



MANUAL DE USUARIO

Versión 2.5

Servicio de Informática y Comunicación

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA (VISAVET)

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID



INDICE

| | |
|--|----|
| Información recogida en la base de datos | 5 |
| Acceso a la base de datos | 6 |
| Requerimientos técnicos | 6 |
| Nomenclatura de los perfiles de genotipo | 7 |
| Aplicación web mycoDB..... | 8 |
| SPOLIGOTYPE SEARCH | 10 |
| MIRU-VNTRTYPE SEARCH..... | 13 |
| ISOLATE SEARCH | 14 |
| ISOLATE MAPS..... | 14 |
| Asistencia técnica..... | 15 |

1. Información recogida en la base de datos

El Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET) es responsable de la Base de Datos Nacional de Micobacteriosis Animal (**mycoDB**), bajo contrato para la realización de servicio apoyo técnico-científico para el desarrollo e implementación de técnicas avanzadas de diagnóstico de tuberculosis bovina con el Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino (MARM). Esta base de datos recoge los aislamientos de micobacterias de origen animal realizados o remitidos al Centro VISAVET desde el año 1996 hasta la actualidad, una vez realizada su caracterización molecular.

En la base de datos se contemplan los datos mínimos de la muestra necesarios para realizar estudios epidemiológicos como son: fecha de aislamiento, especie animal y localización geográfica (Comunidad Autónoma, provincia y municipio). La base de datos se actualiza periódicamente con los resultados que se van obteniendo o son remitidos a VISAVET.

La remisión de muestras a VISAVET se realiza por parte de los Laboratorios Regionales y Provinciales, así como por el Laboratorio Central de Sanidad Animal en Santa Fe (Granada), el Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario (Neiker), el Centre de Recerca en Sanitat Animal (CRESA) y el Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos (IREC). Según el "Manual de Procedimiento para la toma y envío de muestras para el cultivo microbiológico de tuberculosis" (Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET). UCM. y Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. Manuales de Procedimiento del Programa Nacional de Erradicación de Enfermedades. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. Ed. 1. 2006.) las muestras que pueden remitirse al Centro son: muestras de tejido, medios de cultivo bacteriológico, ADN y datos de espigotipo.

La base de datos **mycoDB** contiene información para la realización de estudios epidemiológicos sobre ~~el estudio de~~ la variabilidad de genotipos en España, la presencia de genotipos característicos de una región específica, o la importancia de los animales salvajes como reservorio para animales domésticos.

La base de datos **mycoDB** se complementa con un visor capaz de mostrar la distribución geográfica de los aislamientos de micobacterias en España según criterios de consulta combinables como el año, especie animal, espigotipo implicado, etc.

2. Acceso a la base de datos

La base de datos está alojada en un servidor del Cemyto de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISA VET) de la Universidad Complutense permitiéndose su acceso mediante una aplicación web desarrollada por este centro y disponible a través de un enlace en la página



web de la Red de Alerta Sanitaria Veterinaria (RASVE) del Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. (<http://rasve.mapa.es/>) o la dirección <http://www.mycodb.es>

mycoDB cuenta con dos versiones:

2.1. Full version: La versión completa incluye todos los registros de micobacteriosis animal en España. Su consulta está restringida a los Servicios Veterinarios y laboratorios que participan en el Programa Nacional de Erradicación de la Tuberculosis Bovina, precisándose un nombre de usuario y contraseña.

2.2. Demo version: La versión demo es de acceso libre. **mycoDB** Demo es una demostración de la base de datos española **mycoDB** y contiene **datos simulados**. Cualquier parecido a la realidad es pura coincidencia. Para acceder a la versión demo basta con seguir el enlace disponible en la página de inicio de la aplicación.



3. Requerimientos técnicos

Para la correcta visualización y funcionamiento de la aplicación web **mycoDB** se requiere:

- Microsoft © Windows XP / Vista / 7.

- Navegador web actualizado (Microsoft © Explorer 7.0 o superior, Mozilla © Firefox 3.0 o superior) con soporte habilitado para Java Script.
- Oracle © Java Software: Necesario para la correcta visualización de los mapas. Puede obtener una versión actualizada en: <http://www.java.com/download/>
- Adobe © Reader: Necesario para la correcta visualización de documentación en formato PDF. Puede obtener una versión actualizada en: <http://get.adobe.com/reader/>

4. Nomenclatura de los perfiles de genotipo

Actualmente **mycoDB** muestra los perfiles de dos técnicas utilizadas para la caracterización molecular de los aislados de Micobacterias:

4.1. DVR-spoligotyping: La técnica Direct Variable Repeat spacer oligonucleotide typing o DVR-spoligotyping, permite obtener un patrón, denominado perfil de espoligo o espoligotipo que se representa por un código binario de 43 dígitos.

Ej: **11011111011111110110111111111111011111100000**

Para denominar estos perfiles el Centro VISAVET emplea dos nomenclaturas:

- o Código internacional:
 - Aislados de *M. bovis* y *M. caprae*: prefijo SB seguido por un número de cuatro dígitos correlativos (*M. bovis* Spoligotype Database, www.mbovis.org)
 - Aislados de *M. tuberculosis*: prefijo SIT seguido de un número correlativo de uno a cuatro dígitos (SITVIT Database, www.pasteur-guadeloupe.fr:8081/SITVITDemo/).
- o Código VISAVET: Código que diferencia tres tipos de perfiles: SPT (espoligotipo de *M. tuberculosis*), SPB (espoligotipo de *M. bovis*) y SPC

SPOLIGOTYPE SEARCH

MIRU-VNTRTYPE SEARCH

ISOLATE SEARCH

ISOLATE MAPS

En la página principal se realiza una breve descripción de las técnicas de DVR-spiligotyping y MIRU-VNTR, existiendo también un enlace al presente manual de usuario y a la documentación antes mencionada.



The screenshot shows the mycoDB.es website interface. On the left, a vertical navigation menu contains the following items:

- Fecha de actualización de la Base de Datos
- SPOLIGOTYPE SEARCH
- MIRU-VNTRTYPE SEARCH
- ISOLATE SEARCH
- ISOLATE MAPS
- mycoDB demo
- Documentación

On the right side of the website, there are callout boxes pointing to specific content:

- Información sobre mycoDB (points to the 'mycoDB' section)
- Información sobre DVR-spiligotyping (points to the 'DVR - spoligotyping' section)
- Información sobre MIRU-VNTR (points to the 'MIRU-VNTR' section)

The website content includes:

- mycoDB**: BD Nacional de Micobacteriosis Animal Versión 2.5. Datos actualizados a 04 de mayo de 2011. Copyright © 2011 VISAVET.
- SPOLIGOTYPE SEARCH**: Spoligotype Search: búsqueda de un espoligotipo por su código estandarizado.
- MIRU-VNTRTYPE SEARCH**: MIRU-VNTRtype Search: búsqueda de un MIRU-VNTRtipo por el número de repeticiones.
- ISOLATE SEARCH**: Isolate Search: búsqueda de aislamientos de micobacterias atendiendo a diferentes criterios.
- ISOLATE MAPS**: Isolate Maps: mapas anuales de distribución de aislamientos de micobacterias en España.
- mycoDB demo**: Free Access: Acceso libre a una demo de la aplicación mycoDB.
- Documents**:
 - Manual de Usuario: Manual de usuario de mycoDB.
 - Relación entre nomenclaturas: Relación entre las nomenclaturas de espoligotipos VISAVET e internacional.
- Base de Datos Nacional de Micobacteriosis Animal mycoDB: Convenio de Colaboración MARM-UCM**: El Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria es responsable de la base de datos que recoge los registros nacionales de micobacteriosis animal desde 1996 hasta la actualidad. La base de datos se complementa con un visor que muestra la distribución geográfica de los aislamientos de micobacterias según criterios de consulta como el año, especie animal o espoligotipo implicado. El acceso a esta base de datos está disponible a través de la página web de la Red de Alerta Sanitaria (RASVE) del Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, para los Servicios Veterinarios y Laboratorios que participan en el Programa Nacional de Erradicación de la Tuberculosis Bovina.
- DVR - spoligotyping**: La técnica "Direct Variable Repeat Spacer Oligonucleotide Typing" se basa en la amplificación de una región del genoma denominada locus DR (direct repeat). Esta región está compuesta por secuencias repetidas (DR) separadas por secuencias denominadas espaciadores a los que va dirigida la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y que son detectados mediante hibridación de los productos generados a una membrana con oligonucleótidos unidos covalentemente. Al final del protocolo se obtiene un patrón (perfil de espoligotipo), caracterizado por la presencia o ausencia de espaciadores. Esta técnica es específica para especies bacterianas del complejo *M. tuberculosis* (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. caprae*, *M. africanum*, *M. goodii* y *M. mageritensis*). Actualmente, el DVR-spiligotyping es la técnica de elección para la realización de estudios de epidemiología molecular (transmisión animal salvaje y doméstico, movimiento de animales, aislados específicos de una región geográfica, estudio de brotes, etc.).

Referencias:

 - Burnssten AE, Van Embden JD, Cousins D. Spacer oligonucleotide typing of *Mycobacterium bovis* strains from cattle and other animals: a tool for studying epidemiology of tuberculosis. *J Clin. Microbiol.* 34(11):2734-40, 1996.
 - Kamarekci J, Schouk L, Kolk A, van Agterveld M, van Soelingen D, Kujper S, Burnshoten A, Molhuizen H, Shaw R, Goyal M, van Embden J. Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiology. *J Clin. Microbiol.* 35(4):907-14, 1997.
- MIRU-VNTR**: La técnica de Mycobacterial Interspersed Repetitive Units -Variable Number Tandem Repeats (MIRU-VNTR) está basada en una PCR que amplifica una selección de MIRU-VNTR loci. Estos loci son elementos que se repiten en tándem (de 40 a 120 pares de bases) y localizados principalmente en regiones intergénicas del genoma de los miembros del complejo *Mycobacterium tuberculosis*. El número de repeticiones de cada secuencia del locus se estima analizando el tamaño del producto de PCR después de la migración electroforética. Los loci que se han descrito como más discriminatorios para los aislados de *M. bovis* son, entre otros, el VNTR 3232, QUB 11a, QUB 11b, ETR-A, ETR-B y MIRU 26 loci. Sin embargo, el análisis MIRU-VNTR todavía no está estandarizado para *M. bovis* y la diversidad alélica puede variar entre los países. Este protocolo está siendo una técnica importante de caracterización molecular ya que permite un análisis reproducible y discriminatorio de las cepas del complejo de *Mycobacterium tuberculosis*. Esta técnica se ha propuesto como técnica para la caracterización de cepas del complejo *M. tuberculosis* en combinación con el DVR-spiligotyping. En la actualidad el Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria emplea esta técnica en el estudio de brotes epidemiológicos específicos.

Referencias:

 - Frohthingham B, Heester-O'Connell WA. Genetic diversity in the *Mycobacterium tuberculosis* complex based on variable numbers of tandem DNA repeats. *Microbiology*, 1998 May;144 (5):1189-96.
 - Arenaz A, Romero B, Montero N, Alvarez J, Bezo J, de Juan L, Mateos A, Dominguez L. Spoligotyping profile change caused by deletion of a direct variable repeat in a *Mycobacterium tuberculosis* isogenic laboratory strain. *J Clin Microbiol.* 2004 Nov;42(11):3388-91.
 - Predinger WH, Brandstätter A, Neumann L, Paoletti M, Kubica T, Bocharov M, Arenaz A, Nagy G, Cvetnić Z, Osepek M, Skrypnik A, Eter W, Namero S, Pavlik I, Maser J. Characterization of *Mycobacterium caprae* isolates from Europe by mycobacterial interspersed repetitive unit genotyping. *J Clin Microbiol.* 2005 Oct;43(10):4984-92.
 - Romero B, Arenaz A, de Juan L, Alvarez J, Bezo J, Mateos A, Gomez-Hampazo E, Dominguez L. Molecular epidemiology of multidrug-resistant *Mycobacterium bovis* isolates with the same spoligotyping profile as isolates from animals. *J Clin Microbiol.* 2006 Sep;44(9):3405-8.
 - Romero B, Arenaz A, Sandoval A, Alvarez J, de Juan L, Bezo J, Sanchez C, Galik M, Fernandez P, Mateos A, Dominguez L. Persistence and molecular evolution of *Mycobacterium bovis* population from cattle and wildlife in Doñana National Park revealed by genotype variation. *Vet Microbiol.* 2008 Nov;132(1-3):87-95.

6. SPOLIGOTYPE SEARCH

SPOLIGOTYPE SEARCH es una herramienta que permite realizar las búsquedas por perfiles de espoligo para ver la distribución geográfica de los mismos y su aislamiento en distintas especies animales desde 1996 hasta la actualidad. Las búsquedas se pueden realizar por la nomenclatura internacional o la nomenclatura interna del Centro VISAVET

El siguiente ejemplo describe la búsqueda por perfil de espoligotipo SB0295:



En la siguiente pantalla se ofrecen los resultados de la consulta resumidos en una tabla junto con el mapa de localización geográfica. En el mapa se indican en azul los municipios donde se ha identificado el perfil SPB-009/SB0295 desde 1996 hasta el momento de la consulta. Los mapas geográficos ofrecen información de la presencia de espoligotipos específicos de una región geográfica determinada a nivel de municipio.

MIRU-VNTRTable

| MIRU-VNTRtipo | Σ Aislados |
|---------------------|------------|
| 3-3-3-3-5-11-2-4-7 | 1 |
| 4-4-3-3-5-11-2-5-13 | 1 |
| 6-2-3-3-5-11-2-5-7 | 1 |
| 6-4-3-3-4-11-2-5-7 | 1 |
| 6-4-3-3-5-11-2-4-7 | 1 |
| 6-4-3-3-5-11-2-5-12 | 2 |
| 6-4-3-3-5-11-2-5-7 | 14 |
| 6-4-3-3-5-11-2-5-8 | 3 |
| 6-4-3-3-5-12-2-5-7 | 2 |
| 6-4-3-3-F-11-2-F-8 | 1 |
| 6-4-3-4-5-11-2-5-6 | 2 |
| 6-4-3-4-5-11-2-5-7 | 1 |
| 6-4-3-4-5-F-2-5-6 | 1 |
| 6-4-3-7-7-11-2-5-7 | 1 |
| 6-4-3-7-7-2-5-7 | 12 |
| 6-4-F-3-5-11-2-5-7 | 1 |
| 6-5-3-3-6-11-2-5-7 | 1 |

- **RegionTable**: Muestra las provincias y el número de aislamientos del espoligotipo en cada una de ellas.

RegionTable

| Provincia | Σ Aislamientos <i>M. BOVIS</i> | Σ Aislados totales |
|-------------|--------------------------------|--------------------|
| Albacete | 6 | 6 |
| Almería | 1 | 1 |
| Asturias | 10 | 10 |
| Ávila | 20 | 20 |
| Badajoz | 19 | 19 |
| Barcelona | 3 | 3 |
| Burgos | 1 | 1 |
| Caceres | 2 | 2 |
| Cádiz | 40 | 40 |
| Cantabria | 18 | 18 |
| Ciudad Real | 11 | 11 |
| Córdoba | 29 | 29 |
| Granada | 2 | 2 |
| Huelva | 10 | 10 |
| Jaeen | 82 | 82 |
| León | 1 | 1 |
| Madrid | 13 | 13 |
| Málaga | 1 | 1 |
| Navarra | 7 | 7 |
| Orense | 5 | 5 |
| Pontevedra | 1 | 1 |
| Salamanca | 74 | 74 |
| Segovia | 1 | 1 |
| Sevilla | 36 | 36 |
| Toledo | 5 | 5 |
| Valladolid | 1 | 1 |
| Zamora | 13 | 13 |
| Zaragoza | 2 | 2 |

- **AnimalTable**: Muestra las especies animales y el número de aislamientos del espoligotipo en cada una de ellas.

AnimalTable

| Especie Animal | Nombre común | Σ Aislamientos <i>M. bovis</i> | Σ Aislamientos <i>M. caprae</i> | Σ Aislados totales |
|------------------------------|---------------|--------------------------------|---------------------------------|--------------------|
| <i>Bos taurus</i> | Bovina | 393 | 0 | 393 |
| <i>Capra aegagrus hircus</i> | Caprina | 1 | 0 | 1 |
| <i>Cervus elaphus</i> | Ciervo | 9 | 0 | 9 |
| <i>Sus scrofa</i> | Jabalí | 10 | 0 | 10 |
| <i>Lynx pardinus</i> | Lince ibérico | 1 | 0 | 1 |

- **SpoligoTable**: Muestra el espoligotipo en sus dos nomenclaturas (VISAVET y SB) así como el número de aislados totales.

SpoligoTable

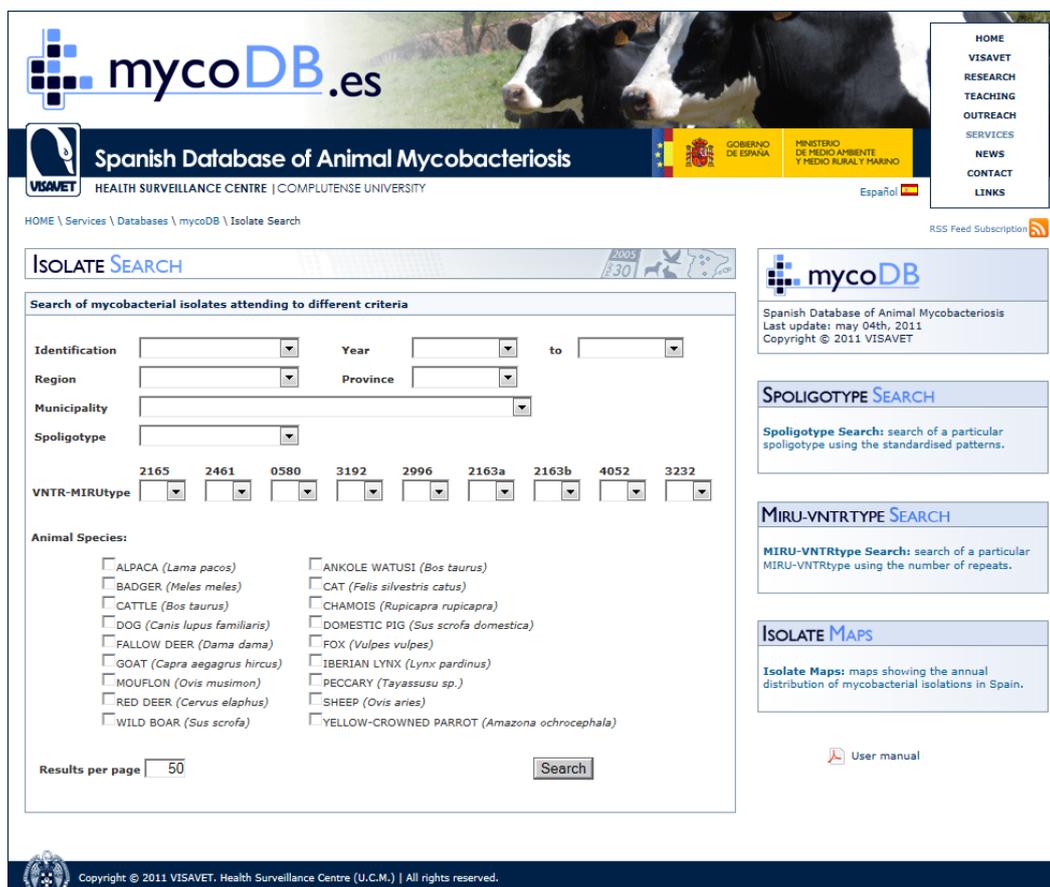
| Espoligotipo (V) | Espoligotipo (SB) | Σ Aislados totales |
|------------------|-------------------|--------------------|
| SPB-009 | SB0295 | 414 |

- **DataTable**: Muestra todos los datos de cada uno de los aislamientos del espoligotipo ordenados por Comunidad Autónoma.

Los resultados de las consultas se muestran de la misma forma que en la primera herramienta.

8. ISOLATE SEARCH

La herramienta **ISOLATE SEARCH** permite realizar las búsquedas de aislados de micobacterias en España condicionadas o no a diferentes criterios tales como el espoligotipo, MIRU-VNTRtipo, año de aislamiento, identificación micobacteriana, comunidad autónoma, provincia, municipio, especie animal o combinaciones de estas. Esta herramienta permite por tanto, incluir distintos parámetros en una misma búsqueda.

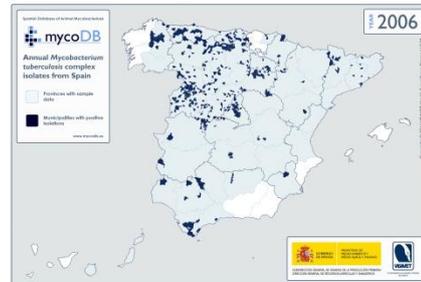


The screenshot shows the 'ISOLATE SEARCH' interface on the mycoDB.es website. The page header includes the mycoDB.es logo, the Spanish Government logo, and the Ministry of Environment and Rural Affairs logo. The main navigation menu on the right includes links for HOME, VISAVET, RESEARCH, TEACHING, OUTREACH, SERVICES, NEWS, CONTACT, and LINKS. The search interface is titled 'ISOLATE SEARCH' and contains a form for searching mycobacterial isolates. The form includes dropdown menus for Identification, Year, Region, Province, Municipality, and Spoligotype. There are also checkboxes for VNTN-MIRUtype (2165, 2461, 0580, 3192, 2996, 2163a, 2163b, 4052, 3232) and Animal Species. The Animal Species list includes: ALPACA (*Lama pacos*), BADGER (*Meles meles*), CATTLE (*Bos taurus*), DOG (*Canis lupus familiaris*), FALLOW DEER (*Dama dama*), GOAT (*Capra aegagrus hircus*), MOUFLON (*Ovis musimon*), RED DEER (*Cervus elaphus*), WILD BOAR (*Sus scrofa*), ANKOLE WATUSI (*Bos taurus*), CAT (*Felis silvestris catus*), CHAMOIS (*Rupicapra rupicapra*), DOMESTIC PIG (*Sus scrofa domestica*), FOX (*Vulpes vulpes*), IBERIAN LYNX (*Lynx pardinus*), PECCARY (*Tayassus sp.*), SHEEP (*Ovis aries*), and YELLOW-CROWNED PARROT (*Amazona ochrocephala*). The form also has a 'Results per page' field set to 50 and a 'Search' button. The footer of the page contains the copyright information: Copyright © 2011 VISAVET, Health Surveillance Centre (U.C.M.) | All rights reserved.

Los resultados de las consultas se muestran de la misma forma que en la primera herramienta.

9. ISOLATE MAPS

En la base de datos se incluyen las muestras (muestras de tejido, medios de cultivo bacteriológico, ADN o datos de espigotipo) recibidas en el Centro VISAVET desde el año 1996 hasta la actualidad. Esta consulta visualiza la distribución de los aislamientos por año en mapas donde se reflejan en azul claro las provincias que han enviado muestras y en azul oscuro los municipios en los que se ha identificado y caracterizado por tipificación molecular algún miembro del complejo *M. tuberculosis*.



10. Asistencia técnica

El Centro VISAVET ofrece a los usuarios de la versión completa de **mycoDB** la asistencia necesaria para su correcto aprovechamiento, por lo que rogamos contacten con nosotros para ayudarles en cualquier problema relativo al manejo o funcionamiento, agradeciendo, asimismo, cualquier sugerencia o indicación que nos permita una mejora de esta aplicación.

Contactos:

- **Servicio de Informática y Comunicación.**

Tel.: (+34) 913 944 096 | e-mail: sic@visavet.ucm.es

- **Servicio de Micobacterias**

Tel.: (+34) 913 944 083 | e-mail: mycobacteria@visavet.ucm.es

CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA (VISAVET)

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

Avenida Puerta de Hierro, s/n

28040 Madrid

Tel.: (+34) 913 943 975 | Fax: (+34) 913 943 795

e-mail: visavet@visavet.ucm.es

web: www.vigilanciasanitaria.es