ausencia de puntos de corte y bases de datos de mutaciones puntuales.

#### **Conclusiones**

La secuenciación identificó los determinantes de resistencia en nuestros aislados, mostrando una buena asociación con los perfiles de sensibilidad fenotípicos, especialmente en APP y EC. Sin embargo, dado que las bases de datos de genes de resistencia requieren actualizaciones constantes, el método de microdilución sigue siendo el más robusto para predecir el éxito terapéutico.

#### **Apoyo financiero y agradecimientos**

Anna Vilaró cuenta con el apoyo del Pla de Doctorats Industrials de la Secretaria d'Universitats i Recerca del Departament d'Empresa i coneixement de la Generalitat de Catalunya (beca 2021DI 86). Este estudio se realizó con el apoyo del Grupo de Saneamiento Porcino, Lleida (GSP) y la ayuda de los veterinarios clínicos.

#### **Keywords**

Secuenciación • WGS • Resistencias • Porcino • *Actinobacillus pleuropneumoniae* • *Streptococcus suis* • *Escherichia coli* • Susceptibilidad antimicrobiana • Ensayos • Bacteriología

## COMUNICACIONES PÓSTERES

### ID 5 / PANEL 2-A

### PREVALENCIA Y PERFILES DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE LAS INFECCIONES POR *KLEBSIELLA* spp. EN ANIMALES DE COMPAÑÍA (PERROS, GATOS Y CONEJOS) EN LA PENÍNSULA IBÉRICA

**Maria Jiménez**<sup>1</sup>; Anna Vidal<sup>2</sup>; Inma Duran<sup>2</sup>; Chiara Seminati<sup>1</sup>; Laila Darwich Soliva<sup>1</sup>

*1. Universidad Autonoma de Barcelona; 2. Laboratorios Echevarne*

#### Introducción y objetivos

La monitorización de las RAM en *Klebsiella* spp. es esencial desde la perspectiva de Una Sola Salud debido a su papel como patógenos oportunistas significativos y a su capacidad para adquirir y disseminar mecanismos de multi-resistencia (MDR) a diferentes familias de antibióticos. El objetivo de este estudio fue analizar la distribución y las RAM de *Klebsiella* spp. aisladas de casos clínicos remitidos por clínicas veterinarias de España, Portugal y Andorra.

#### Metodología

Se realizó un análisis retrospectivo utilizando datos de un laboratorio de diagnóstico privado. Se recogió información epidemiológica y microbiológica (spp. bacterianas, fenotipado) de 1.386 aislamientos de *Klebsiella* entre 2016 y 2025. Los datos se analizaron mediante RStudio y el paquete AMR.

#### Resultados y discusión

Se incluyeron un total de 904 aislamientos de perros (n=600), gatos (121) y conejos (183). *Klebsiella pneumoniae* fue la especie más frecuente detectada: 68,3% en perros, 76% en gatos y 46,5% en conejos. *Klebsiella oxytoca* fue la segunda más frecuente, sobre todo entre los conejos (46%). Las muestras clínicas se distribuyeron del siguiente modo: en perros, muestras dermatológicas (45%), óticas (23%) y respiratorias (21%); en gatos, muestras respiratorias (38%) y dermatológicas (32%); y en conejos, predominantemente muestras respiratorias (57%). La resistencia a los betalactámicos fue la más común entre las especies, seguida de las sulfonamidas, las fluoroquinolonas y las tetraciclinas. El perfil de MDR en aislados de *K. pneumoniae*, fue mayor en conejos (74,1%), seguido de los gatos (50%) y perros (42,2%). En el caso de *K. oxytoca*, la MDR también fue mayor en conejos (54%) en comparación con los gatos (23,8%) y perros (19,7%).

#### Conclusiones

Estos hallazgos ponen de relieve la necesidad de incluir a los animales de compañía en la vigilancia de las RAM en el marco de Una Salud, reconociendo los hogares como sitios clave para la transmisión bidireccional de bacterias MDR entre humanos y animales.

#### Apoyo financiero y agradecimientos

Agradecimientos a Laboratorios Echevarne por la cesión de los datos.

#### Keywords

*Klebsiella* spp • resistencias antimicrobianas • mascotas • Pensinsula Iberica

## COMUNICACIONES PÓSTERES

### ID 7 / PANEL 3-A

#### **HERRAMIENTAS DE DIAGNÓSTICO EN EL MARCO DE LOS PROGRAMAS NACIONALES DE CONTROL DE *Salmonella* EN AVICULTURA EN ESPAÑA**

**Cristina de Frutos Escobar<sup>1</sup>; Cristina Aranz Martín<sup>1</sup>; Tania Serrano García<sup>2</sup>; Isabel Gonzalo Pascual<sup>1</sup>; Montserrat Agüero García<sup>1</sup>**

*1. Laboratorio Central de Veterinaria-LCV (MAPA). Algete, Madrid; 2. Tecnología y Servicios Agrarios (TRAGSATEC), Madrid*

#### **Introducción y objetivos**

Los Programas Nacionales de Control de *Salmonella* en avicultura (PNCS) persiguen lograr objetivos de reducción de prevalencia de determinados serotipos de *Salmonella* en las diferentes poblaciones avícolas objeto de control. Para ello, es fundamental la armonización del diagnóstico de laboratorio, por lo que se considera clave el establecimiento de los métodos de diagnóstico que pueden ser empleados en el marco de los PNCS. De la misma manera, las vacunas atenuadas sólo podrán ser utilizadas en los PNCS si se dispone de métodos apropiados para distinguir las cepas silvestres de las vacunales. Este trabajo pretende recopilar la variedad de métodos autorizados en la actualidad en España para llevar a cabo, tanto la detección y serotipado de *Salmonella* spp, como la diferenciación de cepas vacunales/campo en el contexto de los PNCS.

#### **Metodología**

Las normas ISO 6579-1 e ISO 6579-3 son los métodos de referencia para la detección y serotipado de *Salmonella* spp respectivamente. Frente a estos métodos, las organizaciones de certificación llevan a cabo la validación de métodos alternativos acorde a ISO 16140-2 e ISO 16140-6, garantizando que ofrezcan resultados equivalentes a los obtenidos con el correspondiente método de referencia. En cuanto a las vacunas atenuadas, para la diferenciación de cepas vacunales/campo deben utilizarse métodos validados y registrados para su uso en España.

#### **Resultados y discusión**

En la actualidad disponemos de ocho métodos alternativos autorizados para la detección y serotipado de *Salmonella* spp en el ámbito de los PNCS, basados en su mayoría en técnicas de PCR. Para la diferenciación de cepas vacunales contamos con diferentes métodos basados tanto en técnicas moleculares, como en técnicas que analizan diferencias fenotípicas como el perfil de resistencias a antimicrobianos o el crecimiento de las cepas en medios de cultivo específicos.

#### **Conclusiones**

Las herramientas disponibles para el diagnóstico de *Salmonella* spp. en el marco de los PNCS son robustas y diversas.

#### **Keywords**

*Salmonella* • programas • diagnóstico • métodos • detección • serotipado • vacunas

## COMUNICACIONES PÓSTERES

### ID 11 / PANEL 4-A

### CARACTERIZACIÓN DE LA CEPHA DE *Salmonella enterica Typhimurium* DE LA VACUNA PRIMUN *Salmonella T* MEDIANTE TÉCNICAS DE SECUENCIACIÓN MASIVA PARA SU DIFERENCIACIÓN DE LAS CEPAS DE CAMPO

**Bernabé Diéguez Roda**<sup>1</sup>; María Jesús Cano Benito<sup>1</sup>; Laura Jiménez Guerrero<sup>1</sup>; Cristina De frutos Escobar<sup>2</sup>;

Montserrat Agüero García<sup>2</sup>; José Antonio Bouzada Rey<sup>2</sup>; Dolores Buitrago Sánchez<sup>2</sup>

*1. Tecnologías y Servicios Agrarios, S.A. (TRAGSATEC), Madrid; 2. Laboratorio Central de Veterinaria, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Algete, Madrid*

#### Introducción y objetivos

La salmonelosis es una enfermedad zoonótica de gran impacto en salud pública, por lo que se necesitan estrategias para reducir la prevalencia en la cabaña ganadera de los serotipos de importancia en salud pública. La vacunación es una herramienta eficaz para el control de la enfermedad, que requiere, en el caso de vacunas vivas que pueden excretarse en las heces, disponer de métodos para diferenciar la cepa vacunal de otras cepas de *Salmonella*.

El objetivo de este trabajo fue caracterizar el genoma completo de la cepa vacunal de la vacuna *Primun Salmonella T* (viva atenuada frente a *Salmonella enterica Typhimurium*) de Laboratorios Calier (que presenta colonias con dos morfologías diferentes) y disponer de un método para discriminar entre la cepa vacunal y la cepa de campo si la *Salmonella* se detecta en una manada en la que se ha empleado esta vacuna.

#### Metodología

De ambas colonias se determinó el serotipo y se obtuvo el perfil MLVA (análisis de secuencias repetitivas en tandem) y la secuencia del genoma completo (WGS) (Illumina). Además, se realizó un análisis de diversidad genética de la cepa vacunal comparándola con cepas no vacunales (n=229) depositadas en GenBank.

#### Resultados y discusión

Las dos colonias de la cepa vacunal presentaron: serotipo *Typhimurium*; idénticos perfiles ST y MLVA; mismos resistoma, virulotipo y replicones plasmídicos; y un SNP de diferencia entre ambas. Con el análisis de diversidad genética por cgMLST y cgSNPs se identificó un mínimo de 15 alelos cgMLST y 84 SNPs de diferencia entre la cepa vacunal y las cepas no vacunales.

Este método se utilizó para discriminar cepa vacunal/campo en el marco de los Programas Nacionales de Control de *Salmonella*.

#### Conclusiones

El análisis de diversidad genética descrito, mediante tipado cgMLST e identificación de cgSNPs, confirmó que la cepa vacunal se puede diferenciar claramente, a nivel genético, de las cepas de campo.

#### Keywords

*Salmonella Typhimurium* • *Primun Salmonella T* • Cepa vacunal • Cepa de campo • Secuenciación completa del genoma • Análisis diversidad genética • Programas Nacionales de Control de *Salmonella*



## COMUNICACIONES PÓSTERES

### ID 22 / PANEL 5-A

### CAJAS NIDO COMO SISTEMA CENTINELA: ANÁLISIS ESPACIAL DE *Salmonella* spp. Y RESISTENCIAS ANTIMICROBIANAS EN AVES SILVESTRES DE CASTILLA Y LEÓN

Alberto Alvarado-Piqueras<sup>1,2</sup>; Rocío Fernández-Valeriano<sup>1</sup>; Marta Torrijos-Moya<sup>1</sup>; Lorena Hernández<sup>1</sup>; Carlos Cuéllar<sup>1</sup>; Fernando Garcés<sup>1</sup>; Miriam Báscones<sup>1</sup>; Paula González-Simón<sup>1</sup>; Natalia Pastor-Tiburón<sup>1</sup>.

1. Grupo de Rehabilitación de la Fauna Autóctona y su Hábitat (GREFA), Majadahonda, Madrid; 2. Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid

#### Introducción y objetivos

La vigilancia de patógenos zoonóticos en fauna silvestre es clave para la salud pública y ambiental. Las aves silvestres pueden desempeñar un papel relevante en la epidemiología de *Salmonella* spp. como bioindicadoras de la salud de los ecosistemas. Además, pueden actuar como reservorios y participar en la transmisión a ganado o humanos, así como poder sufrir salmonelosis de alta mortalidad.

Este estudio, enmarcado en el proyecto “Control biológico del topillo campesino”, evaluó la presencia de *Salmonella* spp. en aves de Castilla y León y se caracterizaron los perfiles de resistencias antimicrobianas (RAM) de las cepas aisladas.

#### Metodología

Se muestraron 261 aves mediante hisopado cloacal: cernícalo vulgar (*Falco tinnunculus*), lechuza común (*Tyto alba*) y mochuelo europeo (*Athene noctua*). El aislamiento se realizó siguiendo la norma ISO 6579:2017 y la identificación y análisis de RAM mediante Vitek®2 Systems.

#### Resultados y discusión

La prevalencia global de *Salmonella* spp. fue del 8,81% (n=23), con aislamientos *S. enterica* ssp. *diarizonae* y *S. enterica* ssp. *arizona*. Se observaron un gran número de resistencias frente a cefalexina y amicacina (94,44%), moderado a cefovecina, enrofloxacino y doxiciclina (16,67%), y menores a ampicilina, ciprofloxacino, marbofloxacino, nitrofurantoína, cloranfenicol y trimetoprim/sulfametoxazol (11,11%), así como a imipenem (5,56%). No se detectaron resistencias frente a amoxicilina/ácido clavulánico, cefpodoxima, ceftazidima, ceftiofur y polimixina B. No se hallaron diferencias en la positividad a *Salmonella* spp. entre provincias, especies, sexos ni distancia a núcleos urbanos, aunque un análisis de potencia realizado indicó que la baja prevalencia y tamaño muestral pudieron limitar la detección de efectos moderados.

#### Conclusiones

El estudio demuestra la viabilidad de las cajas nido como sistema centinela para la detección de *Salmonella* spp. y RAM. Dada la baja prevalencia de *Salmonella* spp., para mejorar la potencia estadística y detectar efectos leves sobre las variables analizadas se requiere un mayor tamaño muestral en el estudio.

#### Apoyo financiero y agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por el Ministerio de Transición Ecológica y Reto Demográfico, aunque no expresa necesariamente la opinión del mismo.

#### Keywords

Zoonosis • Antibiorresistencias • Vigilancia Epidemiológica • One Health • Rapaces • Enterobacterias

## COMUNICACIONES PÓSTERES

### ID 28 / PANEL 6-A

### EVALUACIÓN DE LOS REQUERIMIENTOS MICROBIOLÓGICOS DE DISTINTAS ESPECIES DE MICOPLASMAS OBJETO DE VIGILANCIA. UTILIZACIÓN DE UN MÉTODO COMÚN PARA EL CULTIVO MICROBIOLÓGICO

Carmen Ródenas Martínez<sup>1</sup>; María Jesús Ortega Sánchez<sup>1</sup>; Inmaculada Notario Martos<sup>2</sup>; Marisa Velasco Pérez<sup>2</sup>;

María José Sánchez Guzmán<sup>2</sup>; Carlos Escabias Molina<sup>1</sup>; Antonio López Mariscal<sup>1</sup>

1. Laboratorio Central de Sanidad Animal (LCSA), MAPA; 2. Tecnologías y Servicios Agrarios, S.A.

#### Introducción y objetivos

El género *Mycoplasma* incluye más de 100 especies con capacidad para colonizar tejidos de humanos o animales, mostrando marcada especificidad por el hospedador. Algunas especies son responsables de enfermedades con impacto sanitario y económico en la producción ganadera, como la perineumonía contagiosa bovina, las micoplasmosis aviares o la agalaxia contagiosa de pequeños rumiantes. El Laboratorio Central de Sanidad Animal (LCSA) actúa como Laboratorio Nacional de Referencia para micoplasmosis animales y aplica las directrices de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA) en el diagnóstico de laboratorio, en ausencia de Laboratorios Europeos de Referencia. Ante la diversidad de procedimientos de cultivo recomendados para estas bacterias de crecimiento lento, según la enfermedad investigada, el LCSA ha desarrollado una metodología común basada en dichas recomendaciones.

#### Metodología

Se ha evaluado el rendimiento de un medio de cultivo formulado por el LCSA, estableciendo el límite de detección para distintas matrices y especies de *Mycoplasma*. Además, se ha comparado su eficacia con un medio comercial recomendado, analizando la dinámica de crecimiento de la cepa vacunal de *M. synoviae* entre los días 0 y 14 de incubación y su capacidad de recuperación en hisopos dopados de gallinas sanas.

#### Resultados y discusión

El límite de detección fue del orden de  $10^2$  unidades de color cambiante (UCC) en todos los casos. Ambos medios mostraron resultados equivalentes, alcanzando *M. synoviae* el máximo crecimiento hacia el día 7 de incubación. Sin embargo, el medio comercial presentó mayor tasa de contaminaciones en hisopos, lo que dificultó la recuperación de la cepa. En contraste, el medio formulado por el LCSA permitió recuperar *M. synoviae* en el 90% de las muestras.

#### Conclusiones

Estos resultados demuestran que la formulación propia del LCSA es adecuada para el aislamiento de micoplasmas de interés en sanidad animal y sujetos a programas de vigilancia, facilitando la estandarización de métodos, optimizando recursos y procesos.

#### Apoyo financiero y agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA). Los autores agradecen al personal del animalario del Laboratorio Central de Veterinaria (LCV) de Algete su disposición y colaboración en el envío de muestras de hisopos.

#### Keywords

*Micoplasmosis* • *Mycoplasma synoviae* • Cultivo • Detección • Laboratorio Central de Sanidad Animal (LCSA) • Bacterias de crecimiento lento



## COMUNICACIONES PÓSTERES

### ID 37 / PANEL 7-A

### VERIFICACIÓN INTERNA DE MATRICES ALIMENTARIAS “CHALLENGING” POR TEMPO®

Zariha Santos<sup>1</sup>; Sara Gacho<sup>1</sup>; Marta García<sup>2</sup>

1. Laboratorio Labocor SL, Madrid; 2. Departamento de Microbiología, Facultad de Veterinaria, Universidad Alfonso X el Sabio (UAX), Madrid

#### Introducción y objetivos

La verificación de la calidad de los alimentos que consumimos es de vital importancia para asegurarnos que en nuestro día a día no ingerimos microorganismos dañinos para la salud. El sistema automatizado TEMPO® para el análisis microbiológico de alimentos permite evaluar su calidad y asegurar resultados fiables. Este ensayo tuvo como objetivo evaluar el funcionamiento del sistema TEMPO® en la detección y recuento de diferentes microorganismos en diversas matrices alimentarias.

#### Metodología

Se analizaron 5 matrices alimentarias “challenging” (hamburguesa, ensalada, bacalao ahumado, lacio y mayonesa) utilizando el sistema TEMPO® para el recuento de aerobios totales, enterobacterias, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, mediante el número más probable automatizado (MPN). Los resultados fueron evaluados de acuerdo con los criterios establecidos por la norma ISO 16140-3.

#### Resultados y discusión

Para cada uno de los microorganismos analizados, los valores de la desviación estimada (eBias) y del coeficiente de variación obtenidos fueron inferiores a los límites de aceptabilidad definidos. Se determinó la recuperación como el porcentaje de microorganismos recuperados respecto al inóculo aplicado, descontando la carga endógena de la matriz; y se observaron diferencias mínimas atribuibles a la naturaleza de las muestras y a la sensibilidad de cada técnica. Estos hallazgos confirman la robustez del sistema TEMPO® en condiciones rutinarias de laboratorio, aportando rapidez y eficiencia frente a los métodos convencionales.

#### Conclusiones

La evaluación de resultados demuestra que el sistema TEMPO® ofrece una precisión, exactitud, selectividad y reproducibilidad equivalentes o superiores a los métodos tradicionales de referencia. Además, se constata una mejora operativa significativa en términos de eficiencia, reducción de tiempos de respuesta, trazabilidad y control de calidad.

#### Keywords

Sistema TEMPO® • Alimentos • Aerobios totales • Enterobacterias • *Escherichia coli* • *Staphylococcus aureus* • Verificación interna • Seguridad alimentaria

### COMUNICACIONES PÓSTERES

#### ID 45 / PANEL 8-A

#### ANAPLASMOSIS EN UN PACIENTE CANINO SERONEGATIVO: LA IMPORTANCIA DEL FROTIS SANGUÍNEO

Jose Maria Cifuentes Tolon<sup>1</sup>; Iñaki Carbon de Domingo<sup>1</sup>; Marta Maria Pérez Rontomé<sup>2</sup>

1. Clinica Veterinaria Cifuentes; 2. Facultad Veterinaria Zaragoza

#### Introducción y objetivos

Se describe un posible caso de Anaplasmosis (*Anaplasma spp.*) en una perra Bóxer de 6 años, esplenectomizada.

Presentaba hipertermia, anorexia, cojera súbita en extremidad anterior derecha y tics faciales involuntarios. Tras exploración se detecta linfadenopatía regional (nódulo cervical superficial), taquicardia compensatoria e hipertensión. La analítica muestra anemia borderline, trombocitopenia y condición corporal de 4/9. Se observa hematuria e insuficiencia renal aguda.

Era seronegativa a enfermedades vectoriales (Inmunocromatografía: Uranotest quattro®). Se propuso como objetivo la identificación del agente causal mediante técnicas sencillas y específicas.

#### Metodología

Se realizaron diferentes pruebas sanguíneas: Frotis sanguíneo, PCR (Idexx®) para descartar parásitos hemáticos y se repite el test de inmunocromatografía.

#### Resultados y discusión

En el frotis se observó una estructura compatible con una mórlula intraplaquetaria muy aclaratoria y ante la demora laboratorial de la PCR y el estado crítico del animal y se inicia tratamiento antibiótico frente a parásitos hemáticos: Doxiciclina oral (10 mg/kg) 28 días.

Contra la hipertermia se pautó metamizol con evolución positiva a las 24 horas. También se trató con antihipertensivos e inhibidores del eje renina angiotensina hasta obtener valores fisiológicos y desapareció la hematuria.

El test rápido volvió a dar negativo y a los 5 días se obtuvo el resultado de la PCR siendo positiva a *Anaplasma spp.* (orden Rickettsiales), corroborando el hallazgo en el frotis.

#### Conclusiones

La patogenia del caso clínico expuesto mostró una infección aguda con una respuesta exacerbada del sistema inmune, pero sin la presencia de anticuerpos frente a *Anaplasma* y *Ehrlichia spp* (negativo dos veces al inmunotest). Este hecho podría explicarse por la ausencia de bazo.

El estudio del frotis sanguíneo sí determinó la infección por parásito hemático y de este modo se pudo pautar un tratamiento antibiótico provisional pero eficaz hasta la confirmación por PCR.

#### Apoyo financiero y agradecimientos

Investigación autofinanciada.

#### Keywords

*Anaplasma* • anemia • trombocitopenia • frotis sanguíneo • Inmunocromatografía • PCR

## COMUNICACIONES PÓSTERES

### ID 8 / PANEL 9-B

#### **DIAGNÓSTICO MOLECULAR EN MOSQUITOS COMO HERRAMIENTA CLAVE PARA LA DETECCIÓN Y PREVENCIÓN DEL VIRUS DEL NILO OCCIDENTAL EN LA COMUNIDAD VALENCIANA**

**María Ibáñez<sup>1</sup>; Mar Sallés<sup>1</sup>; Beatriz Ballester; Daniel Pérez Pecharromán<sup>2</sup>; Consuelo Rubio Guerri<sup>3</sup>; Elisa Maiques<sup>4</sup>; Teresa Lorenzo Bermejo**

*1. Facultad de Veterinaria, Universidad Cardenal Herrera-CEU, Universidades CEU, Valencia; 2. Grupo de Virología Molecular, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Cardenal Herrera-CEU, Valencia; 3. Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Cardenal Herrera-CEU, Valencia; 4. Departamento de Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Cardenal Herrera-CEU, Valencia*

#### **Introducción y objetivos**

Las enfermedades transmitidas por vectores representan más del 17 % de las infecciones globales y causan más de 700,000 muertes anuales. El Virus del Nilo Occidental (VNO), endémico en España, es transmitido por mosquitos del género *Culex* y puede provocar encefalitis en humanos y équidos. La vigilancia epidemiológica basada en la monitorización de vectores es clave para detectar su circulación y prevenir brotes. En este contexto, el presente estudio se centró en la recolección, identificación y análisis virológico de mosquitos *Culex* en la Comunidad Valenciana, con el objetivo de detectar la presencia del VNO y perfeccionar las técnicas de diagnóstico entomológico aplicadas al control de enfermedades emergentes.

#### **Metodología**

Se analizaron 402 mosquitos capturados con trampas BG-Sentinel 2 y CDC de luz blanca entre marzo y mayo de 2025. Los ejemplares del complejo *Culex pipiens* fueron identificados morfológicamente y sometidos a RT-qPCR específica para VNO (líneas 1 y 2) y Usutu virus (USUV), así como a RT-PCR hemianidada para la detección general de flavivirus.

#### **Resultados y discusión**

No se detectó la presencia de VNO ni USUV en las muestras analizadas mediante RT-qPCR ni en la detección general de flavivirus. A pesar de ello, la vigilancia entomológica permitió consolidar una metodología eficaz para el análisis molecular de mosquitos del complejo *Culex pipiens*.

La consolidación de esta metodología representa un avance significativo en el ámbito de la vigilancia entomológica, especialmente en contextos donde la ausencia de positividad no implica necesariamente la ausencia de riesgo.

#### **Conclusiones**

Aunque no se detectó circulación viral en el periodo de estudio, los resultados obtenidos evidencian la utilidad del diagnóstico molecular en mosquitos como herramienta preventiva. Se recomienda ampliar el alcance temporal y geográfico de las campañas entomológicas, con el objetivo de anticipar posibles brotes y reforzar la prevención desde un enfoque One Health.

#### **Apoyo financiero y agradecimientos**

Título del proyecto: Estudio piloto del viroma de mosquito en diferentes regiones de la Comunidad Valenciana.

Investigador principal: Beatriz Ballester

Número de anualidades: 2 Año de inicio del proyecto: 2024

Dotación económica: 20.000 euros

Organismo que lo concede: CONSELLERÍA DE EDUCACIÓN, CULTURA UNIVERSIDADES, Y EMPLEO DIRECCIÓN GENERAL DE CIENCIA E INVESTIGACIÓN.

#### **Keywords**

Virus del Nilo occidental • Zoonosis • Enfermedades transmitidas por vectores • *Culex pipiens* • RTqPCR



## COMUNICACIONES PÓSTERES

### ID 16 / PANEL 10-B

### CORRELACIÓN DE LA CUANTIFICACIÓN DE ESPORAS DE NOSEMA MEDIANTE MICROSCOPIA Y PCR CUANTITATIVA EN ABEJAS MELÍFERAS DE APIARIOS DE CATALUÑA

Leticia Hernández Martínez<sup>1</sup>; María José Ruano Ramos<sup>1</sup>; Ana López Herranz<sup>1</sup>; Isabel Gonzalo Pascual<sup>1</sup>;

María José Salvador Escalona<sup>2</sup>; Montserrat Agüero García<sup>1</sup>

1. Laboratorio Central de Veterinaria; 2. Departament d'Agricultura, Ramaderia, Pesca i Alimentació

#### Introducción y objetivos

La nosemosis es una enfermedad de las abejas melíferas de distribución mundial, causada por microsporidios del género *Nosema*. Las especies que parasitan a *Apis mellifera* son *N. apis* y *N. ceranae*, siendo esta última la más prevalente. Cargas parasitarias superiores a 1.000.000 de esporas por abeja se han asociado con una alta mortalidad invernal y el despoblamiento progresivo de las colmenas (Emsen *et al.*, 2020). El objetivo del presente estudio fue valorar la correlación de una PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR) con los métodos actualmente empleados en el Laboratorio Central de Veterinaria (LCV), Laboratorio Nacional de Referencia para la Salud de las Abejas: detección y diferenciación de especie de *Nosema* mediante PCR convencional (cPCR) y recuento de esporas mediante microscopía óptica (M.O.).

#### Metodología

Se analizaron mediante cPCR, M.O. y qPCR, abejas procedentes de 54 colmenas de 15 apiarios de Cataluña durante la primavera de 2025, como parte de un estudio del Departament d'Agricultura, Ramaderia, Pesca i Alimentació, en colaboración con apicultores locales.

La qPCR empleada (Babin *et al.* 2022) está dirigida al gen *RPB1*, secuencia conservada de copia única, que permite la cuantificación específica de *N. apis* y *N. ceranae*.

#### Resultados y discusión

De las 54 muestras analizadas, 27 resultaron positivas a *N. ceranae*, tanto por cPCR como por qPCR, y 2 a *N. apis* mediante qPCR (una de ellas por cPCR). Por M.O. se detectaron esporas en 26 muestras. Los resultados obtenidos mostraron una buena sensibilidad de la qPCR, así como una adecuada correlación ( $r = 0.94$ ) entre la cuantificación por esta técnica y la M.O.

#### Conclusiones

La qPCR descrita representa una herramienta prometedora para estimar la gravedad de la nosemosis en función de la carga parasitaria en poblaciones de abejas, ya que ofrece una mayor precisión y sensibilidad que los métodos tradicionales, al tiempo que facilita el análisis a gran escala.

#### Keywords

*Nosema* • *Apis mellifera* • PCR cuantitativa

## COMUNICACIONES PÓSTERES

### ID 19 / PANEL 11-B

### IDENTIFICACIÓN GENÉTICA DE ESPECIES PESQUERAS MEDIANTE ANÁLISIS COMPARATIVO DE SECUENCIAS

**Lucía Borreguero Escribano<sup>1</sup>; María Rosario Maya Garduño<sup>2</sup>; Isabel Bonet Jiménez<sup>2</sup>; Rocío Tarifa Conejero<sup>2</sup>; Ángela Trigo Fernández<sup>2</sup>; José Antonio Bouzada Rey<sup>1</sup>**

*1. Laboratorio Central de Veterinaria; 2. Tecnología y Servicios Agrarios (TRAGSATEC)*

#### Introducción y objetivos

La identificación fenotípica de los productos puede no ser suficiente para la evaluación del correcto etiquetado y aseguramiento del cumplimiento de la legislación. En estos casos, son necesarios métodos laboratoriales que confirmen la identificación inequívoca de las especies. El Laboratorio Central de Veterinaria ha puesto a punto un método de trabajo basado en la norma ISO17174:2024 para la identificación de especies de marlin (*Makaira nigricans*, *Kajikia albida*, *Tetrapturus georgii*), merluza (*Dissostichus eleginoides*), calamares (*Doryteuthis gahi*, *Illex argentinus*, *Dosidicus gigas*, *Sthenoteuthis oualaniensis*, *Nototodarus sloanii*) y atunes (*Thunnus alalunga*, *Thunnus thynnus*, *Thunnus albacares*, *Thunnus obesus*, *Katsuwonus pelamis*).

#### Metodología

Se han analizado un total de 34 muestras de referencia de especies de marlín, merluza, calamar y atún utilizando la técnica FINS y bases de datos para la comparación de secuencias. Se han analizado regiones de 650 y 460 nucleótidos del gen COI y CytB respectivamente para la identificación de merluzas y marlines. Las especies de calamares han sido analizadas a través de fragmentos de 710 nucleótidos del gen COI (Sales 2013). Para los atunes se han analizado fragmentos de 450 nucleótidos del gen RC (Región Control) (Viñas y Tudela 2009) y, en los casos necesarios, 258 nucleótidos del gen ITS1 (Mitchel 2016). Tras la obtención de las secuencias, se ha realizado su comparación con las bases de datos BOLD Systems y BLAST.

#### Resultados y discusión

Para cada especie se ha determinado qué región o regiones deben estudiarse a la hora de determinar la especie a la que pertenecen. En todos los casos analizados, se obtiene una homología superior al 98% coincidente con la especie certificada previamente.

#### Conclusiones

El sistema de análisis implementado en el laboratorio ha resultado adecuado para la identificación de las especies pesqueras analizadas. Estos análisis demuestran que es necesario validar cada tipo de especie a identificar, y determinar la región de ADN idónea a analizar.

#### Keywords

Especies • Identificación • Peces • FINS • Calamar • Atún

## COMUNICACIONES PÓSTERES

### ID 27 / PANEL 12-B

### LA PCR TOUCHDOWN COMO HERRAMIENTA PARA MEJORAR LA GENOTIPIFICACIÓN MEDIANTE SNP DE *COXIELLA BURNETII*

Manuel Francisco Hernández<sup>1</sup>; Eugenia Rosario González Nuño<sup>1</sup>; Olga Fernández Navarro<sup>2</sup>; Rocío Fernández Oropesa<sup>1</sup>; Antonio Patricio López Mariscal<sup>1</sup>

1. Laboratorio Central de Sanidad Animal-Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Santa Fe, Granada;

2. Tecnologías y Servicios Agrarios, S.A.

#### Introducción y objetivos

La fiebre Q es una enfermedad zoonótica de distribución mundial causada por *Coxiella burnetii*, una bacteria gramnegativa intracelular altamente resistente a condiciones ambientales adversas. Sus principales reservorios son los rumiantes, aunque también se ha detectado en numerosas especies animales. Las hembras infectadas eliminan grandes cantidades del patógeno a través de secreciones de parto o aborto, así como en las heces. Ante el aumento de casos en el ganado y la limitada información sobre los genotipos circulantes, resulta fundamental no solo establecer un método uniforme para su caracterización, sino también optimizar las técnicas actuales que permitan trabajar con bajas concentraciones bacterianas. Para ello, se requieren métodos sensibles y reproducibles de genotipificación como puede ser la técnica Single-Nucleotide-Polymorphism (SNP). En este estudio se compararon dos aproximaciones de la técnica por SNP: una metodología previamente estandarizada y una segunda basada en una versión optimizada mediante PCR-touchdown, con el objetivo de confirmar una mejora de la técnica.

#### Metodología

Comparación de dos métodos de PCR-Real Time (una estandarizada y otra TouchDown) mediante la prueba no paramétrica de Mann-Whitney (Wilcoxon). Se analizaron muestras positivas a *C. burnetii* utilizando ambas técnicas, comparando los valores de Ct mediante esta prueba.

#### Resultados y discusión

Los resultados mostraron una diferencia estadísticamente significativa a favor de la técnica optimizada (Touchdown), con valores de Ct más bajos.

#### Conclusiones

La técnica optimizada mejora la sensibilidad en el genotipado de *Coxiella burnetii*, lo que permite una genotipificación de muestras clínicas con cargas bacterianas más bajas, posicionándola como una mejor alternativa para estudios moleculares y de vigilancia epidemiológica.

#### Apoyo financiero y agradecimientos

Financiación: Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA). Eugenia R. Glez. Nuño fue financiada por una beca de formación práctica para titulados universitarios, en el ámbito de los laboratorios de sanidad animal, de genética molecular y de sanidad vegetal, dependientes de la Dirección General de Sanidad de la Producción Agroalimentaria y Bienestar Animal (Orden APA/1340/2022).

#### Keywords

Fiebre Q • Genotipado • SNP Single nucleotide polymorphism • *Coxiella burnetii* • PCR-touchdown



## COMUNICACIONES PÓSTERES

### ID 31 / PANEL 13-B

### EVALUACIÓN *IN VITRO* DE NUEVOS BIOMARCADORES DE LA TUBERCULOSIS CAPRINA

Carlos Velasco Reinaldo<sup>1,2</sup>; Fátima Cruz López<sup>1</sup>; Alberto Gómez Buendía<sup>1,2</sup>; Javier Ortega<sup>1</sup>;

Lucía de Juan<sup>1,2</sup>; Beatriz Romero<sup>1,2</sup>; Lucas Domínguez<sup>1,2</sup>; Julio Álvarez<sup>1,2</sup>; Álvaro Roy<sup>3</sup>; Javier Bezos<sup>1,2</sup>

1. Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VIASAVET), Universidad Complutense de Madrid; 2. Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid; 3. Centro Nacional de Epidemiología, Instituto de Salud Carlos III, Madrid

#### Introducción y objetivos

El diagnóstico antemortem de la tuberculosis (TB) caprina se basa principalmente en el uso de técnicas *in vivo* como la intradermotuberculización (simple/IDTBs y comparada/IDTBc) y en menor medida en la técnica del interferón-gamma (IGRA), las cuales presentan ciertas limitaciones en la detección de animales infectados. Por ello, con el objetivo de buscar marcadores *in vitro* relacionados con la reactividad a las técnicas diagnósticas de la TB, se evaluó la expresión de biomarcadores inmunológicos (citoquinas) y fisiológicos (proteínas de inflamación aguda, estrés oxidativo y hemograma) en caprinos reactores y no reactores a las técnicas diagnósticas de la TB.

#### Metodología

El estudio se realizó en una explotación con infección confirmada de TB y se consideraron como infectados aquellos caprinos reactores positivos a la IDTBs o IGRA. Se evaluaron las diferencias entre reactores positivos y negativos en los niveles de niveles de: (i) 15 citoquinas plasmáticas mediante un ensayo ELISA múltiple en muestras de sangre estimuladas con un derivado proteico purificado bovino (PPD<sub>b</sub>) ( $n=19$ ), (ii) proteínas de fase aguda (haptoglobina/Hp y amiloide sérico A/SAA) y marcadores de estrés oxidativo (estatus oxidativo total/TAS y malondialdehído/MDA) en muestras de suero ( $n=90$ ) y (iii) hemograma en muestras de sangre ( $n=44$ ).

#### Resultados y discusión

En cuanto a la expresión de citoquinas plasmáticas, se observaron niveles significativamente más elevados de IFN- $\gamma$  ( $p<0,005$ ; Wilcoxon signed-rank test) e IP-10 ( $p<0,001$ ) en caprinos reactores en comparación con los no reactores. Además, los niveles de Hp ( $p<0,005$ ) y TAS ( $p<0,05$ ) fueron significativamente mayores en cabras reactores. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas ( $p>0,05$ ) en los niveles de SAA, MDA ni en el hemograma.

#### Conclusiones

Este estudio demuestra la expresión diferencial de biomarcadores inmunológicos (IFN- $\gamma$  e IP-10) y fisiológicos (Hp y TAS) en caprinos reactores a las técnicas diagnósticas de la TB y sugiere su potencial como marcadores de infección.

#### Apoyo financiero y agradecimientos

Esta investigación ha sido posible gracias a la financiación de ICRAD, una red ERA-NET cofinanciada por el programa de investigación e innovación Horizonte 2020 de la Unión Europea en virtud del acuerdo de subvención nº862605, y el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades de España (MCIN/AEI/10.13039/501100011033) a través del proyecto "Improving the diagnosis of tuberculosis in domestic ruminants through the use of new antigens and test platforms" (referencia PCI2023-143368), y el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación de España.

#### Keywords

Tuberculosis • Caprinos • Diagnóstico • Citoquinas • Estrés oxidativo • Inflamación • Hemograma

## COMUNICACIONES PÓSTERES

### ID 35 / PANEL 14-B

### EFECTO DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA Y ACEITES ESENCIALES FRENTE A BACTERIAS AISLADAS DE SEMEN DE ASNO (*EQUUS ASINUS*). DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA

**Lidia Gómez Gascón**<sup>1</sup>; Isabel Ortiz Jaraba<sup>2</sup>; Antonio Romero Salmoral<sup>1</sup>; Ángela Galán Relaño<sup>3</sup>; Pilar Vallejo Soto<sup>2</sup>; Jesús Manuel Dorado Martín<sup>2</sup>; Manuel Hidalgo Prieto<sup>2</sup>; Belén Huerta Lorenzo<sup>1</sup>; Inmaculada Luque Moreno<sup>1</sup>

1. Dpto. Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria; Unidad de Investigación Competitiva (UIC) Zoonosis y Enfermedades Emergentes ENZOEM, Campus de Excelencia Internacional Agroalimentaria 'CeiA3', Universidad de Córdoba; 2. Grupo de Reproducción Veterinaria. Dpto. Medicina y Cirugía Animal, Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba; 3. Dpto. Enfermería, Farmacología y Fisioterapia. Área de Farmacología, Facultad de Veterinaria. Unidad de Investigación Competitiva (UIC) Zoonosis y Enfermedades Emergentes ENZOEM, Campus de Excelencia Internacional Agroalimentaria 'CeiA3', Universidad de Córdoba

#### Introducción y objetivos

La contaminación bacteriana del semen compromete la viabilidad espermática y provoca inflamación uterina en hembras, por ello se añaden antibióticos a los diluyentes. En este trabajo se ha evaluado la capacidad antimicrobiana *in vitro* de nanopartículas de plata (AgNPs) y aceites esenciales (AEs) frente a bacterias aisladas de semen de asnos (*Equus asinus*).

#### Metodología

Muestras de semen fresco y criopreservado (N2) de 7 asnos andaluces aparentemente sanos se sembraron (50 µL) e incubaron (37 °C, 24-48h) en medios de cultivo, identificando los aislados con MALDI-TOFF. Las bacterias se enfrentaron a AgNPs (10 nm, 20 nm, 40 nm y <100 nm de tamaño de partícula) diluidos en citrato sódico y AEs Carvacrol, Eugenol y Cinamaldehído diluidos en agua con 0,1% de DMSO. Se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) realizando diluciones dobles seriadas de cada producto (25 a 0,02 µg/mL para AgNPs <100nm y 0,02 a 0,00015 µg/mL para el resto y 64-0,06 µg/ml para los AEs) en placas de poliestireno.

#### Resultados y discusión

Se aislaron 20 Gram(+) y 11 Gram(-), incluyendo bacterias de la microbiota del pene y uretra (*Streptococcus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Enterobacter*, *Escherichia coli*) y contaminantes ambientales (*Corynebacterium*, *Bacillus*, *Aerococcus*, *Globicatella*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, *Providencia*). Las AgNPs10 nm (13/31, 41,93%) mostraron mejores resultados que AgNPs20 nm (7/31, 22,58%) o AgNPs40 nm (5/31, 16,13%). Se obtuvieron valores elevados de CMI90 ≥25 µg/mL para AgNPs<100nm, y AEs Carvacrol y Eugenol (≥25 µg/ml), mientras que los de Cinamaldehído (CMI90=4 µg/mL) fueron más bajos. En general, el grupo de bacterias Gram(-) resultó más sensible a los aceites ensayados, mientras que el comportamiento frente a AgNPs <100nm fue similar en ambos grupos bacterianos.

#### Conclusiones

Las AgNPs de 10 nm y Cinamaldehído tienen capacidad para inhibir bacterias contaminantes del semen de asno. Se propone su uso en los diluyentes seminales.

#### Apoyo financiero y agradecimientos

El trabajo ha sido financiado gracias al proyecto con referencia PID2020-116090RB-I00. Nanotecnología aplicada a la mejora de la calidad y fertilidad del semen equino: purificación del semen y efecto antimicrobiano.

#### Keywords

Semen • Bacterias • Sensibilidad Antimicrobiana • CMI • AgNPs • Carvacrol • Eugenol • Cinamaldehído



## COMUNICACIONES PÓSTERES

### ID 38 / PANEL 15-C

### EXPLORANDO LA UTILIDAD DE MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO EN ENSAYOS DE EVALUACIÓN DE LA INMUNIDAD ENTRENADA ORIENTADA EN MODELO PORCINO

Teresa García-Seco Romero<sup>1</sup>; Lorena Franco Martínez<sup>2</sup>; Lidia Sánchez Morales<sup>1</sup>; Andrea Pérez Domingo<sup>1</sup>; Fátima Cruz López<sup>1</sup>; Ramón Juste Jordan<sup>3</sup>; Iker Agirregomoskorta Sevilla<sup>3</sup>; José Joaquín Cerón Madrigal<sup>4</sup>

1. Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria VISAVENT-UCM. Madrid, España; 2. Clinic for Internal Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb. Zagreb, Croacia; Laboratorio Interdisciplinar de Análisis Clínicos Interlab-UMU, Universidad de Murcia. Murcia, España; 3. Departamento de Sanidad Animal, NEIKER-Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario. Derio, Bizkaia, España; 4. Laboratorio Interdisciplinar de Análisis Clínicos Interlab-UMU, Universidad de Murcia. Murcia, España

#### Introducción y objetivos

La inmunidad entrenada (IE) es la capacidad del sistema inmune innato para mejorar su capacidad de respuesta tras una exposición inicial a ciertos microorganismos o estímulos específicos. En ella, los monocitos, macrófagos y otras células innatas experimentan cambios epigenéticos y metabólicos que generan una respuesta no específica más eficiente frente a agentes heterólogos, siendo el equilibrio pro y antiinflamatorio fundamental para una respuesta eficiente inmune eficiente y controlada. Este trabajo, dentro del proyecto PID2020-112966RB-I00, evalúa marcadores de estrés oxidativo como indicadores de la modulación de IE en un modelo porcino donde se estudia la capacidad inmunomoduladora de derivados de micobacterias.

#### Metodología

Se evaluaron 11 marcadores plasmáticos de estrés oxidativo los días 0, 14, 36, 57 y 120 de un estudio integrado por 9 grupos (3-4 cerdos/grupo) inoculados con dpB [derivado porcino de dpB [derivado porcino de BCG (Bacilo de Calmette-Guérin)] o MDR (nºpatente WO2020/115161) en distintas vías (intravenosa/oral y formas de aplicación/presentación (viva/inactivada, una/dos dosis).

#### Resultados y discusión

El grupo dpB-viva-intravenosa presentó una tendencia a mostrar valores más elevados en los distintos marcadores, que fueron significativamente superiores ( $p=0,047$ ) para el marcador CUPRAC (Cupric Reducing Antioxidant Capacity) respecto al grupo de MDR-intravenosa-2dosis el d36. También se observaron resultados próximos a la significación respecto al grupo de dpB-inactivada-intravenosa-1dosis el d57 para la albúmina ( $p=0,072$ ) y el d120 para la paraoxonasa 1 ( $p=0,182$ ). Esto sugiere una mejor capacidad de respuesta frente al estrés oxidativo de los animales inmunizados con dpB-viva-intravenosa. Por otro lado, el grupo MDR-oral-1dosis mostró valores significativamente más altos del marcador FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) respecto al grupo no inmunizado ( $p=0,019$ ) el d57.

#### Conclusiones

El empleo de marcadores de estrés oxidativo se postula como una aproximación útil para contribuir a la evaluación de modulación de la IE inducida por micobacterias en estudios *in vivo*, siendo de interés explorar su utilidad diagnóstica en distintos modelos experimentales.

#### Apoyo financiero y agradecimientos

Este trabajo se ha financiado con fondos del proyecto Programa de Proyectos de I+D del Plan Estatal 2020 PID2020-112966RB-I00 TAIV-SUIS. Los autores agradecen a Alberto Díez Guerrier su colaboración en el trabajo experimentación animal como veterinario designado.

#### Keywords

Inmunidad entrenada • Estrés oxidativo • Micobacterias • Porcino • Experimentación animal



## COMUNICACIONES PÓSTERES

### ID 43 / PANEL 16-C

### CITOMETRÍA DE FLUJO COMO HERRAMIENTA PARA EL DIAGNÓSTICO DE PIROPLASMOSES EQUINA

Fátima Cruz López<sup>1</sup>; Sara Gil Alonso<sup>2</sup>; Paloma Gago Muñoz<sup>3</sup>; Abel Dorrego Rodríguez<sup>1</sup>; Belén Rivera Arroyo<sup>1</sup>; Inmaculada Moreno Iruela<sup>4</sup>; Beatriz Romero Martínez<sup>3</sup>

1. Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET), Universidad Complutense de Madrid; 2. Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid; 3. Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET), Universidad Complutense de Madrid. Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid; 4. Unidad de Inmunología Microbiana, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda.

#### Introducción y objetivos

La piroplasmosis equina (PE), causada por los protozoos intraeritrocitarios *Babesia caballi*, *Theileria equi* y *Theileria hanevi*, constituye un importante problema sanitario y económico en medicina equina. Los métodos diagnósticos convencionales, como la microscopía, la serología o la PCR, presentan limitaciones en términos de sensibilidad, especificidad y/o coste. En este trabajo se evaluó la citometría de flujo como herramienta diagnóstica alternativa para la detección de PE en muestras de sangre completa de équidos.

#### Metodología

Se analizaron 105 muestras remitidas al Servicio de Vigilancia Sanitaria Equina (SEVISEQ) del Centro VISAVET, comparando parámetros hematológicos y resultados de PCR cuantitativa en tiempo real con los obtenidos mediante citometría de flujo, tras el marcaje de ácidos nucleicos intraeritrocitarios con el fluorocromo SYTO™16. Se utilizaron diferentes regiones de cribado en los diagramas de dispersión y gráficos de densidad con el objetivo de establecer un punto de corte óptimo de eritrocitos marcados con el fluorocromo para la consideración de una muestra como positiva, empleando la PCR cuantitativa en tiempo real como técnica de referencia.

#### Resultados y discusión

Los resultados evidenciaron que la citometría de flujo identificó correctamente todos los positivos detectados por PCR (100% de sensibilidad), aunque con una menor especificidad (69,5%). Asimismo, la conservación de las muestras hasta 72 horas tras su extracción no modificó los resultados obtenidos. El punto de corte óptimo de eritrocitos positivos a SYTO™16 se fijó en 2.071 eritrocitos/μl.

#### Conclusiones

En conclusión, la citometría de flujo se presenta como una técnica diagnóstica rápida, económica y sensible, con utilidad para la identificación de negativos en contextos como el análisis preexportación. Aunque su especificidad requiere optimización, puede considerarse una herramienta complementaria a la PCR, especialmente en situaciones clínicas que demanden rapidez diagnóstica.

#### Keywords

piroplasmosis equina • citometría de flujo • Babesia



## COMUNICACIONES PÓSTERES

### ID 49 / PANEL 17-C

### EVALUACIÓN EXPERIMENTAL DE UN CANDIDATO VACUNAL DE SEGUNDA GENERACIÓN FRENTE A LA PPA (LV17/WB/RIE1-ΔCD): EFICACIA Y VALIDACIÓN DIVA EN JABALÍES TRAS ADMINISTRACIÓN ORAL

José Ángel Barasona<sup>1</sup>; Aleksandra Kosowska<sup>2</sup>; Gabriela González García<sup>3</sup>; Marta Díaz Frutos<sup>1</sup>;

Mónica Sánchez Segovia<sup>1</sup>; Paloma Rueda<sup>3</sup>; Sandra Barroso Arévalo<sup>4</sup>

1. Departamento de Sanidad Animal. VISAVENT, Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid;

2. Sanidad y Biotecnología (SaBio). Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos (IREC) Universidad Complutense de Madrid; 3. Gold Standard Diagnostics Madrid SA (GSD Madrid); 4. Departamento de Medicina y Cirugía Animal. VISAVENT, Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid

#### Introducción y objetivos

La peste porcina africana (PPA) sigue expandiéndose en Europa y otras regiones, con especial impacto en poblaciones de jabalí que actúan como reservorios. La vacunación oral representa una necesidad prioritaria, aunque las primeras generaciones de vacunas vivas atenuadas plantearon problemas de seguridad. En este contexto, se evaluó el candidato vacunal Lv17/WB/Rie1-ΔCD en cultivo celular primario, derivado de un aislado atenuado natural con delecciones en los genes EP402R (CD2v) y EP153R, sustituidos por GFP, lo que permite inhibir la hemoaglutinación y facilita el diagnóstico diferencial mediante ensayos DIVA.

#### Metodología

Se emplearon 14 jabalíes de 3 meses, distribuidos en dos pautas de vacunación: dosis única alta ( $10^4$  TCID<sub>50</sub>) o vacuna-revacuna de baja dosis ( $10^2$  TCID<sub>50</sub> + refuerzo día 30). Todos fueron desafíados con la cepa virulenta Armenia07 (genotipo II, 10 HAD<sub>50</sub> IM). Se monitorizó evolución clínica, parámetros hematológicos, excreción viral (sangre, fluidos orales, heces), seroconversión (ELISA) y carga viral (qPCR).

#### Resultados y discusión

El candidato mostró un perfil de seguridad favorable, sin lesiones locales y solo fiebre leve transitoria. La pauta vacuna-revacuna indujo seroconversión temprana ( $12 \pm 4$  dpv) e inmunidad en 5/6 animales, alcanzando una protección global del 90 %, mientras que los controles no vacunados murieron en  $\leq 7$  días. Los análisis moleculares revelaron una reducción  $>10^3$  veces en copias genómicas virales en vacunados respecto a controles ( $p < 0,01$ ). El ELISA DIVA discriminó con fiabilidad anticuerpos vacunales de los inducidos por infección natural.

#### Conclusiones

Estos resultados posicionan a Lv17/WB/Rie1-ΔCD como un candidato de segunda generación seguro, eficaz y DIVA-compatible, reforzando su potencial en programas de control de PPA en fauna silvestre y destacando el papel del diagnóstico laboratorial en la validación de vacunas.

#### Apoyo financiero y agradecimientos

Esta investigación ha sido financiada por el Proyecto de Investigación CPP2023-010867, financiado por MICIU/AEI/10.13039/501100011033 y por el FEDER, UE, y por el contrato «Ramón y Cajal» (RYC2022-038060-I) financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (MCIN/AEI) y el Fondo Social Europeo Plus (FSE+).

#### Keywords

Peste porcina africana (PPA) • Seguridad vacunal • Vacuna viva atenuada • Administración oral • DIVA

## COMUNICACIONES PÓSTERES

### ID 52 / PANEL 18-C

### **DESARROLLO DE UN ENSAYO ELISA DE COMPETICIÓN BASADO EN UN ANTICUERPO MONOCLONAL RECOMBINANTE PARA LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS FRENTE A LA PROTEÍNA GE DEL HERPESVIRUS PORCINO TIPO I**

**Juan Martínez Cano**; Sonia Hernández Antón; Elena Soria; Cristina Aira; Marga García Durán; Alba Fresco Taboada; Paloma Rueda  
*Gold Standard Diagnostics Madrid*

#### **Introducción y objetivos**

Para mejorar la producción del anticuerpo monoclonal (AcM) 2BD1 anti-gE de Aujeszky, empleado en el test INgezim ADV gE PLUS, se llevó a la cabo la secuenciación de las cadenas variables del hibridoma y se generó un anticuerpo monoclonal recombinante (AcMr) en formato scFv-Fc. Los resultados preliminares, tras sustituir en el ensayo el AcM por el recombinante, evidenciaron una elevada concordancia. Posteriormente, se amplió el estudio a una muestra más representativa de sueros determinando además los parámetros de robustez y reproducibilidad del ensayo con el fin de garantizar la equivalencia funcional del AcMr en la prueba diagnóstica final.

#### **Metodología**

Tanto el AcM como el AcMr se conjugaron a peroxidasa y se utilizaron como detectores en el ELISA competitivo diferencial INgezim ADV gE PLUS. Se analizaron un total de 503 sueros previamente caracterizados: 21 positivos, 470 negativos y 12 no concluyentes. Además, se determinó la variabilidad entre tres lotes de producción del AcMr distintos atendiendo a su coeficiente de variabilidad (CV) y a la clasificación de controles y muestras límite.

#### **Resultados y discusión**

La clasificación de los sueros resultante usando el AcMr en el ensayo mostró una sensibilidad del 100% y una especificidad del 99,6%. Al comparar las densidades ópticas obtenidas con cada anticuerpo el índice de correlación de concordancia fue de 0.95 en las muestras positivas, observándose ligeras discrepancias en sueros negativos sin afectar a su clasificación. Por otro lado, las pruebas de robustez y reproducibilidad del test usando el AcMr mostraron un CV interlote inferior al 7% en controles y muestras límite, manteniendo la misma clasificación en todos los casos.

#### **Conclusiones**

Este estudio demuestra que la sustitución del AcM por el AcMr en el ensayo ha sido eficaz mejorando la reproducibilidad del reactivo en su producción industrial y manteniendo la calidad y fiabilidad del diagnóstico final.

#### **Keywords**

Enfermedad de Aujeszky • Anticuerpo Recombinante • Ensayo diagnóstico

### COMUNICACIONES PÓSTERES

#### ID 54 / PANEL 19-C

#### MEDIDAS DE CONTROL BASADAS EN LA VACUNACIÓN Y BIOSEGURIDAD FRENTE A LA LINFADENITIS PORCINA EN UNA GANADERÍA EXTENSIVA

María Ángeles Mena Rodríguez<sup>1</sup>; Ángela Galán Relaño<sup>2</sup>; Pedro José Moreno Moreno<sup>3</sup>; Raul Rubio González<sup>3</sup>; Victoria Quirós Moyano<sup>3</sup>; Carmen Tarradas Iglesias<sup>1</sup>; Inmaculada Luque Moreno<sup>1</sup>; Rafael Jesús Astorga Márquez<sup>1</sup>; Lidia Gómez-Gascón<sup>1</sup>

1. Dpto. Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria. Unidad de Investigación Competitiva (UIC) Zoonosis y Enfermedades Emergentes ENZOEM. Campus de Excelencia Internacional Agroalimentaria 'CeiA3', Universidad de Córdoba; 2. Dpto. Enfermería, Farmacología y Fisioterapia. Área de Farmacología. Facultad de Veterinaria. Unidad de Investigación Competitiva (UIC) Zoonosis y Enfermedades Emergentes ENZOEM, Campus de Excelencia Internacional Agroalimentaria 'CeiA3', Universidad de Córdoba; 3. Servicios Técnicos Ibéricos COVAP, Pozoblanco, Córdoba; 4. Servicios Técnicos Ibéricos COVAP, Pozoblanco, Córdoba

#### Introducción y objetivos

La linfadenitis porcina (LFP) es una enfermedad plurietiológica responsable de bajas en granjas e importantes decomisos en matadero en ganadería extensiva. Para reducir su impacto, se evaluó la respuesta inmune de cerdos frente a una vacuna inactivada polivalente que incluía *Trueperella pyogenes* (Tp), *Streptococcus suis* (Ss), *Streptococcus porcinus* (Sp) y *Streptococcus dysgalactiae* (Sd), y las medidas de bioseguridad.

#### Metodología

Un total de 25 animales de una granja de ganadería extensiva con antecedentes de LFP fueron seleccionados para valorar la respuesta inmune frente a una vacuna polivalente (Tp, Ss, Sp, Sd) inactivada con formaldehido (0,4%), y aplicada en tres dosis, dos dosis separadas 21 días y una tercera al inicio de la montanera. Se recogió suero antes de la primera y dos semanas después de cada aplicación (s1, s2, s3, s4). La respuesta humoral se evaluó con ELISAs sándwich para IgG totales e indirecto para específicos. El análisis se realizó con modelo logístico sigmoidal de 4 parámetros (GraphPad Prism 7). Se revisaron algunas medidas de bioseguridad relacionadas con infraestructuras y manejo.

#### Resultados y discusión

Los niveles de IgG totales se mantuvieron estables (40–50 mg/mL) con una moderada variabilidad interindividual. Se observó un incremento significativo de anticuerpos frente a Tp ( $p < 0,05$ ) (s1:79,65-s4:191,0), mientras que el incremento frente a los estreptococos (Ss, Sp, Sd) no fue significativo (Ss: s1:66,70-s4:83,83, SP: s1:119,9-s4:150,9 y SD: s1:125,7-s4:190,3). Las medidas de bioseguridad (malla cinegética, confinamiento y mejora de instalaciones), combinadas con la vacunación, mejoraron el estatus sanitario y disminuyeron las bajas en la ganadería, además de reducir drásticamente los decomisos en matadero tras dos años de seguimiento (del 22% a ausencia de decomisos).

#### Conclusiones

La estrategia conjunta de vacunación polivalente y bioseguridad ha mostrado eficacia en el control de la LFP, constituyendo una herramienta preventiva de interés para granjas con antecedentes de la enfermedad.

#### Apoyo financiero y agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto AgroMIS: ceiA3 instrumento estratégico hacia un tejido productivo Agroalimentario Moderno, Innovador y Sostenible: motor del territorio rural andaluz. Sublínea: SL2421, de la Consejería de Economía, Conocimiento, Empresas y Universidad de la Junta de Andalucía, cofinanciado en un 80% por Fondos del Programa Operativo FEDER de Andalucía 2014-2020. María Angeles Mena ha disfrutado de un contrato de investigación con cargo al proyecto.

#### Keywords

Linfadenitis porcina • *Trueperella pyogenes* • *Streptococcus suis* • *Streptococcus porcinus* • Vacuna • Respuesta inmune • Bioseguridad

## COMUNICACIONES PÓSTERES

### ID 55 / PANEL 20-C

### ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL CARVACROL Y SU INTERACCIÓN CON TETRACICLINA FRENTE A CEPAS MULTIRRESISTENTES DE *SAFOMONELLA TYPHIMURIUM*

Carlos Montero Palma<sup>1</sup>; Ángela Galán Relaño<sup>2</sup>; Belén Huerta Lorenzo<sup>1</sup>; Antonio Romero Salmoral<sup>1</sup>; Antonio López Martínez<sup>1</sup>; Rafael Jesús Astorga Márquez<sup>1</sup>; Carmen Tarradas Iglesias<sup>1</sup>; Lidia Gómez Gascón<sup>1</sup>

1. Dpto. Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria. Unidad de Investigación Competitiva (UIC) Zoonosis y Enfermedades Emergentes ENZOEM, Campus de Excelencia Internacional Agroalimentaria 'CeiA3', Universidad de Córdoba; 2. Dpto. Enfermería, Farmacología y Fisioterapia. Área de Farmacología. Facultad de Veterinaria. Unidad de Investigación Competitiva (UIC) Zoonosis y Enfermedades Emergentes ENZOEM, Campus de Excelencia Internacional Agroalimentaria 'CeiA3', Universidad de Córdoba

#### Introducción y objetivos

*Salmonella Typhimurium* (*S. Typhimurium*) es un patógeno relevante en sanidad animal y salud pública que causa una de las enfermedades de transmisión alimentaria más frecuentes en humanos, teniendo al porcino como reservorio clave. La resistencia a antimicrobianos motiva la búsqueda de alternativas; en este trabajo evaluamos la eficacia antibacteriana del carvacrol y su interacción con tetraciclina frente a cepas resistentes.

#### Metodología

Se determinó Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Bactericida (CMB) del carvacrol frente a 73 cepas de *S. Typhimurium* procedentes de porcino, mediante microdilución en caldo (CLSI, 2024). Posteriormente, se evaluó la interacción antimicrobiana de la tetraciclina con carvacrol frente a 14 cepas resistentes a tetraciclina mediante el método de sinergia en microdilución en tablero de ajedrez, calculando el Índice de Fracción de la Concentración Inhibitoria (FCÍndice) según CLSI (2024).

#### Resultados y discusión

La mayoría de las cepas fueron sensibles a una concentración de carvacrol de 2 µg/mL (61,6%), 4 µg/mL (19,2%) y 1 µg/mL (13,7%) (CMI50 2 µg/mL y CMI90 4 µg/mL). La CMB coincidió con la CMI para el 84,9% de las cepas. La CMI de la tetraciclina fue de 256 µg/mL para 7 cepas, y 512 µg/mL para 5 de ellas, siendo la CMI50 256 µg/mL y CMI90 512 µg/mL. La combinación de carvacrol y tetraciclina presentó resultados variables. Se observó actividad sinérgica (FCÍndice ≤ 0,5) para 2 cepas, y aditividad (FCÍndice > 0,5 ≤ 1) para 7 de ellas, reduciendo la cantidad de tetraciclina necesaria para inhibir el crecimiento de la bacteria hasta valores de 32 µg/mL.

#### Conclusiones

El carvacrol demostró un potente efecto antibacteriano contra cepas multirresistentes de *S. Typhimurium* y, al combinarse con tetraciclina, pudo potenciar su acción al reducir la dosis necesaria para inhibir el crecimiento bacteriano.

#### Apoyo financiero y agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por la Junta de Andalucía (FEDER Andalucía), España [Caracterización genética de los factores de virulencia y resistencia a los antimicrobianos de cepas de *Salmonella* mST aisladas de la cadena alimentaria, número de referencia 1253773-R] y el proyecto art. 60, universidad-empresa \"Selección y evaluación de extractos vegetales y aceites esenciales con capacidad antimicrobiana frente a cepas bacterianas intestinales aisladas en granjas\" (Ref. 12016086).

#### Keywords

*Salmonella* • resistencia antimicrobiana • carvacrol • tetraciclina • CMI • CMB • sinergia

## COMUNICACIONES PÓSTERES

### ID 9 / PANEL 21-D

### DETECCIÓN DEL VIRUS DEL NILO OCCIDENTAL EN AVES SILVESTRES EN LA COMUNIDAD VALENCIANA

**Pauline Eschoua<sup>1</sup>; Carla González<sup>1</sup>; Beatriz Musoles Cuenca<sup>2</sup>; Carmen Martínez Bayona<sup>2</sup>; Beatriz Ballester<sup>2</sup>; Consuelo Rubio Guerri<sup>2</sup>; Teresa Lorenzo Bermejo<sup>3</sup>; Elisa Maiques<sup>2</sup>**

**1. Facultad de Veterinaria, Universidad Cardenal Herrera-CEU, Universidades CEU, Valencia; 2. Grupo de Virología Molecular, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Cardenal Herrera-CEU, Valencia; 3. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Cardenal Herrera-CEU, Valencia**

#### Introducción y objetivos

El Virus del Nilo Occidental (VNO) es un arbovirus zoonótico emergente, transmitido por mosquitos del género *Culex*, que representa una amenaza creciente para la salud pública. Este estudio evalúa la posible circulación del VNO en el litoral de la Comunidad Valenciana mediante técnicas de PCR en muestras de *Pica pica* (urraca común), especie considerada centinela eficaz en programas de vigilancia epidemiológica.

#### Metodología

Se capturaron 56 urracas entre 2023 y 2025 mediante jaulas. Tras la necropsia, se extrajo ARN total de encéfalo, corazón, plumas y, en algunos casos, bazo. La detección viral se realizó mediante RT-qPCR específica para VNO (líneas 1 y 2) y USUV, así como RT-PCR hemianidada para flavivirus en general.

#### Resultados y discusión

No se detectó la presencia del VNO en ninguna de las muestras analizadas. Esta ausencia puede deberse a la alta virulencia del virus en córvidos, lo que dificulta la captura de aves vivas en fase de viremia. Además, al no incluirse aves muertas en el muestreo, se reduce la probabilidad de detectar infecciones activas. La técnica utilizada permite identificar infecciones en curso, pero no exposiciones pasadas, por lo que se sugiere complementar con estudios serológicos para obtener una visión más completa de la circulación viral.

#### Conclusiones

Aunque no se detectó el virus, el seguimiento de especies como *Pica pica* sigue siendo clave desde una perspectiva epidemiológica. Estas aves pueden actuar como centinelas eficaces ante la circulación del VNO. Se recomienda ampliar el número de individuos muestreados, incluir animales muertos y combinar técnicas moleculares con análisis serológicos para mejorar la sensibilidad del sistema de vigilancia.

#### Apoyo financiero y agradecimientos

Título del proyecto: Estudio piloto del viroma de mosquito en diferentes regiones de la Comunidad Valenciana.

Investigador principal: Beatriz Ballester

Número de anualidades: 2

Año de inicio del proyecto: 2024

Dotación económica: 20.000 euros

Organismo que lo concede: CONSELLERÍA DE EDUCACIÓN, CULTURA UNIVERSIDADES, Y EMPLEO DIRECCIÓN GENERAL DE CIENCIA E INVESTIGACIÓN

#### Keywords

Virus del Nilo occidental • Zoonosis • enfermedades trasmittidas por vectores • Urracas • RT-qPCR

## COMUNICACIONES PÓSTERES

### ID 17 / PANEL 22-D

### COCIRCULACIÓN DE DOS CEPAS DEL SEROTIPO 4 DEL VIRUS DE LA LENGUA AZUL EN LA PENÍNSULA IBÉRICA

**Cristina Tena Tomás<sup>1</sup>; Ana López Herránz<sup>2</sup>; María José Ruano<sup>2</sup>; Elena García Villacieros<sup>3</sup>; Jorge Morales<sup>2</sup>; María Jesus Cano<sup>2</sup>; Dolores Buitrago<sup>2</sup>; Rubén Villalba<sup>2</sup>; Montserrat Agüero<sup>2</sup>**

*1. Tecnologías y Servicios Agrarios, S.A. (TRAGSATEC), Madrid; 2. Laboratorio Central de Veterinaria, Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación, Algete; 3. Subdirección General de Sanidad e Higiene Animal y Trazabilidad, Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación, Madrid*

#### Introducción y objetivos

El virus de la lengua azul (BTV) es un virus del género Orbivirus que afecta a rumiantes y es transmitido por artrópodos *Culicoides*. La infección por BTV provoca la enfermedad de la lengua azul, que puede causar una alta morbilidad y mortalidad, principalmente en ovejas. BTV posee un genoma compuesto por 10 segmentos de ARN, y se clasifica en serotipos en función del segmento 2.

En España, se han registrado brotes por distintos serotipos. En concreto, una cepa del serotipo 4 ("BTV-4 Mediterráneo occidental") ha circulado en la península desde 2004.

La detección con baja sensibilidad en una rRT-PCR dirigida al segmento 2, validada específicamente para cepas de "BTV-4 Mediterráneo occidental", de algunas muestras tipadas como BTV-4 con otra rRT-PCR validada frente a un amplio rango de cepas, hicieron sospechar de la presencia de una cepa de BTV-4 diferente.

El objetivo de este trabajo fue confirmar la presencia en la Península de una cepa de BTV-4 distinta a la que habitualmente había circulado desde el año 2004 y valorar su diseminación.

#### Metodología

Muestras de sangre-EDTA tomadas entre 2021 y 2024, positivas en rRT-PCR genérica para la detección de Lengua azul (Hofmann, 2008), se analizaron en dos rRT-PCRs específicas para identificación del serotipo 4 con diferente especificidad de cepas (Romero-Trancón, 2025 y Maan, 2016). En muestras detectadas con menor sensibilidad en la rRT-PCR para "BTV-4 Mediterráneo occidental", se llevó a cabo la secuenciación parcial del segmento 2.

#### Resultados y discusión

Se confirmó por secuenciación del segmento 2 la presencia en la península de una cepa de BTV-4 diferente a la "Mediterráneo occidental" en los años 2021, 2023 y 2024. Esta cepa mostró homología con el BTV-4 que circuló en Túnez en 2020 y en las Islas Baleares, Córcega y Cerdeña en 2021.

#### Conclusiones

Los análisis confirmaron la cocirculación de ambas cepas en la Península durante 2021-2024.

#### Keywords

Orbivirus • Lengua azul • BTV-4 • cocirculación • rRT-

## COMUNICACIONES PÓSTERES

### ID 26 / PANEL 23-D

### LA SECUENCIACIÓN DEL GENOMA COMPLETO (WGS) COMO HERRAMIENTA PARA LA CARACTERIZACIÓN DE PATÓGENOS BACTERIANOS IMPLICADOS EN BROTES DE ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN ALIMENTARIA

**Bernabé Diéguez Roda<sup>1</sup>; Laura Jiménez Guerrero<sup>1</sup>; María Jesús Cano Benito<sup>1</sup>; Cristina de frutos Escobar<sup>2</sup>;**

Montserrat Agüero García<sup>2</sup>; José Antonio Bouzada Rey<sup>2</sup>; Dolores Buitrago Sánchez<sup>2</sup>

*1. Tecnologías y Servicios Agrarios, S.A. (TRAGSATEC), Madrid; 2. Laboratorio Central de Veterinaria, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Algete, Madrid*

#### Introducción y objetivos

Cuando se producen brotes en humanos de enfermedades producidas por patógenos de transmisión alimentaria, se realizan investigaciones para localizar su posible origen. Estos estudios incluyen análisis dirigidos a detectar la presencia del patógeno en alimentos sospechosos y en los animales de procedencia de los mismos y caracterización molecular del patógeno presente, para confirmar o descartar los posibles vínculos con el brote investigado; y están coordinados por la autoridad nacional de Salud Pública o por el Centro Europeo para la Prevención y el Control de las Enfermedades (ECDC), junto con la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), cuando el brote afecta a varios Estados Miembros.

En este trabajo se muestra la utilidad de la secuenciación del genoma completo (WGS) y el análisis de la diversidad genética entre aislados en la investigación de varios brotes alimentarios causados por *Salmonella*, ya sea a instancias de la EFSA o de las autoridades de Salud Pública nacionales.

#### Metodología

Se caracterizaron por WGS aislados procedentes de muestreos realizados en el marco de los Programas Nacionales de Control de *Salmonella* (PNCS): *S. Chester* (n=25), *S. Typhimurium* (n=10) y *S. Coeln* (n=15); y se estudió su posible vínculo genético con los correspondientes brotes entre los años 2023-2025 mediante análisis de diversidad genética y clustering empleando tipado cgMLST e identificación de SNPs.

#### Resultados y discusión

Las cepas españolas de *S. Coeln* analizadas no compartían el perfil genómico con las cepas implicadas en los casos humanos; mientras que las 25 *S. Chester* y 8 de las 10 *S. Typhimurium* presentaron perfiles genómicos compatibles con las cepas causantes de los correspondientes brotes.

#### Conclusiones

Los análisis de WGS proporcionan una gran precisión y poder de discriminación en la caracterización de brotes bacterianos de enfermedades de transmisión alimentaria y en la investigación de su posible origen.

#### Keywords

*Salmonella* • Investigación brote • Secuenciación completa del genoma • Análisis diversidad genética • Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) • Salud Pública • Programas Nacionales de Control de *Salmonella*



## COMUNICACIONES PÓSTERES

### ID 29 / PANEL 24-D

### CIRCULACIÓN DEL VIRUS TOSCANA Y *LEISHMANIA* spp. EN LAGOMORFOS SILVESTRES DE LA COMUNIDAD DE MADRID

Tania Ayllón Santiago<sup>1</sup>; Sofía Gansievich Levit<sup>2</sup>; Andrés Iriso Calle<sup>3</sup>; Irene Martínez Alares<sup>4</sup>; Alejandro Navarro Gómez<sup>4</sup>; Nerea García Benzaquén<sup>1</sup>

1. Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, España. Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET), Universidad Complutense de Madrid; 2. Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid; 3. Servicio de Zoonosis. Dirección General de Salud Pública. Consejería de Sanidad. Comunidad de Madrid; 4. Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET), Universidad Complutense de Madrid

#### Introducción y objetivos

El virus Toscana (TOSV) es un flebovirus neurotrópico transmitido por flebotomos del género *Phlebotomus*, principalmente *P. perniciosus* y *P. perfoliwei*. Endémico en la cuenca mediterránea, el TOSV puede causar meningitis y meningoencefalitis en humanos. Su circulación ha sido confirmada mediante técnicas moleculares y serológicas en humanos, animales domésticos y fauna silvestre. También transmitida por flebotomos, *Leishmania infantum*, agente etiológico de la leishmaniosis visceral y cutánea en Europa, representa un importante problema de salud pública. En España, el perro es el principal reservorio, aunque diversos estudios han implicado a otros mamíferos en el ciclo de transmisión, como los lagomorfos. Tras el brote de leishmaniasis humana registrado en la Comunidad de Madrid a partir de 2009, con más de 750 casos hasta 2020, se ha reforzado la hipótesis del conejo como posible reservorio silvestre. Este estudio tuvo como objetivo detectar la circulación del TOSV y *Leishmania* spp. en conejos (*Oryctolagus cuniculus*) de la Comunidad de Madrid y valorar su implicación epidemiológica.

#### Metodología

Se analizaron muestras de piel, hígado y bazo de 60 conejos capturados en distintas zonas (dentro y fuera del área del brote de *Leishmania* spp.) mediante técnicas de PCR.

#### Resultados y discusión

*L. infantum* se detectó en nueve animales (15%; IC 95%: 8,1–26,1%), con mayor prevalencia en zonas afectadas por el brote, y también presente en áreas no implicadas, lo que evidencia su circulación activa en conejos, apoya su posible papel como reservorios y sugiere una expansión geográfica del ciclo de transmisión de lo inicialmente esperado. Todas las muestras resultaron negativas para TOSV, aunque la ausencia de detección no descarta su circulación, debido a la posible baja carga viral, infecciones transitorias o ausencia de replicación en los tejidos muestreados.

#### Conclusiones

Los hallazgos subrayan la necesidad de reforzar la vigilancia vectorial y ecológica en estos ecosistemas.

#### Apoyo financiero y agradecimientos

Este proyecto se desarrolló en el marco del convenio titulado “Análisis para la vigilancia y control de zoonosis en fauna silvestre y otros agentes infecciosos transmitidos por vectores en la Comunidad de Madrid”, que se lleva a cabo en el centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria VISAVET-UCM Exp. 12/2024, A/SER-007343/2024 - RGM/PLP/prr

#### Keywords

Virus Toscana • *Leishmania* spp • flebotomos • conejo • RT-PCR

## COMUNICACIONES PÓSTERES

### ID 30 / PANEL 25-D

### PRIMERA EVIDENCIA DE EXPOSICIÓN A *COXIELLA BURNETII* EN CONEJOS SILVESTRES DE LA COMUNIDAD DE MADRID

Tania Ayllón Santiago<sup>1</sup>; Cindy Alejandra López<sup>2</sup>; Fernando Fuster Lorán<sup>3</sup>; Irene Martínez Alares<sup>4</sup>; Alejandro Navarro Gómez<sup>4</sup>; Nerea García Benzaquén<sup>1</sup>

1. Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid. Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET), Universidad Complutense de Madrid; 2. Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid; 3. Servicio de Zoonosis. Dirección General de Salud Pública. Consejería de Sanidad. Comunidad de Madrid; 4. Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET), Universidad Complutense de Madrid

#### Introducción y objetivos

La fiebre Q es una zoonosis causada por *Coxiella burnetii*, una bacteria de distribución mundial adaptada a múltiples hospedadores. En humanos, los rumiantes domésticos son la principal fuente de infección, aunque la fauna silvestre podría tener un papel relevante en la epidemiología de esta enfermedad. Entre ellos, el conejo europeo (*Oryctolagus cuniculus*) destaca como posible reservorio, especialmente en regiones donde sus poblaciones están en expansión. Si bien se ha detectado *C. burnetii* en conejos en distintas zonas de España, no se disponía de información específica en la Comunidad de Madrid (CM).

El objetivo de este estudio fue determinar la presencia de *C. burnetii* en conejos silvestres mediante técnicas serológicas y moleculares.

#### Metodología

Se analizaron 99 conejos procedentes de distintas zonas de la CM durante 2024. Se realizaron pruebas de PCR a tiempo real en 99 muestras de bazo, 47 hisopos vaginales, 10 muestras de heces y 3 garrapatas. Paralelamente, se empleó la técnica ELISA para detectar anticuerpos en exudado hepático.

#### Resultados y discusión

Los resultados mostraron una seroprevalencia del 2% (IC 95%: 0,56–7,07%) con un enfoque conservador y del 7% (IC 95%: 3,47–13,8%) con un enfoque más sensible. Se halló una asociación estadísticamente significativa entre la ubicación geográfica (zonas dentro/fuera del brote de leishmaniosis iniciado en 2009) y la seropositividad. No se detectó ADN de *C. burnetii* en ninguna muestra, lo que sugiere ausencia de infección o excreción activa en los animales analizados. Los resultados confirman la circulación de *C. burnetii* en conejos silvestres de la CM, aunque con menor prevalencia que en otras regiones. Esta diferencia podría explicarse por la baja endemidad, la escasa interacción con rumiantes y medidas de control (principalmente en la zona del brote de leishmaniosis).

#### Conclusiones

Se recomienda reforzar la vigilancia epidemiológica, ampliar el tamaño y tipo de muestras y establecer estrategias de prevención ante los posibles riesgos para la salud pública.

#### Apoyo financiero y agradecimientos

Este proyecto se desarrolla en el marco del convenio titulado “Análisis para la vigilancia y control de zoonosis en fauna silvestre y otros agentes infecciosos transmitidos por vectores en la Comunidad de Madrid”, que se lleva a cabo en el centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria VISAVET-UCM. Exp. 12/2024, A/SER-007343/2024 - RGM/PLP/prr

#### Keywords

Fiebre Q • *Coxiella burnetii* • conejos • ELISA • RT-PCR

## COMUNICACIONES PÓSTERES

### ID 42 / PANEL 26-D

### TUBERCULOSIS BOVINA Y CAPRINA: DOS RESERVORIOS Y UN MISMO PROBLEMA EVIDENCIADO MEDIANTE SECUENCIACIÓN

Javier Ortega Martín<sup>1</sup>; Víctor Lorente Leal<sup>2</sup>; Álvaro Roy Cordero<sup>3</sup>; Pilar Pozo Piñol<sup>4</sup>; Ana Grau Vila<sup>4</sup>; Jesús Nácar Cuesta<sup>5</sup>; Marisol López Hernández<sup>1</sup>; Beatriz Romero Martínez<sup>6</sup>; Javier Bezos Garrido<sup>7</sup>

1. Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria VISAVENT, Universidad Complutense de Madrid; 2. Departamento de Genética, Fisiología y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Complutense de Madrid, Centro Nacional de Epidemiología, Instituto de Salud Carlos III, Madrid; 3. Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria VISAVENT, Universidad Complutense de Madrid; 4. Dirección General de Producción Agrícola y Ganadera, Consejería de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural de la Junta de Castilla y León, Valladolid; 5. Servicio Territorial de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, Ávila; 6. Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid; 7. Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria VISAVENT, Universidad Complutense de Madrid. Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid

#### Introducción y objetivos

Castilla y León es una de las comunidades que mayor éxito ha tenido en el proceso de la erradicación de la tuberculosis caprina declarando 7 de sus provincias libres de la enfermedad en 2025. Sin embargo, existen zonas donde alcanzar el objetivo resulta más complejo. Para establecer las posibles causas de la persistencia de la enfermedad en estas zonas y favorecer el proceso de erradicación se requieren estudios epidemiológicos que analicen mediante secuenciación genómica los aislados responsables de estos brotes. El objetivo del estudio fue investigar posibles vínculos epidemiológicos mediante la evaluación de la diversidad genética de los aislados del espoligotipo más frecuente (*Mycobacterium bovis* SB0121) detectados en las explotaciones caprinas y bovinas de un punto caliente de la provincia de Ávila.

#### Metodología

Se analizaron mediante secuenciación masiva un total de 36 aislados de *M. bovis* SB0121 detectados entre 2011 y 2023, realizando un análisis de variantes (SNPs) con la intención de establecer la similitud genética entre aislados.

#### Resultados y discusión

Se identificaron 6 clústeres de aislados ( $n = 18$ ) con posibles vínculos epidemiológicos ( $\leq 12$  SNPs) con aislados procedentes de otras explotaciones, involucrando 4 de ellos a explotaciones caprinas y bovinas. La mitad de los aislados epidemiológicamente relacionados estaban incluidos en dos clústeres que afectaban a 4 y 5 explotaciones, respectivamente, y los aislados de 5 de los clústeres detectados se localizaban en distancias geográficas cortas ( $< 7$  km). Además, cinco aislados altamente similares ( $< 6$  SNPs) fueron detectados en dos años consecutivos en dos explotaciones.

#### Conclusiones

En este estudio una parte importante de los aislados (50%) detectados presentaban vínculo epidemiológico, lo que sugiere una circulación local del patógeno entre las explotaciones de ganado caprino y bovino afectadas. Estos resultados subrayan el valor de la secuenciación genómica para identificar vínculos epidemiológicos entre especies y la planificación de estrategias de control integradas.

#### Apoyo financiero y agradecimientos

Esta investigación ha sido posible gracias a la financiación de ICRAD, una red ERA-NET cofinanciada por el programa de investigación e innovación Horizonte 2020 de la Unión Europea <https://ec.europa.eu/programmes/horizon2020/en>) en virtud del acuerdo de subvención no862605, y el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades de España (MCIN/AEI/10.13039/501100011033) a través del proyecto "Improving the diagnosis of tuberculosis in domestic ruminants through the use of new antigens and test platforms" (referencia PCI2023-143368), y el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación de España.

#### Keywords

Tuberculosis caprina • Castilla y León • Ávila • Secuenciación masiva • Vínculo epidemiológico • Análisis de variantes • Bovino • Cluster

## COMUNICACIONES PÓSTERES

### ID 48 / PANEL 27-D

### **PERSPECTIVAS DEL EU-RL PARA LA TUBERCULOSIS BOVINA TRAS LA IMPLANTACIÓN DE LA LEY DE SANIDAD ANIMAL: DESAFÍOS Y OPORTUNIDADES PARA LA ERRADICACIÓN DE LA ENFERMEDAD**

Víctor Lorente Leal<sup>1</sup>; Lucía de Juan<sup>2</sup>; Julio Álvarez<sup>2</sup>; Antonio Manuel Rodríguez Bertos<sup>3</sup>;

Francisco Javier Lozano Barrilero<sup>4</sup>; Alexandra Gutiérrez Tobaruela<sup>4</sup>; Tatiana Alende<sup>4</sup>; Javier Bezos<sup>1</sup>; Beatriz Romero<sup>1</sup>

*1. Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria y Departamento de Genética, Fisiología y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Complutense de Madrid; 2. Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria y Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid; 3. Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria y Departamento de Medicina y Cirugía Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid; 4. Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid*

#### **Introducción y objetivos**

El centro VISAVENT-UCM fue designado en 2008 como Laboratorio de Referencia Europeo para la tuberculosis bovina (EURL-TBb), lo que representó un reconocimiento al esfuerzo conjunto de los Estados Miembros en la erradicación de esta enfermedad infecciosa crónica. Desde entonces, la evolución del conocimiento científico y de la normativa en sanidad animal ha marcado un nuevo rumbo en las estrategias de control y erradicación.

#### **Metodología**

Este estudio analiza la trayectoria del EURL-TBb a lo largo de 17 años, identificando los logros, oportunidades y desafíos derivados de estos cambios.

#### **Resultados y discusión**

Aunque las funciones de los EURL vienen definidas en el Reglamento (UE) 2017/625, la entrada en vigor de la Ley de Sanidad Animal (2021) ha supuesto un cambio en su campo de actuación. La necesidad de incorporar métodos diagnósticos más rápidos, sensibles e imparciales (IDTB vs. IFN-gamma o cultivo vs. PCR directa en tejidos e histopatología) ha supuesto mejoras en los programas de control, pero también ha generado nuevas demandas en formación, generación de material de referencia y validación de técnicas. Otro cambio relevante ha sido la inclusión de especies distintas al ganado bovino en los planes de vigilancia y control, así como diversas variantes del complejo *Mycobacterium tuberculosis*, por lo que actualmente se habla de infección por el complejo *M. tuberculosis*. Esto refleja la complejidad de la enfermedad y la necesidad de adaptar los métodos diagnósticos a escenarios epidemiológicos diversos. Finalmente, la expansión de la secuenciación masiva ha abierto nuevas posibilidades para la epidemiología molecular, permitiendo un análisis más detallado de la transmisión de la enfermedad. No obstante, su implementación requerirá un importante esfuerzo de cooperación internacional para garantizar un intercambio de datos eficaz y estandarizado.

#### **Conclusiones**

En este contexto, el EURL-TBb se consolida como un referente europeo, buscando la innovación diagnóstica y fortaleciendo la colaboración científica en la lucha contra la tuberculosis animal.

#### **Apoyo financiero y agradecimientos**

Financiación: Project: 101198012 – EURL-BT 2025-2027 – SMP-FOOD-2025-EURL-EURC-PJG-IBA

#### **Keywords**

Tuberculosis animal • Unión Europea • Erradicación • Laboratorio de Referencia • Diagnóstico • Vigilancia • Zoonosis

## COMUNICACIONES PÓSTERES

### ID 56 / PANEL 28-D

#### ANÁLISIS LONGITUDINAL DE LOS VIRUS DE LA LENGUA AZUL (BTV) Y DE LA ENFERMEDAD HEMORRÁGICA EPIZOÓTICA (EHDV) EN VACAS MARISMEÑAS DEL PARQUE NACIONAL DE DOÑANA (2005–2023)

**Carmen Galán**<sup>1</sup>; Sergio Magallanes<sup>2</sup>; Jorge Pulido<sup>1</sup>; Ramón Soriguer<sup>2</sup>; Diana Dorado<sup>1</sup>; Paloma Rueda<sup>1</sup>; Jordi Figuerola<sup>2</sup>; Luis A. Rivas<sup>1</sup>

*1. Gold Standard Diagnostics Madrid (GSD Madrid); 2. Departamento de Biología de la Conservación y Cambio Global, Estación Biológica de Doñana (EBD), CSIC, Sevilla*

#### Introducción y objetivos

El virus de la lengua azul (BTV) y el virus de la enfermedad hemorrágica epizoótica (EHDV) son arbovirus emergentes de creciente relevancia para la sanidad animal. El Parque Nacional de Doñana combina humedales y monte mediterráneo que favorecen la presencia de vectores y rumiantes silvestres. Este estudio evaluó la seroprevalencia de BTV y EHDV en vacas marismeñas (ganado salvaje) entre 2005 y 2023, y la influencia de factores climáticos estacionales en su circulación.

#### Metodología

Se analizaron sueros para la detección de anticuerpos frente a BTV y EHDV mediante INgezim Nextthreat PLEX, un ensayo microarray-ELISA multiplexado y automatizado en la plataforma Hailstorm. Se evaluaron 1.395 muestras para BTV (441 positivas, 954 negativas) y 1.403 para EHDV (14 positivas). Se desarrollaron modelos de regresión logística de efectos mixtos independientes para cada virus, incluyendo el ID individual y el año como efectos aleatorios. Las variables climáticas estacionales (temperaturas mínimas y precipitaciones) se estandarizaron (z-scores) para su interpretación.

#### Resultados y discusión

La seroprevalencia media anual de BTV fue del 31,6%. La seropositividad se asoció con temperaturas mínimas más altas en invierno ( $\beta = 0,29$ ;  $p = 0,035$ ) y con menor precipitación invernal ( $\beta = -0,45$ ;  $p = 0,006$ ). También se observó una tendencia positiva con otoños más cálidos ( $p = 0,07$ ). Estos patrones sugieren que los inviernos suaves y las primaveras secas favorecen la circulación de BTV, probablemente al mejorar la supervivencia y actividad de los vectores. EHDV mostró baja seroprevalencia (1,0%), limitada a 2020 y 2023, sin asociación significativa con factores climáticos.

#### Conclusiones

Los factores climáticos estacionales, especialmente inviernos suaves y primaveras secas, influyen en la circulación del BTV en Doñana. Integrar datos climáticos en la vigilancia de arbovirus es clave para sistemas de alerta temprana en áreas sensibles y ricas en vectores. La monitorización longitudinal es esencial para anticipar brotes en un contexto de cambio climático.

#### Keywords

Arbovirus • seroprevalencia • INgezim PLEX • vigilancia epidemiológica • factores climáticos • Doñana

## COMUNICACIONES PÓSTERES

### ID 58 / PANEL 29-D

### PROTOCOLOS DE MITIGACIÓN DE RIESGOS RELACIONADOS CON LA FAUNA SILVESTRE REDUCEN LAS VISITAS DE ESPECIES DE RIESGO Y LA DETECCIÓN DE MARCADORES DE PATÓGENOS EN EXPLOTACIONES AL AIRE LIBRE

Ángela Marín Rojo<sup>1</sup>; Gloria Herrero García<sup>2</sup>; Patricia Barroso<sup>2</sup>; David Relimpio<sup>1</sup>; Alberto Perelló<sup>1</sup>;

Alberti Diez Guerrier<sup>3</sup>; Pilar Pozo<sup>3</sup>; Ana Balseiro<sup>2</sup>; Christian Gortázar<sup>1</sup>

1. SaBio Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos (IREC) CSIC-UCLM-JCCM, Ciudad Real;

2. Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de León; 3. VISAVENT Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria, Universidad de Madrid

#### Introducción y objetivos

La ganadería extensiva se considera un sistema sostenible que puede favorecer la conservación de la biodiversidad. Sin embargo, puede aumentar el riesgo de transmisión de patógenos en la interfaz fauna silvestre-ganado, especialmente en la Península Ibérica. Los protocolos de mitigación de riesgos (PMR) para fauna silvestre, basados en bioseguridad, buscan reducir estas interacciones, aunque su eficacia cuantitativa es limitada. Objetivos: Evaluar el impacto de los PMR específicos de cada explotación sobre la presencia de fauna silvestre y la detección de marcadores patógenos en granjas extensivas.

#### Metodología

Se revisitaron 14 explotaciones (vacuno, pequeños rumiantes y cerdos) de un estudio piloto realizado anteriormente, antes de implementar PMR, en cinco regiones de España. La fauna silvestre se monitorizó mediante cámaras trampa y los patógenos mediante detección de ácidos nucleicos ambientales (ENAD).

#### Resultados y discusión

La implementación de los PMR redujo un 30% las visitas de fauna silvestre de alto riesgo y un 18% la detección de marcadores patógenos. Se observaron reducciones significativas en jabalí, zorro y tejón, así como en el marcador de *Salmonella* spp. (*invA*). Se encontró correlación positiva entre la disminución de jabalíes y los marcadores de *Salmonella* spp. El impacto de los PMR varió según especie y tipo de explotación: vacuno y porcino mostraron mayores reducciones que pequeños rumiantes, posiblemente por diferencias en la percepción del riesgo por los ganaderos y la viabilidad de aplicar medidas de bioseguridad. Aunque algunos marcadores, como el complejo *Mycobacterium tuberculosis*, aumentaron, los resultados indican una mejora general de la bioseguridad tras adoptar los PMR.

#### Conclusiones

Los PMR específicos reducen eficazmente las interacciones fauna silvestre-ganado y la presencia de marcadores patógenos ambientales. La combinación de cámaras trampa y ENAD con esponjas ofrece un enfoque innovador y no invasivo de One Health para monitorizar la bioseguridad en sistemas ganaderos extensivos.

#### Keywords

Cámara trampa • ganado • detección de ácidos nucleicos