

I. Disposiciones generales

MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACIÓN

17233 REAL DECRETO 1047/2003, de 1 de agosto, por el que se modifica el Real Decreto 2611/1996, de 20 de diciembre, por el que se regulan los programas nacionales de erradicación de enfermedades de los animales.

El Real Decreto 2611/1996, de 20 de diciembre, por el que se regulan los programas nacionales de erradicación de enfermedades de los animales, establece en los artículos 22, 27 y 32 y 42 el régimen de movimiento de los animales de la especie bovina, ovina y caprina, en función del resultado de la ejecución de los programas nacionales de erradicación de la tuberculosis, la leucosis enzoótica bovina y brucelosis bovina, ovina y caprina. En función de la favorable evolución de estas enfermedades en España, resulta necesario modificar dicho régimen de movimientos de animales, tanto con destino a vida como para sacrificio, dentro del territorio nacional, con el establecimiento de previsiones más estrictas que redunden en un aumento de las explotaciones calificadas.

Adicionalmente, y de acuerdo con las nuevas técnicas existentes, debe procederse a una modificación puntual en el régimen de las vacunaciones contra la brucelosis bovina, así como de las pruebas de diagnóstico de dicha enfermedad, al tiempo que se incluye como método de diagnóstico de la tuberculosis bovina el gamma-interferón. Por último debe atenderse a la necesaria adaptación del Real Decreto 2611/1996 a la Ley 8/2003, de 24 de abril, de Sanidad Animal.

En la elaboración de este real decreto han sido consultadas las comunidades autónomas y los sectores afectados.

En su virtud, a propuesta del Ministro de Agricultura, Pesca y Alimentación, de acuerdo con el Consejo de Estado y previa deliberación del Consejo de Ministros en su reunión del día 1 de agosto de 2003,

DISPONGO:

Artículo único. *Modificación del Real Decreto 2611/1996, de 20 de diciembre, por el que se regulan los programas nacionales de erradicación de enfermedades de los animales.*

El Real Decreto 2611/1996, de 20 de diciembre, por el que se regulan los programas nacionales de erradicación de enfermedades de los animales, queda modificado como sigue:

Uno. El artículo 3 se sustituye por el siguiente:

«Artículo 3. *Definiciones.*

A efectos de lo dispuesto en este real decreto, se entenderá por:

A) En lo que se refiere a la brucelosis en los bovinos:

a) Explotaciones bovinas del tipo B₁: las explotaciones en las que se desconocen los antecedentes clínicos y la situación en cuanto a la vacunación y a los controles serológicos en los dos últimos años.

b) Explotaciones bovinas del tipo B₂: las explotaciones en las que se conocen los antecedentes clínicos, la situación en cuanto a la vacunación y a los controles serológicos, y en las que se efectúan pruebas de control de rutina para hacer pasar a dichas ganaderías a los tipos B₃ y B₄.

Se considerará explotación bovina del tipo B₂ negativa aquella que, sin haber alcanzado aún la calificación de indemne u oficialmente indemne de brucelosis bovina, todo el censo de la explotación, susceptible por su edad de ser examinado, haya superado, con resultado favorable, al menos una de las baterías de pruebas de diagnóstico previstas en el Real Decreto 1716/2000.

Se considerará explotación bovina del tipo B₂ positiva aquella que, sin haber alcanzado aún la calificación de indemne u oficialmente indemne de brucelosis bovina, al menos un animal, susceptible por su edad de ser examinado, no haya sido sometido a la totalidad de las baterías de pruebas de diagnóstico previstas en el Real Decreto 1716/2000, o no las haya superado con resultado favorable.

c) Explotaciones bovinas del tipo B₃: las explotaciones indemnes de brucelosis según lo establecido en el Real Decreto 1716/2000.

d) Explotaciones bovinas del tipo B₄: las explotaciones oficialmente indemnes de brucelosis, según lo establecido en el Real Decreto 1716/2000.

e) Explotaciones bovinas del tipo B₅: las explotaciones de tipo B₃ o B₄ a las que se les ha suspendido la calificación sanitaria, de conformidad con lo dispuesto en el Real Decreto 1716/2000.

f) Explotaciones bovinas del tipo B_R: las explotaciones de tipo B₃ o B₄ a las que se les ha retirado la calificación sanitaria, de conformidad con lo dispuesto en el Real Decreto 1716/2000.

B) En lo que se refiere a tuberculosis bovina:

a) Explotaciones bovinas del tipo T₁: las explotaciones en las que se desconocen los antecedentes clínicos y la situación en cuanto a la reacción a la tuberculina, en los dos últimos años.

b) Explotaciones bovinas del tipo T₂: las explotaciones en las que se conocen los antecedentes clínicos, la situación en cuanto a la reacción de la tuberculina y en las que se efectúan pruebas de control de rutina para hacer pasar a dichas explotaciones al tipo T₃.

Se considerará explotación bovina del tipo T₂ negativa aquella que, sin haber alcanzado aún la calificación de oficialmente indemne de tuberculosis bovina, todo el censo de la explotación, susceptible por su edad de ser examinado, haya superado, con resultado favorable, al menos una de las pruebas de diagnóstico previstas en el Real Decreto 1716/2000.

Se considerará explotación bovina del tipo T₂ positiva aquella que, sin haber alcanzado aún la calificación de oficialmente indemne de tuberculosis bovina, al menos un animal, susceptible por su edad de ser examinado, no haya sido sometido a la totalidad de las pruebas de diagnóstico previstas en el Real Decreto 1716/2000, o no las haya superado con resultado favorable.

c) Explotaciones bovinas del tipo T₃: las explotaciones oficialmente indemnes de tuberculosis, según lo establecido en el Real Decreto 1716/2000.

d) Explotaciones bovinas del tipo T_S: las explotaciones de tipo T₃ a las que se les ha suspendido la calificación sanitaria, de conformidad con lo dispuesto en el Real Decreto 1716/2000.

e) Explotaciones bovinas del tipo T_R: las explotaciones de tipo T₃ a las que se les ha retirado la calificación sanitaria, de conformidad con lo dispuesto en el Real Decreto 1716/2000.

C) En lo que se refiere a brucelosis ovina y caprina por *brucella melitensis*:

a) Explotaciones ovinas y caprinas del tipo M₁: las explotaciones en las que se desconocen los antecedentes clínicos y la situación en cuanto a la vacunación y a los controles serológicos, en los dos últimos años.

b) Explotaciones ovinas y caprinas del tipo M₂: las explotaciones en las que se conocen los antecedentes clínicos, la situación en cuanto a la vacunación y a los controles serológicos, y en las que se efectúan pruebas de control de rutina para hacer pasar a dichas ganaderías a los tipos M₃ y M₄.

Se considerará explotación bovina del tipo M₂ negativa aquella que, sin haber alcanzado aún la calificación de indemne u oficialmente indemne de brucelosis, todo el censo de la explotación, susceptible por su edad de ser examinado, haya superado, con resultado favorable, al menos una de las pruebas de diagnóstico previstas en el Real Decreto 2121/1993.

Se considerará explotación bovina del tipo M₂ positiva aquella que, sin haber alcanzado aún la calificación de indemne u oficialmente indemne de brucelosis, al menos un animal, susceptible por su edad de ser examinado, no haya sido sometido a la totalidad de las pruebas de diagnóstico previstas en el Real Decreto 2121/1993, o no las haya superado con resultado favorable.

c) Explotaciones ovinas y caprinas del tipo M₃: las explotaciones indemnes de brucelosis según lo establecido en el Real Decreto 2121/1993, de 3 de diciembre.

d) Explotaciones ovinas y caprinas del tipo M₄: las explotaciones oficialmente indemnes de brucelosis, según lo establecido en el Real Decreto 2121/1993, de 3 de diciembre.

e) Explotaciones bovinas del tipo M_S: las explotaciones de tipo M₃ o M₄ a las que se les ha suspendido la calificación sanitaria, de conformidad con lo dispuesto en el Real Decreto 1716/2000.

f) Explotaciones bovinas del tipo M_R: las explotaciones de tipo M₃ o M₄ a las que se les ha retirado la calificación sanitaria, de conformidad con lo dispuesto en el Real Decreto 1716/2000.

D) Animal sospechoso: todo bovino que presente síntomas que permitan sospechar la presencia de brucelosis, tuberculosis, leucosis enzoótica o perineumonía contagiosa, y todo ovino y caprino que presente síntomas que permitan sospechar la existencia de brucelosis por *brucella melitensis*, y respecto de los cuales no se ha confirmado oficialmente un diagnóstico apropiado, o no se ha confirmado oficialmente la existencia de una o más de estas enfermedades, o bien por otras razones de carácter epidemiológico, a juicio de la autoridad competente, no se puede descartar la presencia de cualquiera de las citadas enfermedades.

E) Autoridades competentes: La Dirección General de Ganadería del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación será la autoridad competente en materia de elaboración, planificación y coordinación de los programas nacionales de erradicación de enfermedades de los animales e informará a la Comisión de la Unión Europea de la incidencia y evolución de estas enfermedades, según se establece en la normativa comunitaria.

Los órganos competentes de las comunidades autónomas serán los responsables de la ejecución y desarrollo de dichos programas en el ámbito de sus respectivos territorios.

F) Medios de transportes: los vehículos automóviles, los vehículos que circulen por raíles, las aeronaves, así como las bodegas de los barcos o contenedores para el transporte de animales vivos por tierra, mar o aire.

G) Explotación de cebo o cebadero: aquella que no dispone de animales destinados a la reproducción y está dedicada exclusivamente al engorde de animales de la especie bovina, o de las especies ovina y/o caprina, con destino posterior directo y exclusivo a matadero. En las mismas instalaciones del mismo cebadero no podrán mezclarse animales de la especie bovina con animales de las especies ovina y/o caprina. Serán cebaderos calificados aquellos con estatuto de oficialmente indemnes de brucelosis bovina, oficialmente indemnes de tuberculosis bovina y oficialmente indemnes de leucosis enzoótica bovina, o en el caso de las especies ovina y caprina, aquellos con estatuto de oficialmente indemnes de brucelosis.

H) Explotación de precebo: aquella que únicamente dispone de animales de la especie bovina de edad comprendida hasta los cuatro meses, y cuyo destino directo posterior sólo puede ser el matadero o un cebadero donde completen el proceso de engorde como último paso antes de su sacrificio. Serán explotaciones de precebo calificadas aquellas con estatuto de oficialmente indemnes de brucelosis bovina, oficialmente indemnes de tuberculosis bovina y oficialmente indemnes de leucosis enzoótica bovina.

I) Explotación bovina de reproducción: aquella que dispone de hembras reproductoras, destinadas a la producción de leche o de terneros para ser vendidos al destete, o ser cebados. Sólo se abastecerán de explotaciones de reproducción o de cría de novillas. Las explotaciones de reproducción podrán tener las siguientes orientaciones:

a) Explotación para producción de leche: la que tiene por objeto la producción y, en su caso, comercialización de leche o productos lácteos, y en las que se somete a las vacas a ordeño con tal finalidad.

b) Explotación para producción de carne: la que tiene por objeto la producción de terneros destinados a la producción de carne, de manera que las vacas no son sometidas a ordeño con la finalidad de comercializar leche o productos lácteos.

c) Explotación para lidia: la dedicada a la producción y cría de ganado de raza de lidia, sin que ello excluya que el destino de parte de los animales que en ellos se cría pueda ser otro distinto a la lidia.

d) Explotación mixta: la que reúne varias orientaciones productivas.

J) Explotación bovina de recría de novillas: la dedicada a la cría de bovinos hembra, que serán destinados posteriormente sólo a la reproducción en una explotación bovina de reproducción.»

Dos. El artículo 14 se sustituye por el siguiente:

«Artículo 14. *Vacunación.*

1. Queda prohibida la vacunación contra la leucosis enzoótica bovina, la perineumonía contagiosa bovina, la brucelosis bovina y la tuberculosis.

2. Serán objeto de vacunación obligatoria contra la brucelosis por *brucella melitensis* los ovinos y caprinos comprendidos entre los tres y seis meses de edad. Para esta inmunización se utilizará la vacuna Rev-1 en concentraciones comprendidas entre 1 y 2 por 10⁹ U.F.C., u otra vacuna oficialmente aprobada.

Los animales de explotaciones calificadas oficialmente indemnes de brucelosis o indemnes de brucelosis que tiendan a la consecución de la calificación de oficialmente indemnes quedan excluidos de la obligatoriedad de la vacunación.

3. No obstante lo anterior, podrán establecerse las siguientes excepciones:

a) En relación con lo dispuesto en el apartado 1 en lo referente a la brucelosis bovina, cuando la situación epidemiológica de la enfermedad valorada en cada región así lo aconseje, se podrá autorizar la vacunación de hembras de edad comprendida entre tres y seis meses, en determinadas áreas o explotaciones, con la vacuna B-19 u otra vacuna oficialmente aprobada y autorizada a tal efecto.

b) Se podrá eximir de la obligatoriedad de vacunación establecida en el apartado 2 de este mismo artículo, cuando la prevalencia anual en rebaños alcance unos niveles tales que así lo aconsejen.

c) En las áreas con alta incidencia de brucelosis en la especie humana, o en áreas o explotaciones aisladas donde exista alto riesgo de transmisión del agente etiológico, podrá realizarse una vacunación de emergencia en todos los animales de la especie ovina y caprina situados en aquéllas, como medida excepcional.

En todos estos casos, los órganos competentes de las comunidades autónomas que deseen acogerse a estas excepciones lo someterán a la aprobación del Comité Nacional del Sistema de Alerta Sanitaria Veterinaria regulado en la Ley 8/2003, de 24 de abril, de sanidad animal.

4. Las condiciones para la vacunación de los ovinos y caprinos entre tres y seis meses, contra la brucelosis por *brucella melitensis*, y para la vacunación contra la brucelosis bovina de hembras entre tres y seis meses, previstas respectivamente,

en el apartado 2 y en el párrafo a) del apartado 3, serán, sin perjuicio de las derivadas, en su caso, de la autorización de comercialización de la vacuna de que se trate, las siguientes:

a) El almacenamiento, suministro, distribución y entrega de las vacunas se realizará exclusivamente bajo control de los órganos competentes de las comunidades autónomas.

b) La distribución de las vacunas antibrucelares se realizará exclusivamente y con carácter gratuito por los órganos competentes de las comunidades autónomas, de lotes oficialmente contrastados por el Centro Nacional de Referencia para la brucelosis en animales, y queda prohibida fuera de los laboratorios fabricantes su tenencia, comercialización y venta.

c) Todos los lotes de vacunas antibrucelares producidas por entidades situadas en el territorio español deberán estar contrastadas por el Centro Nacional de Referencia para brucelosis en animales. Si tras la contrastación de dichos lotes de vacunas el dictamen fuera no apto, se procederá a su destrucción bajo supervisión oficial.

d) Los animales vacunados deberán ser marcados de forma que en todo momento se disponga, como mínimo, de su identificación y de la fecha de vacunación.»

Tres. El artículo 22 se sustituye por el siguiente:

«Artículo 22. *Movimiento y reposición.*

1. Después de la eliminación de los bovinos reaccionantes positivos, los órganos competentes de las comunidades autónomas adoptarán las medidas necesarias para que:

a) Ningún bovino pueda salir de la explotación afectada, salvo autorización de las autoridades competentes para la salida de los bovinos destinados a ser sacrificados sin demora.

b) Se efectúen en la explotación de que se trate exámenes de detección de brucelosis, con objeto de confirmar la eliminación de la enfermedad, de acuerdo con lo establecido en el artículo 19.1.c).

c) La repoblación de la explotación únicamente puede llevarse a cabo después de que los bovinos de más de 12 meses que queden en dicha explotación hayan presentado un resultado favorable a uno o varios exámenes de investigación de la brucelosis. No obstante, para los bovinos vacunados, dicho examen únicamente podrá efectuarse a la edad de 18 meses.

2. Los órganos competentes de las comunidades autónomas realizarán los controles oficiales, previstos en la normativa vigente, a las explotaciones de los tipos B₁ y B₂ hasta que alcancen el estatuto sanitario del tipo B₃ o B₄.

3. Los órganos competentes de las comunidades autónomas adoptarán las medidas necesarias para que se lleven a cabo únicamente los siguientes movimientos de animales, dentro del territorio nacional, estando prohibidos el resto de movimientos con excepción de lo dispuesto en los apartados 4, 5, 6 y 7:

a) Los animales procedentes de explotaciones del tipo B₄, siempre que además sean del tipo T₃, y oficialmente indemnes de leucosis enzoótica bovina, podrán tener sólo los siguientes destinos:

1.º Explotaciones del tipo B₄, siempre que además sean del tipo T₃, y oficialmente indemnes de leucosis enzoótica bovina, siempre que, en los 30 días

anteriores al traslado, los animales de más de 12 meses objeto de traslado hayan presentado un resultado favorable a una de las pruebas previstas en el anexo 2.

2.º Explotaciones del tipo B₃, siempre que además sean del tipo T₃, y oficialmente indemnes de leucosis enzoótica bovina, siempre que, en los 30 días anteriores al traslado, los animales de más de 12 meses objeto de traslado hayan presentado un resultado favorable a una de las pruebas previstas en el anexo 2.

3.º Explotaciones del tipo B₂ negativas, que además sean del tipo T₂ negativas o T₃, siempre que, en los 30 días anteriores al traslado, los animales de más de 12 meses objeto de traslado hayan presentado un resultado favorable a una de las pruebas previstas en el anexo 2.

4.º Ferias y mercados calificados, entendiéndose como tales los calificados como oficialmente indemnes de brucelosis, que también lo estén como oficialmente indemnes de tuberculosis y de leucosis enzoótica bovina. En el supuesto de que el destino posterior a la feria o mercado sea para explotación de reproducción o de cría de novillas, en los 30 días anteriores al traslado los animales de más de 12 meses objeto de traslado deberán haber presentado un resultado favorable a una de las pruebas previstas en el anexo 2.

5.º Ferias y mercados no calificados, siempre que el destino inmediatamente posterior de los animales sea exclusiva y directamente para matadero.

6.º Certámenes ganaderos, siempre que se cumplan las condiciones sanitarias previstas en la normativa correspondiente, y se cumplan las siguientes condiciones:

En los 30 días anteriores al traslado, los animales de más de 12 meses objeto de traslado habrán presentado un resultado favorable a una de las pruebas previstas en el anexo 2.

En los 30 días anteriores al traslado, los animales de más de seis semanas objeto de traslado habrán presentado un resultado favorable a una prueba de detección de la tuberculosis, de acuerdo con un método aprobado al efecto según lo dispuesto en el anexo 1.

En los 30 días anteriores al traslado, los animales objeto de traslado habrán presentado un resultado favorable a una prueba de detección de la leucosis enzoótica bovina, de las comprendidas en el anexo 3.

b) Los animales procedentes de explotaciones del tipo B₃, siempre que además sean del tipo T₃, y oficialmente indemnes de leucosis enzoótica bovina, podrán tener sólo los siguientes destinos:

1.º Explotaciones del tipo B₃, siempre que además sean del tipo T₃, y oficialmente indemnes de leucosis enzoótica bovina, siempre que:

En el caso de los bovinos de más de 12 meses, hayan dado, en los 30 días previos al traslado, un resultado inferior a 30 unidades internacionales aglutinantes por mililitro en una seroaglutinación, y un resultado negativo en una prueba de fijación del complemento con arreglo a la legislación vigente.

O tienen menos de 30 meses y han sido vacunados con vacuna viva de la cepa 19, si dan un resultado en la prueba de seroaglutinación superior a 30 pero inferior a 80 unidades internacionales aglutinantes por mililitro, siempre que en la prueba de fijación del complemento den un resultado inferior a 20 unidades CEE en todos los demás casos.

2.º Explotaciones del tipo B₂ negativas, que además sean del tipo T₂ negativas o T₃, siempre que:

En el caso de los bovinos de más de 12 meses, hayan dado, en los 30 días previos al traslado, un resultado inferior a 30 unidades internacionales aglutinantes por mililitro en una seroaglutinación, y un resultado negativo en una prueba de fijación del complemento con arreglo a la legislación vigente.

Tengan menos de 30 meses y han sido vacunados con vacuna viva de la cepa 19, si dan un resultado en la prueba de seroaglutinación superior a 30 pero inferior a 80 unidades internacionales aglutinantes por mililitro, siempre que en la prueba de fijación del complemento den un resultado inferior a 20 unidades CEE en todos los demás casos.

3.º Ferias y mercados del tipo B₃, que también sean del tipo T₃ y oficialmente indemnes de leucosis enzoótica bovina, siempre que todos los animales que concurren en ese mismo día procedan de explotaciones radicadas en la misma comunidad autónoma en que se ubica la feria o mercado, y el destino inmediatamente posterior de los animales sea exclusivamente:

Dentro de dicha comunidad autónoma.

O cebadero no calificado, o de forma directa a matadero, radicados en otra comunidad autónoma.

4.º El resto de ferias y mercados no calificados, siempre que el destino posterior de los animales sea exclusiva y directamente para matadero.

5.º Certámenes ganaderos, siempre que se cumplan las condiciones sanitarias previstas en la normativa correspondiente, y se cumplan las siguientes condiciones:

En los 30 días anteriores al traslado, los animales objeto de traslado habrán presentado un resultado favorable a una de las pruebas previstas en el anexo 2.

En los 30 días anteriores al traslado, los animales objeto de traslado habrán presentado un resultado favorable a una prueba de detección de la tuberculosis, de acuerdo con un método aprobado al efecto según lo dispuesto en el anexo 1.

En los 30 días anteriores al traslado, los animales objeto de traslado habrán presentado un resultado favorable a una prueba de detección de la leucosis enzoótica bovina, de las comprendidas en el anexo 3.

Todos los animales que concurren en ese mismo día procedan de explotaciones radicadas en la misma comunidad autónoma en que se ubica el certamen, y el destino inmediatamente posterior de los animales sea exclusivamente dentro de dicha comunidad autónoma.

4. Los órganos competentes de las comunidades autónomas adoptarán las medidas necesarias para que se lleven a cabo únicamente los siguientes movimientos de animales con destino a cebaderos y explotaciones de precebo, y están prohibidos el resto de movimientos:

a) Los animales procedentes de explotaciones del tipo B₄, siempre que además sean del tipo T₃, y oficialmente indemnes de leucosis enzoótica bovina, podrán tener como destino cualquier cebadero y explotación de precebo, con independencia de su calificación.

b) Los animales procedentes de explotaciones del tipo B₄, siempre que además sean del tipo T₂ negativo, y oficialmente indemnes de leucosis enzoótica bovina, podrán tener como destino sólo cebaderos no calificados y explotaciones de precebo no calificadas.

c) Los animales procedentes de explotaciones del tipo B₃, siempre que además sean del tipo T₃ o T₂ negativo, y oficialmente indemnes de leucosis enzoótica bovina, podrán tener como destino sólo cebaderos no calificados y explotaciones de precebo no calificadas.

d) Los animales procedentes de explotaciones del tipo B₂ negativas, que además sean del tipo T₃ o T₂ negativas, podrán tener como destino sólo cebaderos no calificados y explotaciones de precebo no calificadas.

5. Los órganos competentes de las comunidades autónomas adoptarán las medidas necesarias para que se permita el movimiento directo a matadero de animales procedentes de cualquier tipo de explotación, salvo que por dichos órganos se haya prohibido el citado movimiento. No obstante, los mencionados órganos competentes podrán exigir que se realicen, con carácter previo, pruebas de detección de la brucelosis, la tuberculosis y/o la leucosis enzoótica bovinas.

6. Los órganos competentes de las comunidades autónomas adoptarán las medidas necesarias para que se lleven a cabo únicamente los siguientes movimientos directos de animales desde explotaciones de precebo a cebaderos:

a) Desde explotaciones de precebo calificadas, sólo a cebaderos calificados o no calificados.

b) Desde explotaciones de precebo no calificadas, sólo a cebaderos no calificados.

7. El movimiento intracomunitario de los animales se regirá por lo dispuesto en el Real Decreto 1716/2000.»

Cuatro. El artículo 27 se sustituye por el siguiente:

«Artículo 27. *Movimiento y reposición.*

1. Después de la eliminación de los bovinos reaccionantes positivos, los órganos competentes de las comunidades autónomas adoptarán las medidas necesarias para que:

a) Ningún bovino pueda salir de la explotación afectada, salvo autorización de las autoridades competentes para la salida de los bovinos destinados a ser sacrificados sin demora.

b) Se efectúen en la explotación de que se trate exámenes de detección de la tuberculosis, con un intervalo de seis meses tras el sacrificio del último animal de la explotación positivo a las pruebas diagnósticas, al objeto de confirmar la eliminación de la enfermedad.

c) La repoblación de la explotación únicamente puede llevarse a cabo después de que los bovinos de más de seis semanas que queden en dicha explotación hayan presentado un resultado favorable en uno o más exámenes de investigación de tuberculosis.

2. Los órganos competentes de las comunidades autónomas adoptarán las medidas necesarias para que, en el marco del plan de erradicación de la tuberculosis, la prueba de detección de la tuberculosis, oficialmente controlada, y de acuerdo con un método aprobado al efecto según lo dispuesto en el anexo 1, sea efectuada cada seis meses, en

todos los bovinos de más de seis semanas de edad, en las explotaciones de los tipos T₁ y T₂, hasta que alcancen el estatuto sanitario de explotación del tipo T₃.

3. El movimiento de animales se regirá por lo dispuesto en los apartados 3 a 7, ambos inclusive, del artículo 22.»

Cinco. El artículo 32 se sustituye por el siguiente:

«Artículo 32. *Movimiento y reposición.*

1. Después de la eliminación de los bovinos reaccionantes positivos, el órgano competente de la comunidad autónoma correspondiente adoptará las medidas necesarias para que:

a) Ningún bovino pueda salir de la explotación afectada, salvo autorización de los órganos competentes de las comunidades autónomas para la salida de los bovinos destinados a ser sacrificados sin demora.

b) Se efectúen en la explotación de que se trate exámenes de detección de la leucosis enzoótica bovina, con objeto de confirmar la eliminación de la enfermedad.

c) La repoblación de la explotación únicamente puede llevarse a cabo a partir de bovinos procedentes de explotaciones oficialmente indemnes de leucosis.

2. El movimiento de animales se regirá por lo dispuesto en los apartados 3 a 7, ambos inclusive, del artículo 22.»

Seis. El artículo 42 se sustituye por el siguiente:

«Artículo 42. *Movimiento y reposición.*

1. Después de la eliminación de los ovinos y caprinos, el órgano competente de la comunidad autónoma adoptará las medidas necesarias para que:

a) Ningún ovino y caprino pueda salir de la explotación afectada, salvo autorización de las autoridades competentes para los ovinos y caprinos destinados a ser sacrificados sin demora. No obstante, el movimiento de los ovinos y caprinos de dicha explotación podrá ser autorizado por las autoridades competentes, siempre que los ovinos y caprinos sean trasladados hacia cebadero y después exclusiva y directamente al matadero.

b) Se efectúen en la explotación de que se trate exámenes de detección de la brucelosis por *brucella melitensis*, con objeto de confirmar la eliminación de la enfermedad.

c) La repoblación de las explotaciones únicamente puede llevarse a cabo después de que los ovinos y caprinos de más de seis meses o, en caso de ser vacunados, de más de 18 meses que queden en dicha explotación hayan presentado uno o varios resultados favorables a las pruebas serológicas según lo establecido en el artículo 39.c).

2. Los órganos competentes de las comunidades autónomas realizarán los controles serológicos oficiales a las explotaciones de los tipos M₁ y M₂ hasta que alcancen el estatuto sanitario del tipo M₃ o M₄.

3. Los órganos competentes de las comunidades autónomas adoptarán las medidas necesarias para que se lleven a cabo únicamente los siguientes movimientos de animales, dentro del territorio nacional, y quedarán prohibidos el resto de movimientos con excepción de lo dispuesto en los apartados 4 y 5:

a) Los animales procedentes de explotaciones del tipo M₄ podrán tener sólo los siguientes destinos:

- 1.º Explotaciones del tipo M₄.
- 2.º Explotaciones del tipo M₃.
- 3.º Explotaciones del tipo M₂ negativas.
- 4.º Ferias y mercados calificados, entendiéndose como tales los calificados como oficialmente indemnes de brucelosis.

5.º Ferias y mercados no calificados, siempre que el destino inmediatamente posterior de los animales sea exclusiva y directamente para matadero.

6.º Certámenes ganaderos, siempre que se cumplan las condiciones sanitarias previstas en la normativa correspondiente, y en los 30 días anteriores al traslado los animales objeto de traslado, en función de la edad prevista en la normativa vigente, hayan presentado un resultado favorable a una de las pruebas previstas en el anexo 5.

b) Los animales procedentes de explotaciones del tipo M₃ podrán tener sólo los siguientes destinos:

1.º Explotaciones M₄, siempre que los animales estén identificados individualmente según lo dispuesto en el artículo 4.1.a) del Real Decreto 2121/1993, de 3 de diciembre, no hayan estado vacunados nunca contra la brucelosis o, si lo han estado, que haya sido más de dos años antes. No obstante, podrán también ser introducidas hembras de más de dos años que hayan sido vacunadas antes de la edad de siete meses, siempre que hayan sido aisladas en la explotación de origen bajo control oficial y durante ese período hayan sufrido dos pruebas, con un intervalo de seis semanas como mínimo, con arreglo al anexo C del citado real decreto, con resultados negativos.

2.º Explotaciones del tipo M₃.

3.º Explotaciones del tipo M₂ negativas.

4.º Ferias y mercados del tipo M₃, siempre que todos los animales que concurren en ese mismo día procedan de explotaciones radicadas en la misma comunidad autónoma en que se ubica la feria o mercado, y el destino inmediatamente posterior de los animales sea exclusivamente dentro de dicha comunidad autónoma. No obstante, el destino posterior podrá ser a otra comunidad autónoma en los siguientes supuestos:

Si se cumplen los requisitos previstos en este párrafo b). 1.º

O a cebaderos no calificados, o de forma directa a matadero.

5.º El resto de ferias y mercados no calificados, siempre que los animales tengan como destino posterior exclusiva y directamente matadero.

6.º Certámenes ganaderos, siempre que se cumplan las condiciones sanitarias previstas en la normativa correspondiente, y se cumplan las siguientes condiciones:

Que en los 30 días anteriores al traslado, los animales objeto de traslado, en función de la edad prevista en la normativa vigente, hayan presentado un resultado favorable a una de las pruebas previstas en el anexo 5.

Que todos los animales que concurren en ese mismo día deberán estar identificados individualmente según lo dispuesto en el párrafo a) del apartado 1 del artículo 4 del Real Decreto 2121/1993, no habrán estado vacunados nunca contra la brucelosis o, si lo han estado, deberá haberlo sido más

de 2 años antes. No obstante, podrán participar también en los certámenes las hembras de más de 2 años, de explotaciones M₃, que hayan sido vacunadas antes de la edad de 7 meses, siempre que hayan sido aislados en la explotación de origen bajo control oficial y durante ese período hayan sufrido dos pruebas, con un intervalo de 6 semanas como mínimo, con arreglo al anexo C del citado real decreto, con resultados negativos.

4. Los órganos competentes de las comunidades autónomas adoptarán las medidas necesarias para que se lleven a cabo únicamente los siguientes movimientos directos de animales con destino a cebadero.

a) Los animales procedentes de explotaciones del tipo M₄ podrán tener como destino cualquier cebadero, con independencia de su calificación.

b) Los animales procedentes de explotaciones del tipo M₃ o del tipo M₂ negativas podrán tener como destino sólo cebaderos no calificados.

5. Los órganos competentes de las comunidades autónomas adoptarán las medidas necesarias para que se permita el movimiento directo a matadero de animales procedentes de cualquier tipo de explotación, salvo que por dichos órganos se haya prohibido el citado movimiento. No obstante, los mencionados órganos competentes podrán exigir que se realicen, con carácter previo, pruebas de detección de la brucelosis ovina y caprina.

6. El movimiento intracomunitario de los animales se regirá por lo dispuesto en el Real Decreto 2121/1993, de 3 de diciembre.»

Siete. Se añade un Título V, con el siguiente contenido:

«TÍTULO V

Régimen sancionador

Artículo 43. *Infracciones y sanciones.*

En el caso de incumplimiento de lo dispuesto en este real decreto, será de aplicación el régimen de infracciones y sanciones establecido en la Ley 8/2003, de 24 de abril, de sanidad animal, sin perjuicio de las posibles responsabilidades civiles, penales o de otro orden que pudieran concurrir.»

Ocho. Se añade una disposición transitoria tercera, con el siguiente contenido:

«Disposición transitoria tercera. *Movimiento de reses de lidia dentro del territorio nacional.*

Hasta tanto se aprueben normas específicas para el movimiento, dentro del territorio nacional, del ganado de lidia, éste se regirá por las disposiciones de este real decreto para el movimiento de animales de la especie bovina.»

Nueve. Se añade una disposición transitoria cuarta, con el siguiente contenido:

«Disposición transitoria cuarta. *Vacunación contra la brucelosis.*

1. Sin perjuicio de lo dispuesto en el apartado 1 del artículo 14, hasta el 31 de diciembre de 2005 podrá autorizarse, como excepción en lo referente a la brucelosis bovina, cuando la situación epidemiológica de la enfermedad valorada en cada región así lo aconseje, la vacunación de hembras, en determinadas áreas o explotaciones, con la vacu-

na RB-51 respecto de la infección con *brucella abortus*, y/o con la vacuna REV-1 respecto de la infección con *brucella melitensis*.

2. Los órganos competentes de las comunidades autónomas que deseen acogerse a estas excepciones lo someterán a la aprobación del Comité Nacional del Sistema de Alerta Sanitaria Veterinaria regulado en el Real Decreto 1440/2001, de 21 de diciembre, por el que se establece el sistema de alerta sanitaria veterinaria, en función de la competencia que le corresponde según lo establecido en el artículo 5 de dicho real decreto.

3. Las condiciones para dicha vacunación serán, sin perjuicio de las derivadas, en su caso, de la autorización de comercialización de la vacuna de que se trate, las siguientes:

a) El almacenamiento, suministro, distribución y entrega de las vacunas se realizará exclusivamente bajo control de los órganos competentes de las comunidades autónomas.

b) La distribución de las vacunas antibrucelares se realizará exclusivamente y con carácter gratuito por los órganos competentes de las comunidades autónomas, de lotes oficialmente contrastados por el Centro Nacional de Referencia para la brucelosis en animales, y queda prohibida fuera de los laboratorios fabricantes su tenencia, comercialización y venta.

c) Todos los lotes de las vacunas antibrucelares producidas por entidades situadas en el territorio español deberán estar contrastadas por el Centro Nacional de Referencia para brucelosis en animales. Si tras la contrastación de dichos lotes de vacunas el dictamen fuera no apto, se procederá a su destrucción bajo supervisión oficial.

d) Los animales vacunados deberán ser marcados de forma que en todo momento se disponga, como mínimo, de su identificación y de la fecha de vacunación.

e) Las vacunas sólo podrán ser utilizadas por veterinarios oficiales o autorizados en el marco de un programa de erradicación de brucelosis bovina aprobado por la Comisión Europea de acuerdo con el artículo 24 de la Decisión del Consejo 90/424/CEE.

f) Los órganos competentes de las comunidades autónomas informarán periódicamente y de modo detallado al Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, para su envío a la Comisión de la Unión Europea y al resto de Estados miembros, respecto del programa de vacunación, en particular del área de vacunación, de la edad de los animales vacunados y del sistema que se aplique para la identificación de los animales vacunados.

g) En la base de datos SIMOGAN se marcará a los animales vacunados.

h) Los órganos competentes de las comunidades autónomas velarán porque los animales vacunados no sean objeto de comercio intracomunitario, en particular mediante la aplicación de métodos adicionales de marcaje y registro de dichos animales.

i) Los órganos competentes de las comunidades autónomas velarán por que, hasta que transcurran dos años desde la última vacunación de los animales, en lo que se refiere al movimiento dentro del territorio nacional, los animales vacunados únicamente puedan tener los siguientes movimientos, y quedan prohibidos el resto:

1.º Con destino directo a otra explotación en la que se haya vacunado también a las hembras de la especie bovina con la vacuna RB-51 para

la *brucella abortus*, o con la vacuna Rev-1 para la *brucella melitensis*, o con destino directo a municipios o áreas geográficas en que se haya vacunado a las hembras de la especie bovina con dichas vacunas y el sistema de explotación sea mayoritariamente extensivo con aprovechamiento común de pastos, siempre y cuando, asimismo, en ambos casos, se hayan realizado a los animales, con carácter previo al movimiento, dos pruebas contra la brucelosis, separadas por seis meses, con resultados favorables.

2.º Con destino directo a cebadero.

3.º Con destino directo a matadero.

j) Los órganos competentes en materia de sanidad animal de las comunidades autónomas informarán a los órganos competentes en materia de salud pública de la respectiva comunidad acerca del uso de las vacunas y de los sistemas disponibles de diagnóstico y terapéuticos que se apliquen.»

Diez. Se sustituye el anexo 1 del Real Decreto 2611/1996 por el anexo I de este real decreto.

Once. Se sustituye el anexo 2 del Real Decreto 2611/1996 por el anexo II de este real decreto.

Disposición final primera. *Título competencial.*

Este real decreto tiene carácter básico y se dicta al amparo de lo dispuesto en el artículo 149.1.16.ª de la Constitución, por el que se atribuye al Estado la competencia exclusiva en materia de bases y coordinación general de la sanidad.

Disposición final segunda. *Entrada en vigor.*

El presente real decreto entrará en vigor el día siguiente al de su publicación en el «Boletín Oficial del Estado».

Dado en Palma de Mallorca, a 1 de agosto de 2003.

JUAN CARLOS R.

El Ministro de Agricultura, Pesca
y Alimentación,
MIGUEL ARIAS CAÑETE

ANEXO I

«ANEXO 1

Diagnóstico de tuberculosis bovina

1. Identificación del agente.

La presencia de *Mycobacterium bovis* (M. bovis), agente de la tuberculosis bovina, en muestras clínicas y de autopsia puede demostrarse examinando frotis teñidos o mediante técnicas de inmunoperoxidasa y confirmarse mediante cultivo del organismo en medio de aislamiento primario.

El material patológico para la confirmación de M. bovis debe tomarse de ganglios linfáticos anormales y órganos parenquimatosos, como los pulmones, el hígado, el bazo, etc. Cuando el animal no presente lesiones patológicas, deberán recogerse muestras de los ganglios linfáticos retrofaríngeos, bronquiales, mediastínicos, supramamarios y mandibulares, así como de algunos ganglios linfáticos mesentéricos y del hígado, para su examen y cultivo.

La identificación de las cepas aisladas podrá realizarse habitualmente determinando las propiedades bioquímicas y de cultivo. También podrá emplearse la reacción en cadena de la polimerasa para la detección del complejo de M. tuberculosis.

Las técnicas de análisis del ADN pueden resultar más rápidas y fiables que los métodos bioquímicos para la diferenciación de *M. bovis* de otros miembros del complejo de *M. tuberculosis*. La huella genética permite distinguir entre diferentes cepas de *M. bovis* y posibilitará la descripción de patrones del origen, transmisión y propagación de *M. bovis*.

Las técnicas y medios utilizados, su normalización y la interpretación de los resultados deben ajustarse a los que se precisan en el capítulo 2.3.3 (tuberculosis bovina) de la cuarta edición (2000) del Manual de normas para las pruebas de diagnóstico y las vacunas de la OIE.

2. Intradermotuberculinización.

Los derivados proteínicos purificados de la tuberculina que cumplan las normas establecidas en el apartado 2.1 se utilizarán para realizar la intradermotuberculinización oficial con arreglo a los procedimientos mencionados en el apartado 2.2.

2.1 Normas aplicables a la tuberculina (bovina y aviar).

2.1.1 Definición.

El derivado proteínico purificado de la tuberculina (bovina o aviar) es un preparado que se obtiene, previo calentamiento, de productos del crecimiento y la lisis de *Mycobacterium bovis* o *Mycobacterium avium* (*M. avium*), según corresponda, capaz de poner de manifiesto hipersensibilidad retardada en un animal sensibilizado a los microorganismos de la misma especie.

2.1.2 Producción.

Se obtiene a partir de fracciones hidrosolubles preparadas calentando en vapor libre y filtrando posteriormente cultivos de *M. bovis* o *M. avium* (según corresponda) en un medio líquido sintético. La fracción activa del filtrado, consistente principalmente en proteínas, se aísla mediante precipitación, se lava y se vuelve a disolver. Puede añadirse un conservante antimicrobiano que no produzca reacciones positivas falsas, como el fenol. La preparación estéril final, libre de micobacterias, se distribuye asépticamente en recipientes de vidrio inviolables que se cierran después para evitar que se contaminen. El preparado puede liofilizarse.

2.1.3 Identificación del producto.

Inyectar por vía intradérmica en puntos diferentes varias dosis graduadas a cobayas albinos sensibilizados convenientemente, cada uno de los cuales debe pesar al menos 250 g. Al cabo de un período de 24 a 28 horas, se producen reacciones en forma de hinchazones edematosas con eritema, acompañadas o no de necrosis en el punto de inyección. El tamaño e importancia de las reacciones varía de acuerdo con la dosis. Los cobayas que no se hayan sensibilizado no presentan reacción a inyecciones de este tipo.

2.1.4 Pruebas.

2.1.4.1 pH: el pH debe oscilar entre 6,5 y 7,5.

2.1.4.2 Fenol: si el preparado que vaya a examinarse contiene fenol, su concentración no debe ser superior a 5 g/l.

2.1.4.3 Efecto sensibilizante: emplear un grupo de tres cobayas que no hayan sido tratados con ningún material que pueda interferir con la prueba. En tres ocasiones, a intervalos de cinco días, inyectar por vía intradérmica a cada cobaya una dosis

del preparado que se vaya a examinar, equivalente a 500 UI en 0,1 ml. Entre 15 y 21 días después de la tercera inyección, inyectar la misma dosis (500 UI) por vía intradérmica a esos animales y a un grupo de control de tres cobayas del mismo peso a los que no se les haya inyectado previamente tuberculina. Entre 24 y 28 horas después de las últimas inyecciones, las reacciones de los dos grupos no son muy diferentes.

2.1.4.4 Toxicidad: emplear dos cobayas, cada uno de los cuales debe pesar al menos 250 g, que no hayan sido tratados previamente con ningún material que pueda interferir con la prueba. Inyectar por vía subcutánea a cada animal 0,5 ml del preparado que se vaya a examinar. Observar los animales durante siete días. En el período de observación no se producen efectos anormales.

2.1.4.5 Esterilidad: se debe cumplir la prueba de esterilidad prescrita en la monografía sobre vacunas de uso veterinario de la cuarta edición (2002) de la Farmacopea Europea.

2.1.5. Actividad.

La actividad del derivado proteínico purificado de la tuberculina (bovina y aviar) se determina comparando las reacciones producidas en cobayas sensibilizados mediante la inyección intradérmica de una serie de diluciones del preparado que se vaya a examinar con las producidas por concentraciones conocidas de un preparado de referencia de derivado proteínico purificado de tuberculina (bovina o aviar, según corresponda), calibrado en unidades internacionales.

Para probar la actividad, sensibilizar como mínimo nueve cobayas albinos, cada uno de los cuales debe pesar entre 400 y 600 g, mediante una inyección intramuscular profunda de 0,0001 mg de masa húmeda de *M. bovis* vivo de la cepa AN5, suspendida en 0,5 ml de una solución de 9 g/l de cloruro de sodio R, en el caso de la tuberculina bovina, o una dosis adecuada de *M. avium* inactivado o vivo, en el de la tuberculina aviar. Transcurridas al menos cuatro semanas tras la sensibilización de los cobayas, afeitar los costados de los animales para disponer de espacio para un máximo de cuatro puntos de inyección en cada lado. Preparar diluciones del preparado que se vaya a examinar y del preparado de referencia utilizando una solución salina isotónica amortiguadora de fosfatos (pH 6,5-7,5) que contenga 0,005 g/l de polisorbato 80 R. Utilizar al menos tres dosis del preparado de referencia y otras tantas del preparado que vaya a examinarse. Escoger las dosis de modo que las lesiones producidas tengan un diámetro comprendido entre 8 y 25 mm. Distribuir aleatoriamente las diluciones entre los puntos valiéndose de un cuadrado latino. Inyectar cada dosis intradérmicamente en un volumen constante de 0,1 o 0,2 ml. Transcurridas entre 24 y 28 horas, medir los diámetros de las lesiones y calcular el resultado de la prueba utilizando los métodos estadísticos habituales, basándose en el supuesto de que los diámetros de las lesiones son directamente proporcionales al logaritmo de la concentración de las tuberculinas.

La prueba no será válida a menos que los límites de error (con una confianza $P = 0,95$) estén entre el 50 y el 200 % de la actividad calculada. La actividad calculada estará entre el 66 y el 150 % de la actividad declarada de la tuberculina bovina. La actividad calculada estará entre el 75 y el 133 % de la actividad declarada de la tuberculina aviar.

La actividad declarada será al menos igual a 20000 UI/ml para ambas tuberculinas (bovina y aviar).

2.1.6 Almacenamiento.

Almacenar al abrigo de la luz, a una temperatura de 5 ± 3 °C.

2.1.7 Etiquetado.

La etiqueta debe indicar:

a) La actividad en unidades internacionales por mililitro.

b) El nombre y la cantidad de las eventuales sustancias añadidas.

c) En el caso de preparados liofilizados:

1.º El nombre y volumen del líquido reconstituyente que debe añadirse.

2.º Que el producto debe utilizarse inmediatamente después de la reconstitución.

2.2 Procedimientos de prueba.

2.2.1 Se considerarán intradermotuberculizaciones oficiales:

a) La intradermotuberculización sencilla: esta prueba requiere una única inyección de tuberculina bovina.

b) La intradermotuberculización de comparación: esta prueba requiere una inyección de tuberculina bovina y una inyección de tuberculina aviar, administradas simultáneamente.

2.2.2 La dosis de tuberculina inyectada será:

a) Igual o superior a 2000 UI de tuberculina bovina.

b) Igual o superior a 2000 UI de tuberculina aviar.

2.2.3 El volumen de cada inyección no rebasará los 0,2 ml.

2.2.4 Las tuberculizaciones se realizarán inyectando tuberculina en la piel del cuello. Los puntos de inyección estarán situados en el límite de los tercios anterior y medio del cuello. Cuando se inyecte tuberculina aviar y bovina al mismo animal, el punto de inyección de la tuberculina aviar estará situado a unos 10 cm del borde superior del cuello y el de la tuberculina bovina, unos 12,5 cm más abajo en una línea aproximadamente paralela a la del hombro o en lados diferentes del cuello; tratándose de animales jóvenes en los que no haya espacio para separar suficientemente los puntos de inyección en un lado del cuello, se administrará una inyección a cada lado del cuello en puntos idénticos, en el centro del tercio medio de éste.

2.2.5 La técnica de la tuberculización y la interpretación de las reacciones serán las siguientes:

2.2.5.1 Técnica.

Los puntos de inyección se rasurarán y limpiarán. En cada zona rasurada se tomará un pliegue de piel entre el índice y el pulgar, se medirá con un compás y se anotará el resultado. A continuación se inyectará la dosis de tuberculina siguiendo un método que garantice que aquélla se administra intradérmicamente. Podrá utilizarse una aguja corta estéril, con la parte biselada hacia fuera, de una jeringuilla graduada que contenga tuberculina, que se insertará oblicuamente en las capas más profundas de la piel. Para confirmar si una inyección se ha efectuado correctamente deberá palpase

una hinchazón del tamaño de un guisante en cada punto de inyección. El grosor del pliegue de piel de cada punto de inyección se medirá de nuevo 72 horas (+/- 4 h) después de la inyección y se anotará el resultado.

2.2.5.2 Interpretación de las reacciones.

La interpretación de las reacciones se basará en observaciones clínicas y en el aumento de grosor de los pliegues de piel en los puntos de inyección, anotados 72 horas después de haber inyectado la tuberculina.

a) Reacción negativa: sólo se observa una hinchazón limitada, con un aumento del grosor del pliegue de piel no superior a 2 mm, sin signos clínicos tales como edema difuso o extensivo, exudación, necrosis, dolor o inflamación de los conductos linfáticos de esa región o de los ganglios linfáticos.

b) Reacción dudosa: no se observa ninguno de los signos clínicos mencionados en el párrafo a) y el aumento de grosor del pliegue de piel es superior a 2 mm e inferior a 4.

c) Reacción positiva: se observan signos clínicos de los mencionados en el párrafo a) o el grosor del pliegue de piel del punto de inyección aumenta 4 mm o más.

2.2.5.3 La interpretación de las intradermotuberculizaciones oficiales será la siguiente:

2.2.5.3.1 Intradermotuberculización sencilla:

a) Positiva: reacción bovina positiva como la descrita en el párrafo c) del apartado 2.2.5.2.

b) Dudosa: reacción dudosa como la descrita en el párrafo b) del apartado 2.2.5.2.

c) Negativa: reacción bovina negativa como la descrita en el párrafo a) del apartado 2.2.5.2.

Los animales en los que la intradermotuberculización sencilla haya dado resultados dudosos serán sometidos a otra tuberculización después de un plazo mínimo de 42 días.

Los animales en los que esta segunda prueba no dé resultados negativos se considerarán positivos.

Los animales en los que la intradermotuberculización sencilla dé resultados positivos podrán someterse a una intradermotuberculización de comparación si se sospecha la existencia de una reacción positiva falsa o una reacción de interferencia.

2.2.5.3.2 Intradermotuberculización de comparación para la determinación y el mantenimiento de la calificación de explotación oficialmente libre de tuberculosis:

a) Positiva: reacción bovina positiva que sea superior en más de 4 mm a la reacción aviar, o presencia de signos clínicos.

b) Dudosa: reacción bovina positiva o dudosa que sea de 1 a 4 mm superior a la reacción aviar, y ausencia de signos clínicos.

c) Negativa: reacción bovina negativa, o reacción bovina positiva o dudosa pero que sea igual o inferior a una reacción aviar positiva o dudosa, y ausencia de signos clínicos en ambos casos.

Los animales en los que la intradermotuberculización de comparación haya dado resultados dudosos deberán ser sometidos a otra tuberculización transcurrido un plazo mínimo de 42 días. Los animales en los que esta segunda prueba no dé resultados negativos se considerarán positivos.

2.2.5.3.3 La calificación de explotación oficialmente libre de tuberculosis podrá suspenderse y los animales procedentes de ella no podrán ser objeto de intercambios comerciales intracomunitarios mientras no se determine la calificación de los animales siguientes:

- a) Animales que se hayan considerado dudosos en la intradermotuberculinización sencilla.
- b) Animales que se hayan considerado positivos en la intradermotuberculinización sencilla, pero que deban someterse de nuevo a una prueba por intradermotuberculinización de comparación.
- c) Animales que se hayan considerado dudosos en la intradermotuberculinización de comparación.

2.2.5.3.4 Cuando la legislación comunitaria exija que los animales se sometan a una intradermotuberculinización antes de su traslado, se interpretará la prueba para que ningún animal que muestre un aumento del grosor del pliegue de la piel superior a 2 mm o la presencia de signos clínicos sea objeto de intercambios comerciales intracomunitarios.

2.2.5.3.5 Para permitir la detección del máximo número de animales infectados o enfermos de una explotación o una región, los Estados miembros podrán modificar los criterios para la interpretación de la prueba con el fin de mejorar la sensibilidad de ésta considerando que todas las reacciones dudosas mencionadas en el párrafo b) de los apartados 2.2.5.3.1 y 2.2.5.3.2 son reacciones positivas.

3. Pruebas suplementarias.

Para permitir la detección del máximo número de animales infectados o enfermos de una explotación o una provincia, podrá autorizarse el empleo de la prueba de interferón gamma a que se refiere el capítulo 2.3.3 (tuberculosis bovina) de la cuarta edición (2000) del Manual de normas para las pruebas de diagnóstico y las vacunas de la Oficina Internacional de Epizootias, además de la tuberculinización.

4. Laboratorio Nacional de Referencia.

Se designa al Laboratorio Central de Sanidad Animal (Laboratorio de Sanidad y Producción Animal) de Santa Fe (Granada), perteneciente al Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, como centro nacional de referencia para la tuberculosis en animales.

El Laboratorio Nacional de Referencia se encargará, sin perjuicio de lo dispuesto en los artículos 9, 11 y 14, de la comprobación oficial de las tuberculinas o los reactivos a que se refieren los apartados 2 y 3, dentro de España, para garantizar que se ajustan a las normas anteriormente mencionadas.»

ANEXO II

«ANEXO 2

Diagnóstico de brucelosis bovina

1. Identificación del agente.

La demostración, mediante tinción inmunoespecífica o ácido-resistente modificada, de la presencia de organismos con morfología de *Brucella* en material procedente de abortos, flujo vaginal o leche indica posibilidad de brucelosis, especialmente en

caso de que dicha demostración se vea confirmada por resultados de pruebas serológicas.

Una vez aislados los microorganismos, deben identificarse la especie y el biovar mediante lisis por fagos o pruebas del metabolismo oxidativo y criterios de cultivo, bioquímicos y serológicos.

Las técnicas y medios utilizados, su normalización y la interpretación de los resultados deben ajustarse a lo dispuesto en los capítulos 2.3.1 (brucelosis bovina) y 2.4.2 (brucelosis caprina y ovina) de la cuarta edición de 2000 del Manual de normas para pruebas de diagnóstico y vacunas de la OIE.

2. Pruebas inmunológicas.

2.1 Patrones.

2.1.1 Para la preparación de todos los antígenos utilizados en las pruebas de rosa de Bengala, de aglutinación del suero, de fijación del complemento y del anillo en leche deberá utilizarse la cepa *Weybridge 99* o la cepa *USDA 1119-3* del biovar 1 de *Brucella abortus*.

2.1.2 El suero patrón de referencia para las pruebas arriba mencionadas es el suero patrón de referencia internacional de la OIE, anteriormente denominado segundo suero anti-*Brucella abortus* internacional de la OMS.

2.1.3 Los sueros patrón de referencia para las pruebas ELISA son los siguientes:

- a) El suero patrón de referencia internacional de la OIE.
- b) El suero patrón ELISA débilmente positivo de la OIE.
- c) El suero patrón ELISA fuertemente positivo de la OIE.
- d) El suero patrón ELISA negativo de la OIE.

2.1.4 Los sueros patrón arriba mencionados pueden obtenerse en la Agencia de Laboratorios Veterinarios (*Veterinary Laboratories Agency, VLA*) de *Weybridge* (Reino Unido).

2.1.5 Los sueros patrón mencionados en el apartado 2.1.3 son patrones primarios internacionales de los cuales deben establecerse para cada prueba en cada Estado miembro patrones nacionales secundarios de referencia (en adelante, "de trabajo").

2.2 Pruebas de inmunoabsorción enzimática (ELISA) u otras pruebas aglutinantes para la detección de la brucelosis bovina en suero o leche.

2.2.1 Material y reactivos.

La técnica empleada y la interpretación de los resultados deberán haberse validado de conformidad con los principios establecidos en el capítulo 1.1.3 de la cuarta edición de 2000 del Manual de normas para pruebas de diagnóstico y vacunas de la OIE y deberán incluir al menos estudios de laboratorio y de diagnóstico.

2.2.2 Normalización de la prueba.

2.2.2.1 Normalización del procedimiento de la prueba para muestras individuales de suero:

a) Una pre-dilución al 1/150 (1) de suero patrón de referencia internacional de la OIE, una pre-dilución al 1/2 de suero patrón ELISA débilmente positivo de la OIE o una pre-dilución al 1/16 de suero patrón ELISA fuertemente positivo de la OIE realizada en un suero negativo (o en una mezcla de sueros negativos) debe dar reacción positiva.

(1) A efectos de este anexo, las diluciones para preparar los reactivos líquidos se expresan, por ejemplo, como 1/150, lo que indica una dilución de 1 en 150.

b) Una pre-dilución al 1/600 de suero patrón de referencia internacional de la OIE, una pre-dilución al 1/8 de suero patrón ELISA débilmente positivo de la OIE o una pre-dilución al 1/64 de suero patrón ELISA fuertemente positivo de la OIE realizada en un suero negativo (o en una mezcla de sueros negativos) debe dar reacción negativa.

c) El suero patrón ELISA negativo de la OIE debe dar siempre reacción negativa.

2.2.2.2 Normalización del procedimiento de la prueba para muestras mezcladas de suero:

a) Una pre-dilución al 1/150 de suero patrón de referencia internacional de la OIE, una pre-dilución al 1/2 de suero patrón ELISA débilmente positivo de la OIE o una pre-dilución al 1/16 de suero patrón ELISA fuertemente positivo de la OIE realizada en un suero negativo (o en una mezcla de sueros negativos) y diluida de nuevo en sueros negativos por el número de muestras que componen la mezcla debe dar reacción positiva.

b) El suero patrón ELISA negativo de la OIE debe dar siempre reacción negativa.

c) La prueba debe ser capaz de detectar indicios de infección en un solo animal del grupo de animales de los que se hayan mezclado muestras de suero.

2.2.2.3 Normalización del procedimiento de la prueba para muestras mezcladas de leche o de lactosuero:

a) Una pre-dilución al 1/1000 de suero patrón de referencia internacional de la OIE, una pre-dilución al 1/16 de suero patrón ELISA débilmente positivo de la OIE o una pre-dilución al 1/125 de suero patrón ELISA fuertemente positivo de la OIE realizada en un suero negativo (o en una mezcla de sueros negativos) y diluida de nuevo al 1/10 en leche negativa, debe dar reacción positiva.

b) El suero patrón ELISA negativo de la OIE diluido al 1/10 en leche negativa debe dar siempre reacción negativa.

c) La prueba debe ser capaz de detectar indicios de infección en un solo animal del grupo de animales de los que se hayan mezclado muestras de leche o de lactosuero.

2.2.3 Condiciones para el empleo de las pruebas ELISA en el diagnóstico de la brucelosis bovina:

2.2.3.1 Si se emplean las condiciones de calibración arriba mencionadas para las pruebas ELISA con muestras de suero, la sensibilidad de diagnóstico de las pruebas ELISA debe ser igual o superior a la de la prueba de rosa de Bengala o a la de la prueba de fijación del complemento, teniendo en cuenta la situación epidemiológica en la que se utilicen.

2.2.3.2 Si se emplean las condiciones de calibración arriba mencionadas para las pruebas ELISA con muestras de leche mezcladas, la sensibilidad de diagnóstico de las pruebas ELISA debe ser igual o superior a la de la prueba del anillo en leche, teniendo en cuenta no sólo la situación epidemiológica, sino también los sistemas de cría de ganado medios y extremos que cabe esperar.

2.2.3.3 Si las pruebas ELISA se emplean para la certificación de conformidad con el artículo 6.1 del Real Decreto 1716/2000, o para el establecimiento y mantenimiento del estatuto de un rebaño de conformidad con el punto 11 de la parte II del anexo I de dicho real decreto, debe llevarse a cabo una mezcla de muestras de suero de forma

que los resultados de las pruebas puedan vincularse sin ningún género de dudas a los distintos animales incluidos en el conjunto. Toda prueba de confirmación debe llevarse a cabo con muestras de suero tomadas de animales por separado.

2.2.3.4 Las pruebas ELISA pueden utilizarse con una muestra de leche tomada de la leche recogida en una explotación con al menos un 30 % de vacas lecheras en fase de producción de leche. Si se emplea este método, deben aplicarse medidas a fin de que las muestras tomadas para su examen puedan vincularse sin ningún género de dudas a los distintos animales de los que procede la leche. Toda prueba de confirmación debe llevarse a cabo con muestras de suero tomadas de animales por separado.

2.3 Prueba de fijación del complemento (Fdc).

2.3.1 El antígeno consiste en una suspensión bacteriana en solución salina de fenol [NaCl al 0,85 % (m/v) y fenol al 0,5 % (v/v)] o en solución amortiguadora de veronal. Los antígenos pueden presentarse en forma concentrada, siempre que en la etiqueta del frasco se indique el factor de dilución que debe utilizarse. El antígeno debe almacenarse a 4 °C y no debe congelarse.

2.3.2 Los sueros deben inactivarse de la manera siguiente:

Suero bovino: a una temperatura de 56 a 60 °C entre 30 y 50 minutos.

2.3.3 Con objeto de provocar la reacción genuina en el procedimiento de la prueba, se debe usar una dosis de complemento superior a la mínima necesaria para lograr una hemólisis completa.

2.3.4 Al realizar la prueba de fijación del complemento, deben efectuarse cada vez los controles siguientes:

a) Control del efecto anticomplementario del suero.

b) Control del antígeno.

c) Control de los hematíes sensibilizados.

d) Control del complemento.

e) Control de la sensibilidad al principio de la reacción, mediante un suero positivo.

f) Control de la especificidad de la reacción, mediante un suero negativo.

2.3.5 Cálculo de los resultados.

El suero patrón de referencia internacional de la OIE (OIEISS) contiene 1000 unidades internacionales de prueba Fdc por mililitro. Si este suero patrón se somete a prueba mediante un método dado, el resultado se expresa como título (Toieiss). El resultado de la prueba con el suero problema, indicado como título (Tsuero problema), debe expresarse en unidades internacionales de prueba Fdc por mililitro. El factor de conversión (F) necesario para pasar el título de un suero problema desconocido (Tsuero problema), examinado mediante dicho método, a su expresión en unidades internacionales de prueba Fdc puede averiguarse mediante la siguiente fórmula:

$$F = 1000 \times 1 \text{ TOIEISS}$$

y el contenido de unidades internacionales de prueba Fdc por mililitro de suero problema (UIPFdc-suero problema) mediante la siguiente:

$$\text{UIPFDCSUERO PROBLEMA} = F \times \text{TSUERO PROBLEMA}$$

2.3.6 Interpretación de los resultados.

Se considera positivo un suero que contenga 20 o más unidades internacionales de prueba FdC por mililitro.

2.4 Prueba del anillo en leche.

2.4.1 El antígeno consiste en una suspensión bacteriana en solución salina de fenol [NaCl al 0,85 % (m/v) y fenol al 0,5 % (v/v)] marcada con hematoxilina. El antígeno debe almacenarse a 4 °C y no debe congelarse.

2.4.2 La sensibilidad del antígeno debe estar normalizada en relación con el suero patrón de referencia internacional de la OIE, de forma que el antígeno dé reacción positiva con una dilución al 1/500 de este suero patrón en leche negativa, mientras que con una dilución al 1/1000 dé reacción negativa.

2.4.3 La prueba del anillo debe efectuarse con muestras que representen el contenido de cada cántara o de cada cisterna de la explotación.

2.4.4 Las muestras de leche no deben haberse congelado, calentado ni sometido a fuerte agitación.

2.4.5 La reacción debe llevarse a cabo utilizando uno de los métodos siguientes:

Con una columna de leche de al menos 25 mm de altura y con un volumen de leche de 1 ml al que se hayan añadido 0,03 ml o 0,05 ml de uno de los antígenos marcados normalizados.

Con una columna de leche de al menos 25 mm de altura y con un volumen de leche de 2 ml al que se hayan añadido 0,05 ml de uno de los antígenos marcados normalizados.

Con un volumen de leche de 8 ml al que se hayan añadido 0,08 ml de uno de los antígenos marcados normalizados.

2.4.6 La mezcla de leche y antígenos debe incubarse a 37 °C durante 60 minutos, junto con patrones de trabajo negativo y positivo. La sensibilidad de la prueba aumenta si se prorroga la incubación a 4 °C durante un período de entre 16 y 24 horas.

2.4.7 Interpretación de los resultados:

a) Reacción negativa: leche coloreada, nata incolora.

b) reacción positiva:

Leche y nata de idéntico color.

O leche incolora y nata coloreada.

2.5 Prueba de rosa de Bengala en placa.

2.5.1 El antígeno consiste en una suspensión bacteriana en diluyente de antígeno de brucela tamponado a un pH de $3,65 \pm 0,05$, marcado con el colorante rosa de Bengala. El antígeno debe suministrarse listo para su uso, debe almacenarse a 4 °C y no debe congelarse.

2.5.2 El antígeno no se prepara en función de la concentración celular, sino que su sensibilidad debe normalizarse con relación al suero patrón de referencia internacional de la OIE de forma que el antígeno dé reacción positiva con una dilución de suero al 1/45 y reacción negativa con una dilución al 1/55.

2.5.3 La prueba de rosa de Bengala en placa debe realizarse de la manera siguiente:

a) Se mezclan 20-30 µl de suero con un volumen igual de antígeno en una placa blanca de porcelana o de esmalte para obtener una zona con

un diámetro de 2 cm, aproximadamente. La mezcla se agita suavemente durante 4 minutos a temperatura ambiente, tras lo que se observa con buena iluminación para ver si se ha producido aglutinación.

b) Se puede utilizar un método automatizado, pero debe ser al menos tan sensible y exacto como el método manual.

2.5.4 Interpretación de los resultados.

Toda reacción visible debe considerarse positiva, a menos que se observe un exceso de sequedad alrededor de los bordes.

En cada serie de pruebas deben incluirse patrones de trabajo positivos y negativos.

2.6 Prueba de aglutinación del suero.

2.6.1 El antígeno consiste en una suspensión bacteriana en una solución salina de fenol [NaCl al 0,85 % (m/v) y fenol al 0,5 % (v/v)]. No debe utilizarse formaldehído.

Los antígenos pueden presentarse en forma concentrada, siempre que en la etiqueta del frasco se indique el factor de dilución que debe utilizarse.

Se puede añadir EDTA a la suspensión de antígeno hasta alcanzar una dilución final de prueba de 5 mM para reducir el nivel de falsos positivos en la prueba de aglutinación del suero. Posteriormente, se debe reajustar el pH de 7,2 en la suspensión de antígeno.

2.6.2 El suero patrón de referencia internacional de la OIE contiene 1000 unidades internacionales de aglutinación.

2.6.3 El antígeno no se prepara en función de la concentración celular, sino que su sensibilidad debe normalizarse con relación al suero patrón de referencia internacional de la OIE de forma que el antígeno produzca una aglutinación del 50 % con una dilución final del suero entre el 1/600 y el 1/1000, o una aglutinación del 75 % con una dilución final del suero entre el 1/500 y el 1/750.

También puede resultar recomendable comparar la reactividad entre lotes de antígeno nuevos y lotes de antígeno normalizados anteriormente utilizando un grupo de sueros definidos.

2.6.4 La prueba se realiza en tubos o en microplacas. La mezcla de antígeno y diluciones de suero debe incubarse durante un período de 16 a 24 horas a 37 °C.

De cada suero deben prepararse al menos tres diluciones. Las diluciones de suero sospechoso deben realizarse de forma que la lectura de la reacción al límite de positividad se realice en el tubo intermedio (o en el pocillo intermedio en el caso del método de las microplacas).

2.6.5 Interpretación de los resultados.

El grado de aglutinación de *Brucella* en un suero debe expresarse en UI/ml.

Se considera positivo un suero que contenga 30 o más UI/ml.

3. Pruebas complementarias.

3.1 Prueba cutánea de la brucelosis.

3.1.1 Condiciones para el empleo de esta prueba:

a) La prueba cutánea de la brucelosis no debe emplearse para fines de certificación en el comercio intracomunitario.

b) Esta prueba es una de las más específicas para la detección de la presencia de brucelosis en animales no vacunados; no obstante, no se debe realizar el diagnóstico únicamente a partir de reacciones intradérmicas positivas.

c) Debe considerarse que están infectados los animales de la especie bovina que se hayan sometido a una de las pruebas serológicas definidas en este anexo con un resultado negativo y que reaccionen positivamente a la prueba cutánea de la brucelosis.

d) Los animales de la especie bovina que se hayan sometido a una de las pruebas serológicas definidas en este anexo con un resultado positivo pueden someterse a una prueba cutánea de la brucelosis para confirmar la interpretación de los resultados de las pruebas serológicas, especialmente cuando no pueda excluirse una reacción cruzada con anticuerpos de otras bacterias en el caso de los rebaños indemnes de brucelosis u oficialmente indemnes de brucelosis.

3.1.2 La prueba debe llevarse a cabo mediante un preparado alergénico de la brucelosis normalizado y definido que no contenga lipopolisacárido liso antigénico, ya que éste puede provocar reacciones inflamatorias inespecíficas o interferir con pruebas serológicas posteriores.

Un preparado de tales características es la brucelina INRA, que procede de una cepa no lisa de *B. melitensis*. Sus condiciones de producción aparecen descritas detalladamente en la sección B2 del capítulo 2.4.2 de la cuarta edición de 2000 del Manual de normas para pruebas de diagnóstico y vacunas de la OIE.

3.1.3 Procedimiento de la prueba.

3.1.3.1 Se inyecta por vía intradérmica un volumen de 0,1 ml de alérgeno de la brucelosis en el pliegue caudal, en la piel de la ijada o en un lado del cuello.

3.1.3.2 La prueba se lee una vez transcurridas de 48 a 72 horas.

3.1.3.3 Antes de la inyección y en el momento de la lectura, se mide con un pie de rey el grosor de la piel en el lugar de la inyección.

3.1.3.4 Interpretación de los resultados.

Las reacciones fuertes se reconocen fácilmente por la inflamación y la induración locales.

Se considera que la reacción a la prueba cutánea de la brucelosis es positiva si se produce un aumento del grosor de la piel de 1,5 a 2 mm.

3.2 Prueba de inmunoabsorción enzimática de competición (ELISAc).

3.2.1 Condiciones para el empleo de esta prueba:

a) La ELISAc no debe emplearse con fines de certificación en el comercio intracomunitario.

b) La ELISAc ha mostrado tener mayor especificidad que, por ejemplo, la ELISA indirecta, y por consiguiente puede usarse para confirmar la interpretación de los resultados de las pruebas serológicas.

3.2.2 Procedimiento de la prueba.

La prueba debe realizarse de acuerdo con el párrafo a) del apartado 2 del capítulo 2.3.1 de la cuarta edición de 2000 del Manual de normas para pruebas de diagnóstico y vacunas de la OIE.

4. Laboratorio Nacional de Referencia.

4.1 El Laboratorio Central de Sanidad Animal (Laboratorio de Sanidad y Producción Animal) de Santa Fe (Granada), Camino del Jau s/n, 18320, es el designado como Laboratorio Nacional de Referencia para la brucelosis en animales.

4.2 Tareas y responsabilidades. Las tareas y responsabilidad del Laboratorio Nacional de Referencia, sin perjuicio de lo dispuesto en los artículos 9, 11 y 14 y en la disposición transitoria cuarta, son las siguientes:

a) Aprobación de los resultados de los estudios de validación que demuestren la fiabilidad del método de prueba utilizado en España.

b) Determinación del número máximo de muestras que deben mezclarse en las baterías de ELISA utilizadas.

c) Calibración de los sueros patrón nacionales secundarios de referencia ("patrones de trabajo") frente al suero patrón primario internacional mencionado en el apartado 2.1.

d) Controles de calidad de todos los lotes de antígenos y de baterías de ELISA utilizados en España.

e) Cooperación dentro de la red de laboratorios nacionales de referencia para la brucelosis de la Unión Europea.»