

Documento 15

Evaluación del rendimiento de la prueba de IFN-gamma IDvet para el diagnóstico de la tuberculosis bovina en España

Maria Luisa de la Cruz ¹, Adam J. Branscum ², Jesús Nacar ³, Enrique Páginas ⁴,
Pilar Pozo ^{1,5}, Andrés Pérez ⁶, Anna Grau ³, José Luis Sáez ⁷, Lucía de Juan ^{1,8}, Rosa Díaz ⁴,
Olga Mínguez ³ y Julio Alvarez ^{1,6,8*}

¹ VISAVENT Centro de Vigilancia de la Salud, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España, ² Programa de Bioestadística de la Universidad Estatal de Oregón, Corvallis, Oregón, Estados Unidos, ³ Dirección General de Producción Agropecuaria e Infraestructuras Agrarias, Consejería de Agricultura y Ganadería de la Junta de Castilla y León, Valladolid, España, ⁴ Área de Ganadería, Dirección General de Medio Ambiente, Consejería de Medio Ambiente, Vivienda y Ordenación del Territorio de la Comunidad de Madrid, Madrid, España, ⁵ MAEVA SERVET, SL, Madrid, España, ⁶ Departamento de Medicina Veterinaria de la Población de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Minnesota, Saint Paul, MN, Estados Unidos, ⁷ Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente, Madrid, España, ⁸ Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España

OPEN ACCESS

Editado por:

Salomé Dürr,

Universität Bern, Suiza

Revisado por:

Andrew William Byrne,

Instituto de Biociencias de la agroindustria y la Alimentación,

Reino Unido

Ferran Jori,

Centro de Cooperación Internacional en

Investigación Agronómica para el

Desarrollo (CIRAD), Francia

* Correspondencia:

Julio Alvarez

jalvarez@visavet.ucm.es

sección de la especialidad:

Este artículo fue sometido a

Epidemiología Veterinaria y

Ciencias económicas,

una sección de la revista

Frontiers in Veterinary Science

Recibido: 06 de febrero de 2018

Aceptado: 04 de septiembre de 2018

Publicado: 27 de septiembre de 2018

Citación:

de la Cruz ML, Branscum AJ, Nacar J,

Páginas S, Pozo P, Pérez A, Grau A,

Sáez JL, de Juan L, Diaz R, Minguez

O y Alvarez J (2018) Evaluación del desempeño

de la prueba de IDvet IFN-gamma para el

diagnóstico

de la tuberculosis bovina en España.

Frente. Veterinario. Sci. 5: 229.

doi: 10.3389/fvets.2018.00229

En España, la tuberculosis bovina nacional programa de erradicación (BTB) se basa en la prueba anual de cada piel \geq animales de 6 semanas de edad mediante la prueba de la tuberculina solo o comparativa y el uso paralelo de la interferón-gamma (IFN- γ) ensayo como una prueba de diagnóstico complementarias en los rebaños infectados. Hay varias versiones de este último. Recientemente, un nuevo IDvet comercial IFN- γ ensayo ha sido autorizado para su uso en el programa, pero no hay evidencia científica limitada sobre su desempeño en diferentes contextos epidemiológicos. Por lo tanto, se llevaron a cabo dos estudios para evaluar el rendimiento del ensayo IDvet. En el estudio 1, un análisis de concordancia entre el nuevo IDvet y la Bovigam IFN- γ Se llevó a cabo el ensayo en uso en España durante más de 10 años. En el estudio 2, los resultados del ensayo de IDvet cuando se aplica en una prueba tandemwith sola intradérmica de la tuberculina (SIT) se utilizaron para evaluar la concordancia entre ambas pruebas y estimar su sensibilidad (Se) y específico de la ciudad (Sp) mediante un modelo de clase latente Bayesiano. Se recogieron datos de campo de los rebaños de ganado ubicadas en Madrid y Castilla y León (España). Para el estudio 1, la selección manada se basa en una alta prevalencia esperada de los reactores al IFN- γ ensayo, mientras que las manadas fueron seleccionados al azar para estimar sensibilidad y especificidad del nuevo ensayo IDvet en el estudio 2. Acuerdo entre los resultados obtainedwith ambos kits para IFN- γ ensayo era pobre ($\kappa = 0,20$), y un receptor de funcionamiento análisis característico (ROC) indicó un bajo SE de la nueva IDvet con relación a la Bovigam en una gran medida bTB población infectada. El análisis de clase latente Bayesiano estima el Se del ensayo IDvet ser 36,7% [intervalo de probabilidad posterior 95% (PPI) 14,7-78,8%] con estimada Sp cerca de 100% cuando el corte recomendado por el fabricante (35) se aplicó. En los valores de corte alternativos de 16 y 4, la Se estimado del ensayo IDvet aumentó a 49,0% (PPI: 24,8 a 94,1%) y 56,0% (PPI: 30,8 a 96,3%), respectivamente, mientras se mantiene una alta especificidad. Los resultados sugieren que el nuevo ensayo IDvet puede tener una sensibilidad más baja que la Bovigam para el diagnóstico de bTB en los rebaños de ganado en España, y que el ajuste de su corte podría ser considerado.

Palabras clave: tuberculosis bovina, ganado, diagnóstico, interferón-gamma, modelado bayesiano

INTRODUCCIÓN

La tuberculosis bovina (BTB), causada por los miembros de la **Tuberculosis micobacteriana complejo (principalmente *M. bovis*, y en un grado menor, *M. caprae*)** es una enfermedad zoonótica importante con una distribución global que tiene importantes implicaciones tanto para la salud animal y humana (1). La implementación de programas de control y erradicación ha dado lugar a una disminución significativa de la prevalencia bTB y para la erradicación de la enfermedad en muchos países industrializados (1-3). Sin embargo, la erradicación e Orts ff no han tenido un éxito uniforme, en parte porque las pruebas de diagnóstico disponibles actualmente no pueden determinar correctamente el *M. bovis*

estado de infección de todos los animales sometidos a prueba (4). *M. bovis* infección en el ganado suele ser crónica, puede permanecer subclínica durante un largo período, y el ganado infectado puede llegar a ser infecciosa mucho antes de que muestren signos clínicos de bTB (4). Cuando están presentes, los signos clínicos de bTB no son patognomónicos. Como resultado, las estrategias de control se han basado en la detección temprana y la eliminación de los animales infectados de un rebaño mediante la aplicación de pruebas de diagnóstico ante mortem y vigilancia post-mortem de rutina en matadero. Por lo tanto, la determinación de la precisión de las pruebas de diagnóstico para bTB es de suma importancia (5).

Las pruebas de diagnóstico utilizados para la detección de bTB en el ganado se basan principalmente en la detección de la respuesta inmune mediada por células (CMI), que se activa en las primeras etapas de la infección (6). Una técnica de diagnóstico popular para este propósito, la prueba de la tuberculina solo intradérmica (SIT), se basa en la inoculación del derivado puri bovina proteína ed fi (PPD) en la piel del cuello o en el pliegue caudal (7). En ciertas configuraciones de la respuesta a la PPD aviar inoculado en el otro lado del cuello también se mide y se compara con la respuesta bovina en lo que se conoce como la prueba única intradérmica de tuberculina cervical comparativa (SICCT), que se utiliza como la prueba de detección de rutina en los países como el Reino Unido e Irlanda. En los últimos 25 años, una herramienta de diagnóstico adicional para medir la respuesta CMI, el interferón-gamma (IFN-γ)

ensayo de liberación, se ha utilizado cada vez más (8). Esta prueba se basa en la detección de IFN y producida por los linfocitos presentes en las muestras de sangre estimulados con antígenos específicos fi (típicamente bovina y PPD aviar); muestras de sangre se centrifugan a continuación después de la estimulación y se analiza el plasma resultante utilizando un sándwich ELISA (8). A modo de prueba auxiliar a prueba en la piel, el IFN y ensayo ha dado lugar a una mayor sensibilidad cuando se utiliza en los rebaños infectados (9). En parte porque puede identificar a los animales en una etapa de la infección antes de la prueba SIT (10). Por lo tanto, en la Unión Europea su uso auxiliar se recomienda en los rebaños infectados ubicados en zonas con bTB endémica (anexo B de la Directiva 64/432 / CEE), tales como determinadas zonas de España (11). La primera disponible en el mercado IFN y de prueba (Bovigam, Thermo Fisher Scientific c, Waltham, MA, EE.UU.) (12) Se ha utilizado en varios países europeos, entre ellos España, y su rendimiento ha sido ampliamente evaluados en condiciones de campo (4, 9, 13 - 19). Recientemente, otra versión del IFN y

determinado porque, por ejemplo, una prueba de referencia perfecta no existe o es demasiado invasivo para su uso generalizado, como es el caso para bTB, en el que la prueba de referencia habitual, el aislamiento del agente causante, es costoso, lento y tiene una muy limitada la sensibilidad en una gran proporción de los animales infectados (4). análisis de clase latente es un enfoque moderno para la estimación de la precisión de las pruebas de diagnóstico en ausencia de una prueba perfecta de referencia (20, 21). En el análisis de clase latente bayesiano, los parámetros (por ejemplo, las sensibilidades, especificidades, y prevalencias) puede estimarse mediante la combinación de un conocimiento previo con la información de los datos actuales. modelos de clase latente bayesianas se han utilizado para estimar el rendimiento diagnóstico de las pruebas de BTB (5, 22 - 27). A menudo revelando discrepancias importantes entre los conocimientos previos y los datos del estudio.

En España, un programa nacional de erradicación de bTB está en su lugar desde los años 80, y desde el año 2006 contempla la adición del IFN y prueba como una prueba auxiliar para aumentar la sensibilidad de diagnóstico de acuerdo con la normativa europea y española. Durante este período la prevalencia manada bTB ha disminuido de > 10 a 2,87% en 2016, pero los avances en la última década ha sido más limitado (11). A continuación, se realizó un estudio para evaluar el rendimiento de la nueva IFN comercial y prueba (llamada prueba a partir de entonces IDvet) que ha sido recientemente autorizada para su uso como parte del programa de erradicación de español bTB. Se recogieron datos de campo para lograr dos objetivos, a saber, para llevar a cabo un análisis de concordancia entre la nueva prueba IDvet y la Bovigam IFN-γ y ensayo (llamado a partir de entonces prueba Bovigam), que ha sido utilizado en España por más de 10 años (estudio 1) y para evaluar la concordancia entre el IDvet y SIT pruebas y estimar su Se y Sp en la ausencia de un estándar de oro (Estudio 2).

Materiales y métodos Población de estudio

Estudio 1. Evaluar la Prueba IDvet mediante la prueba de Bovigam como referencia
El nuevo IFN y ensayo (Pantalla ID R, © Rumiantes IFN-g, IDvet, Grabels, Francia) y el IFN preexistente y prueba (Bovigam R, Thermo Fisher Scientific c, Waltham, MA, EE.UU.) se compararon utilizando los resultados de 1.181 ganado de 18 rebaños situados en las regiones de Madrid [884 ganado (74,9%) de 11 rebaños] y Castilla y Leon [297 bovinos (25,1%) a partir de 7 rebaños], en el centro y centro-oeste de España, respectivamente. Estas manadas fueron seleccionados de entre los que están siendo probado usando el IFN-γ y ensayo durante el programa de erradicación de bTB en 2015 y 2016 en base a una alta prevalencia esperada de los reactores al IFN y ensayo. Una explicación detallada sobre la situación epidemiológica en el que la prueba se lleva a cabo en España está disponible en otros lugares (28). La mayoría de la muestra (84,1% de los animales y 88,9% de los rebaños) estaba representada por los rebaños de carne (993 animales y 16 rebaños), seguido de toro fi luchando (103 animales y una manada) y rebaños lecheros (85 animales y un rebaño).

2. Estimación estudiar la sensibilidad y especificidad de la prueba en el campo IDvet

Los resultados del ensayo se obtuvieron de 8.426 bovinos (78 rebaños) sometidos a la prueba de SIT y prueba IDvet durante 2016. Las manadas fueron de nuevo situado en el Madrid [22 rebaños, 1.550 animales (18,4%)] y Castilla y León [56 rebaños, 6.876 animales (81,6%)] regiones, y

ensayo se ha convertido en comercialmente disponible (Screen ID R, © Rumiantes IFN y, IDvet, Grabels, Francia), pero debido a su reciente desarrollo existe poca información disponible sobre sus prestaciones en entornos epidemiológicos di ff Erent.

La evaluación de la precisión de la prueba (es decir, la sensibilidad, Se y especificidad, Sp) es un reto cuando el estado de infección no puede ser

que fueron seleccionados al azar entre los rebaños infectados bTB confirmado en las dos regiones en el año 2016 en el que el IFN y ensayo había sido ejecutado de acuerdo con el programa de erradicación español (11). Beef fue de nuevo el tipo de producción predominante (19 rebaños y 1.204 animales en Madrid; 41 rebaños y 4.382 animales en Castilla y Leon), seguido de la leche (un rebaño-44 animales y 10 animales rebaños-1676 en Madrid y Castilla y Leon, respectivamente), toro fi luchando (dos rebaños-300 animales y dos rebaños-339 animales en Madrid y Castilla y Leon, respectivamente), y las explotaciones mixtas (3 vacas y 481 animales, todos en Castilla y Leon).

Pruebas de diagnóstico

Prueba de tuberculina intradérmica cervical (SIT)

La prueba SIT se realizó de acuerdo a la normativa europea y española (RD2611 / 1996, la transposición del anexo A de la Directiva 64/432 / CEE) por los profesionales de campo en todos los > 6 animales weekold en la manada por inoculación intradérmica de 0,1 ml de la o ficial PPD bovino (CZ Veterinaria, Ponferrada, España) en la zona anterior del cuello (29). Después de 72 h, los animales con una

> aumento de 2 mm de espesor del pliegue cutáneo (o con la presencia de signos clínicos en el sitio de la inoculación) se consideraron los reactores (interpretación severa) siguiendo el Programa Nacional de Erradicación de Español tuberculosis bovina (11) Y sacrificados dentro de los 15 días.

IFN y Ensayo

muestras de sangre heparinizada se recogieron de cada animal antes de la inyección intradérmica de los PPD, y se entregan al laboratorio en Madrid o Castilla y Leon plazo de 8 h de la recogida a temperatura ambiente, de acuerdo con el Programa Nacional de Erradicación Español tuberculosis bovina (11). La estimulación con PPD bovina y aviar (CZ Veterinaria) a una concentración final de 20 µg / ml, y nil fosfato antígeno bu ff er solución salina (PBS) se llevó a cabo como se describe en otro lugar (8). Las muestras de plasma se recogieron después de centrifugación y se almacenan a -20 ° C hasta el ensayo para la detección del IFN y con uno o ambos ELISA sandwich evaluado aquí.

Bovigam ® IFN y

La prueba Bovigam se llevó a cabo siguiendo los procedimientos descritos en otra parte (12). Un animal se consideró positivo cuando la densidad óptica (OD) de la alícuota estimuladas con PPD bovino menos la DO del nil (bovina IFN) era ≥ 0,05 y mayor que la DO de la muestra estimulada con PPD aviar menos el nil (IFN aviar), y negativo en cualquier otro caso (11).

©rumiantes IFN y, IDvet

. La prueba IDvet se realizó de acuerdo a las instrucciones del fabricante (IFNG ver 0617 ES). Brevemente, las muestras se dividieron en tres alícuotas y se incubó con PBS (blanco), bovino (muestra activada) o aviar (muestra de control) PPD. Cuando los valores de DO > 2,5 se obtuvieron en el blanco o tanto el control y la muestra activada (sugerente de reacciones no específicas) las muestras se diluyeron 1: 5 con el fin de llevar los niveles de OD en la región lineal de la medición de OD y volvieron a analizar tal como se indica por la

fabricante. Resultados A continuación, se transforman en coeficientes de muestra-topositive (S / P):

$$\begin{array}{c} \bullet \quad \bullet \\ SP = \frac{\bullet \quad muestra activada OD - control de OD de la muestra OD}{\bullet \quad - \quad significado control positivo kit - meankit OD} \cdot * 100 \\ \bullet \quad \bullet \\ \text{control negativo} \end{array}$$

Las muestras se consideraron positivas cuando la relación S / P era ≥ 35 de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Además, se evaluaron puntos ff alternativa de corte o, tal como se describe a continuación.

Análisis estadístico

Análisis de concordancia

Concordancia entre los resultados cualitativos obtenidos tanto de IFN y kits (estudio 1) y entre la prueba y la prueba IDvet SIT (estudio 2) se midió mediante la estadística kappa. (ROC) curvas características de operación del receptor se utilizaron para evaluar el rendimiento de la prueba IDvet en dff Erent cortar-o ff s en relación con el Bovigam (estudio 1), con un índice de Youden utiliza para evaluar los valores óptimos de corte o FF. Las mismas pruebas se realizaron utilizando sólo los datos de ganado vacuno. Estos análisis se llevaron a cabo utilizando SPSS V. 20 (IBM Inc., Chicago, IL, EE.UU.) y el "Proc" (30) Y "ROCR" (31) Paquetes de en R 3,4 (32).

Análisis de clase latente

Hemos seguido las directrices para los informes de diagnóstico de la enfermedad en los estudios que utilizan modelos de clases latentes bayesianos () (STARDBLCM 21).

Un modelo de clases latentes bayesiano se utilizó para estimar la sensibilidad y especificidad de la prueba y la prueba SIT IDvet en los rebaños infectados (estudio

2), en ausencia de un estándar de oro (33 , 34). Se consideraron las muestras que pertenecen a dos de poblaciones ff Erent basados en la región de origen (Madrid y Castilla y León) de los rebaños y las dos pruebas se supone que es condicionalmente dependiente (33), Ya que ambos se basan en la detección de la respuesta inmune mediada por células (10).

distribuciones beta anterior para la sensibilidad y especificidad de las pruebas de sentarse y IDvet se construyeron de acuerdo a los valores reportados / estimada (5 , 7 , 35 -

38) (Tabla 1) basado en el valor más probable y un intervalo de credibilidad del 95% bajo el uso de ParameterSolver V3.0 (Universidad de Texas MD Anderson Cancer Center). Para la prueba IDvet, grandes desviaciones estándar anteriores se utilizaron para reflejar la incertidumbre en su sensibilidad y especificidad debido a la falta de información previa para este kit y los hallazgos del estudio 1 (ver Resultados). Covarianzas entre la prueba SIT y prueba IDvet para subpoblaciones infectados y no infectados eran específicas como se ha descrito previamente (39), Y estos parámetros se modelaron con distribuciones previas uniformes relacionados con el Se y Sp de las pruebas (40) (Archivo 1).

Basado en datos recogidos en 2014-2015 de rebaños infectados en Castilla y León y Madrid, la distribución previa común para la prevalencia bTB se le asignó un modo de 5% y un percentil 95 de 20% [específicamente, beta (0,99, 13,4)] para ambas regiones.

Un análisis de sensibilidad para evaluar el impacto de las distribuciones previas en los resultados del modelo se realizó usando dff uso uniforme (0, 1) distribuciones alternativamente para el Se y Sp de cada prueba. Las estimaciones del modelo (medianas y posteriores 95% posterior

TABLA 1 | las estimaciones anteriores de la sensibilidad y especificidad de la prueba y la prueba SIT IDvet.

Prueba de diagnóstico	Medida de rendimiento	las estimaciones previas		Autores, año	Referencia
		El modo y el quinto percentil	distribución beta		
prueba SIT	Sensibilidad (%)	69 (> 40)	alpha: 5.65 beta: 2.71	Alvarez et al. (5) de la Rúa-Domenech et al. (4) Monaghan et al. (7) Wood et al. (37) Wood et al. (36) Alvarez et al. (5) de la Rúa-Domenech et al. (4) Monaghan et al. (7) Wood et al. (37)	69,4 (40.1-92.2) 83,9 (63.2-100) 68-95 68,1 65,6 (56.6-73.9) 99,4 (98.7-99.9) 96,8 (75.5-99.0) 96-99 96,7
	especificidad (%)	95 (> 75)	alpha: 8.65 beta: 0.73		
	Sensibilidad (%)	90 (> 50)	alpha: 3.35 beta: 0.62	Alvarez et al. (5) de la Rúa-Domenech et al. (4) Gormley et al. (35) Núñez-García et al. (38) Wood et al. (37) Wood et al. (36) Alvarez et al. (5) de la Rúa-Domenech et al. (4) Gormley et al. (35) Núñez-García et al. (38) Wood et al. (37) Wood et al. (36)	89,3 (77.5-97.2) 87,6 (73.0-100) 88 67 (49-82) 81.8 80,8 (72.8-87.3) 85,7 (84.4-87.6) 96,6 (85.0-99.6) 95 98 (96-99) 99.1 90
	especificidad (%)	90 (> 80)	alpha: 33,1 beta: 3,97		

intervalos de probabilidad, PPI) se compararon con los obtenidos usando las distribuciones previas informativas. Los modelos fueron también sólo se ejecutan utilizando los datos de ganado de carne como un análisis de sensibilidad adicional. Además, corte-o ff s para la prueba IDvet alternativa (S / P ratio = 16 y 4) fueron evaluados.

Tres cadena de Markov Monte Carlo carreras se llevaron a cabo a fin de evaluar visualmente la convergencia y la mezcla de las cadenas. La convergencia también se evaluó mediante la Gelman-Rubin diagnóstico (41). Posterior inferencia se basó en 5.000 iteraciones después de descartar los primeros 2500 como burn-in. La autocorrelación se elimina a través de adelgazamiento de las cadenas mediante la recopilación de uno de cada 10 muestras consecutivas. Todos los análisis se realizaron utilizando OpenBUGS V. 3.2.3 (42) Llamada a través de R, versión 3.4 (32) Utilizando el paquete de "R2OpenBUGS" (43). El código OpenBUGS se ofrece como material complementario (Archivo 1).

RESULTADOS

Análisis de concordancia

El número de reactores para cada prueba en ambos estudios se muestran en la Tabla 2. Acuerdo entre los resultados obtenidos con la Bovigam y las pruebas IDvet

(Estudio 1) era pobre ($\kappa = 0,20$), con la mayor parte de los resultados discordantes ser positivo en el

antigua y negativa en la nueva prueba (Tabla 2). El análisis ROC indicó que en la recomendada por el fabricante corta-o ff de 35 para la IDvet, Se con relación a la prueba Bovigam fue baja ($Se = 15,1\%$ y $Sp = 99,9\%$). se logró acuerdo mejor cuando la reducción del FF Cuto s (16 y 4) fueron utilizados ($Kappa = 0,52$ y $0,71$, con $Se = 38,8$ y $65,5$, respectivamente, y $Sp > 98,5\%$). se obtuvo para la AUC : Un alto valor de 92,5% (89,6 a 95,3% CI 95%) Figura 1). El punto de corte ff óptimo de acuerdo con el índice de Youden en relación con el Bovigam fue 1,3 (produciendo $Se = 81,3\%$ y $Sp = 94,2\%$). Cuando sólo se consideraron ganado de carne, se obtuvieron valores muy similares Kappa independientemente del corte-o ff utilizado (0,20, 0,52, y 0,70 para el corte-o ff s 35, 16 y 4, respectivamente), con también una muy alta AUC (90,9%) y un punto de corte o ff óptima similar (1,7).

Acuerdo entre la prueba y la prueba IDvet SIT (estudio 2) fue ligeramente más alto ($Kappa = 0,34$), aunque todavía no se observaron errores ff importante di (Tabla 2). Cuando los resultados se analizaron por separado por el tipo de producción, el acuerdo fue mayor para el ganado vacuno ($Kappa = 0,43$) y cerca de cero para lácteos y mixtos rebaños ($Kappa = 0,08$ y $-0,01$, respectivamente), mientras que no se pudo calcular para el ganado toro fi luchando debido a la falta de reactores SIT. Para los valores de ff corte-O de 16 y 4, el acuerdo entre las pruebas se redujo a valores de $Kappa$ de 0,27 y 0,14, respectivamente (Tabla Suplementaria 1).

TABLA 2 | Número de reactores a la prueba IDvet y a la prueba Bovigam realizado sobre 1.181 bovinos (estudio 1), y el número de reactores a la prueba IDvet y a la prueba SIT (interpretación severa) realizado en 8.426 bovinos (estudio 2) de Madrid y Castilla y León (España).

			prueba IDvet (35)		Total	
			negativos	positivos		
estudio 1		prueba Bovigam (0.05)	negativos	1087	1	1181
			positivos	82	11	
estudio 2	Madrid	prueba SIT (int grave)	negativos	1509	8	1548
	Castilla y León	prueba SIT (int grave)	positivos	22	9	8426
			negativos	6738	76	6878
			positivos	35	29	

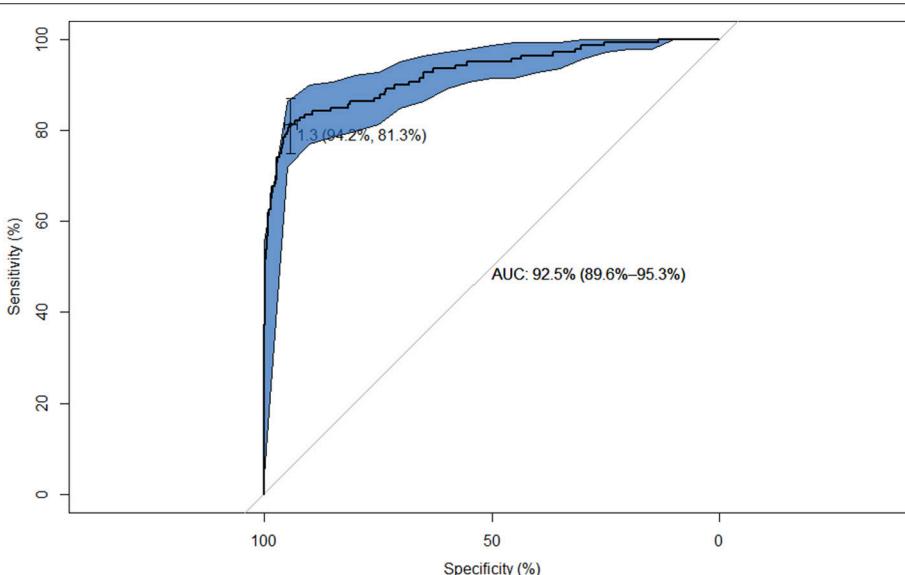


FIGURA 1 | curva ROC de la realización de la prueba IDvet con relación a la prueba Bovigam en 1.181 muestras de animales analizados con ambas pruebas. Los puntos de cruce de la ubicación del punto de corte óptimo para la maximización de índice del Youden para la prueba IDvet (1.3) junto con el Sp y Se en esta línea de corte.

Análisis de clase latente

El análisis de clase latente Bayesiano produjo estimaciones posteriores (mediana y el 95% PPI) para la prueba de IDvet de $Se = 36,7\%$ (14.7–78,8%), con muy alta Sp (**Tabla 3**). La distribución posterior de Se para la prueba IDvet se cambió por debajo de su distribución previa (**Suplementaria Figura 1**), mientras que lo contrario era cierto para su Sp. Por el contrario, las estimaciones posteriores de la realización de la prueba SIT fueron en gran medida de acuerdo con la información anterior.

La dependencia condicional entre la prueba y la prueba SIT IDvet se estimó en muy baja tanto en los infectados (correlación coeфиciente de resultados positivos: -0.002, 95% PPI -0.13–0.09) y no infectado (correlación Coeфиciente de resultados negativos:

0.002, 95% PPI 0.00 a 0.004) poblaciones, lo que sugiere una posible independencia condicional entre los resultados de cada prueba. Tenga en cuenta que, en general, la independencia condicional se produce cuando Sp son de cerca del 100%.

Un análisis de sensibilidad (**Suplementaria Cuadro 2**) dado como resultado no hay cambios importantes en la distribución posterior de Se y Sp para ambas pruebas (las magnitudes de todos los errores ciento de ff fueron <8%).

excepto cuando un uniforme antes se utilizó para el SE del ensayo de prueba IDvet donde se observó un porcentaje de disminución de 41% para la mediana posterior (36,7 vs. 21,6). Las estimaciones de prevalencia fueron similares en los análisis que priors Erent ff utilizado (por ejemplo, la superposición de 95% PPI de), y eran 23 veces más altos en la región de Madrid que en Castilla y Leon. Cuando sólo se utilizaron los valores de los rebaños de carne de vacuno en el análisis, el PPI 95% para la sensibilidad de la prueba IDvet fue similar (19–88%), pero se encontró un valor de la mediana más alta (60,9%), mientras que los cambios en las estimaciones posteriores para la sensibilidad de la prueba SIT y las especificidades de ambas técnicas fueron pequeños (12% de la mediana de las estimaciones). Se obtuvieron estimaciones similares cuando se utiliza un burn-in de 20.000 iteraciones posteriores y

50.000 itera totales.

Al corte-o ff puntos de 16 y 4 para la interpretación de la prueba IDvet, la Se estima que del IFN y ensayo aumentó (como se esperaba) a 49,0 y 56,0%, respectivamente, mientras que el mantenimiento de una alta especificidad (**Tabla 3**). Las estimaciones posteriores para la realización de la prueba SIT y la prevalencia bTB no eran una ff efecto por el corte-o ff aplicado en la prueba IDvet (**Tabla 3**).

TABLA 3 | estimaciones posteriores (mediana y el 95% de intervalo de probabilidad posterior) para la sensibilidad, especificidad y la media de la distribución de la prevalencia (%) obtenidos para la combinación de prueba IDvet y sentarse prueba en 8.426 ganado de Madrid y Castilla y León (España), para diferentes distribuciones previas y puntos de corte alternativos IDvet.

Modelo	priors	Prueba de diagnóstico	Sensibilidad	Especificidad	Predominio	
					Madrid	Castilla y León
Original	priors originales (Tabla 1)	prueba SIT	78.68 (49,28-95,00)	99.53 (98,95-99,98)	1.85 (0,51 a 3,34)	0.64 (0,04 a 1,43)
			36.69 (14,66-78,81)	98.78 (98,41-99,18)		
puntos de corte alternativos para IDvet	priors originales (Tabla 1)	prueba SIT	76.59 (47,06-94,51)	99.55 (98,95-99,99)	1.90 (0,59 a 3,50)	0.69 (0,04 a 1,56)
			49.03 (24,85-94,13)	97.86 (97,38-98,36)		
	priors originales (Tabla 1)	prueba SIT	76.41 (46,11-94,41)	99.61 (98,99-99,99)	1.96 (0,70 a 3,62)	0,78 (0,06 a 1,71)
			55.98 (30,76-96,34)	93.89 (93,25-94,57)		

^{una} De corte recomendado por el fabricante.

^{segundo} De corte para la interpretación = diecisésis.

^{do} De corte para la interpretación = 4.

No hubo evidencia de falta de convergencia de las cadenas de Markov utilizado para simular de la distribución posterior (**Suplementaria Figura 2**), como se indica mediante la evaluación gráfica de las cadenas y la estadística de Gelman-Rubin <1,001 para todos los parámetros.

DISCUSIÓN

Múltiples factores relacionados con el huésped, el patógeno y el medio ambiente pueden ff una ect la realización de una prueba de diagnóstico, y, por lo tanto, la extrapolación de los resultados obtenidos en di ff Erent contextos epidemiológicos pueden conducir a conclusiones parciales y engañosas. Por esta razón, en los estudios presentados aquí que trata de estimar, mediante el uso de una variedad de enfoques analíticos, el rendimiento de la nueva prueba IDvet comercial bajo condiciones de campo en rebaños infectados por bTB de España. A pesar de que ambas pruebas Bovigam y IDvet comparten el mismo objetivo (IFN y producida por linfocitos estimulados con PPD bovina), cuando los resultados obtenidos en ambos ensayos se compararon (estudio 1), el acuerdo era pobre ($Kappa = 0.20$). Además, el SE de la prueba IDvet en relación con la prueba Bovigam en una población formada por bTB fuertemente infectado rebaños de ganado fue muy baja (15,1%), aunque dada la limitada especificidad de la Bovigam (con estimaciones de entre

84,4 y 99,6%) (4 , 5 , 35 - 38) Una proporción de falsas reacciones positivas a esta prueba se podía esperar, y por lo tanto esta cifra podría ser una subestimación de la verdadera sensibilidad. Sin embargo, los altos valores de AUC obtenidos cuando las lecturas cuantitativas obtenidas en la prueba de IDvet se compararon con la respuesta cualitativa en la prueba Bovigam (92,5, 90,9% cuando se consideraron solamente los animales de carne) sugirió que era de hecho una estrecha relación entre la respuesta medida en ambas pruebas. Además, el análisis ROC sugiere que la disminución de la ff cuto en la prueba IDvet (lo que requiere un menor rencia ff de entre la respuesta registrada en la muestra estimulada con bovino

PPD en comparación con el PPD aviar para definir un animal como un reactor) podría dar lugar a un aumento sustancial en el acuerdo entre ambas pruebas (**Figura 1**), a pesar de los cálculos Erent di ff utilizados para definir el estado positivo (ver Material y Métodos). Además de la comparación de las respuestas después de la in vitro estimulación con aviar y bovina PPD para definir un reactor considerado tanto en las pruebas Bovigam y IDvet, el protocolo de la prueba IDvet incluye un paso adicional (dilución de las muestras) para evitar reacciones falsos positivos debido a la sensibilización con otros microorganismos de reacción cruzada, tales como *Mycobacterium avium* subsp.

paratuberculosis, que se sabe que un ff ect el rendimiento de IFN y ensayos basados en rumiantes domésticos (44). Aunque esto podría haber contribuido teóricamente a la observada di ff erencias entre ambas pruebas, menos de 1% de las muestras incluidas en el estudio 1 tuvo que ser diluida debido a las altas lecturas en las muestras de control y activado, y por lo tanto esto no era una fuente importante de variación en nuestro estudio.

Un acuerdo limitado entre la prueba y la prueba IDvet SIT ($kappa = 0,34$; estudio 2) también se observó. Esto es consistente con un escenario de campo en el que los animales son sometidos a pruebas de la piel frecuente y SIT-reactores han sido ya eliminado cuando el IFN y ensayo se introdujo por primera vez en los rebaños infectados (7 , 10 , 12 , 45 - 47). Este acuerdo limitado entre la prueba de SIT y la prueba IDvet, junto con las estimaciones posteriores bajas para los términos codependencia obtenidos en el análisis de clase latente (correlación gama Coe fi ciente: - 0,13-0,09 y 0,00 a 0,004, de los animales infectados y no infectados, respectivamente) están de acuerdo con las estimaciones obtenidas para la prueba Bovigam (5), Y reforzar la utilidad potencial de la aplicación de IFN y ensayos basados en paralelo a la prueba SIT para maximizar la sensibilidad de diagnóstico (45 , 48 , 49). En el caso de la prueba IDvet, sin embargo, los resultados del modelo de clase latente Bayesiano (estudio 2) confirmó la aparente inferior SE de la prueba IDvet en comparación con la prueba de Bovigam observada en el estudio 1, ya que las estimaciones posteriores de la IDvet Se eran

significativamente más bajos que los estimado recientemente para la prueba Bovigam usando un más amplio-previa (36,7, 95% PPI similares, aunque 14.7-

78,8, frente a 89,3, 95% PPI 77,5-97,2 estimado previamente para la prueba Bovigam (5).

La gran incertidumbre en las estimaciones posteriores IDvet de Se puede tener también ser influenciada por el pequeño número de reactores IDvet en la muestra (**Tabla 2**). En contraste, los resultados obtenidos para el ensayo de SIT en este estudio y la anterior fueron comparables, con estimaciones más altas mediana obtenidas aquí, pero PPI muy similar (78,7, 95% PPI 49,3-95,0, en comparación con 69,4, 95% PPI 40,1-92,2) (5). Cuando sólo se analizaron los datos de los rebaños de carne de vacuno, se obtuvo una posterior mayor valor mediana para SE de la IDvet (60% en comparación con 37% en el análisis de todos los animales), aunque la PPI 95% fue similar, y los valores eran, sin embargo, sigue siendo inferior a las estimaciones anteriores obtenida para la prueba Bovigam así como las distribuciones previas usadas en el análisis. De hecho, el análisis de sensibilidad reveló un conflicto entre la información que se aplique para el SE de la prueba IDvet en este estudio y los datos, porque cuando una previa no informativa se utilizó los cálculos posteriores para su Se fueron aún más bajos en comparación con el uso de la previa informativa utilizando todos los animales (**Suplementaria Cuadro 2**) o sólo ganado de carne (datos no mostrados). Esto confirma la hipótesis de que la prueba tenía un IDvet significativamente menor de Se en comparación con la prueba temprana (**Tabla 3**).

Nuestros resultados contradicen los obtenidos en estudios experimentales llevados a cabo en Francia, Bélgica y México, en los que los valores altos de Se (88,3, IC 95%: 81,1 a 95,5) y Sp (99,0, IC 95%: 98,4-99,6) fueron reportados (50). Esos ensayos sin embargo participan un número relativamente limitado de animales ($n = 77$) ya positiva a cualquiera de PCR, la cultura o la prueba de SIT, lo que representa una subpoblación potencialmente sesgada de todos los animales infectados presentes en un rebaño infectado, lo que podría conducir a una sobreestimación de la sensibilidad de la prueba (51).

Similar a la observación de estudio 1, los resultados de estudio 2 sugieren que una disminución en el valor ff corte-o en la interpretación de la prueba IDvet podría aumentar sustancialmente la sensibilidad de la prueba (ver **Tabla 3** y **Figura 1**), de acuerdo con un estudio anterior (47), Mientras se mantiene una alta especificidad fi (mediana de los valores posteriores > 93,9%). Teniendo en cuenta que en la UE se aplica la prueba Bovigam para maximizar el número de animales infectados detectados, esto puede ser un enfoque razonable cuando se analizan muestras procedentes de rebaños infectados. Sin embargo, puede ser necesaria una validación adicional de esta hipótesis.

En este caso, se utilizó un enfoque de doble población, porque se espera que los rebaños infectados ubicados en la misma región con los niveles actuales de prevalencia similares, como se refleja en la oficial bTB informa de los años anteriores (52). De hecho, la relación entre la prevalencia bTB estimado en cada región (Madrid / Castilla y Leon; **Tabla 3**)

y el reportado en el año 2016 es similar, 2,9 y 2,6, respectivamente, a pesar de que las estimaciones posteriores estaban por debajo de los valores más probable anteriores.

El uso de un análisis de clase latente permitió superar las limitaciones del enfoque estándar de oro, ya que todas las pruebas de referencia disponibles para la tuberculosis bovina tienen baja sensibilidad particularmente en las primeras etapas de la infección, cuando su detección es más crítico (4 , 53). Sin embargo, para la comparación entre el rendimiento de la IDvet y Bovigam pruebas de un modelo de clase latente

No se utilizó debido a que la población había sido seleccionado en base a una alta prevalencia esperada de la infección. Por lo tanto, la población evaluada no era representativa de la situación campo, de modo que sólo se permite una comparación de la realización de las pruebas en ese contexto muy específico. Aún así, los resultados obtenidos en esa población potencialmente sesgados sugerido que la prueba IDvet Se podría tener un menor en comparación con la prueba Bovigam. Para el estudio 2, se seleccionaron los animales al azar de los rebaños infectados en el que la prueba de SIT y el IDvet estaban siendo implementadas de manera rutinaria, y por lo tanto fueron considerados verdaderamente representativa de la situación en la que el rendimiento de la prueba estaba destinado a ser determinado.

En conclusión, nuestros resultados sugieren que la prueba IDvet puede tener una sensibilidad más baja que la Bovigam para el diagnóstico de bTB en los rebaños de ganado en España cuando se aplica el corte-o ff recomendado por el fabricante. La disminución de la corte o FF puede dar lugar a un aumento sustancial de la sensibilidad al tiempo que se mantiene un alto especificidad, a pesar de la generalización de ese resultado sería necesario verificación en la configuración epidemiológicos alternativos y condiciones.

DECLARACIÓN DE ÉTICA

Los animales incluidos en este estudio sólo fueron sometidos a las pruebas regulares realizadas en el marco del programa de español oficial para la erradicación de la tuberculosis bovina, y por lo tanto no hay investigación experimental con animales se llevó a cabo en este estudio.

CONTRIBUCIONES DE AUTOR

MdC, AB, PP, y JA concebido y realizado los análisis estadísticos. MdC, y JA redactó el manuscrito. JN, EP, AG, JS, RD, y OM participaron en la generación, recolección y preservación de los datos, y colaboraron en la interpretación de los resultados. AP, Ldj, y JA diseñó el estudio y coordinó el trabajo. Todos los autores revisados críticamente el manuscrito. Todos los autores leído y aprobado el manuscrito final.

FONDOS

Este trabajo fue parcialmente apoyado por el Programa de Tecnologías Avanzadas en Vigilancia Sanitaria (TAVS) de la Comunidad de Madrid (Ref. S2013 / ABI-2747).

EXPRESIONES DE GRATITUD

JA es beneficiario de un contrato postdoctoral Ramón y Cajal del Ministerio español de Economía, Industria y Competitividad (MINECO) (RYC-2016 hasta 20.422). Agradecemos a la Unidad de Micobacterias del Centro de Vigilancia Sanitaria VISAVET por su apoyo técnico.

MATERIAL SUPLEMENTARIO

El Material complementario para este artículo se puede encontrar en línea en:

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fvets.2018.00229/>

completa # complementaria-material de

Referencias

1. Collins JD. Tuberculosis en el ganado: la planificación estratégica para el futuro. *Veterinario Microbiol.* (2006) 112: 369-81. doi: 10.1016 / j.vetmic.2005.11.041
2. Primos DV, Roberts JL. La campaña de Australia para erradicar la tuberculosis bovina: la batalla por la libertad y más allá. *La tuberculosis* (2001) 81: 5-15. doi: 10.1054 / tube.2000.0261
3. Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria, Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades. El informe resumido de la Unión Europea sobre las tendencias y las fuentes de zoonosis, agentes zoonóticos y brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos en 2015. *EFSA J.* (2016) 14: e04634. doi: 10.2903 / j.efsa.2016.4634
4. de la Rúa-Domenech R, Goodchild AT, Vordermeier HM, Hewinson RG, Christiansen KH, Clifton-Hadley RS. Ante diagnóstico mortem de la tuberculosis en el ganado: una revisión de las pruebas de tuberculina, ensayo de gamma interferón y otras técnicas de diagnóstico auxiliares. *Res Vet Sci.* (2006) 81: 190-210. doi: 10.1016 / j.rvsc.2005.11.005
5. Alvarez J, Pérez A, Bezos J, Marques S, Grau A, Saez JL, et al. Evaluación de la sensibilidad y especificidad de las pruebas de diagnóstico de la tuberculosis bovina en rebaños de ganado infectados de forma natural utilizando un enfoque bayesiano. *Vet Microbiol.* (2012) 155: 38-43. doi: 10.1016 / j.vetmic.2011.07.034
6. Pollock JM, McNair J, Welsh MD, Girvin RM, Kennedy HE, Mackie DP, et al. Las respuestas inmunitarias en la tuberculosis bovina. *La tuberculosis* (2001) 81: 103-7. doi: 10.1054 / tube.2000.0258
7. Monaghan ML, ML Doherty, Collins JD, Kazda JF, Quinn PJ. La prueba de la tuberculina. *Vet Microbiol.* (1994) 40: 111-24. doi: 10.1016 / 0378-1135(94)90050-7
8. Madera PR, Rincón de Los Ángeles, Plackett P. Elaboración de una manera simple, rápida in vitro ensayo celular para la tuberculosis bovina basado en la producción de interferón gamma. *Res Vet Sci.* (1990) 49: 46-9. doi: 10.1016 / S0034-5288(18)31044-0
9. Anon. Documento de trabajo sobre erradicación de la tuberculosis bovina en la UE
Aceptado por la tuberculosis bovina Subgrupo del Grupo de Trabajo sobre el control de erradicación de enfermedades animales. SANCO / 10200/2006. (2006).
10. Pollock JM, Welsh MD, respuestas McNair J. inmunitarias en la tuberculosis bovina: hacia nuevas estrategias para el diagnóstico y control de la enfermedad. *Vet Immunol Immunopathol.* (2005) 108: 37-43. doi: 10.1016 / j.vetimm.2005.08.012
11. MAPAMA. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente.
Programa Nacional de Erradicación de la Tuberculosis Bovina 2017 (2017).
12. Madera PR, Jones SL. BOVIGAM: una in vitro prueba de diagnóstico celular para bovino tuberculosis. *La tuberculosis* (2001) 81: 147-55. doi: 10.1054 / tube.2000.0272
13. Lahuerta-Marin A, Gallagher M, McBride S, Skuce R, Menzies F, McNair J, et al. ¿Deberían quedarse o deberían irse? Relativa riesgo futuro de la tuberculosis bovina para el ganado de prueba positivo interferón-gamma dejados en granjas. *Vet Res.* (2015) 46:90. doi: 10.1186 / s13567-015-0242-8
14. Lahuerta-Marin A, McNair J, Skuce R, McBride S, Allen M, Strain SAJ, et al. Los factores de riesgo para el fracaso para detectar la tuberculosis bovina en el ganado de rebaños infectados por toda Irlanda del Norte (2004-2010). *Res Vet Sci.* (2016) 107: 233-9. doi: 10.1016 / j.rvsc.2016.06.014
15. Dean GS, Rodas SG, Coad M, Whelan AO, Cockle PJ, Clifford DJ, et al. dosis infecciosa mínima de *Mycobacterium bovis* en el ganado. *Infect Immun.* (2005) 73: 6467-71. doi: 10.1128 / IAI.73.10.6467-6471.2005
16. Alvarez J, Pérez A, Marques S, Bezos J, Grau A, de la Cruz ML, et al. Los factores de riesgo asociados con negativo en vivo los resultados del diagnóstico en el ganado de tuberculosis infectados con la especie bovina en España. *BMC Vet Res.* (2014) 10:14. doi: 10.1186 / 1746-6148-10-14
17. Clegg TA, Bueno M, Doyle M, Duignan A, Más SJ, Gormley E. El rendimiento del ensayo de interferón gamma cuando se utiliza como una prueba de diagnóstico o la garantía de calidad en *Mycobacterium bovis* rebaños infectados. *Anterior Vet Med.* (2017) 140: 116-21. doi: 10.1016 / j.prevetmed.2017.03.007
18. Gormley E, M Doyle, Duignan A, Bueno M, Más SJ, Clegg TA. La identificación de factores de riesgo asociados con la divulgación de falsos reactores tuberculosis bovina positivos utilizando el gamma-interferón (IFN γ) ensayo. *Vet Res.* (2013) 44: 117.
19. AESA. Ciencia opinión fi c en el uso de una prueba de interferón gamma para el diagnóstico de la tuberculosis bovina. *EFSA J.* (2012) 10: 2975. doi: 10.2903 / j.efsa.2012.2975
20. Collins J, Huynh M. Estimación de la exactitud de la prueba de diagnóstico sin plena verificación: una revisión de los métodos de clase latentes. *Stat Med.* (2014) 33: 4141-69. doi: 10.1002 / sim.6218
21. Kostoulas P, Nielsen SS, Branscum AJ, Johnson WO, Dendukuri N, Dhand NK, et al. STARD-BLCM: normas para la presentación de informes de precisión diagnóstica
22. Muller B, Vounatsou P, Ngandolo BN, Diguimbaye-Djaïbe C, Schiller I, Marghaufe B, et al. receptor Bayesiano operativo de estimación de característica de múltiples pruebas para el diagnóstico de la tuberculosis bovina en el ganado de Chad. *Más uno* (2009) 4: e0215. doi: 10.1371 / journal.pone.0008215
23. Clegg TA, Duignan A, Whelan C, Gormley E, Bueno M, Clarke J, et al. Utilizando el análisis de clases latentes para estimar las características de la prueba de la prueba gammainterferón, la prueba de la tuberculina comparativo intradérmica individual y un inmunoensayo multiplex en condiciones irlandesas. *Vet Microbiol.* (2011) 151: 68-. doi: 10.1016 / j.vetmic.2011.02.027
24. Pucken VB, Knubben-Schweizer G, Dopfer D, Groll A, Hafner-Marx A, Hormansdorfer S, et al. La evaluación de pruebas de diagnóstico para la tuberculosis bovina en la parte sur de Alemania: un análisis de clase latente. *Más uno* (2017) 12: e0179847. doi: 10.1371 / journal.pone.0179847
25. Birmingham ML, Handel IG, el vidrio EJ, Woolliams JA, de Clare Bronsvort BM, McBride SH, et al. Hui y el modelo de clase latente de Walter extenderse a estimar las propiedades de pruebas de diagnóstico a partir de datos de vigilancia: un modelo latente de los datos latentes. *Sci Rep.* (2015) 5: 11861. doi: 10.1038 / srep11861
26. O'Hare A, Orton RJ, Bessell PR, Kao RR. Estimación de parámetros epidemiológicos para la tuberculosis bovina en el ganado británico utilizando un enfoque de verosimilitud parcial Bayesiano. *Proc Biol Sci.* (2014) 281: 20140248.
27. Praud A, Boschioli ML, Meyer L, Garin-Bastuji B, Dufour B. Evaluación de la sensibilidad de la prueba del interferón gamma y la única prueba cervical comparativa intradérmica para el diagnóstico de la tuberculosis bovina en condiciones de campo. *Epidemiol Infect.* (2015) 143: 157-66. doi: 10.1017 / S0950268814000338
28. Alvarez J, Pérez AM, Bezos J, Casal C, Romero B, Rodríguez-Campos S, et al. Erradicación de la tuberculosis bovina en un grupo de animales en Madrid, España: estudio de la dinámica de transmisión dentro de la manada durante un período de 12 años. *BMC Vet Res.* (2012) 8: 100. doi: 10.1186 / 1746-6148-8-100
29. Casal C, Alvarez J, Bezos J, Quick H, Diez-Guerrier A, Romero B, et al. Efecto del sitio de inoculación de derivado de proteína fi ed puri bovina (PPD) en la piel del grosor del pliegue aumento en el ganado de O FFI rebaños claramente tuberculosis libres y tuberculosis infectados. *Anterior Vet Med.* (2015) 121: 86-92. doi: 10.1016 / j.prevetmed.2015.07.001
30. Robin X, Turck N, Hainard A, Tiberti N, Lisacek F, Sánchez JC, et al. Proc: un paquete de código abierto para R y S para analizar y comparar las curvas ROC. *BMC Bioinformatics* (2011) 12:77. doi: 10.1186 / 1471-210 05/12/77
31. Sing T, Sander O, Beerenwinkel N, Lengauer T. ROC: la visualización de clasificación rendimiento fi er en R. bioinformática (2005) 21: 3940-1. doi: 10.1093 / bioinformática / bti623
32. R Core Team. R: Un lenguaje y un entorno para el cálculo estadístico. Viena: R Fundación para la Computación de Estadística (2017). Disponible en línea en: <https://www.R-project.org/>.
33. Gardner IA, Stryhn H, Lind P, Collins MT. dependencia condicional entre pruebas A ff refleja el diagnóstico y la vigilancia de las enfermedades animales. *Anterior Vet Med.* (2000) 45: 107-22. doi: 10.1016 / S0167-5877(00)00119-7
34. Branscum AJ, Gardner IA, Johnson WO. Estimación de la sensibilidad de la prueba diagnóstica y especificidad a través del modelado bayesiano. *Anterior Vet Med.* (2005) 68: 145-63. doi: 10.1016 / j.prevetmed.2004.12.005
35. Gormley E, MB Doyle, Fitzsimons T, K McGill, Collins JD. El diagnóstico de la *Mycobacterium bovis* la infección en el ganado bovino mediante el uso de la gammainterferón (Bovigam) ensayo. *Vet Microbiol.* (2006) 112: 171-9. doi: 10.1016 / j.vetmic.2005.11.029
36. Madera PR, Rincón de Los Ángeles, Röthel JS, Baldock C, Jones SL, Primos DB, et al. comparación Campo de la ensayo de interferón-gamma y la prueba de la tuberculina intradérmica para el diagnóstico de la tuberculosis bovina. *Aust Vet J.* (1991) 68: 286-90. doi: 10.1111 / j.1751-0813.1991.tb03254.x
37. Madera PR, Rincón de Los Ángeles, Röthel JS, Ripper JL, fi s T, McCormick BS, et al. Una evaluación de campo de pruebas de diagnóstico serológico y celulares para la tuberculosis bovina. *Vet Microbiol.* (1992) 31: 71-9.
38. Núñez-García J, Downs SH, Parry JE, Abernethy DA, Broughan JM, Cameron AR, et al. Los meta-análisis de la sensibilidad y especificidad de las pruebas de diagnóstico ante mortem y post mortem para la detección de la tuberculosis bovina en el Reino Unido y

- Irlanda.** Anterior Vet Med. (2017) 153: 94-107. doi: 10.1016 / j.prevetmed.2017.02.017
39. Dendukuri N, Joseph L. Bayesiano se acerca a modelar la dependencia condicional entre pruebas de diagnóstico múltiples. La biometría (2001) 57: 158-67. doi: 10.1111 / j.0006-341X.2001.00158.x
40. Branscum AJ, Gardner IA, Johnson WO. modelado bayesiano de parámetros y la prevalencia del grupo de animales. Anterior Vet Med. (2004) 66: 101-12. doi: 10.1016 / j.prevetmed.2004.09.009
41. Un Gelman, Rubin DB. Inferencia de simulación iterativa utilizando múltiples secuencias. Stat Sci. (1992) 7: 457-72.
42. Lunn D, D Spiegelhalter, Thomas A, Mejor N. El proyecto FALLOS: evolución, la crítica y las direcciones futuras. Stat Med. (2009) 28: 3049-67. doi: 10.1002 / sim.3680
43. Sturtz S, Ligges U, Gelman A. R2OpenBUGS: Un paquete para correr OpenBUGS de R. (2010) Disponible en línea en: <https://cran.r-project.org/web/paquetes/R2OpenBUGS/viñetas/R2OpenBUGS.pdf>.
44. Álvarez J, de Juan L, Bezos J, Romero B, Sáez JL, Marqués S, et al. Efecto de paratuberculosis en el diagnóstico de la tuberculosis bovina en un rebaño de ganado con infección amixed usando ensayo de detección de interferón-gamma. Vet Microbiol. (2009) 135: 389-93. doi: 10.1016 / j.vetmic.2008.09.060
45. Neill SD, Cassidy J, Hanna J, Mackie DP, Pollock JM, Clements A, et al. Detección de *Mycobacterium bovis* la infección en el ganado de ensayo negativo de la piel con un ensayo para bovino interferón-gamma. Vet Rec. (1994) 135: 134-5. doi: 10.1136 / vr.135.6.134
46. Vordermeier M, Goodchild A, Clifton-Hadley R, de la Rúa R. El interferón campo de prueba: antecedentes, principios y el progreso. Vet Rec. (2004) 155: 37-8.
47. Casal C, Infantes JA, Risalde MA, Diez-Guerrier A, Domínguez M, Moreno I, et al. pruebas de detección de anticuerpos mejorar la sensibilidad de diagnóstico de la tuberculosis en el ganado. Res Vet Sci. (2017) 112: 214-21. doi: 10.1016 / j.rvsc.2017.05.012
48. Alvarez J, de Juan L, Bezos J, Romero B, Saez JL, Reviriego Gordejo FJ, et al. La interferencia de la paratuberculosis con el diagnóstico de la tuberculosis en un rebaño de cabra fl con una infección mixta natural. Vet Microbiol. (2008) 128: 72-80. doi: 10.1016 / j.vetmic.2007.08.034
49. Aranaz A, De Juan L, Bezos J, Alvarez J, Romero B, Lozano F, et al. Evaluación de herramientas de diagnóstico para la erradicación de la tuberculosis bovina en el ganado co-infectadas con *Mycobacterium bovis* y *M. avium* subsp. paratuberculosis. Vet Res. (2006) 37: 593-606. doi: 10.1051 / vetres: 2006021
50. Validación informe I. Una solución completa para el diagnóstico de bovino tuberculosos. IDvet tuberculina PPD antígenos y la pantalla de identificación IFN-g ELISA. 1-24. © Rumiantre
51. Lijmer JG, Mol BW, Heisterkamp S, Bonsel GJ, Prins MH, van der Meulen JH, et al. La evidencia empírica de sesgo relacionada con el diseño en estudios de pruebas de diagnóstico. J AmMed Assoc. (1999) 282: 1061-6. doi: 10.1001 / jama.282.11.1061
52. MAPAMA. Informe Final Técnico, Programa Nacional de la Tuberculosis Bovina, Año 2016. SANTE / 2016 / ES / SI2725989 (2017).
53. Adams LG. En vivo y in vitro diagnóstico de *Mycobacterium bovis* infección. Rev Sci Tech. (2001) 20: 304-24. doi: 10.20506 / rst.20.1.1267

El conflicto de intereses declaración: Los autores declaran que la investigación se llevó a cabo en ausencia de cualquier relación comerciales o financieras que puedan interpretarse como un potencial conflicto de intereses.

Copyright © 2018 de la Cruz, Branscum, Nacar, Páginas, Pozo, Pérez, Grau, Saez, de Juan Diaz, Minguez y Álvarez. Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Reconocimiento (CC BY). No se permite el uso, distribución o reproducción en otros foros, siempre que el autor original (s) y el propietario (s) de derechos de autor se acreditan y que la publicación original en esta revista se cita, de conformidad con la práctica académica aceptada. No se permite el uso, distribución o reproducción que no cumpla con estos términos.