

**PROGRAMAS NACIONALES
DE ERRADICACIÓN:**

**BRUCELOSIS BOVINA Y
BRUCELOSIS OVINA Y
CAPRINA**



**BRUCELOSIS:
PROTOCOLO DE SEGUIMIENTO
EN CASOS DE SUEROS SOSPECHOSOS (SCSS)
EN ÁREAS LIBRES DE ENFERMEDAD**

Contenido

BRUCELOSIS:

Protocolo de seguimiento en casos de sueros sospechosos (SCSS) en áreas libres de enfermedad 2021

ANEXO I. Actuación en explotaciones en casos de aborto

ANEXO II. Protocolo uso brucelina

ANEXO III. Valoración del riesgo para uso de brucelina



Brucelosis: Protocolo de Seguimiento en Casos de Sueros Sospechosos (S.C.S.S.) en áreas libres de enfermedad.

Definición de caso.

Se entiende por caso de suero sospechoso a Brucelosis, el que aparece en una explotación calificada situada en una zona libre de Brucelosis en la que, con motivo de un chequeo serológico se detecte una seropositividad a títulos bajos o moderados en un número reducido de animales, y los datos epidemiológicos y clínicos no hagan sospechar de la presencia de la infección por *Brucella* spp.

Procedimiento.

- 1. Sacrificio de los animales seropositivos y toma de muestras para investigación bacteriológica.** Los animales con títulos a la reacción de Fijación de Complemento (FC) ≥ 20 UIFC/ml se sacrificarán y muestrearán según el [Manual de Toma de Muestras para el diagnóstico etiológico de Brucelosis, edición vigente on line](#), al objeto de proceder a la investigación bacteriológica.

El aislamiento de *Brucella* spp. confirmará el foco de Brucelosis.

- Un resultado de aislamiento negativo no permitirá descartar la infección.
- En este caso, se realizará el *chequeo serológico completo* del censo entre 2 y 4 semanas después del último sacrificio.

- 2. Chequeo serológico completo de la explotación.** La totalidad del censo > de 12 meses se analizará con la prueba de FC.

- *Un resultado negativo de la totalidad de la explotación a FC, permite descartar el foco de Brucelosis, si la investigación bacteriológica realizada según el punto 1 ha resultado negativa y los datos epidemiológicos y clínicos permiten seguir descartando la infección.*

- Si se detectase algún animal positivo, se realizará sobre el mismo suero la prueba de ELISA de competición, si está disponible. En caso contrario los animales se aislarán y resangrarán a los 30 días, analizándose con FC. Un resultado negativo permite descartar el foco, pero si es positivo no es posible descartar la infección y debe proseguirse con las actividades de erradicación de acuerdo con el Programa nacional o realizar la valoración de riesgo para el uso de la brucelina, si está disponible.

- 3. Prueba cutánea de la brucelina.** Véase Anexo II

En el caso de ocurrencia de abortos véase Anexo I

GRÁFICO 1. Esquema de las actuaciones en explotaciones con casos de sueros sospechosos a Brucelosis en zonas libres de enfermedad

Casos de Sueros Sospechosos en Explotaciones B4 o M4, según la información disponible de la UNIDAD EPIDEMIOLÓGICA (datos clínicos, epidemiológicos y de laboratorio), a criterio del responsable de sanidad animal.

- **Sacrificio** e investigación bacteriológica del/los animal/es FC+:
 - Aislamiento positivo < **CONFIRMA FOCO**.
 - Aislamiento negativo < **NO DESCARTA FOCO**.
- Chequeo del Rebaño Completo a las **2-4 semanas después del sacrificio**:
 - Todo el rebaño negativo a FC y aislamiento negativo: **DESCARTA FOCO**.
 - Reaccionantes positivos a FC: uso del cELISA o aislamiento y repetición de FC A LOS 30 días y si positivos se continúa con los criterios del **programa de erradicación**, enfatizando la investigación bacteriológica de los animales sacrificados; o realizar la valoración de riesgo para el uso de la brucelina, si está disponible.
 - Prueba cutánea de la brucelina

Enlace:

- Manual de Toma de Muestras para el Diagnóstico Etiológico de Brucelosis por Métodos Bacteriológicos (aislamiento, identificación y caracterización genética):

<http://rasve.mapa.es/Publica/InformacionGeneral/Manuales/manuales.asp#Brucelosis>



ANEXO I

Actuación en explotaciones con casos de aborto

Definición de caso.

Dependiendo del tipo de explotación y del sistema de manejo, la presentación esporádica de abortos o nacidos débiles pueden considerarse habituales, y atribuibles o no a enfermedades infecciosas, incluida la Brucelosis. El aborto es el signo clínico más claro de Brucelosis. Por ello, además, cuando las frecuencias de abortos o de nacidos débiles se incrementen de manera notoria en explotaciones B4 o M4, localizadas en zonas libres de enfermedad, cualquier caso de aborto o nacido débil debería ser investigado de acuerdo con este protocolo y adicionalmente con protocolos de diagnóstico diferencial.

Procedimiento.

1. Investigación serológica de la madre y toma de muestras de la madre, del feto y anejos fetales para investigación bacteriológica.

Se remitirán al Laboratorio muestras de fetos, anejos fetales, hisopo vaginal y leche, según las condiciones detalladas en el *Manual de Toma de Muestras para el diagnóstico etiológico de Brucelosis* (páginas 5-6), para iniciar una investigación bacteriológica.



Asimismo, se enviará una muestra de sangre sin anticoagulante para ser analizada con las pruebas de Rosa de Bengala (RB) y de Fijación del Complemento (FC).

Si bien estas muestras presentan un elevado interés por la información potencial que pueden aportar, el **enorme peligro de contagio y diseminación** a partir de las mismas pone de manifiesto la necesidad de ser conservadores a la hora de manipular muestras de los abortos.

El aislamiento de *Brucella* spp. en las muestras del feto o de sus anejos, en leche o en flujo vaginal, confirmará el foco de Brucelosis. No obstante, la ausencia de aislamiento no puede descartar la infección.

2. Sacrificio del animal que ha abortado seropositivo a Brucelosis e investigación bacteriológica posterior.

En el caso de serología positiva de la hembra, se procederá al sacrificio inmediato y al muestreo según el *Manual de Toma de Muestras para el diagnóstico etiológico de Brucelosis* (página 6) con objeto a proceder a la investigación bacteriológica. Simultáneamente se tomará una nueva muestra de sangre sin anticoagulante que será analizada por FC.

- El aislamiento de *Brucella* spp. confirmará el foco de Brucelosis.
- Un resultado negativo a bacteriología no permitirá descartar la infección, y debe recurrirse a la información proporcionada por la serología del animal. Si el animal diera resultado positivo a FC, se procederá al chequeo serológico completo de la explotación entre 2 y 4 semanas después del sacrificio del animal abortado.

3. Chequeo serológico completo de la explotación. La totalidad del censo se analizará con las pruebas RB y FC.

- *Un resultado negativo de la totalidad de la explotación a FC, permite descartar el foco de Brucelosis, si la investigación bacteriológica realizada según el punto 2 ha resultado negativa y los datos epidemiológicos y clínicos permiten descartar la infección.*
- Si se detectase algún animal positivo en este chequeo, se puede usar la prueba cELISA, que si es positiva no será posible descartar la infección y debe proseguirse con las actividades de erradicación de acuerdo con el Programa nacional; o realizar la valoración de riesgo para el uso de la brucelina, si está disponible.

4. Prueba cutánea de la brucelina.

GRÁFICO 2. Esquema de las actuaciones en explotaciones con casos de aborto

Sospecha de Caso de Brucelosis por ABORTO en EXPLOTACIONES B4 o M4

El ABORTO es el signo clínico más claro de BRUCELOSIS.
Debe tomarse muestras de fetos y anejos fetales, y de leche, y una muestra de suero del animal abortado y enviarse al Laboratorio

Análisis bacteriológico: el aislamiento de *Brucella* spp. confirma el foco de infección
Análisis serológico por RB y FC: cualquier resultado positivo debe investigarse

Sacrificio del animal y toma de muestra para investigación bacteriológica y serológica

Resultados

Aislamiento positivo CONFIRMA FOCO.

Aislamiento negativo NO DESCARTA FOCO y debe recurrirse al resultado de la **serología**. Si el animal es FC+: chequeo del rebaño completo a las 2-3 semanas después del sacrificio:

- Todo el rebaño negativo a FC < **DESCARTA FOCO.**
- Reaccionantes positivos a FC, se puede usar la prueba cELISA que si es positiva** se aplican los criterios del programa de erradicación, enfatizando la investigación bacteriológica de los animales sacrificados; o realizar la valoración de riesgo para el uso de la brucelina, si está disponible.
- Prueba cutánea de la brucelina**

ANEXO II

PRUEBA CUTÁNEA DE LA BRUCELINA

La prueba cutánea de la brucelina tiene una especificidad muy elevada, de modo que los animales sin vacunar que son serológicamente negativos y reaccionan positivamente en la prueba de la brucelina deben considerarse animales infectados (78). Además, los resultados de esta prueba pueden ayudar a interpretar reacciones serológicas que se consideran como reactores serológicos falsos positivos (FPSR) debidas a una infección por bacterias que tienen una reacción cruzada, especialmente en áreas libres de brucelosis (23, 74, 78).

Previamente a su realización es necesario realizar una evaluación de riesgo (Anexo iii).

Procedimiento:

- Se inyecta intradérmicamente 0,1 ml de brucelina en la parte anterior de las tablas del cuello.
- La prueba se lee después de 48–72 horas.
- El grosor de la piel en el sitio de la inyección se mide con un cutímetro antes y después de la inyección.
- Una reacción positiva fuerte se reconoce fácilmente como una inflamación local e induración. No obstante, las reacciones dudosas requieren una interpretación cuidadosa. Un engrosamiento de la piel de 1mm o más debe considerarse como una reacción positiva.

La inoculación intradérmica de la brucelina puede originar una anergia temporal de la respuesta inmune celular. Por tanto, en general se recomienda un intervalo de 6 semanas entre dos pruebas realizadas sobre el mismo animal.

Consideraciones específicas en la ejecución de la brucelina.

Se realizará en el/los animales positivos y en una muestra suficiente del rebaño (5-7 animales), focalizando el muestreo en animales de más riesgo o los animales con resultado RB+.

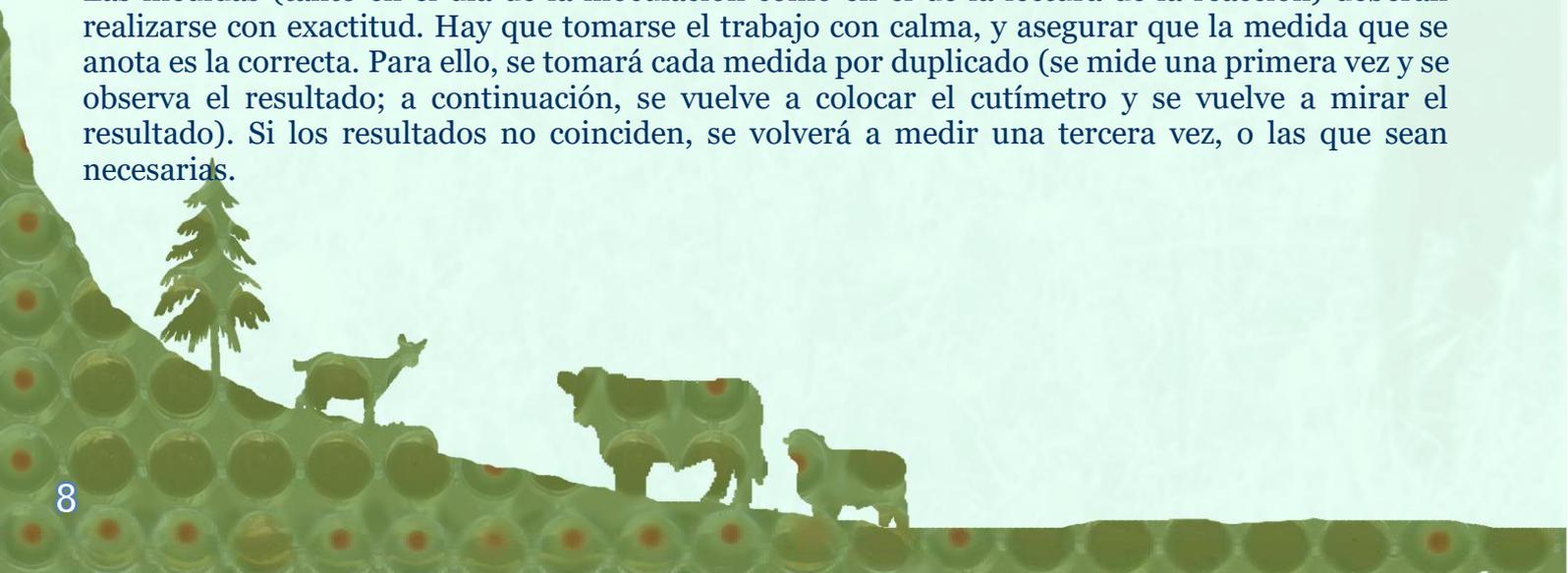
Para la realización de la prueba de la PCB hay que tener en cuenta que el incremento de grosor de la piel que indica un caso positivo es muy escaso: de tan sólo 1-1,5 mm, por lo tanto, es preciso realizar todo el procedimiento diagnóstico con extrema pulcritud.

En las tablas del cuello se realizará una palpación previa al rasurado para comprobar que no existan durezas o engrosamientos de la piel que podrían estar causadas por tratamientos (IDTB, vacunas, antiparasitarios, etc.) previos en la misma región.

Se debe proceder a un cuidadoso rasurado en las tablas del cuello. Se efectuarán el rasurado en dos zonas de aproximadamente 5x5 cm, separadas unos 5-10 cm, en la parte media de las tablas del cuello, a la misma altura, una adelantada con respecto a la otra.

Para asegurar el buen rasurado sin dañar la piel, deberá utilizarse una maquinilla peladora o una maquinilla desechable de afeitar de doble hoja (tipo Gillette).

Las medidas (tanto en el día de la inoculación como en el de la lectura de la reacción) deberán realizarse con exactitud. Hay que tomarse el trabajo con calma, y asegurar que la medida que se anota es la correcta. Para ello, se tomará cada medida por duplicado (se mide una primera vez y se observa el resultado; a continuación, se vuelve a colocar el cutímetro y se vuelve a mirar el resultado). Si los resultados no coinciden, se volverá a medir una tercera vez, o las que sean necesarias.



Se puede emplear un cutímetro digital, que tiene muchísima más precisión (señala centésimas de milímetro).

Hemos indicado que hay que rasurar dos zonas. En la más craneal se inoculará en el 0,1 ml de suero fisiológico, y en la zona más caudal, se inoculará 0,1 ml de brucelina. Después de la inoculación se comprobará la existencia de la “lenteja”.

El motivo de doble inoculación es detectar posibles reacciones inespecíficas que pudieran provocar un ligero incremento en el grosor de la piel. Las reacciones inespecíficas más probables son fotosensibilización (más común en animales de capa clara), o las picaduras y mordeduras de insectos. Si hay incrementos del grosor de la piel similares en las zonas de inoculación de la brucelina y del suero fisiológico, la respuesta se considerará negativa.

La lectura se realizará a las 72 ± 4 horas. En la lectura se prestará atención a la presencia de signos clínicos. En animales infectados, el signo clínico más característico es la induración. La presencia de escaras, dolor o reacción ganglionar es muy rara.

Se considerará positivo un animal si hay presencia de signos clínicos, o un incremento del grosor de la piel igual o superior a 1,0 mm (de acuerdo con los trabajos de Saegerman y col, (1999) y de De Massis (2005).

En paralelo a la aplicación del protocolo de uso de la brucelina es conveniente la toma de muestras de heces para la investigación de *Yersinia enterocolítica*, cuya sistemática de realización se encuentra disponible y puede ser solicitada al Laboratorio Central de Veterinaria de Algete.



LABORATORIO CENTRAL DE SANIDAD ANIMAL DE SANTA FE

DIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD DE LA PRODUCCIÓN AGRARIA
SUBDIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD E HIGIENE ANIMAL Y TRAZABILIDAD

Anexo III

VALORACIÓN DEL RIESGO DE INFECCIÓN BRUCELAR EN EXPLOTACIONES BOVINAS.

CUESTIONARIO PARA EVALUAR EL RIESGO DE INTRODUCCIÓN Y DISPERSIÓN DE BRUCELOSIS EN GRANJAS DE BOVINOS, OVINOS O CAPRINOS

Este cuestionario tiene como finalidad recoger información básica para valorar de forma cualitativa el riesgo de infección brucelar en las explotaciones bovinas, ovinas o caprinas.

1.- Datos de la explotación.

Código de explotación: _____ B4/M4 desde: _____

Coordenadas de la explotación: X: _____ Y: _____

| TIPO DE EXPLOTACIÓN | |
|--------------------------------------|-----------|
| Producción de leche | Sí C No C |
| De reproducción de carne | Sí C No C |
| Cebadero | Sí C No C |
| De reproducción mixta de carne/leche | Sí C No C |
| De reproducción de Lidia | Sí C No C |
| Otra | Sí C No C |

| TIPO DE REPOSICIÓN | |
|--------------------|-----------|
| Interna | Sí C No C |
| Externa | Sí C No C |
| Ambas | Sí C No C |

| RÉGIMEN DE LA EXPLOTACIÓN | |
|---------------------------|-----------|
| Intensivo | Sí C No C |
| Semi-extensivo | Sí C No C |
| Extensivo | Sí C No C |
| Otros | Sí C No C |

| CENSO DE BOVINOS | |
|------------------------------|--|
| Menos de 12 meses | |
| Novillas (12 meses a 2 años) | |
| Vacas (más de 2 años) | |
| Sementales | |

| CENSOS DE OTRAS ESPECIES | |
|--------------------------|--|
| Ovinos reproductores | |
| Caprinos reproductores | |
| Porcinos | |
| Otros | |

2.- Antecedentes serológicos de la explotación.

| DATOS DEL CONTROL SEROLÓGICO INICIAL | |
|---|--|
| FECHA de la toma de las muestras del control serológico | |
| ANIMALES INVESTIGADOS | |
| ANIMALES POSITIVOS (RB) | |
| ANIMALES POSITIVOS (RFC) | |

| DATOS DEL CONTROL SEROLÓGICO A LOS 30 DÍAS | | |
|--|-----------------------|------------------------|
| CROTAL | Resultado RFC (día 0) | Resultado RFC (día 30) |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |

Por cada animal con título superior a 40 en RFC el primer día, **10 puntos**.
Si hay seroconversión con aumento del título, asignar **25 puntos por animal**.

3.- Antecedentes clínicos de la explotación.

Evidencias de signos clínicos compatibles con brucelosis en los últimos dos años, de acuerdo con lo que ha manifestado el veterinario de la AD SG o de explotación:

D./D^a _____, DNI _____

| ANTECEDENTES CLÍNICOS | | Puntos | |
|---|------|--------|------|
| Aumento del número de abortos | Sí C | (50) | No C |
| Aumento del número de nacidos débiles o muerte perinatal | Sí C | (20) | No C |
| Aumento en el número de retenciones placentarias | Sí C | (20) | No C |
| Orquitis en machos | Sí C | (25) | No C |
| Aumento en número de cojeras | Sí C | (5) | No C |
| Disminución de la producción lechera (de causa desconocida) | Sí C | (10) | No C |
| ¿La explotación ha sido positiva en los últimos 5 años? | Sí C | (25) | No C |
| Alguno de los animales seropositivos ¿es hijo de una hembra que haya sido seropositiva? | Sí C | (25) | No C |

4.- Posibles fuentes de contagio y transmisión.

| | | | |
|--|------|------|------|
| ¿Hay rebaños próximos no calificados? | Sí C | (20) | No C |
| ¿Realiza trashumancia o trasterminancia? | Sí C | (10) | No C |
| ¿Comparte pastos con otros rebaños? | Sí C | (5) | No C |
| ¿Posible contacto con suidos silvestres? | Sí C | (10) | No C |
| ¿Posible contacto con liebres? | Sí C | (5) | No C |

5. Valoración del riesgo.

FECHA de la valoración del riesgo: _____

NOMBRE Y APELLIDOS DEL VETERINARIO OFICIAL QUE REALIZA LA VALORACIÓN

PUNTUACIÓN TOTAL: _____

EVALUACIÓN DEL RIESGO: _____

Lugar, fecha y firma

VALORACIÓN DEL RIESGO MEDIANTE EL CUESTIONARIO:

Suma el total de puntos indicados en paréntesis que se indica junto a cada respuesta.

Valor igual o superior a **100**: **RIESGO ALTO**

Valor superior a **50** e inferior a **100**: **RIESGO MEDIANO**

Valor inferior o igual a **50**: **RIESGO BAJO**

RIESGO ALTO: queda excluida la posibilidad de realizar la prueba de la brucelina. El o los reactores positivos deberán ser sacrificados, y sometidos a toma de muestras de tejidos y fluidos para confirmar o descartar la infección brucelar.

RIESGO MEDIANO: queda excluida la posibilidad de realizar la prueba de la brucelina en una primera fase, pero puede valorarse en el caso de que tras el sacrificio de los reactores no se consigue el aislamiento de la bacteria

RIESGO BAJO: se puede utilizar la brucelina de acuerdo al protocolo.