TUBERCULOSIS EN FAUNA SALVAJE,

¿QUIÉN LO CONTROLA?

Laura Pons Diviu, NIU: 2142984

Jéssica Rivera Marqués, NIU: 1163030

INDICE

Introducción 2

I. RECUERDO HISTÓRICO DE LA TUBERCULOSIS 4

II. TUBERCULOSIS. Descripción de la enfermedad 7

1. Etiología y especies susceptible 8
2. Patogenia y cuadro clínico 9
3. Mecanismos de transmisión 11
4. Diagnóstico de la enfermedad 12
    a. Diagnóstico clínico y pruebas diagnósticas 12
    b. Diagnóstico anatomopatológico 15

III. EVOLUCIÓN EPIDEMIOLÓGICA 16

1. Evolución epidemiológica en el Estado Español 16
2. Evolución epidemiológica en Cataluña 18
3. Otros países de la UE 19

IV. ÚLTIMOS AVANCES EN FAUNA SALVAJE 20

V. LEGISLACIÓN ACTUAL Y PLAN DE CONTROL Y ERRADICACIÓN PARA LA TUBERCULOSIS 22

1. Concerniente a animales salvajes 23
2. Vigilancia en fauna silvestre 24

VI. **IMPLICACIONES SOCIO-ECONÓMICAS Y SANITARIAS** 26

VII. ENTREVISTA 27

VIII. CONCLUSIONES 35

IX. DISCUSIÓN 37

X. BIBLIOGRAFIA 40

INTRODUCCIÓN

La gestión de la fauna salvaje en libertad abarca numerosas actuaciones, todas ellas encaminadas a conservar las poblaciones animales en equilibrio con el medio en el que se encuentran. Una de estas actuaciones, que no se ha tenido muy en cuenta hasta hace relativamente poco tiempo, es la relacionada con los aspectos sanitarios de los animales, en los cuales, el veterinario ha de desempeñar un papel fundamental.

El interés por el estado sanitario de la fauna salvaje en libertad, es un hecho reciente en todo el mundo, que ha ido evolucionando a lo largo de los años. En un principio, este interés estaba relacionado casi exclusivamente con la transmisión de enfermedades de los animales salvajes al hombre, posteriormente con la transmisión de enfermedades a los animales domésticos y más recientemente con la salud de los propios animales salvajes *(Lavín, 2005)*.

En España, el estudio de las enfermedades de los animales salvajes es muy escaso, y no existen registros oficiales sobre las mismas. Además, casi no existen programas de vigilancia de las enfermedades dentro de los espacios naturales. La administración es reticente a la hora de incluir estos programas en los planes de gestión de la fauna salvaje.

En el presente trabajo nos centramos en una de las enfermedades que actualmente afectan a un gran número de especies tanto domésticas como salvajes de nuestro país y que además constituye una zoonosis grave para las personas, la Tuberculosis. Como analizaremos más adelante, dicha enfermedad a pesar de estar sometida a un plan de control y erradicación des de hace más de 40 años en el Estado Español, aún sigue siendo la causante de graves brotes de enfermedad tanto en bovinos como en otros ungulados silvestres.

Con esto, nos proponemos analizar el vacío legal que existe en torno al control de esta enfermedad en la fauna salvaje, y las implicaciones económicas y sanitarias que esto conlleva.

Nos proponemos hacer un repaso de la legislación actualmente vigente en el estado español por la que se regulan todas las medidas que deben tomarse con respecto a la

tuberculosis en animales, haciendo una valoración crítica en cuanto al vacío legal que existe para la fauna salvaje, también susceptible a la tuberculosis.

Conoceremos la opinión de alguien que trabaja actualmente y desde hace bastantes años con el tema de la patología de la fauna salvaje en nuestro país, el profesor y catedrático de la UAB Santiago Lavín.

Finalmente nos proponemos vislumbrar las posibles causas que motivan este vacío legal y plantear un esquema con los puntos que se deberían contemplar en la legislación que regula el control y erradicación de la tuberculosis para las especies salvajes reservorias o amenazadas.

I. RECUERDO HISTÓRICO DE LA TUBERCULOSIS

La tuberculosis es una enfermedad cuya presencia ha sido constante en la historia de la humanidad. Es, sin temor a equivocarnos, la que más víctimas se ha cobrado tanto en humanos como en los animales.

Esta enfermedad ha sido detectada desde las primeras civilizaciones, encontrándose lesiones nodulares típicas de la enfermedad en momias del antiguo Egipto, e incluso se han detectado huellas de tuberculosis en restos humanos procedentes del período Neolítico, donde se cree que fue una enfermedad enzoótica entre los animales.

La primera lesión de tuberculosis humana se describe en el *Rig Veda* (200-1500 a.C.) y en los *Upanishads* hindúes donde se cita como la reina de las enfermedades.

Hipócrates (460-377 a.C.) describió la enfermedad en humana, entonces conocida como *tisis,* que significa consunción.

La difusión de la tuberculosis en el ganado bovino adoptó pautas similares. La descripción de la enfermedad en el ganado bovino fue hecha por Columela (0-50 d.C.), pero aún no fue asociada con la enfermedad producida en humana. En 1797, el médico Klenke vinculó el consumo de leche de vaca con la aparición de "escrófulas" para que luego en 1831, 1849 y 1859, Gurlt, Hering y Fuchs respectivamente consideraran la tuberculosis pulmonar bovina igual a la humana.

Durante la Edad Media fue diseminada por Europa y se conocía por el nombre de "Plaga blanca", pero tuvo su máxima incidencia entre los años 1780 y 1880.

Fue en 1868 cuando **Villemin** confirmó la tuberculosis como "**enfermedad transmisible entre el hombre y el animal"**.

En 1882 **Koch descubre el "bacilo de la tuberculosis"**, que unos años más tarde Lehmann y Neumann denominan *Mycobacterium tuberculosis.* En 1889 en Finlandia se realiza la primera campaña de erradicación de la tuberculosis bovina y en 1890 Koch desarrolla el método de diagnóstico de la tuberculina.

A finales del siglo XIX, todo el mundo civilizado sufría el azote de la tuberculosis, que afectaba tanto a humanos como al ganado bovino, entre otras especies animales. El primer intento para evitar el contagio se realizó en 1899 cuando la *Royal Comission on*

Tuberculosis consideró las lecherías, carnicerías y establos como establecimientos de riesgo potencial para la salud pública, y se prohibió la venta de leche y carne procedente de vacas infectadas.

En España, los primeros ensayos en el campo veterinario se realizaron en 1895, aunque las primeras actuaciones tuvieron lugar con posterioridad, cuyo objetivo era el conocimiento del porcentaje de animales reaccionantes y su sacrificio con posterior indemnización. A partir de 1961 esta actuación se extendió a las comarcas lecheras, aunque sin grandes resultados, debido a la insuficiente dotación económica y a la escasa colaboración de los ganaderos. Un punto importante en la evolución epidemiológica de la enfermedad fue la anexión de España a la CEE, que supuso la transposición de la normativa europea a nuestro Derecho interno, al tiempo que recibía un apoyo económico que se vio reflejado en un progreso espectacular en la lucha contra la tuberculosis.

Según la FAO en 1995, de los aproximadamente 1.300 millones de bovinos existentes en el mundo, un tercio se localiza en áreas con tuberculosis erradicada, otro tercio en zonas donde la enfermedad está ampliamente distribuida pero se desconoce la incidencia y el resto en áreas con elevada incidencia. Se estima, en conjunto, que alrededor del 5% de la cabaña bovina mundial se encuentra afectada, lo que supone más de 60 millones de reses enfermas.

En cuanto a la tuberculosis humana, aunque entre los años 70 y 80 la mejoría parecía ir encaminada hacia la erradicación a corto plazo, a finales de la década confluyeron varios factores que motivaron el desarrollo de cepas multirresistentes, como los movimientos migratorios des de países en vías de desarrollo o la actual pandemia del SIDA.

En Cataluña, aunque la situación epidemiológica de la tuberculosis humana dista mucho de la que se presenta en los países subdesarrollados, es de las peores que se detectan entre los países industrializados.

Aunque es una enfermedad conocida desde hace siglos, España y la Unión Europea continúan luchando para su erradicación. La ciencia y su aplicación han hecho

que los regímenes sean cada vez más estrictos y rigurosos, pero ¿porque no se ha logrado hasta ahora su erradicación?

- **Reseña en animales salvajes**

Por lo que respecta a la historia de TB en fauna salvaje se han realizado reportes desde 1929, cuando se detectaron casos de enfermedad en gran kudú (*Tragelaphus strepsiceros)* y duiker común (*Sylvicapra grimmia)*, en Sudáfrica. En los años 40 se reveló que estas especies estaban endémicamente infectadas. En 1982 en Uganga había una prevalencia del 10% en las poblaciones de búfalo africano y un 9% en facóquero oriental (*Phacochoerus aethiopicus)*, mientras que en Zambia la enfermedad ha sido reportada en antílope lechwe (*Kobus leche kafuensis)* y eland (*Traurotragus oryx)* y por último en babuino (*Papio cynocephalus anubis)* en Kenia.

La aplicación de la prueba de la tuberculina logró eliminar la tuberculosis de varios países, pero esta estrategia no ha sido útil a nivel universal. Además de que la prueba no es adecuada para todas las especies de animales, y menos aún para fauna salvaje.

También se han producido casos de tuberculosis en fauna salvaje europea, por ejemplo en Inglaterra e Irlanda se han descrito casos en tejones (*Meles meles)*. En Nueva Zelanda se ha detectado la enfermedad en "posúm de cola de cepillo" (*Trichosurus vulpecula).*

El control es complicado y la vacunación en animales salvajes continúa siendo motivo de investigación.

La enfermedad ha sido aislada de búfalos, bisontes, ovejas, cabras, caballos, camellos, cerdos, cerdos salvajes, venado, perro, gato, zorro, ratas, primates, llamas, tapires, elefantes, rinocerontes, coyotes, mapaches, linces, leopardos, leones, tigres, entre muchos otros.

II. TUBERCULOSIS. Descripción de la enfermedad

La tuberculosis (TB) es una enfermedad infecciosa de carácter granulomatoso, causada por bacilos acidorresistentes patógenos, del género *Mycobacterium*.

Tabla 1: Características del género *Mycobacterium*

MORFOLOGIA CELULAR

- Bacilos delgados, rectos o ligeramente curvados
- Ocasionalmente ramificados
- No capsulados
- No forman esporas
- Inmóviles

CARACTERÍSTICAS DE CULTIVO

- Crecimiento lento o muy lento (2-40 días)
- A veces crecen en filamentos o imitando a un micelo
- A veces las colonias producen pigmentos no difusibles: rosa, naranja, amarillo...
- No todas las especies son cultivables y algunas presentan requerimientos especiales
- Termoresistencia limitada. No aguanta ni la baja ni la alta pasteurización

PROPIEDADES TINTORIALES

- Resisten la decoloración por ácido en alguna etapa de su crecimiento
- Se tiñen mal por el método de Gram, aunque se consideran Gram +

CARACTERÍSTICAS METABÓLICAS

- Aerobias
- Quimiotróficas

PROPIEDADES BIOQUÍMICAS

- Presencia de catalasa y arilsulfatasa
- Resistentes a la lisozima
- Ácido-alcohol resistentes
- Resisten bien los desinfectantes químicos (por los lípidos de su pared celular)

CONSIDERACIONES ECOLÓGICAS

- Ampliamente distribuídas en el ambiente
- Muy sensibles al medio ambiente, aunque resisten bien la desecación
- Sobreviven bien en estructuras tisulares y en los alimentos
- Incluye des de especies saprófitas hasta parásitos obligados de vertebrados

Aunque habitualmente se define como una enfermedad crónica y debilitante, la tuberculosis a veces puede adoptar un curso agudo, de progresión rápida.

La enfermedad afecta prácticamente a todas las especies de vertebrados y, antes de que se adoptaran medidas de control, era una de las principales enfermedades del ser humano y de los animales.

Los síntomas y las lesiones generalmente son similares en todas las especies.

ETIOLOGÍA Y ESPECIES SUSCEPTIBLES

Se reconocen tres tipos principales de bacilos tuberculosos: humano (*M. tuberculosis*), bovino (*M. bovis*) y aviar (*M. avium*), respectivamente. Los tres tipos se diferencian en cuanto a sus características de cultivo y patogénesis. No obstante, los dos tipos mamíferos se relacionan más estrechamente entre sí que con el tipo aviar. Los tres tipos pueden producir infección en especies hospedadoras distintas de las propias.

M. tuberculosis es más específico y rara vez produce enfermedad progresiva en animales distintos de los primates y, a veces, en los perros, cerdos y aves.

M. bovis es el principal agente zoonótico de la tuberculosis. La especie bovina está considerada su principal huésped, pero causa tuberculosis en muchas otras especies domésticas con una susceptibilidad intermedia en perros, cabras, cerdos y gatos, mientras que ovejas y caballos presentan una importante resistencia natural (Radostits et al 1994). Existe una variante humana que puede producir lesiones pero de una forma más leve. Entre los animales silvestres susceptibles a ser infectados por *M. bovis* también se han descrito múltiples especies: búfalo, liebre, conejo, camello, antílope, elefante, topo, tejón, hurón, rata, visón, entre otros. Como **fauna silvestre autóctona** susceptible cabe destacar: ciervo, corzo, gamo, lobo, cabra montés, muflón, rebeco, venado, y jabalí. También podemos destacar el importante problema que poseen las explotaciones de distintas variedades de ciervo y alce, identificados en muchos países de todo el mundo ya sea en su hábitat salvaje o en cautividad que conlleva una gran repercusión económica y elevada capacidad de transmitir la infección al hombre.

También se ha descrito una subespecie de *M. bovis* denominada *M. caprae*, que afecta a la especie caprina y de ahí se transmite directamente al hombre, fundamentalmente a los veterinarios expuestos.

M. avium es la única especie que afecta a las aves, pero tiene una amplia variedad de hospedadores, siendo patógeno para los cerdos, ganado vacuno, ovejas, cérvidos, visón, perros, gatos, équidos, primates y algunos animales de sangre fría.

- Patógenos oportunistas:

Incluyen las micobacterias no tuberculosas, de origen ambiental, que en condiciones de inmunodepresión producen diferentes procesos como mamitis (*M.fotuitum y M.smegmatis*), procesos respiratorios (*M.kansasii y M.avium*) o cutáneos (*M.farcinogenes*). Poseen interés en razón de su interferencia en el diagnóstico de la tuberculosis.

PATOGENIA Y CUADRO CLÍNICO

La susceptibilidad es más elevada en los individuos jóvenes y también en los grupos de riesgo de carácter general, como los individuos inmunodeprimidos, con estado nutricional deficiente o con patologías concurrentes entre otros.

La especie bovina es la más afectada por esta enfermedad y es frecuente su desarrollo hasta sus últimas etapas. Utilizaremos esta especie para explicar la patogenia.

Existen 3 períodos:

- **Periodo primario**

El denominado foco primario aparece en el lugar de penetración de la bacteria y se manifiesta en forma de tubérculos de células epiteloides observables por examen anatomopatológico.

Por vía linfática y transportados por macrófagos, afecta a los ganglios linfáticos regionales, momento en el cual el **complejo primario** se completa. En el caso de que el foco primario se cure y solamente hayan quedado afectados los ganglios regionales se le denomina complejo primario incompleto.

En algunos casos se produce una generalización precoz, diseminándose el bacilo por vía linfática retrógrada y sanguínea, produciendo una tuberculosis miliar, caracterizada

por lesiones granulomatosas en las capas serosas con tendencia a formar perlas grises y apéndices papiliformes.

- **Periodo post-primario**

Se produce como consecuencia de una segunda infección o de una exacerbación de una tuberculosis latente. En este caso el proceso no se propaga por vía linfática ni hemática, sino por vía canalicular. Los ganglios linfáticos no estarán afectados, no existe calcificación y la tuberculosis queda limitada al órgano afectado.

- **Periodo de ruptura**

Se produce una generalización tardía por vía linfática y hemática produciéndose una caseificación primaria de los tejidos y de los vasos sanguíneos presentando múltiples hemorragias.

El cuadro clínico de la tuberculosis, tanto en la especie humana como en el resto de las especies animales, suele pasar desapercibido en los estadios iniciales, aunque entre la tercera y décima semanas aparece la sensibilidad tuberculínica.
Los síntomas clínicos reflejan la extensión y localización de las lesiones, así como la toxemia subyacente. Los síntomas generales consisten en emaciación progresiva, letargia, debilidad, anorexia y febrícula fluctuante. La bronconeumonía de la forma respiratoria de la enfermedad tiene como resultado una tos crónica, intermitente y húmeda, con síntomas posteriores de disnea y taquipnea. Las lesiones degenerativas producidas por la bronconeumonía granulomatosa pueden ser detectadas mediante auscultación y percusión. Cuando exista, el aumento de tamaño de los ganglios linfáticos superficiales puede ser considerado como un síntoma diagnóstico de interés.

Las lesiones normalmente se presentan en forma de calcificaciones pulmonares o linfáticas, o pueden progresar hacia una tuberculosis pulmonar, tuberculosis miliar por diseminación linfo-hematógena, e incluso pueden dar lugar a otros procesos extrapulmonares como pueden ser meningitis, afecciones de la piel, peritoneo, intestino y aparato reproductor entre otros.

MECANISMOS DE TRANSMISIÓN

El mecanismo de transmisión varía en función del tipo de tuberculosis inicial. Los más importantes son:

a) Transmisión respiratoria

   Es importante en el caso de *M. bovis* para los granjeros y personal sanitario como los matarifes y los veterinarios. Tiene lugar cuando los individuos expuestos son infectados de forma aeróbica por bacterias excretadas a través de la tos y los esputos del ganado enfermo.

b) Transmisión digestiva

   Es más común en las explotaciones extensivas. Se produce por el consumo de alimentos contaminados por *Mycobacterium*, fundamentalmente pastos y agua, mientras que en los terneros suele deberse a la ingestión de leche de vacas con tuberculosis mamaria. La dosis mínima infecciosa se ha estimado en 10mg por vía digestiva (Radostits et al, 1994).

c) Transmisión cutánea

   Es una vía excepcional y se produce por la penetración del agente infeccioso a través de zonas de piel lesionadas o mediante las vías genital, congénita (solo en hembras con tuberculosis uterina) y iatrogénica (instrumental quirúrgico o de inseminación). En cualquier caso el éxito de la transmisión depende de la frecuencia, cantidad, ruta de infección, susceptibilidad del hospedador y tamaño de las partículas que portan las micobacterias.

d) Otras

   Existen otros mecanismos de transmisión que están descritos aunque su presencia sea menos frecuente. Entre ellas podemos citar el pezón y las vías galactóforas, vías genito-urinarias, ojo y vía onfalógena.

La transmisión de *M. bovis* a la especie humana se produce por consumo de leche no higienizada o sus productos, y es causa de casos de tuberculosis extrapulmonares (linfoadenitis, tuberculosis abdominal), aunque con la generalización de las prácticas de pasteurización y esterilización, actualmente solo se producen brotes aislados, debidos a fallos en las industrias. No son raros, sin embargo, casos de reactivación en los adultos. La transmisión por inhalación produce tuberculosis pulmonar, con el consiguiente riesgo de

difusión a otros individuos. Más raramente se producen infecciones de heridas entre criadores de ganado, veterinarios y otros profesionales que se ponen en contacto con material contaminado.

DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD

1. DIAGNÓSTICO CLÍNICO Y PRUEBAS DIAGNÓSTICAS

La prueba diagnóstica más importante para la TB es la prueba intradérmica de la tuberculina. El diagnóstico basado únicamente en los síntomas clínicos es muy difícil, incluso en casos avanzados, por el carácter crónico de la enfermedad y la inespecificidad de su sintomatología. No obstante, el diagnóstico clínico confirma la sospecha y se utiliza como complemento de la prueba intradérmica de la tuberculina, sobre todo si la prevalencia de la enfermedad es superior al 5%. También resulta útil para la detección de individuos en los que el proceso está muy avanzado, pero que en su momento no reaccionan a las pruebas convencionales (Hermoso de Mendoza et al, 1992). Mediante la anamnesis debe averiguarse si se han observado episodios de tos, inflamación de los ganglios linfáticos superficiales, diarrea o adelgazamiento. La exploración se dirige en primer lugar a comprobar el estado general del individuo (estado de carnes, aspecto del pelo, temperatura corporal entre otros) y a continuación se investiga la presencia de ruidos anormales en el pulmón y tos, tanto en inspiración como en expiración. Posteriormente se exploran las ubres, buscando la presencia de endurecimientos indoloros y fríos en el parénquima y el infarto de los ganglios regionales.

Las pruebas radiográficas son útiles en primates y en animales pequeños. En algunas ocasiones se utiliza el examen microscópico del esputo y de otras secreciones.

La confirmación del diagnóstico requiere el aislamiento e identificación del microorganismo, mediante **cultivo**, que a menudo precisa de 4 a 8 semanas, o por **PCR**, que solo necesita algunos días.

- **Prueba intradérmica de la tuberculina o intradermotuberculinización (IDTB)**

La respuesta de hipersensibilidad de tipo retardado del hospedador es responsable, en gran medida, de la patología de la TB, siendo especialmente importante en **la prueba intradérmica de la tuberculina**, que se utiliza de forma generalizada para el diagnóstico

de la enfermedad en grandes animales. La **prueba intradérmica simple** (1 v/d) se basa en la inoculación de un antígeno de la micobacteria, preparado a partir de un filtrado de cultivos celulares tanto de *M.bovis* como de *M.tuberculosis*. Los extractos de proteína purificados (PPD) de la micobacteria mejoran la especificidad. En un animal con reacción, el antígeno estimula un infiltrado local de células inflamatorias y tiene como resultado una tumefacción cutánea que se puede detectar mediante palpación y se puede medir gracias a un calibrador que permite determinar el diámetro. La reacción se lee entre las 48-72 h para visualizar la sensibilidad máxima y a las 96 h para la especificidad máxima. La zona de inoculación afecta a la sensibilidad y cambia según los diferentes países, incluyendo la región del cuello, el pliegue anal o caudal de la base de la cola y labios vulvares. Una desventaja de la prueba 1 v/d para *M.bovis* es su escasa especificidad, ya que produce reacciones cruzadas en animales infectados con *M.avium*, *M.tuberculosis*, *M.paratuberculosis*, e incluso *Nocardia spp*.

En zonas de incidencia elevada de TB aviar y otras micobacteriosis atípicas o paratuberculosis, pueden emplearse pruebas comparativas (**intradermo-tuberculinización comparativa**) con *M.bovis* y *M.avium* inoculadas de forma simultánea con las tuberculinas PPD, pero en regiones separadas en el cuello. El agente que causa la sensibilización tiene como resultado la mayor reacción cutánea.

Otras pruebas diagnósticas utilizadas para la tuberculosis son la **prueba térmica**, que es capaz de detectar picos de pirexia (>40ºC) tras 6-8h de inoculación SC de la tuberculina.

La **prueba de Stormont** utiliza una inoculación intradérmica de PPD seguida de una segunda inoculación en el mismo lugar 7 días después. La tumefacción ocasionada por la prueba se lee 24h después.

Es posible observar falsos negativos en animales con un estado inmunológico malo, en los animales con un estadio temprano de infección, en los estados anérgicos de la enfermedad avanzada o en los animales viejos. Las vacas con partos recientes pueden de igual forma dar lugar a falsos negativos. Las investigaciones actuales se centran en la identificación de ciertos antígenos, como las proteínas de secreción de *M.bovis* para su uso en pruebas diagnósticas mejores.

- **Pruebas de laboratorio con sangre**:

Existen nuevas pruebas de diagnóstico con sangre, por ejemplo la prueba de proliferación de linfocitos, la del interferón gamma y el enzimo-inmunoensayo. La logística y la realización de estas pruebas en el laboratorio puede ser un factor limitante. Se necesitan más estudios comparativos de estas pruebas nuevas y ensayos dérmicos en diferentes condiciones de campo. El uso de pruebas basadas en sangre presenta ventajas, en especial con ganado arisco, con animales del zoo o de tipo salvaje, aunque la interpretación de estas pruebas está limitada por la falta de datos en algunas especies (OIE, 2004).

Las pruebas serológicas como **ELISA** parecen tener una utilidad diagnóstica limitada, que se explica por la función menos relevante de los anticuerpos frente a la respuesta inmune celular en la tuberculosis.

Recientemente se han desarrollado estudios celulares in vitro (**prueba de interferón-γ**) utilizando linfocitos sanguíneos estimulados con el antígeno de *M.bovis* y parecen ser una alternativa prometedora a la ampliamente extendida prueba intradérmica de la tuberculina; no obstante, no son de uso generalizado. "Según el Reglamento 1226/2002 de la Comisión, por el que se modifica el anexo B de la Directiva 64/432/CEE del Consejo, para permitir la detección del máximo número de animales infectados o enfermos de una explotación o una región, se podrá emplear, adicionalmente a la IDTB, la prueba del 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 OIE,* además de la tuberculinización" (Plan de erradicación nacional del 2006).

- **Requisitos para las vacunas y los materiales de diagnóstico**:

Se están desarrollando y probando vacunas, pero en la actualidad no se administran de modo rutinario. Existen métodos estándar para la producción de tuberculinas PPD bovinas. Las PPD utilizadas para realizar las pruebas especificadas deben prepararse de acuerdo con los requisitos de la Organización Mundial de la Salud y cumplir con ellos respecto al origen de los materiales, métodos de producción y precauciones, substancias añadidas, ausencia de contaminación, identidad, seguridad, potencia, especificidad y ausencia de efectos sensibilizantes. Los bioensayos para actividad

biológica son especialmente importantes, y la potencia se debe expresar en Unidades Internacionales (OIE, 2004).

2. DIAGNÓSTICO ANATOMOPATOLÓGICO (NECROPSIA)

Es el único método de diagnóstico que se puede realizar actualmente en la fauna salvaje. Las lesiones tuberculosas son bastante características a pesar que deben diferenciarse de aquellas presentadas por algunas patologías tales como la actinobacilosis, producida por *Corynebacterium pyogenes*.

En las necropsias, los tubérculos se ven con más frecuencia en los ganglios linfáticos bronquiales, mediastínicos, craneales y portales, que pueden ser el único tejido infectado. Además se suelen ver afectados los pulmones, el hígado, el bazo y las superficies de las cavidades del cuerpo. Otros lugares anatómicos se pueden considerar como potencialmente infectables.

En las necropsias, un granuloma tuberculoso suele presentar un aspecto amarillento y consistencia caseosa, caseo-calcárea o calcificada. Ocasionalmente pueden ser purulentos. Existen algunos granulomas no tuberculosos en los que el contenido purulento verdoso está reemplazado por tejido granuloso, que pueden tener similitud con los granulomas tuberculosos. Normalmente, el centro caseoso es seco, firme, y está cubierto con una cápsula fibrosa conjuntiva de grosor variable. Los tejidos fijados de un tubérculo no se extraen intactos con facilidad, como ocurre con algunos granulomas no tuberculosos. El tamaño de las lesiones varía, desde tan pequeñas que pueden pasar desapercibidas a simple vista, hasta ocupar gran parte de un órgano. El corte seriado de órganos y tejidos resulta vital para detectar las lesiones contenidas en un tejido.

La presencia de tubérculos microscópicos constituye un signo casi patognomónico, aunque podría confundirse con lesiones debidas a la infección por *Actinobacillus ligneriesi* o *Rhodococcus equi*.

III. EVOLUCIÓN EPIDEMIOLÓGICA

La elaboración de todo programa en sanidad animal requiere la evaluación previa del los indicadores epidemiológicos más relevantes y disponibles gracias a los sistemas de control y vigilancia que se vienen aplicando a lo largo de los años. Por ello, se presentan a continuación la evolución de dichos indicadores, que permiten evaluar las tendencias de evolución de la enfermedad en bovinos a nivel del estado español y a nivel de Cataluña, y también se presentan algunos datos referentes a fauna salvaje.

- Evolución en el Estado español

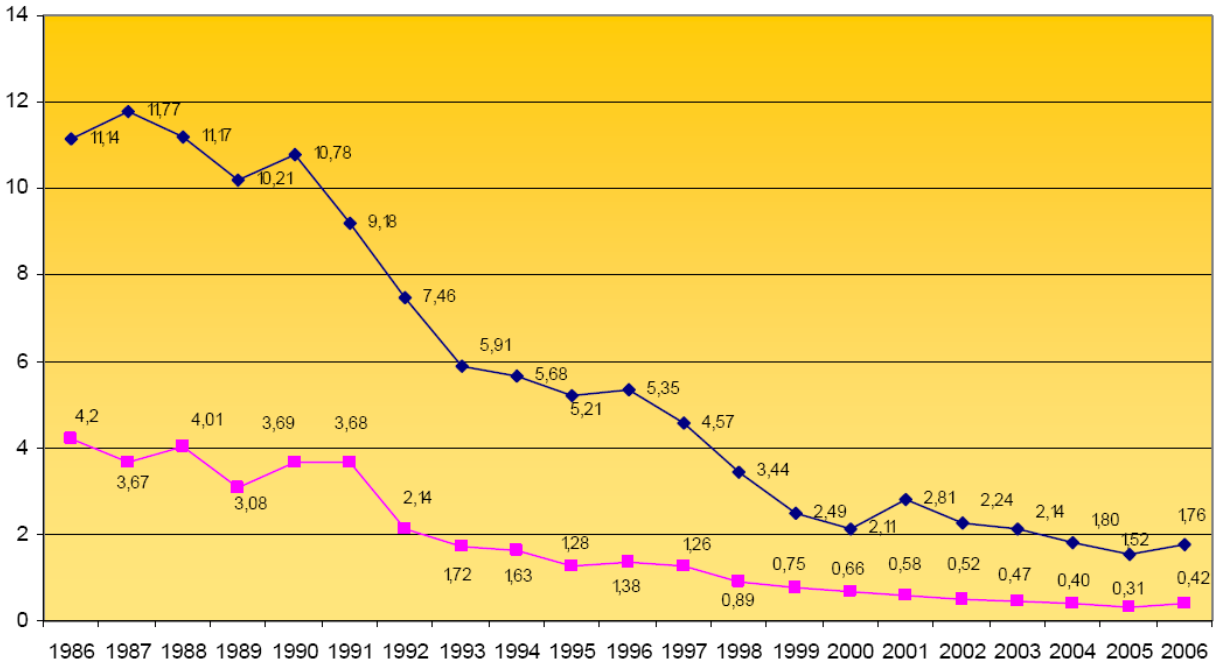


Gráfico 1: **Prevalencia de rebaño e incidencia en animales durante el período 1986-2006 para tuberculosis bovina**

Como se refleja en este gráfico, a lo largo de los años de aplicación del programa de control y erradicación de la tuberculosis en España, se han experimentado mejoras muy drásticas durante los primeros años de aplicación, y luego, los niveles de prevalencia e incidencia se han mantenido bajos pero sin llegar a su erradicación.

TABLA 2: **Incidencia de tuberculosis en explotaciones bovinas en las diferentes Comunidades Autónomas, en el período 1996-2000**

	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	2000
Andalucía	7,21	6,00	8,10	6,92	5,71	4,37	4,44	3,88	2,35	2,53	**2,08**
Aragón	4,01	4,51	3,79	2,18	3,28	2,67	1,87	2,52	2,45	1,38	0,83
Asturias	0,56	0,83	0,63	0,58	0,36	0,28	0,29	0,21	0,18	0,08	0,07
Baleares	0,94	0,86	0,59	0,83	0,60	0,30	5,52	1,50	0,23	0,36	0,12
Canarias	1,05	1,44	1,49	0,71	0,13	0,28	0,15	0,23	0,71	0,17	0,07
Cantabria	0,33	0,33	0,47	0,25	0,33	0,31	0,35	0,33	0,13	0,16	0,17
Castilla- La Mancha	6,68	7,00	3,45	1,76	2,79	2,21	1,95	1,32	1,26	1,76	**1,64**
Castilla- León	7,23	8,25	3,71	2,95	1,42	1,07	1,08	1,22	1,08	0,75	0,60
Extremadura	8,52	4,83	6,83	4,92	4,40	4,13	3,40	1,79	1,07	1,13	0,84
Galicia	4,33	2,63	1,34	0,79	0,56	0,34	0,29	0,30	0,25	0,16	0,13
Madrid	6,68	4,40	3,94	2,23	1,13	0,90	0,79	5,22	1,77	1,03	0,55
Murcia	10,55	6,27	2,92	2,45	2,10	2,87	2,57	2,77	2,02	0,82	0,63
Navarra	0,97	1,01	0,20	0,30	0,44	0,39	0,40	0,83	0,59	0,32	0,70
País Vasco	0,31	0,23	0,22	0,18	0,13	0,09	0,17	0,05	0,04	0,03	0,01
La Rioja	1,54	0,59	0,63	0,53	0,09	0,19	0,69	0,45	0,79	0,21	0,24
Valencia	8,59	5,12	3,80	4,40	13,01	7,38	4,10	14,96	13,40	10,07	**9,37**
Cataluña	5,53	9,43	1,71	1,33	0,78	0,68	0,91	0,90	0,40	0,40	0,47
Total	**3,69**	**3,68**	**2,14**	**1,72**	**1,63**	**1,28**	**1,38**	**1,26**	**0,89**	**0,78**	**0,66**

Entre 1990 y el 2000, las comunidades que presentaron mayores tasas, independiente del año, fueron Andalucía, Valencia, Cataluña y Murcia. El País Vasco representa los parámetros más bajos.

Dentro de estas Valencia fue la que presentó más cantidad de incidencias con tasas más elevadas de toda España.

Podemos observar que en muchas comunidades los valores comienzan a ser descendentes pero aparecen años donde el pico es mucho mayor a los casos anteriores,

por lo tanto las tasas de incidencia no son las apropiadas para la eliminación de la enfermedad, el ciclo continúa. Esto nos lleva a pensar que las campañas y controles que se han llevado a cabo parecen tener efecto en el aspecto de mantener porcentajes bajos pero no en su erradicación.

- Evolución epidemiológica en Cataluña

	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000
Barcelona	0,55	0,25	0,17	0,69	0,23	0,22	0,53
Girona	1,05	0,99	1,60	0,87	0,40	0,28	0,32
Lleida	0,97	1,13	0,95	1,09	0,44	0,68	0,49
Tarragona	4,66	9,49	10,88	4,67	5,64	6,81	2,90
Total	**0,78**	**0,68**	**0,91**	**0,90**	**0,40**	**0,40**	**0,47**

TABLA 3: Tasas de infección en Cataluña para la especie bovina, entre los años 1994 y 2000.

Según los datos facilitados por el Departament d'Agricultura, Ramaderia y Pesca (DARP) de la Generalitat de Catalunya representados en la tabla 3, entre 1994 y el año 2000, en Cataluña se pudo observar un descenso en las tasas de infección de las reses estudiadas en la especie bovina. Así, por ejemplo, en el año 2000 se notificaron en Cataluña 929 casos positivos, que representaron una tasa de infección del 0,47%, mientras que en el año 1994 la tasa de infección total de la enfermedad para las reses analizadas fue del 0,78%. Este descenso supuso una tasa 1,7 veces menor a la registrada seis años atrás.

No obstante, aunque las tasas de infección se han reducido en el período reflejado en la tabla, siguen existiendo pequeños picos de incidencia que superan la incidencia de años anteriores, siendo la provincia de Tarragona la que claramente se encuentra más afectada y la de Girona la que menos.

En la siguiente tabla se muestra la evolución más reciente que ha tenido la prevalencia de la tuberculosis en bovinos en Cataluña y en España.

	2001	2002	2003	2004
Situación en Cataluña	0.49%	0.58%	0.19%	0.2%
Situación en España	0.60%	0.53%	0.47%	0.5%

TABLA 4: Datos de prevalencia en bovinos durante el período 2001-2004

Otros países de la UE

En Inglaterra la tuberculosis es un problema muy grave en terneros y se le ha dado seguimiento desde los años 50. Entre los años 80 y el 2003 los parámetros fueron decreciendo hasta alcanzar una prevalencia del 16% y en el año 2007 se volvió a incrementar el número de casos con respecto al 2006.

En el 2007 algunos países de la UE no cumplieron con los requisitos puestos en la directiva 64/432 para declararse como libres de tuberculosis del anexo A. En Inglaterra los problemas se concentran en la parte sur este y Gales.

En el 2008 se detectó que el 3,6 % de los rebaños de Inglaterra contaban con TB y en humana representa un 1- 1.5% de casos.

IV. ÚLTIMOS AVANCES EN FAUNA SALVAJE

El tejón *(Meles meles),* es un reservorio natural de TB importante en Gran Bretaña e Irlanda. Se estudió bastante después de aplicar la erradicación en animales de estabulación por medio del sacrificio obligatorio, y observar que surgían brotes difíciles de explicar al reintroducir el ganado en zonas donde se había realizado el vaciado sanitario.

Fue en 1971 cuando un tejón fue diagnosticado, y se ha observado que la tuberculosis es endémica en zonas con alta densidad de tejones.

En 1997 Hausting y Harris, comprobaron que los tejones contaminaban los pastos por medio de excrementos y orina.

Debido al carácter crónico de la enfermedad su relación ha sido difícil, pero se ha logrado comprobar, que pastos contaminados son inicialmente despreciados por el ganado, pero al irse agotando lo van consumiendo, al mismo tiempo que los animales más susceptibles son los de menor jerarquía. Al ser una enfermedad que en muchos casos es subclínica se va diseminando por el rebaño además de un factor importante como es la alta resistencia de los bacilos al ambiente.

La OIE reporta en mayo del 2000 que se han descubierto pruebas más sensibles y específicas para el diagnóstico de TB en animales domésticos y salvajes. Se trata de pruebas serológicas y análisis de muestras de sangre entera que se combinan con pruebas rápidas de identificación de *Mycobacterium Boris*, como cultivo en medio líquido y amplificación de la cadena de polimerasa.

Esto permitiría un diagnóstico eficaz donde las medidas de control se optimizarían por medio de análisis epidemiológico y huellas genéticas.

La exposición a dosis bajas de vacuna BCG (bacilo Bilié de Calmette y Guérin) protege frente a TB al ganado y cérvidos en cautividad, al mismo tiempo que se puede diferenciar animales vacunados de infectados.

Estos hallazgos se consideran como una de las soluciones para los países que cuentan con animales salvajes que son reservorios, sin provocar alteraciones en su medio y cambiar las prácticas tan invasivas y destructoras que se están practicando hasta ahora.

Por otro lado, se debe de tomar en cuenta el costo de este procedimiento y otra clase de implicaciones medioambientales que puede acarrear. La vacunación en animales salvajes puede llegar a ser parte de una buena alternativa.

España, repercusiones en los animales salvajes

La tuberculosis es un proceso que se ha estudiado poco en la fauna silvestre dentro de España, y normalmente es asociada a ciervo, gamo, corzo y jabalí, que son las especies más susceptibles y las que más importancia tienen a la hora de mantener la enfermedad en el medio natural, sin embargo a los carnívoros se les ha dedicado una atención prácticamente nula. El hecho de que haya aparecido un lince muerto en Doñana y de que se haya determinado que murió a causa de esta enfermedad es algo nuevo, pero que era de esperar cuando existen citas de tuberculosis en gamo, ciervo, jabalí y ganado vacuno dentro del Parque Natural de Doñana. De hecho, una de las primeras citas mundiales de casos de tuberculosis en jabalí corresponde al año 1987, donde fue diagnosticado a un animal de Doñana (León Vizcaíno,1990).

Frente a esta situación se ha creado un alarmismo generalizado, que está fuera de lugar, porque al ser esta enfermedad endémica en el parque, se ha convertido ya en un proceso incluido dentro de la dinámica poblacional de las distintas especies que lo habitan. La tuberculosis considerada como un factor de amenaza más para la conservación del lince ibérico tiene una relativa importancia, mucho menor a la que supone la pérdida de hábitat, la reducción de las poblaciones de conejo y otras enfermedades típicas de los felinos como la panleucopenia o la leucosis felina.

V. LEGISLACIÓN ACTUAL Y PLAN DE CONTROL Y ERRADICACIÓN PARA LA TUBERCULOSIS

La tuberculosis bovina es una de las enfermedades cuyo objetivo es lograr erradicar y se encuentra como enfermedad de Categoría I "Enfermedades animales con impacto sobre la Salud Pública".

Dentro de los programas de erradicación se realiza una división de las especies de producción lechera de las cárnicas, con diferentes objetivos para cada una.

Los programas de erradicación se encuentran basados en las Decisiones 2005/873/CE y 2006/875/CE. Con 2 reglamentos fundamentales Directiva 77/391/CEE por la que se recibe una ayuda financiera de la comunidad para la erradicación de la enfermedad por los estados miembros y Directiva 64/432/CEE por la que la erradicación es el objetivo final.

Para estos objetivos se basa en las siguientes divisiones:

1. Comunidades Autónomas con prevalencia de rebaño 0. Deben mantener la prevalencia y alcanzar casos de rebaños indemnes del 99,99%.

   En las comunidades donde la incidencia exceda el 3%, se realizarán evaluaciones cada 6 meses.

2. Comunidades Autónomas con prevalencia de rebaño inferior al 1% o "de baja prevalencia": alcanzar una prevalencia de 0% en el 2010 disminución anual del 33,33% en la prevalencia de rebaño. Se realizarán controles 3 veces al año.

3. Comunidades Autónomas con prevalencia de rebaño superior al 1% o "de alta prevalencia": objetivos de alcanzar una prevalencia del 0.1%

Además se toma en cuenta SANCO/10200/2006, donde se habla de la erradicación de la tuberculosis en la UE.

Gran parte del plan se realiza basándose en los análisis epidemiológicos previamente realizados.

Objetivo principal: erradicación, quiere decir que se debe contar con una prevalencia de menos del 0.1% por un período mayor a los 6 años.

Área de aplicación: todo el territorio nacional.

Población: bovinos (Directiva 64/432/CEE)

Medidas: Detección de animales positivos y su sacrificio.

Prueba diagnóstica: IDTB simple y complemento con el gamma interferón.

Caso positivo: según RD 2611/1996, si al menos un animal no supera las pruebas oficiales.
En caso de que no se cumplan los objetivos se deberá de realizar un informe anual con los motivos que lo justifiquen

CONCERNIENTE A ANIMALES SALVAJES

"Si en las explotaciones se identifica como reservorio una especie de fauna silvestre cinegética que cohabita con el ganado en la misma explotación, los SVO junto con el titular de la explotación y las autoridades competentes en Medio Ambiente, acordarán un plan integral que permita controlar la transmisión y limitar el contacto entre el ganado y la fauna silvestre, incluyendo la separación de las dos poblaciones cuando sea posible o limitando la densidad de las especies cinegéticas en la explotación (sacrificios selectivos, no aporte de alimentación suplementaria…)"

Consideramos que las pautas en cuanto a los animales salvajes deberían estar más limitadas. Como se menciona dentro de nuestra entrevista es delicado que el veterinario

oficial se encargue de hacer un plan que involucre especies salvajes, debido a su conocimiento en la materia, siendo riesgoso no sólo para el programa establecido, sino también para la población de los animales salvajes. Se debería de contar con especialistas en esta materia y que ante este tipo de situaciones pudieran actuar o estipular un seguimiento en vista de la circunstancia.

El manejo y técnicas para la valoración de la presencia de la enfermedad son claramente distintos a los utilizados para la especie bovina.

"Si una vez identificado un reservorio silvestre no se establece un plan integral de control en la explotación, no se aplicará el vaciado sanitario (salvo excepciones), el intervalo mínimo entre la 2 pruebas de calificación del rebaño se aumentará a 9 meses como mínimo y en todos los movimientos posteriores a la calificación, se utilizarán en el chequeo previo al movimiento del lote, siempre que se trate de animales con destino reproducción, las pruebas de la IDTB simple y del gamma-interferón en paralelo."

VIGILANCIA EN FAUNA SILVESTRE:

Se continuará con el sistema vigilancia de animales silvestres en todas Comunidades Autónomas (salvo en aquellas sin especies silvestres reservorio escasa extensión geográfica, donde será optativo) para evaluar su posible papel como reservorio de la enfermedad si a través de las encuestas epidemiológicas identifican o sospechan reservorios silvestres. Dicho sistema autonómico complementa mediante el "CONVENIO DE COLABORACIÓN ENTRE EL ORGANISMO AUTÓNOMO PARQUES NACIONALES (MMA), El MINISTERIO DE AGRICULTURA PESCA ALIMENTACIÓN (MAPA) Y EL CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (CSIC) PARA LA EJECUCIÓN DE UN PROGRAMA DE VIGILANCIA SANITARIA DE POBLACIONES DE ANIMALES SILVESTRES EN LAS FINCAS Y CENTROS ADSCRITOS ORGANISMO AUTÓNOMO PARQUES NACIONALES".

Este es el caso de nuestra comunidad autónoma donde, en el año 2005 en Ports de Tortosa i Beseit, se descubrió la presencia de la enfermedad, y desde entonces la zona ha estado en investigación. Se ha eliminado el ganado vacuno, pero con su reintroducción

en los años próximos se evaluará si existe un intercambio de enfermedad entre ganado doméstico y fauna autóctona, lo que podría complicar en gran manera la erradicación en esta zona.

Por otra parte existen datos en el parque Doñana donde la gama de animales afectados es mayor que lo que se conoce en Catalunya y tampoco se ha evaluado el efecto en los bóvidos de los alrededores.

En al documento de la SANCO se explica que una de las limitaciones en cuanto a la eliminación de esta patología es la presencia de animales silvestres contagiados y su contacto. Por lo que se deben de realizar medidas en cuanto a las poblaciones. Se mencionan las vacunas en animales salvajes como un medio de control, el cual hasta ahora se encuentra en estudio y la separación de las poblaciones domésticas de las salvajes sugerido antes de actuar por medio de la reducción de la población en fauna.

En caso de que fuera necesario esta reducción debe estar basada en investigaciones científicas previas, sumado a otro tipo de prevenciones que no involucren un desequilibrio ecológico.

VI. IMPLICACIONES SOCIO-ECONÓMICAS Y SANITARIAS

España e Italia son los países industrializados con más casos de tuberculosis en humana. Se estima que en España aparecen 50 casos nuevos casos por cada 100.000 habitantes, debido a la aparición de brotes de tuberculosis por cepas multirresistentes a los fármacos tradicionales, y de ahí su importancia como enfermedad zoonótica.

Aunque las tasas han sido reducidas debido a los programas de erradicación, la Organización Mundial de la Salud (OMS) considera que las cifras podrían estar infravaloradas, debido a que la identificación del agente etiológico no suele ser completo.

Su gran importancia económica recae en que es la enfermedad infecciosa en la que se han dispuesto más medios para su control y erradicación en este siglo. Y actualmente, el tejón en Gran Bretaña, la zarigüeya en Nueva Zelanda, los jabalíes, los carroñeros y accidentalmente carnívoros interfieren en las campañas de erradicación de TB.

VII. ENTREVISTA

Entrevista con Santiago Lavín

Nacido en Asturias, España, en 1959. Licenciado en Veterinaria por la Facultad de Veterinaria de la Universidad de León (1982). Doctor en veterinaria por la Facultad de Veterinaria de Murcia (1986). Desde 1992 es Catedrático de Universidad en el Dpto. de Medicina y Cirugía Animal de la Facultad de Veterinaria (Universitat Autònoma de Barcelona). Fundador del Servicio de Ecopatología del cual es coordinador. Tiene experiencia en patología y manejo de animales salvajes.

Áreas de conocimiento

Biopatología clínica animal (hematología y bioquímica animal comparada), captura y manejo de fauna salvaje (estrés), patología de fauna salvaje.

Actualmente dirige proyecto de investigación sobre Epidemiología y factores de riesgo de las enfermedades infecciosas en los ungulados salvajes y domésticos en la "Reserva Nacional de Caça dels Ports de Tortosa i Beseit".

1. **¿Crees que la tuberculosis es un problema sanitario importante dentro de la fauna salvaje en el estado Español?**

Si, ahora mismo es un problema importante no tanto en la zona norte sino en la parte central y Sur este del país. Tanto en fauna cinegética (especies que se cazan) que normalmente se encuentran en cercados, con lo cual es mucho más fácil la transmisión, porque son animales manejados que se alimentan y se les ponen bebederos y por tanto hay concentraciones mayores, así como en algunos parques, como por ejemplo en el de Doñana. Las especies más importantes en estos momentos son ciervo y jabalí.

2. **¿Conoces la legislación sobre tuberculosis que existe en el estado Español?**

Sí, pero es una normativa que está recogida en distintos archivos. No hay legislación ahora mismo específica para tuberculosis en fauna salvaje.

Ahora mismo hay un plan de control en Catalunya, que lo estamos realizando nosotros mismos para Medi Ambient debido a un brote de tuberculosis que se encontró en jabalí en relación con animales domésticos, en la zona dels Ports de Tortosa i Beseit, porque aquí en Catalunya es en el sitio donde hay tuberculosis, no hay otros sitios donde exista la enfermedad en animales salvajes.

3. **¿Crees que la presencia de la enfermedad en la fauna salvaje puede contribuir a la permanencia de la enfermedad en los rebaños de bovinos, caprinos y ovinos y por tanto el fracaso del plan de erradicación?**

No lo sabemos, lo que si se hará es realizar un estudio a nivel español para determinar la importancia de los animales salvajes en todas estas granjas en las que se ha hecho el control de saneamiento y luego han vuelto a aparecer brotes, ya que en este aspecto hasta ahora prácticamente no se ha hecho nada, se conoce muy poco.

Y es ilógico que no se contemple su importancia, cuando la administración ha invertido millones de euros para la erradicación de la tuberculosis y es ilógico que nadie contemple a la fauna salvaje. La administración debería de pensar en estudios que pueden realizar las personas especializadas en fauna salvaje, porque es relativamente poco dinero el necesario. Se han estado dedicando a otras investigaciones y es incomprensible como se ha dejado de lado la importancia de los silvestres, inaudito.

En el programa de erradicación se menciona la importancia de los animales salvajes como un problema subyacente que puede influir, pero aún así parece que no se ha hecho nada al respecto...

No se ha hecho nada, la administración es muy lenta y claro entrar en la fauna salvaje le trae un problema.

4. **¿Qué se hace en caso de detectar un brote de tuberculosis en fauna salvaje, cuáles serían pues las pautas a seguir?**

No hay ahora mismo pautas establecidas, pero si detectas un brote lo primero que hay que saber es porqué ha aparecido aquel brote.

En el caso nuestro era por unas vacas, una explotación extensiva de toros de Lidia, que no estaban adecuadamente saneados. Entonces, de ahí saltó al jabalí y ahora circula dentro del la población de jabalíes, y no se sabe, debido a que es algo nuevo a nivel europeo y a nivel de España las repercusiones que esto puede acarrear.

Hasta ahora se han eliminado las vacas y seguimos trabajando y recogiendo muestras del jabalí, pero no sabemos lo que va a pasar, si va a disminuir la prevalencia en el jabalí al quitar a las vacas o se va a mantener en el jabalí y como las vacas dentro de un año volverán a entrar, sabremos si vuelve a trasmitirse.

Entonces, tenemos un modelo ahora mismo muy interesante, además de ser en un medio natural, para estudiar la tuberculosis en la fauna salvaje, es el único modelo así que hay ahora en Europa.

5. **Hemos leído que últimamente se han realizado muchos sacrificios para reducir la población de animales silvestres que pueden ser reservorios de la enfermedad como el jabalí. Crees que hay otras medidas que se podrían plantear para controlar la enfermedad.**

Si los animales están infectados y son reservorios se está planteando ahora mismo en el centro de España, con la problemática tan grande que hay, hacer una normativa que no permita en la misma finca criar domésticos con salvajes.

La tuberculosis es un problema gravísimo que hay que intentar eliminar, tenemos uno de los mayores focos de tuberculosis de Europa en España, concretamente en el centro y sur de España, refiriéndonos a salvajes, y esto es por un problema de gestión que no lo tienen en otros sitios. Por ejemplo, los grandes cercados, las fincas donde conviven domésticos y salvajes y donde los ciclos se cierran. Además hay un movimiento de animales que no hay quien lo controle: de una finca se llevan animales a otro lugar con lo cual sin un seguimiento sanitario están llevando la tuberculosis a otros sitios. Se trata de un descontrol sanitario total que ha llevado a esta situación.

Hay que poner en marcha alguna medida, lo único que puedes hacer es eliminar animales cuando hay prevalencias de un 50 - 60%. Primero tienes que quitar los animales

enfermos, esto es básico. Luego puedes separar domésticos de salvajes y en los salvajes hacer seguimientos en cacerías, establecer prevalencias e incentivar un poco la cacería para disminuir la población enferma.

6. **Entonces, ¿cómo se determina en animales salvajes qué individuos son reservorios si no manifiestan la enfermedad?**

No puedes saberlo, cuando se detecta en un sitio que hay una prevalencia alta de tuberculosis simplemente eliminas animales, haces un vaciado sanitario. Eso sí, no en zonas grandes sino en zonas más restringidas, como por ejemplo una finca. No tienes otra solución. El diagnóstico es complejo, una tuberculosis diseminada es un proceso crónico, lo único que se detecta en jabalí son los nódulos mandibulares y de los muchos casos que hemos visto de tuberculosis, sólo hemos encontrado 1 o 2 casos diseminados que son los que probablemente lleven a la muerte del animal, pero los otros permanecen como reservorios. El microorganismo se encuentra ahí, se va eliminando y el jabalí puede seguir viviendo.

7. **¿Qué importancia económica y sanitaria puede tener del proyecto que estáis empezando en los "Ports de Tortosa i Beseit"?**

Bueno, de hecho se comenzó a estudiar en el 2005, y es importante por lo que se ha hecho en esta ocasión con la eliminación de las vacas de la finca y por el hecho de conocer la tuberculosis en el jabalí, que no se sabía. Vamos a tener datos que no se conocen hasta ahora a nivel mundial.

8. **¿Existe alguna ayuda estatal para este tipo de investigaciones en patología salvaje?**

Si, hay un proyecto específico del INIA (Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias), que tiene un programa específico para lo que serían las "enfermedades compartidas" entre la fauna salvaje y los animales domésticos.

Entonces ¿por qué hay esta falta de conocimiento en el estado Español?

Pues porque es algo muy reciente, el INIA ha empezado a dar ayudas hace muy pocos años y además suelen dar muy pocos proyectos. Cabe añadir que además somos sólo 2 o 3 grupos que estamos trabajando con fauna salvaje en toda España. El IREC situado en Ciudad Real, Instituto de Recursos Energéticos de Castilla La Mancha, tiene una base de patología que se dedica a esto; nosotros, el SEFAS, que solamente nos dedicamos a fauna salvaje; y luego un pequeño grupo en Zaragoza y otro pequeño grupo en Vizcaya que también hacen algo con fauna salvaje.

9. **Como crees que se podría promover el interés del estado por estas investigaciones.**

No lo sé, la importancia ya la tiene y el interés también, lo único que tienen que dar son recursos, que me imagino que los darán a medida que vayan apareciendo los problemas y que la población se vaya concienciando. Por ejemplo, si aparece la transmisión a personas, debido a que es una zoonosis, será cuando la gente y la administración pondrán interés como ha pasado con la gripe aviar. Aquí se van poniendo recursos para tapar agujeros.

10. **¿Qué países de la Unión Europea crees que están más avanzados en cuanto a investigación de patología salvaje?**

Hay mucha diferencia según los países. Las mejores técnicas de seguimiento de la fauna salvaje las tiene Suecia, que tiene un Instituto en Uppsala vinculado a la facultad, especializado en patología de la fauna salvaje. Francia también tiene un sistema muy bueno de seguimiento sanitario de la fauna salvaje, que integra tanto la facultad de veterinaria, los organismos oficiales y también participan los cazadores, y por tanto se conocen bastante bien las patologías dominantes en cada especie. Y quizás Suiza sería otro país que también realiza una buena investigación en patología de fauna salvaje.

11. **Puesto que actualmente es el veterinario oficial el que decide las medidas a tomar en caso de un brote de tuberculosis en fauna salvaje ¿crees que se debería redactar un apartado específico para el control y la erradicación en animales salvajes?**

Debería de estar establecido, ya que es un problema para el veterinario oficial. No es lo mismo coger una prueba en una vaca que en un animal salvaje. Puesto que hay implicaciones económicas, implicaciones en cuanto a la caza e implicaciones en cuanto a salud pública, la administración es reticente a tomar parte de esto. La normativa debería venir especificada para fauna salvaje, pero en programas conjuntos. También se puede hacer un buen seguimiento sanitario de la fauna salvaje para de determinar los focos importantes de enfermedad y entonces tomar medidas. Debemos de realizar estudios porque sino la administración se echa para atrás y más en estos momentos de escasez de recursos económicos.

12. **En cuanto a casos en animales salvajes de un zoológico, ¿crees que también juegan un papel importante en el contagio de los animales domésticos o de las personas?**

Cuando las especies están en cautividad, la responsabilidad de su estado sanitario recae sobre los gestores del centro en concreto (el parque o zoológico). Puesto que pueden haber implicaciones sanitarias para otros animales que pueden ser receptivos, implicaciones para las personas que visitan el centro… sí que es muy importante realizar una buena gestión, pero es una responsabilidad del propio gestor.

¿No hay ninguna ley que establezca que hacer con este tipo de casos?

Ahora mismo no, pero si el gestor tiene animales salvajes con domésticos sí que debe de aplicar los programas que se aplican en los domésticos, pero sobre fauna salvaje concretamente no hay nada. Lo que si exige la ley, es que al ser un núcleo zoológico debe tener un programa de higiene y profilaxis, pero aún así, se trata de un programa muy laxo.

13. Y al tratarse de una enfermedad de Declaración Obligatoria en rumiantes domésticos, ¿no existe obligación de declarar los casos en fauna salvaje?

No, no es de declaración obligatoria para la fauna salvaje, sí en los rumiantes y en las personas. La administración es quien tiene el control porque subvenciona las pruebas, esto no lo puede hacer otra gente. Por ejemplo, la prueba de la tuberculinización sólo las pueden realizar los mismos organismos oficiales. Los sacrificios reciben también una indemnización por parte de la administración. Pero en fauna salvaje no existe nada de esto.

14. ¿No hay otra prueba diagnóstica que se pueda realizar en animales salvajes?

Es muy complicado, por ejemplo en el jabalí sólo hay una forma y es mediante necropsia. Hay una prueba que se ha probado en ciervos con el gamma-interferón, que la han puesto a punto los australianos, pero claro, son 100 o 150 euros por animal, y al final cuesta más la prueba que el propio animal.

Es complicado, casi sólo podemos utilizar la necropsia como método de diagnóstico y aún así hay que ir con cuidado, puesto que a veces se ven nódulos que deducimos que son de tuberculosis y cuando hacemos la prueba nos sale negativa. Esto pasa porque son muy pocos microorganismos los que se encuentran en los nódulos. Por tanto, se suele hablar de lesiones compatibles con tuberculosis y no de tuberculosis hasta que se aísla e identifica la bacteria.

Los animales necropsiados, son decomisados de cazadores y también de cajas trampa, porque la prevalencia es tan alta que hay que quitar animales.

Hemos hecho cientos de necropsias de jabalí de Sant Llorenç y cercanías y nunca han salido positivos a tuberculosis, mientras que en el sur hemos visto una prevalencia en animales adultos de hasta un 50%.

15. ¿Se han visto repercusiones en los predadores de estos animales?

Aquí en Catalunya, no. Se ha visto en el sur de España, en Doñana, jabalís, ciervos, gamos muertos que los linces o lobos han consumido. Y se ha postulado que este hecho pueda hacer que la enfermedad pase al lince o al lobo.

En otro animal importante que es el oso, realmente no se han visto casos porque se encuentra en el norte y aquí no hay tuberculosis.

16. ¿Hay alguna forma de saber si un brote de tuberculosis se originó en nuestro país o proviene de animales importados o que provienen de otros países, o de aves migratorias?

Actualmente sí, puesto que se han estudiado y caracterizado las bacterias hasta el punto de poder decir exactamente de donde provienen, gracias a los llamados "espoligotipos", que nos permiten determinar toda la trazabilidad de la bacteria. Por ejemplo, saber si proviene de alguna ave migratoria que viene de África, o si proviene de un animal importado del norte de Europa. Y esto además supone un avance muy importante en cuanto al conocimiento de este patógeno y sus posibilidades de movimiento a nivel mundial.

VIII. CONCLUSIONES

1. La incidencia de tuberculosis bovina (*M.bovis*) tanto en Cataluña como en el resto de España, ha experimentado un descenso continuo y constante a lo largo de los años analizados.

2. A pesar de este descenso, algunos años se producen algunos brotes aleatorios que aumentan la incidencia de la enfermedad sin causas aparentes.

3. Investigaciones bastante recientes demuestran que hay un gran número de especies animales salvajes que pueden ser reservorias e incluso desarrollar la enfermedad de la tuberculosis, tanto en nuestro país como a nivel mundial.

4. Algunas noticias de prensa revelan la existencia de casos recientes de tuberculosis en distintas especies salvajes tanto a nivel español (jabalíes, corzo, gamo….) como a nivel europeo (como el caso de los tejones, los zorros…).

5. No existe actualmente ninguna legislación ni europea ni nacional que regule las medidas y actuaciones que deben tomarse en caso de brotes de tuberculosis en fauna salvaje.

6. Aún son objeto de investigación los posibles métodos de diagnóstico que pudieran ser aplicables a la fauna salvaje (como la prueba del gamma-interferón) y el posible protocolo de actuación frente a la detección de la enfermedad.

7. Se necesitan más estudios comparativos de estas pruebas nuevas y ensayos dérmicos en diferentes condiciones de campo. El uso de pruebas basadas en sangre presenta ventajas, en especial con ganado arisco, como animales del zoo o de tipo salvaje, aunque la interpretación de estas pruebas está limitada por la falta de datos en algunas especies.

8. La tuberculosis es una enfermedad de carácter zoonótico importante, por lo que puede llegar a tener graves implicaciones sobre la salud pública.

9. En el Estado Español, la administración no invierte suficientes recursos en investigación de patología de fauna salvaje y en consecuencia no existen datos sobre ésta que puedan motivar la redacción de planes de control y actuación. Sin embargo, países como Inglaterra (DEFRA), Irlanda, Nueva Zelanda o Suecia (Uppsala) han dedicado muchos más recursos en este ámbito de estudio reconociendo su importancia tanto a nivel sanitario como socio-económico.

IX. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos por las campañas de Sanidad Animal no han sido tan buenos como cabria esperar con relación a la elevada contribución financiera procedente de la Unión Europea.

Nos planteamos seriamente si este "fracaso" del plan de erradicación en España se pueda deber a la no consideración de las especies salvajes autóctonas y su importancia en la persistencia de la enfermedad tanto en bovinos como en las personas.

Resulta paradójico que tal como se ha comentado cuando se revisaba el último plan de erradicación de la tuberculosis en España, por una parte se considera a las especies salvajes como posibles "trabas" para el éxito completo del plan, sobretodo en zonas de ganadería extensiva (especial importancia en toros de Lidia), pero por otra parte no se estipula ningún tipo de protocolo a seguir con estas especies salvajes "problemáticas". En cambio, el plan de control y erradicación para los bovinos, ovinos y caprinos, resulta ser muy estricto y concreto en cuanto a los métodos de diagnóstico y posterior sacrificio de los animales positivos, incluyendo el vaciado sanitario cuando la prevalencia supere el máximo establecido.

Creemos que se debería redactar un plan de control y erradicación conjunto, tanto para las especies domésticas como para las salvajes, donde no fuera competencia total del veterinario oficial decidir qué hacer frente a un brote en silvestres.

¿Porqué esta falta de inversión de recursos en cuanto a la patología de fauna salvaje en España?

Por una parte suponemos que las pruebas diagnósticas con toda la investigación que conllevan no resultan poco costosas, y teniendo en cuenta que el animal salvaje no aporta bienes económicos, no resulta rentable, a primera vista, invertir en estos asuntos.

Pongamos por ejemplo el caso de Tortosa i Beseit, donde se logró demostrar la transmisión de la enfermedad de los bovinos a los jabalíes, y esto llevó a la realización de

un vaciado sanitario de las vacas de la finca afectada además del sacrificio de un número importante de suidos silvestres para disminuir la población de jabalíes y así la prevalencia de tuberculosis en ellos.

A partir de este suceso, la gran incógnita que se plantean es si al reintroducir las vacas en la finca se va a producir el traspaso de la enfermedad nuevamente de los jabalíes a los bovinos. Esto suponemos que va a ayudar a hacer comprender la importancia de estos reservorios salvajes en la erradicación de la tuberculosis.

Quisiéramos creer también que esto pudiera motivar la investigación en cuanto a métodos más eficaces y precoces (que no requieran la muerte del individuo) para la detección de la enfermedad en silvestres.

Afortunadamente, no se han dado, o más bien demostrado, casos de tuberculosis en humanos procedentes del contacto con la fauna salvaje. No obstante, no se debería obviar la posibilidad que alguno de estos jabalíes afectados pudiera transmitir la enfermedad a los cazadores y originar un brote en humanos. ¿La administración va a esperar que esto ocurra para tomar medidas? ¿Qué clase de medidas va a tomar si sucede un caso así dada la poca investigación que se ha hecho al respecto? Estas son algunas de las preguntas que nos planteamos y las respuestas que nos vienen a la cabeza no favorecen mucho a la conservación de las especies salvajes autóctonas en su medio natural.

Las propuestas de erradicación de la tuberculosis de los tejones en Irlanda, mediante la reducción poblacional de estos en áreas de ganado vacuno, tiene una dudosa eficacia a parte del daño ecológico que supone. Por otro lado, se postulan otras alternativas, como la vacunación de los animales salvajes que se conocen como portadores.

Debemos resaltar la importancia que tienen todas las especies dentro de un ecosistema; todas y cada una de ellas en cualquier proceso infeccioso o no que suceda. Es por esto por lo que antes de tomar decisiones sobre el futuro de una especie por el bien de la salud humana o el de cualquier otra especie animal, debe realizarse un estudio muy detallado del efecto que tiene la presencia de esa enfermedad en el medio, a qué especies afecta y qué papel desarrolla cada una de ellas dentro de la epidemiología de la enfermedad. Una vez hecho esto, se podrán llevar a cabo las medidas necesarias para

contrarrestar el proceso, si es que éstas fueran necesarias, tomando en cuenta la zona donde se produce y su evolución.
Es importante saber que cualquier factor que olvidemos podría implicar el fracaso de un nuevo programa de erradicación con las implicaciones socio-económicas y ambientales que esto conlleva.

Casi siempre se suele perder el concepto de que la enfermedad es un proceso natural que ayuda regular el tamaño de las poblaciones de las diferentes especies. Por esto, en situaciones como las actuales, en las que el medio natural está totalmente alterado y los superdepredadores escasean, estos han sido reemplazados por patógenos que cumplen un papel similar en la dinámica poblacional. Esto no quiere decir que todas las enfermedades sean buenas y que deberíamos dejar que actúen libremente, si no que se debería estudiar más la ecopatología de ellas para así conocer mejor como actúan y así poder establecer planes de gestión y conservación más rigurosos, seguros y fiables.

BIBLIOGRAFIA

Nugent G, Whitford J and Young N. (2002) Use of released pigs as sentinels for *Mycobacterium bovis.* Wildlife Disease Association, Journal of Wildlife Diseases. (38, 4), page 665.

Questionnary of Diseases in Wildlife, Organisation Internacional d'Epizooties (OIE).

Martín Atance P y León Viscaíno L (1998) La tuberculosis: Introducción a la enfermedad. Unidad de Enfermedades Infecciosas, Depto Patología Animal, Fac. de Veterinaria, Murcia.

Erradiación de la tuberculosis bovina en la UE, Sanco/10200/2006

Manual de procedimiento para la realización de la prueba IDTB de comparación y del gamma-interferón (2007), Red de Alerta Sanitaria Veterinaria, Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rura y Marino

Domenec Martínez Pilar (2003) Tendencias evolutivas de la Brucelosis y Tuberculosis animales en el período 1990-2000, Tesis Doctoral, Universidad Autónoma de Barcelona.

Lyashchenko K.P, Greenwald R. et al (2008) Animal-side serologic assay for rapid detection of Mycobacterium bovis infection in multiple species of free-ranging wildlife. Veterinary Microbiology 132 pp 283-292

Romero Beatriz, Aranaz Alicia et al (2008) Persistence and molecular evolution of Mycobacterium bovis population from cattle and wildlife in Doñana Nacional Park revealed by genotype variation. Veterinary Microbiology 132 pp 84-95

Martin- Atance P, Palomares F et al (2005) Bovine Tuberculosis in a Free Ranging Red Fox (Vulpes vulpes) from Doñana National Park (Spain), Journal of wildlife diseases 41(2), pp 435-436, Wildlife Disease Association.

Borsh, Gordon S.V (2002) A new evolutionary scenario for the Mycobacterium tuberculosis complex, University of Sussex, Brighton, United Kingdom.

Martín- Atance P, León Viscaíno L. (2006) Antibodies to Mycobacterium bovis in Wild Carnivores from Don˜ and National Park (Spain) Journal of Wildlife Diseases, 42(3), pp 704–708, Wildlife Disease Association.

Zanella G, Benoit D, et al (2008) *Mycobacterium bovis* in wildlife in France,. Journal of Wildlife Diseases, 44(1), pp. 99-108, Wildlife Disease Association

Hermoso de Mendoza M, Hermoso de Mendoza J, Gil MC (1992) Diagnóstico monográfico sobre tuberculosis bovina. Bovis 47: 55-63.

Kahn CM, Line S eds. (2007) "Tuberculosis y otras infecciones por micobacterias". En: Manual Merck de veterinaria, 6ª edición, pp 537-541. Oceano Centrum, España.

Manual de la OIE sobre animales terrestres (2004). "Tuberculosis bovina" (Capítulo 2.3.3.), pp 459-502.

ORDRE de 22 de març de 1989, sobre l'obligatorietat de realitzar les campanyes de sanejament ramader dins l'àmbit territorial de Catalunya.

Programa nacional de erradicación de tuberculosis bovina presentado por España para el 2006, Revisión final. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.

Programa nacional de erradicación de tuberculosis bovina presentado por España para el 2008-2010, presentado para su confinación en 2008. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.

Radostits OM, Blood DC, Gay CC (1994) "Diseases caused by bacteria IV: Diseases caused by *Mycobacterium spp*." In: Veterinary Medicine, 8ª ed., pp.830-838. Baillière Tindall, London.

Real Decreto 2611/1996, de 20 de diciembre, por el que se regulan los programas nacionales de erradicación de enfermedades de los animales. (BOE número 307)

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. (BOE número 216)

Buit sanitari de vaques i senglars al barranc de Lloret (Ports de Tortosa i Beseit) (2008) Servei d'Ecopatologia de Fauna Salvatge (SeFaS) de la UAB

NOTICIAS

Gran parte de la fauna silvestre de Doñana sufre tuberculosis bovina, Diario el Periódico, 24/7/2008.

Comunicat dels Serveis Territorials a les Terres de l'Ebre del Departament de Medi Ambient i Habitatge sobre el brot de tuberculosi detectat en la Reserva Nacional de Caça dels Ports de Tortosa i Beseit, 26/09/2005. Generalitat de Catalunya, Departament de Medi Ambient i Habitatge

El DAR sacrifica tots els bous que la ramaderia del Xarnego tenia als Ports (13/06/2008) Diari de Tarragona

Identifican genes de resistencia a la tuberculosis en jabalíes (25/10/2005) Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos (IREC). Castilla-La Mancha.

CSIS confirma alta prevalencia de la tuberculosis bovina amenaza al lince (18/09/2007)

A new evolutionary scenario for the *Mycobacterium tuberculosis* complex

R. Brosch*, S. V. Gordon†, M. Marmiesse*, P. Brodin*, C. Buchrieser‡, K. Eiglmeier*, T. Garnier*, C. Gutierrez§, G. Hewinson†, K. Kremer¶, L. M. Parsons‖, A. S. Pym*, S. Samper, D. van Soolingen¶, and S. T. Cole*††**

*Unité de Génétique Moléculaire Bactérienne, ‡Laboratoire de Génomique des Microorganismes Pathogènes, and §Centre National de Référence des Mycobactéries, Institut Pasteur, 25-28 Rue du Docteur Roux, 75724 Paris Cedex 15, France; †Veterinary Laboratories Agency, Woodham Lane, New Haw, Addlestone, Surrey KT15 3NB, United Kingdom; ¶Mycobacteria Reference Department, Diagnostic Laboratory for Infectious Diseases and Perinatal Screening, National Institute of Public Health and the Environment, 3720 BA Bilthoven, The Netherlands; ‖Wadsworth Center, New York State Department of Health and School of Public Health, State University of New York at Albany, David Axelrod Institute, Albany, NY 12201-2002; and **Departamento de Microbiologia, Medicina Preventiva y Salud Publica, Universidad de Zaragoza, C/Domingo Miralsn, 50009 Zaragoza, Spain

Edited by John Maynard Smith, University of Sussex, Brighton, United Kingdom, and approved January 9, 2002 (received for review October 15, 2001)

The distribution of 20 variable regions resulting from insertion-deletion events in the genomes of the tubercle bacilli has been evaluated in a total of 100 strains of *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium canettii*, *Mycobacterium microti*, and *Mycobacterium bovis*. This approach showed that the majority of these polymorphisms did not occur independently in the different strains of the *M. tuberculosis* complex but, rather, resulted from ancient, irreversible genetic events in common progenitor strains. Based on the presence or absence of an *M. tuberculosis* specific deletion (TbD1), *M. tuberculosis* strains can be divided into ancestral and ''modern'' strains, the latter comprising representatives of major epidemics like the Beijing, Haarlem, and African *M. tuberculosis* clusters. Furthermore, successive loss of DNA, reflected by region of difference 9 and other subsequent deletions, was identified for an evolutionary lineage represented by *M. africanum*, *M. microti*, and *M. bovis* that diverged from the progenitor of the present *M. tuberculosis* strains before TbD1 occurred. These findings contradict the often-presented hypothesis that *M. tuberculosis*, the etiological agent of human tuberculosis evolved from *M. bovis*, the agent of bovine disease. *M. canettii* and ancestral *M. tuberculosis* strains lack none of these deleted regions, and, therefore, seem to be direct descendants of tubercle bacilli that existed before the *M. africanum*→*M. bovis* lineage separated from the *M. tuberculosis* lineage. This observation suggests that the common ancestor of the tubercle bacilli resembled *M. tuberculosis* or *M. canettii* and could well have been a human pathogen already.

evolution | diagnostic | identification

The mycobacteria grouped in the *Mycobacterium tuberculosis* complex are characterized by 99.9% similarity at the nucleotide level and identical 16S rRNA sequences (1, 2) but differ widely in terms of their host tropisms, phenotypes, and pathogenicity. Assuming that they all are derived from a common ancestor, it is intriguing that some are exclusively human (*M. tuberculosis*, *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium canettii*) or rodent pathogens (*Mycobacterium microti*), whereas others have a wide host spectrum (*Mycobacterium bovis*). What was the genetic organization of the last common ancestor of the tubercle bacilli, and in which host did it live? Which genetic events may have contributed to the fact that the host spectrum is so different and often specific? Where and when did *M. tuberculosis* evolve? Answers to these questions are important for a better understanding of the pathogenicity and the global epidemiology of tuberculosis and may help to anticipate future trends in the spread of the disease.

Because of the unusually high degree of conservation in their housekeeping genes, it has been suggested that the members of the *M. tuberculosis* complex underwent an evolutionary bottleneck at the time of speciation, estimated to have occurred roughly 15,000–20,000 years ago (2). Also, it has been speculated that *M. tuberculosis*, the most widespread etiological agent of human tuberculosis has evolved from *M. bovis*, the agent of bovine tuberculosis, by specific adaptation of an animal pathogen to the human host (3). However, both hypotheses were proposed before the whole genome sequence of *M. tuberculosis* (4) was available and before comparative genomics uncovered several variable genomic regions in the members of the *M. tuberculosis* complex. Differential hybridization arrays identified 14 regions of difference (RD1–14), ranging in size from 2 to 12.7 kb, that were absent from bacillus Calmette–Guérin Pasteur relative to *M. tuberculosis* H37Rv (5, 6). In parallel, six regions, H37Rv related deletions (RvD)1–5, and *M. tuberculosis* specific deletion 1 (TbD1), that were absent from the *M. tuberculosis* H37Rv genome relative to other members of the *M. tuberculosis* complex were revealed by comparative genomics approaches employing pulsed-field gel electrophoresis techniques (5, 7) and *in silico* comparisons of the near complete *M. bovis* AF2122/97 genome sequence and the *M. tuberculosis* H37Rv sequence.

In the present study, we have analyzed the distribution of these 20 variable regions situated around the genome (see Table 1, which is published as supporting information on the PNAS web site, www.pnas.org) in a representative and diverse set of 100 strains belonging to the *M. tuberculosis* complex. The strains were isolated from different hosts and from a broad range of geographic origins, and exhibit a wide spectrum of typing characteristics like IS*6110* and spoligotype hybridization patterns or variable-number tandem repeats of mycobacterial interspersed repetitive units (MIRU-VNTR; refs. 8 and 9). We have found striking evidence that deletion of certain variable genomic regions did not occur independently in the different strains of the *M. tuberculosis* complex; assuming that there is little or no recombination of chromosomal segments between the various lineages of the complex, this allows us to propose a completely new scenario for the evolution of the *M. tuberculosis* complex and the origin of human tuberculosis.

Material and Methods

Bacterial Strains. The 100 *M. tuberculosis* complex strains were composed of 46 *M. tuberculosis* strains isolated in 30 countries,

This paper was submitted directly (Track II) to the PNAS office.

Abbreviations: TbD1, *M. tuberculosis* specific deletion 1; RvD, H37Rv related deletion; RD, region of difference.

Data deposition: The sequences reported in this paper have been deposited in the EMBL database (accession nos. AJ426486, AJ003103, AJ007301, AJ131210, Y18604, and AJ132559).

††To whom reprint requests should be addressed. E-mail: stcole@pasteur.fr.

The publication costs of this article were defrayed in part by page charge payment. This article must therefore be hereby marked "*advertisement*" in accordance with 18 U.S.C. §1734 solely to indicate this fact.

14 *M. africanum* strains, 28 *M. bovis* strains originating in 5 countries, 2 *M. bovis* bacillus Calmette–Guérin vaccine strains (Pasteur and Japan), 5 *M. microti* strains, and 5 *M. canettii* strains. The strains were isolated from human and animal sources and were selected to represent a wide diversity, including 60 strains that have been used in a multicenter study (8). The *M. africanum* strains were retrieved from the collection of the Wadsworth Center (New York State Department of Health, Albany, NY), whereas the majority of the *M. bovis* isolates came from the collection of the University of Zaragoza (Zaragoza, Spain). Four *M. canettii* strains are from the culture collection of the Pasteur Institute (Paris, France). The strains have been extensively characterized by reference typing methods, i.e., IS*6110* restriction fragment length polymorphism (RFLP) typing and spoligotyping. *M. tuberculosis* H37Rv, *M. tuberculosis* H37Ra, *M. tuberculosis* CDC1551, *M. bovis* AF2122/97, *M. microti* OV254, and *M. canettii* CIPT 140010059 were included as reference strains. DNA was prepared as described (10).

Genome Comparisons and Primer Design. For preliminary genome comparisons between *M. tuberculosis* and *M. bovis*, web sites http://genolist.pasteur.fr/TubercuList/and http://www.sanger.ac.uk/Projects/M_bovis/, as well as in-house databases, were used. For primer design, sequences inside or flanking RD and RvD regions were obtained from the same web sites. Primers were designed by using the Primer3 web site http://www-genome.wi.mit.edu/cgi-bin/primer/primer3_www.cgi that would amplify ≈500 bp fragments in the reference strains (Table 1).

RD-PCR Analysis. Reactions were performed in 96-well plates and contained per reaction 1.25 μl of 10× PCR buffer (600 mM Tris·HCl, pH 8.8/20 mM $MgCl_2$/170 mM $(NH_4)_2SO_4$/100 mM β-mercaptoethanol), 1.25 μl 20 mM nucleotide mix, 50 nM of each primer, 1–10 ng of template DNA, 10% DMSO, 0.2 units *Taq* polymerase (GIBCO-BRL), and sterile distilled water to 12.5 μl. Thermal cycling was performed on a PTC-100 amplifier (MJ Research, Cambridge, MA) with an initial denaturation step of 90 s at 95°C, followed by 35 cycles of 30 s at 95°C, 1 min at 58°C, and 4 min at 72°C.

Sequencing of *katG, gyrA, oxyR, pncA, mmpl6* Genes and RD, TbD1 Junction Regions. PCR products were obtained as described above, using the primers listed in Table 1.

For primer elimination, 6 μl of PCR product was incubated with 1 unit of shrimp alkaline phosphatase (United States Biochemical), 10 units of exonuclease I (United States Biochemical), and 2 μl of 5 × buffer (200 mM Tris·HCl, pH 8.8/5 mM $MgCl_2$) for 15 min at 37°C and then for 15 min at 80°C. To this reaction mixture, 2 μl of Big Dye sequencing mix (Applied Biosystems), 2 μl (2 μM) of primer, and 3 μl of 5 × buffer (5 mM $MgCl_2$/200 mM Tris·HCl, pH 8.8) were added, and 35 cycles (96°C for 30 sec, 56°C for 15 sec, and 60°C for 4 min) were performed in a thermocycler (MJ Research, Cambridge, MA). DNA was precipitated by using 80 μl of 76% ethanol, centrifuged, rinsed with 70% ethanol, and dried. Reactions were dissolved in 2 μl of formamide/EDTA buffer, denatured and loaded onto 48-cm 4% polyacrylamide gels, and electrophoresis was performed on 377 automated DNA sequencers (Applied Biosystems) for 10 to 12 h. Alternatively, reactions were dissolved in 0.3 mM EDTA buffer and subjected to automated sequencing on a Model 3700 DNA sequencer (Applied Biosystems). Reactions generally gave between 500–700 bp of unambiguous sequence.

Accession Numbers. The sequence of the TbD1 region from the ancestral *M. tuberculosis* strain no. 74 (8) containing genes *mmpS6* and *mmpL6* was deposited in the EMBL database under accession no. AJ426486. Sequences bordering RD4, RD7, RD8, RD9, and RD10 in bacillus Calmette–Guérin were deposited in the EMBL database under accession nos. AJ003103, AJ007301, AJ131210, Y18604, and AJ132559, respectively.

Results

Variable Genomic Regions and Their Occurrence in the Members of the *M. tuberculosis* Complex. The PCR screening assay for the 20 variable regions (Table 1) within 46 *M. tuberculosis*, 14 *M. africanum*, 5 *M. canettii*, 5 *M. microti,* 28 *M. bovis*, and 2 bacillus Calmette–Guérin strains used oligonucleotides internal to known RDs and RvDs, as well as oligonucleotides flanking these regions (Table 1). This approach generated a large data set that was robust, highly reliable, and internally controlled, because PCR amplicons obtained with the internal primer pair correlated with the absence of an appropriately sized amplicon with the flanking primer-pair, and *vice versa*.

According to the conservation of junction sequences flanking the variable regions, three types of regions were distinguished, each one having a different importance as an evolutionary marker. The first type included mobile genetic elements, like the prophages phiRv1 (RD3) and phiRv2 (RD11) and insertion sequences IS*1532 (*RD6) and IS*6110* (RD5), whose distribution in the tubercle bacilli was highly divergent (see Table 2, which is published as supporting information on the PNAS web site). The second type of deletion is mediated by homologous recombination between adjacent IS*6110* insertion elements resulting in the loss of the intervening DNA segment (RvD2, RvD3, RvD4, and RvD5; ref. 7) and is variable from strain to strain (Table 2).

The third type includes deletions whose bordering genomic regions typically do not contain repetitive sequences. Often, this type of deletion occurred in coding regions resulting in the truncation of genes that are still intact in other strains of the *M. tuberculosis* complex. The exact mechanism leading to this type of deletion remains obscure, but possibly rare strand slippage errors of DNA polymerase may have contributed to this event. As shown in detail below, RD1, RD2, RD4, RD7, RD8, RD9, RD10, RD12, RD13, RD14, and TbD1 are representatives of this third group whose distribution among the 100 strains allows us to propose an evolutionary scenario for the members of the *M. tuberculosis* complex that identifies *M. tuberculosis* and/or *M. canettii* as most closely related to the common ancestor of the tubercle bacilli.

***M. tuberculosis* Strains.** Investigation of the 46 *M. tuberculosis* strains by deletion analysis revealed that most RD regions were present in all *M. tuberculosis* strains tested (Table 2). Only regions RD3 and RD11, corresponding to the two prophages phiRv1 and phiRv2 of *M. tuberculosis* H37Rv (4), RD6, containing the insertion sequence IS*1532*, and RD5, that is flanked by a copy of IS*6110* (5), were absent in some strains. This observation is an important one, as it implies that *M. tuberculosis* strains are highly conserved with respect to RD1, RD2, RD4, RD7, RD8, RD9, RD10, RD12, RD13, and RD14, and that these RDs represent regions that can differentiate *M. tuberculosis* strains independently of their geographical origin and their typing characteristics from certain other members of the *M. tuberculosis* complex. Furthermore, this finding suggests that these regions may be involved in the host specificity of *M. tuberculosis*.

In contrast, the presence or absence of RvD regions in *M. tuberculosis* strains was variable. The region that showed the greatest variability was RvD2, because 18 of 46 tested *M. tuberculosis* strains did not carry the RvD2 region. Strains with a high copy number of IS*6110* (>14) missed regions RvD2 to RvD5 more often than strains with only a few copies. As an example, all six tested strains belonging to the Beijing cluster (8) lacked regions RvD2 and RvD3. This finding is in agreement

EVOLUTION

with the proposed involvement of recombination of two adjacent copies of IS*6110* in this deletion event (7).

However, the most surprising finding concerning the RvD regions was that TbD1 was absent from 40 of the tested *M. tuberculosis* strains (87%), including representative strains from major epidemics such as the Haarlem, Beijing, and Africa clusters (8). To accentuate this result, we named this region "*M. tuberculosis* specific deletion 1" (TbD1). *In silico* sequence comparison of *M. tuberculosis* H37Rv with the corresponding section in *M. bovis* AF2122/97 revealed that, in *M. bovis*, this locus comprises two genes encoding membrane proteins belonging to a large family, whereas in *M. tuberculosis* H37Rv, one of these genes (*mmpS6*) was absent and the second was truncated (*mmpL6*). Unlike the RvD2-RvD5 deletions, the TbD1 region is not flanked by a copy of IS*6110* in *M. tuberculosis* H37Rv, suggesting that insertion elements were not involved in the deletion of the 2,153-bp fragment. To investigate further whether the 40 *M. tuberculosis* strains lacking the TbD1 region had the same genomic organization of this locus as *M. tuberculosis* H37Rv, we amplified the TbD1-junction regions of the various strains by PCR using primers flanking the deleted region (Table 1). This approach showed that the size of the amplicons obtained from multiple strains was uniform (Fig. 1*A*), and subsequent sequence analysis of the PCR products revealed that in all tested TbD1-deleted strains the sequence of the junction regions was identical to that of *M. tuberculosis* H37Rv (Fig. 1*B*). The perfect conservation of the junction sequences in TbD1-deleted strains of wide geographical diversity suggests that the genetic event which resulted in the deletion occurred in a common progenitor. However, six *M. tuberculosis* strains, all characterized by very few or no copies of IS*6110*, and spoligotypes that resembled each other (Fig. 1*C*), still had the TbD1 region present. Interestingly, these six strains also were clustered together by MIRU-VNTR analysis (9).

Analysis of partial gene sequences of *oxyR, pncA, katG*, and *gyrA* which have been described as variable between different tubercle bacilli (2, 11–13) revealed that all tested *M. tuberculosis* strains showed *oxyR* and *pncA* partial sequences typical for *M. tuberculosis* [*oxyR*, nucleotide 285 ($oxyR^{285}$):G; *pncA,* codon 57 ($pncA^{57}$):CAC]. Based on the *katG* codon 463 ($katG^{463}$) and *gyrA* codon 95 ($gyrA^{95}$) sequence polymorphism, Sreevatsan *et al*. (2) defined three groups among the tubercle bacilli: group 1 showed $katG^{463}$ CTG (Leu), $gyrA^{95}$ ACC (Thr); group 2 exhibited $katG^{463}$ CGG (Arg), $gyrA^{95}$ ACC (Thr); and group 3 showed $katG^{463}$ CGG (Arg), $gyrA^{95}$ AGC (Ser). According to this scheme, 16 of the 46 tested *M. tuberculosis* strains in our study belonged to group 1, whereas 27 strains belonged to group 2, and only 3 isolates belonged to group 3. From the 40 strains that were deleted for region TbD1, 9 showed characteristics of group 1, including the strains belonging to the Beijing cluster, 28 showed characteristics of group 2, including the strains from the Haarlem and Africa clusters, and 3 showed characteristics of group 3, including H37Rv and H37Ra. Most interestingly, all six *M. tuberculosis* strains where the TbD1 region was not deleted, contained a leucine (CTG) at $katG^{463}$, which was described as characteristic for ancestral *M. tuberculosis* strains (group 1; ref. 2). As shown in Fig. 2, this finding suggests that during the evolution of *M. tuberculosis*, the *katG* mutation at codon 463 CTG (Leu) → CGG (Arg) occurred in a progenitor strain that had region TbD1 deleted. This proposal is supported by the finding that strains belonging to group 1 may or may not have deleted region TbD1, whereas all 30 strains belonging to groups 2 and 3 lacked TbD1 (Fig. 2). Furthermore, all strains of groups 2 and 3 characteristically lacked spacer sequences 33–36 in the direct repeat (DR) region (Fig. 1*C*). It appears that such spacers may be lost but not gained (14). Therefore, TbD1-deleted strains will be referred to hereafter as "modern" *M. tuberculosis* strains.

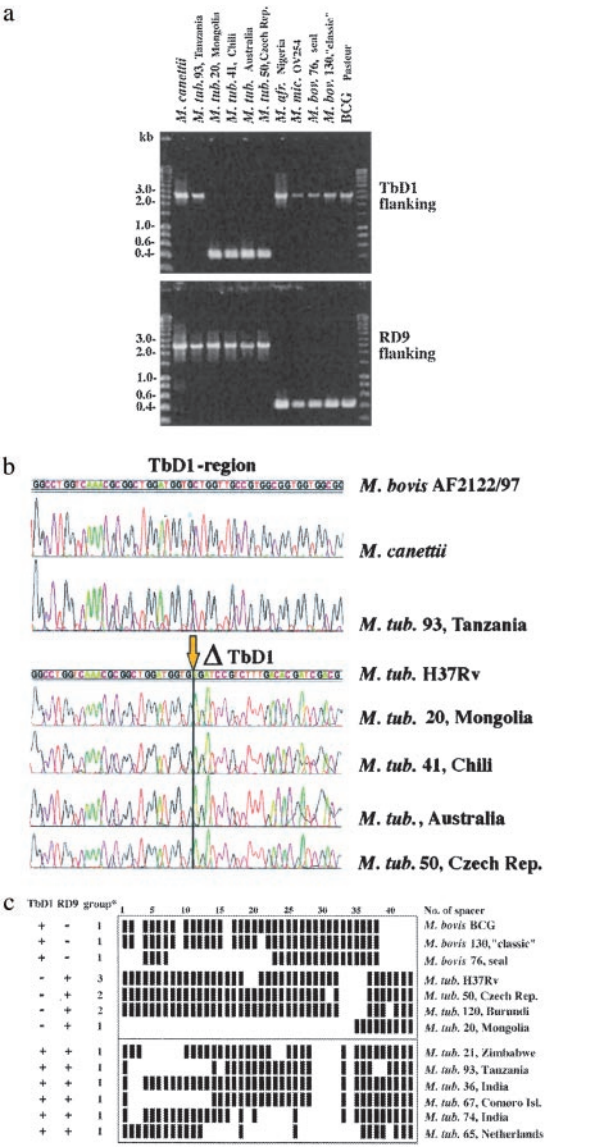


Fig. 1. (*A*) Amplicons obtained from strains that have the indicated genomic region present or deleted. Sizes of amplicons in each group are uniform. Numbers correspond to strain designation used in refs. 8 and 9. (*B*) Sequences in the TbD1 region obtained from strains of various geographic regions. Numbers correspond to strain designation used in refs. 8 and 9. (*C*) Spoligotypes of selected *M. tuberculosis* and *M. bovis* strains. Numbers correspond to strain designation used in refs. 8 and 9. ∗, groups based on $katG^{c463}/gyrA^{c95}$ sequence polymorphism defined by Sreevatsan *et al*. (2).

M. canettii. *M. canettii* is a very rare, smooth variant of *M. tuberculosis* and is usually isolated from patients from, or with connection to, Africa. Although it shares identical 16S rRNA sequences with the other members of the *M. tuberculosis* complex, *M. canettii* strains differ in many respects, including polymorphisms in certain house-keeping genes, IS*1081* copy number, colony morphology, and the lipid content of the cell wall (15, 16). Therefore, we were surprised to find that in *M. canettii*, all of the RD, RvD, and TbD1 regions except the prophages (phiRv1, phiRv2) were present. In contrast, we identified a region (RD^{can}) being specifically absent from all five *M. canettii* strains that partially overlapped RD12 (Fig. 2).

The conservation of the RD, RvD, and TbD1 regions in the genome of *M. canettii* in conjunction with the many described and observed differences suggest that *M. canettii* diverged from

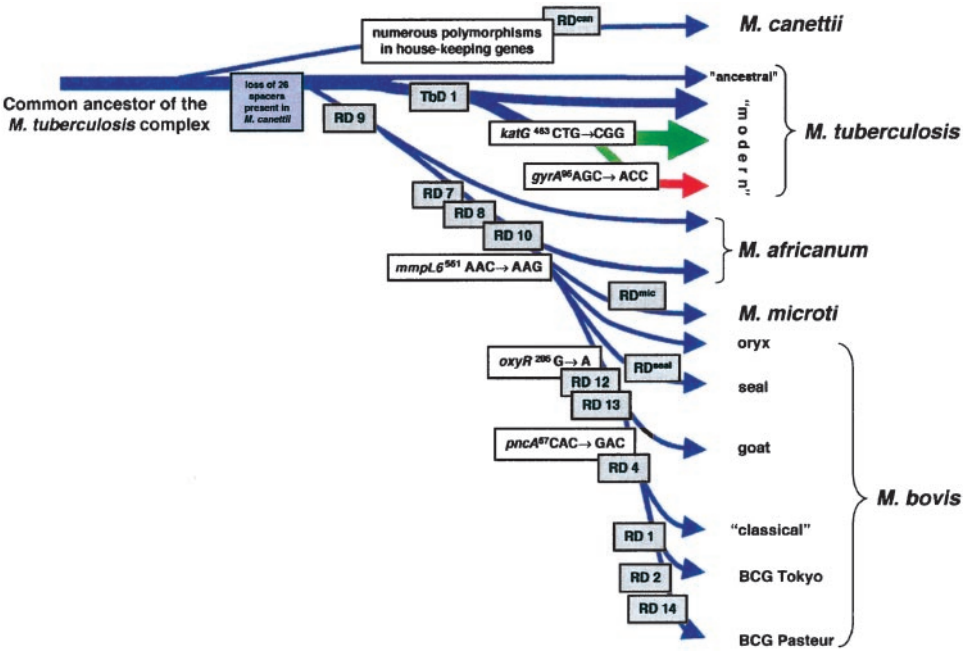


Fig. 2. Scheme of the proposed evolutionary pathway of the tubercle bacilli illustrating successive loss of DNA in certain lineages (gray boxes). The scheme is based on the presence or absence of conserved deleted regions and on sequence polymorphisms in five selected genes. Note that the distances between certain branches may not correspond to actual phylogenetic differences calculated by other methods. Blue arrows indicate that strains are characterized by *katG*^{463} CTG (Leu), *gyrA*^{95} ACC (Thr), typical for group 1 organisms. Green arrows indicate that strains belong to group 2 characterized by *katG*^{463} CGG (Arg), *gyrA*^{95} ACC (Thr). The red arrow indicates that strains belong to group 3, characterized by *katG*^{463} CGG (Arg), *gyrA*^{95} AGC (Ser), as defined by Sreevatsan *et al*. (2).

the common ancestor of the *M. tuberculosis* complex before RD, RvD, and TbD1 occurred in the lineages of tubercle bacilli (Fig. 2). This hypothesis is supported by the finding that *M. canettii* was shown to carry 26 unique spacer sequences in the DR region (14) that are no longer present in any other member of the *M. tuberculosis* complex. Therefore, *M. canettii* represents a fascinating tubercle bacillus, whose detailed genomic analysis may reveal further insights into the evolution of the *M. tuberculosis* complex.

M. africanum. The isolates designated as *M. africanum* studied here originate from West and East African sources. Eleven strains were isolated in Sierra Leone, Nigeria, and Guinea, and 2 strains were isolated in Uganda. One strain comes from the Netherlands.

For the 11 West African isolates, RD analysis indicated that these strains all lack the RD9 region containing *cobL*. Sequence analysis of the RD9 junction region showed that the genetic organization of this locus in West African strains was identical to that of *M. bovis* and *M. microti* in that the 5′ part of *cobL* as well as the genes Rv2073c and Rv2074c were absent. In addition, six strains (two from Sierra Leone and four from Guinea) also lacked RD7, RD8, and RD10 (Table 2). The junction sequences bordering RD7, RD8, and RD10, like those for RD9, were identical to those of *M. bovis* and *M. microti* strains. As regards the two prophages phiRv1 and phiRv2, the West African strains all contained phiRv2, whereas phiRv1 was absent. No variability was seen for the RvD regions. RvD1-RvD5 and TbD1 were present in all tested West African strains. This result shows that *M. africanum* prevalent in West Africa can be differentiated from modern *M. tuberculosis* by at least two variable genetic markers, namely the absence of region RD9 and the presence of region TbD1.

In contrast, for East African *M. africanum* and for the isolate from the Netherlands, no genetic marker was found which could differentiate them from *M. tuberculosis* strains. With the exception of prophage phiRv1 (RD3), the three strains from Uganda and the Netherlands did not exhibit any of the RD deletions, but lacked the TbD1 region, as do modern *M. tuberculosis* strains. The absence of the TbD1 region also was confirmed by sequence analysis of the TbD1 junction region, which was found to be identical to that of TbD1-deleted *M. tuberculosis* strains. These results indicate a very close genetic relationship of these strains to *M. tuberculosis* and suggest that they should be regarded as *M. tuberculosis* rather than *M. africanum* strains.

M. microti. *M. microti* strains were isolated in the 1930s from voles (17) and, more recently, from immuno-suppressed patients (18). These strains are characterized by an identical, characteristic spoligotype, but differ in their IS*6110* profiles. Both the vole and the human isolates lacked regions RD7, RD8, RD9, and RD10, as well as a region that is specifically deleted from *M. microti* (RD^{mic}). RD^{mic} was revealed by a detailed comparative genomics study of *M. microti* isolates (P. Brodin, personal communication) using clones from an *M. microti* bacterial artificial chromosome library. RD^{mic} partially overlaps RD1 from bacillus Calmette–Guérin (data not shown). Furthermore, vole isolates missed part of the RD5 region, whereas this region was present in the human isolate. As the junction region of RD5 in *M. microti* was different from that in bacillus Calmette–Guérin (data not shown), RD5 was not used as an evolutionary marker.

***M. bovis* and *M. bovis* Bacillus Calmette–Guérin.** *M. bovis* has a very large host spectrum infecting many mammalian species, including man. The collection of *M. bovis* strains that were screened for the RD and RvD regions consisted of 2 bacillus Calmette–Guérin strains and 18 "classical" *M. bovis* strains that were generally characterized by only one or two copies of IS*6110* from bovine, llama, and human sources, in addition to three goat isolates, three seal isolates, two oryx isolates, and two *M. bovis* strains from humans that presented a higher number of IS*6110* copies.

EVOLUTION

Excluding prophages, the distribution of RDs allowed us to differentiate five main groups among the tested *M. bovis* strains. The first group was formed by strains that lack RD7, RD8, RD9, and RD10. Representatives of this group are three seal isolates and two human isolates containing between three and five copies of IS*6110* (data not shown). Two oryx isolates harboring between 17 and 20 copies of IS*6110* formed the second group that lacked parts of RD5 in addition to RD7-RD10 and very closely resembled the *M. microti* isolates. However, they did not show RD^{mic}, the deletion characteristic of *M. microti* strains (data not shown). Analysis of partial *oxyR* and *pncA* sequences from strains belonging to groups one and two showed sequence polymorphisms characteristic of *M. tuberculosis* strains ($oxyR^{285}$:G, $pncA^{57}$:CAC; refs. 12 and 13).

Group three consists of goat isolates that lack regions RD5, RD7, RD8, RD9, RD10, RD12, and RD13. As described by Aranaz *et al*. (20), these strains exhibited an adenosine at position 285 of the *oxyR* pseudogene that is specific for classical *M. bovis* strains, whereas the sequence of the $pncA^{57}$ polymorphism was identical to that in *M. tuberculosis*. This finding is in good agreement with our results from sequence analysis (Table 2) and the finding that, except for RD4, the goat isolates displayed the same deletions as classical *M. bovis* strains.

Taken together, this suggests that the $oxyR^{285}$ mutation (G → A) occurred in *M. bovis* strains before RD4 was lost. Interestingly, the most common *M. bovis* strains—classical *M. bovis* (21), isolated from cattle from Argentina, the Netherlands, the UK and Spain, as well as from humans (e.g., multidrug resistant *M. bovis* from Spain; ref. 22)—showed the greatest number of RD deletions and seem to have undergone the greatest loss of DNA relative to other members of the *M. tuberculosis* complex. These lacked regions RD4, RD5, RD6, RD7, RD8, RD9, RD10, RD12, and RD13, confirming results obtained with reference strains (5, 6). These strains, together with the two bacillus Calmette–Guérin strains, were the only ones that showed the $pncA^{57}$ polymorphism GAC (Asp) in addition to the $oxyR^{285}$ mutation (G → A) characteristic of *M. bovis*. Analysis of bacillus Calmette–Guérin strains indicate that bacillus Calmette–Guérin lacked the same RD regions as classical *M. bovis* strains, in addition to RD1, RD2, and RD14, which apparently occurred during and after the attenuation process (Fig. 2; refs. 6 and 23).

In contrast to RDs, the RvD regions were highly conserved in the *M. bovis* strains. With the exception of the two IS*6110*-rich oryx isolates that lacked RvD2, RvD3, and RvD4, all other strains had the five RvD regions present. It is particularly noteworthy that TbD1 was present in all *M. bovis* strains.

However, except for the two human isolates containing between three and five copies of IS*6110* from group 1, strains designated as *M. bovis* showed a single nucleotide polymorphism in the TbD1 region at codon 551 (AAG) of the *mmpL6* gene relative to *M. canettii*, *M. africanum*, and ancestral *M. tuberculosis* strains, which are characterized by codon AAC. Even the strains isolated from seals and from oryx with *oxyR* or *pncA* loci like those of *M. tuberculosis*, and with fewer deleted regions than the classical *M. bovis* strains, showed the $mmpL6^{551}$AAG polymorphism typical for *M. bovis* and *M. microti* (Table 2, Fig. 2). As such, this polymorphism could serve as a very useful genetic marker for the differentiation of strains that lack RD7, RD8, RD9, and RD10 and have been classified as *M. bovis* or *M. africanum* but may differ from other strains of the same taxon.

Discussion

Origin of Human Tuberculosis. For many years, it was thought that human tuberculosis evolved from the bovine disease by adaptation of an animal pathogen to the human host (3). This hypothesis is based on the property of *M. tuberculosis* to be almost exclusively a human pathogen, whereas *M. bovis* has a much broader host range. However, the results from this study unambiguously show that *M. bovis* has undergone numerous deletions relative to *M. tuberculosis*. This finding is confirmed by the preliminary analysis of the near complete genome sequence of *M. bovis* AF2122/97, a classical *M. bovis* strain isolated from cattle, which revealed no new gene clusters that were confined specifically to *M. bovis*. This result indicates that the genome of *M. bovis* is smaller than that of *M. tuberculosis* (24). It seems plausible that *M. bovis* is the final member of a separate lineage represented by *M. africanum* (RD9), *M. microti* (RD7, RD8, RD9, RD10) and *M. bovis* (RD4, RD5, RD7, RD8, RD9, RD10, RD12, RD13; ref. 25) that branched from the progenitor of *M. tuberculosis* isolates. Successive loss of DNA may have contributed to clonal expansion and the appearance of more successful pathogens in certain new hosts.

Whether the progenitor of extant *M. tuberculosis* strains was already a human pathogen when the *M. africanum* → *M. bovis* lineage separated from the *M. tuberculosis* lineage is a subject for speculation. However, we have two reasons to believe that this was the case. First, the six ancestral *M. tuberculosis* strains ($TbD1^+$, $RD9^+$; Fig. 1*C*) that resemble the last common ancestor before the separation of *M. tuberculosis* and *M. africanum* are all human pathogens. Second, *M. canettii,* which probably diverged from the common ancestor of today's *M. tuberculosis* strains before any other known member of the *M. tuberculosis* complex, is also a human pathogen. Taken together, this means that those tubercle bacilli, which are thought to most closely resemble the progenitor of *M. tuberculosis*, are human and not animal pathogens. It is also intriguing that most of these strains were of African or Indian origin (Fig. 1*C*). It is likely that these ancestral strains predominantly originated from endemic foci (15, 26), whereas modern *M. tuberculosis* strains that have lost TbD1 may represent epidemic *M. tuberculosis* strains that were introduced into the same geographical regions more recently as a consequence of the worldwide spread of the tuberculosis epidemic.

The Evolutionary Time Scale of the *M. tuberculosis* Complex. Because of the high sequence conservation in housekeeping genes, Sreevatsan *et al.* (2) hypothesized that the tubercle bacilli encountered a major bottleneck 15,000–20,000 years ago. As the conservation of the TbD1 junction sequence in all tested TbD1-deleted strains suggests a descent from a single clone, the TbD1 deletion is a perfect indicator that modern *M. tuberculosis* strains that account for the vast majority of today's tuberculosis cases definitely underwent such a bottleneck and then spread around the world.

As described in detail in *Results*, our analysis showed that the *katG*(463) CTG → CGG and the subsequent *gyrA*(95) ACC → AGC mutations that were used by Sreevatsan *et al*. to designate groups 2 and 3 of their proposed evolutionary pathway of the tubercle bacilli (2) occurred in a lineage of *M. tuberculosis* strains that had already lost TbD1 (Fig. 2). Although deletions are more stable markers than point mutations, which may be subject to reversion, a perfect correlation of deletion and point mutation data were found for the tested strains.

This information, together with results from a recent study by Fletcher *et al*. (27), who have shown that *M. tuberculosis* DNAs amplified from naturally mummified Hungarian villagers from the 18th and 19th century belonged to $katG^{463}/gyrA^{95}$ groups 2 and 3, suggests that the TbD1 deletion occurred in the lineage of *M. tuberculosis* before the 18th century. This could mean that the dramatic increase of tuberculosis cases later in the 18th century in Europe mainly involved modern *M. tuberculosis* strains. In addition, it shows that tuberculosis was caused by *M. tuberculosis* and not by *M. bovis*, a fact which is also described for cases in rural medieval England (28).

There is good evidence that mycobacterial infections occurred in man several thousand years ago. We know that tuberculosis

occurred in Egypt during the reign of the pharaohs because spinal and rib lesions pathognomonic of tuberculosis have been identified in mummies from that period (29). Identification of acid-fast bacilli, as well as PCR amplification of IS*6110* from Peruvian mummies (30), also suggest that tuberculosis existed in preColumbian societies of Central and South America. To estimate when the TbD1 bottleneck occurred, it would be helpful to know whether the Egyptian and South American mummies carried *M. tuberculosis* DNA that did or did not have TbD1 deleted.

The other major bottleneck, which seems to have occurred for members of the *M. africanum* → *M. microti* → *M. bovis* lineage, is reflected by RD9 and the subsequent RD7, RD8, and RD10 deletions (Fig. 2). These deletions seem to have occurred in the progenitor of tubercle bacilli that—today—show natural host spectra as diverse as humans in Africa, voles on the Orkney Isles (UK), seals in Argentina, goats in Spain, and badgers in the UK. For this reason, it is difficult to imagine that the spread and adaptation of RD9-deleted bacteria to their specific hosts could have appeared within the postulated 15,000–20,000 years of speciation of the *M. tuberculosis* complex.

However, more insight into this matter could be gained by RD analysis of ancient DNA samples, e.g., mycobacterial DNA isolated from a 17,000-year-old bison skeleton (19). The *Mycobacterium* whose DNA was amplified showed a spoligotype that was most closely related to patterns of *M. africanum* and could have been an early representative of the lineage *M. africanum* → *M. bovis*. With the TbD1 and RD9 junction sequences that we supply here, PCR analyses of ancient DNAs should enable very focused studies to be undertaken to learn more about the time scale within which the members of the *M. tuberculosis* complex have evolved.

Concluding Comments. Our study provides an overview of the diversity and conservation of variable regions in a broad range of tubercle bacilli. Deletion analysis of 100 strains from various hosts and countries has identified some evolutionarily "old" *M. canettii, M. tuberculosis*, and *M. africanum* strains, most of them of African origin, as well as modern *M. tuberculosis* strains, the latter including representatives from major epidemic clusters like Beijing, Haarlem, and Africa. The use of deletion analysis in conjunction with molecular typing and analysis of specific mutations was shown to represent a very powerful approach for the study of the evolution of the tubercle bacilli and for the identification of evolutionary markers. In a more practical perspective, these regions, primarily RD9 and TbD1 but also RD1, RD2, RD4, RD7, RD8, RD10, RD12, and RD13 represent very interesting candidates for the development of powerful diagnostic tools for the rapid and unambiguous identification of members of the *M. tuberculosis* complex. This genetic approach for differentiation can now be used to replace the often confusing traditional division of the *M. tuberculosis* complex into rigidly defined subspecies.

Moreover, functional analyses will show whether the TbD1 deletion confers some selective advantage to modern *M. tuberculosis*, or whether other circumstances contributed to the pandemic of the TbD1-deleted *M. tuberculosis* strains.

We thank Philip Supply for his encouragement and help to initiate this study. We also thank Carlos Martin, Tim Stinear, and Veronique Vincent for fruitful discussions. This work was supported by the Institut Pasteur (PTR 2000/35), the Programme de Recherche Fondamentale en Microbiologie et Maladies Infectieuses, the European Union (QLK2-CT-1999-01093, QLRT-CT-2000-00630), the Department of Environment, Food and Rural Affairs (GB), the Association Française Raoul Follereau, and The Wellcome Trust.

1. Boddinghaus, B., Rogall, T., Flohr, T., Blocker, H. & Bottger, E. C. (1990) *J. Clin. Microbiol.* **28,** 1751–1759.
2. Sreevatsan, S., Pan, X., Stockbauer, K. E., Connell, N. D., Kreiswirth, B. N., Whittam, T. S. & Musser, J. M. (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **94,** 9869–9874.
3. Stead, W. W., Eisenach, K. D., Cave, M. D., Beggs, M. L., Templeton, G. L., Thoen, C. O. & Bates, J. H. (1995) *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **151,** 1267–1268.
4. Cole, S. T., Brosch, R., Parkhill, J., Garnier, T., Churcher, C., Harris, D., Gordon, S. V., Eiglmeier, K., Gas, S., Barry, C. E., 3rd, *et al*. (1998) *Nature (London)* **393,** 537–544.
5. Gordon, S. V., Brosch, R., Billault, A., Garnier, T., Eiglmeier, K. & Cole, S. T. (1999) *Mol. Microbiol.* **32,** 643–655.
6. Behr, M. A., Wilson, M. A., Gill, W. P., Salamon, H., Schoolnik, G. K., Rane, S. & Small, P. M. (1999) *Science* **284,** 1520–1523.
7. Brosch, R., Philipp, W. J., Stavropoulos, E., Colston, M. J., Cole, S. T. & Gordon, S. V. (1999) *Infect. Immun.* **67,** 5768–5774.
8. Kremer, K., van Soolingen, D., Frothingham, R., Haas, W. H., Hermans, P. W., Martin, C., Palittapongarnpim, P., Plikaytis, B. B., Riley, L. W., Yakrus, M. A., *et al*. (1999) *J. Clin. Microbiol.* **37,** 2607–2618.
9. Supply, P., Lesjean, S., Savine, E., Kremer, K., van Soolingen, D. & Locht, C. (2001) *J. Clin. Microbiol.* **39,** 3563–3571.
10. van Soolingen, D., de Haas, P. E. W., Hermans, P. W. M. & van Embden, J. D. A. (1994) *Methods Enzymol.* **235,** 196–205.
11. Heym, B., Honore, N., Truffot-Pernot, C., Banerjee, A., Schurra, C., Jacobs, W. R., Jr., van Embden, J. D., Grosset, J. H. & Cole, S. T. (1994) *Lancet* **344,** 293–298.
12. Scorpio, A., Collins, D., Whipple, D., Cave, D., Bates, J. & Zhang, Y. (1997) *J. Clin. Microbiol.* **35,** 106–110.
13. Sreevatsan, S., Escalante, P., Pan, X., Gillies, D. A., 2nd, Siddiqui, S., Khalaf, C. N., Kreiswirth, B. N., Bifani, P., Adams, L. G., Ficht, T., *et al*. (1996) *J. Clin. Microbiol.* **34,** 2007–2010.
14. van Embden, J. D., van Gorkom, T., Kremer, K., Jansen, R., van Der Zeijst, B. A. & Schouls, L. M. (2000) *J. Bacteriol.* **182,** 2393–2401.
15. van Soolingen, D., Hoogenboezem, T., de Haas, P. E., Hermans, P. W., Koedam, M. A., Teppema, K. S., Brennan, P. J., Besra, G. S., Portaels, F., Top, J., *et al*. (1997) *Int. J. Syst. Bacteriol.* **47,** 1236–1245.
16. Papa, F., Laszlo, A., David, H. L. & Daffe, M. (1989) *Acta Leprol.* **7,** Suppl. 1, 98–101.
17. Wells, A. Q. Suppl. (1937) *Lancet*, 1221.
18. van Soolingen, D., van der Zanden, A. G., de Haas, P. E., Noordhoek, G. T., Kiers, A., Foudraine, N. A., Portaels, F., Kolk, A. H., Kremer, K. & van Embden, J. D. (1998) *J. Clin. Microbiol.* **36,** 1840–1845.
19. Rothschild, B. M., Martin, L. D., Lev, G., Bercovier, H., Bar-Gal, G. K., Greenblatt, C., Donoghue, H., Spigelman, M. & Brittain, D. (2001) *Clin. Infect. Dis.* **33,** 305–311.
20. Aranaz, A., Liebana, E., Gomez-Mampaso, E., Galan, J. C., Cousins, D., Ortega, A., Blazquez, J., Baquero, F., Mateos, A., Suarez, G. & Dominguez, L. (1999) *Int. J. Syst. Bacteriol.* **49,** 1263–1273.
21. van Soolingen, D., de Haas, P. E. W., Haagsma, J., Eger, T., Hermans, P. W. M., Ritacco, V., Alito, A. & van Embden, J. D. A. (1994) *J. Clin. Microbiol.* **32,** 2425–2433.
22. Samper, S., Martin, C., Pinedo, A., Rivero, A., Blazquez, J., Baquero, F., van Soolingen, D. & van Embden, J. (1997) *Aids* **11,** 1237–1242.
23. Mahairas, G. G., Sabo, P. J., Hickey, M. J., Singh, D. C. & Stover, C. K. (1996) *J. Bacteriol.* **178,** 1274–1282.
24. Gordon, S. V., Eiglmeier, K., Garnier, T., Brosch, R., Parkhill, J., Barrell, B., Cole, S. T. & Hewinson, R. G. (2001) *Tuberculosis* **81,** 157–163.
25. Brosch, R., Gordon, S. V., Eiglmeier, K., Garnier, T., Tekaia, F., Yeramanian, E. & Cole, S. T. (1999) in *Molecular Genetics of Mycobacteria*, eds. Hatful, G. F. & Jacobs, W. R., Jr. (Am. Soc. Microbiol., Washington, DC), pp. 19–36.
26. Radhakrishnan, I., K, M. Y., Kumar, R. A. & Mundayoor, S. (2001) *J. Clin. Microbiol.* **39,** 1683.
27. Fletcher, H. A., Donoghue, H. D., Holton, J., Pap, I. & Spigelman, M. (2002) *Am. J. Phys. Anthropol.*, in press.
28. Mays, S., Taylor, G. M., Legge, A. J., Young, D. B. & Turner-Walker, G. (2001) *Am. J. Phys. Anthropol.* **114,** 298–311.
29. Nerlich, A. G., Haas, C. J., Zink, A., Szeimies, U. & Hagedorn, H. G. (1997) *Lancet* **350,** 1404.
30. Salo, W. L., Aufderheide, A. C., Buikstra, J. & Holcomb, T. A. (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **91,** 2091–2094.

Available online at www.sciencedirect.com
ScienceDirect
Veterinary Microbiology 132 (2008) 283–292
veterinary microbiology
www.elsevier.com/locate/vetmic

Animal-side serologic assay for rapid detection of *Mycobacterium bovis* infection in multiple species of free-ranging wildlife

K.P. Lyashchenko [a,*], R. Greenwald [a], J. Esfandiari [a], M.A. Chambers [b], J. Vicente [c], C. Gortazar [c], N. Santos [d,e], M. Correia-Neves [e], B.M. Buddle [f], R. Jackson [g], D.J. O'Brien [h], S. Schmitt [h], M.V. Palmer [i], R.J. Delahay [j], W.R. Waters [i]

[a] *Chembio Diagnostic Systems, Inc., 3661 Horseblock Road, Medford, NY 11763, USA*
[b] *TB Research Group, Department of Statutory and Exotic Bacterial Diseases, Veterinary Laboratories Agency Weybridge, New Haw, Surrey KT15 3NB, UK*
[c] *Instituto de Investigacion en Recursos Cinegeticos IREC (CSIC–UCLM–JCCM), Ciudad Real, Spain*
[d] *Faculty of Veterinary Medicine, Lisbon, Portugal*
[e] *Life and Health Sciences Research Institute (ICVS), School of Health Sciences, University of Minho, Braga, Portugal*
[f] *AgResearch, Hopkirk Research Institute, Palmerston North, New Zealand*
[g] *Institute of Veterinary, Animal & Biomedical Sciences, Massey University, Palmerston North, New Zealand*
[h] *Wildlife Disease Laboratory, Department of Natural Resources, Lansing, MI, USA*
[i] *United States Department of Agriculture (USDA), Agricultural Research Service, National Animal Disease Center, Bacterial Diseases of Livestock Research Unit, National Animal Disease Center, Ames, IA, USA*
[j] *Wildlife Disease Ecology Team, Central Science Laboratory, Sand Hutton, York YO41 1LZ, UK*

Received 7 April 2008; received in revised form 20 May 2008; accepted 26 May 2008

Abstract

Numerous species of mammals are susceptible to *Mycobacterium bovis*, the causative agent of bovine tuberculosis (TB). Several wildlife hosts have emerged as reservoirs of *M. bovis* infection for domestic livestock in different countries. In the present study, blood samples were collected from Eurasian badgers ($n = 1532$), white-tailed deer ($n = 463$), brushtail possums ($n = 129$), and wild boar ($n = 177$) for evaluation of antibody responses to *M. bovis* infection by a lateral-flow rapid test (RT) and multiantigen print immunoassay (MAPIA). Magnitude of the antibody responses and antigen recognition patterns varied among the animals as determined by MAPIA; however, MPB83 was the most commonly recognized antigen for each host studied. Other seroreactive antigens included ESAT-6, CFP10, and MPB70. The agreement of the RT with culture results varied from 74% for possums to 81% for badgers to 90% for wild boar to 97% for white-tailed deer. Small numbers of wild boar and deer exposed to *M. avium* infection or paratuberculosis, respectively, did not cross-react in the RT, supporting the high specificity of the assay. In deer, whole blood samples reacted similarly to corresponding serum specimens (97% concordance), demonstrating the potential for field application. As previously demonstrated for badgers and deer, antibody responses to *M. bovis* infection in wild boar were positively associated with advanced disease. Together, these findings suggest that a rapid TB assay such as the RT

* Corresponding author. Tel.: +1 631 924 1135; fax: +1 631 924 6033.
E-mail address: klyashchenko@chembio.com (K.P. Lyashchenko).

0378-1135/$ – see front matter © 2008 Elsevier B.V. All rights reserved.
doi:10.1016/j.vetmic.2008.05.029

may provide a useful screening tool for certain wildlife species that may be implicated in the maintenance and transmission of *M. bovis* infection to domestic livestock.
© 2008 Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: Tuberculosis; *Mycobacterium bovis*; Wildlife; Serology

1. Introduction

Bovine tuberculosis (TB) remains an important zoonotic disease with significant impacts on the economy in many countries (Corner, 2006; Cosivi et al., 1998; Michel et al., 2006). Several wild mammal species are implicated in the maintenance and transmission of *Mycobacterium bovis* infection and thereby impede national bovine TB control programs and international trade (Cousins, 2001; Palmer, 2007). Well-known examples of wildlife maintenance hosts include Eurasian badgers (*Meles meles*) in Great Britain and Ireland (Clifton-Hadley et al., 1993; Griffin et al., 2005), white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) in the United States (Schmitt et al., 1997; O'Brien et al., 2002, 2006), brushtail possums (*Trichosurus vulpecula*) in New Zealand (Coleman et al., 2006; Porphyre et al., 2007), wild boar (*Sus scrofa*) in Spain (Gortázar et al., 2003; Naranjo et al., 2008), and African buffalo (*Syncerus caffer*) in South Africa (Michel et al., 2006).

The successful eradication of bovine TB from livestock in countries with a wildlife reservoir is likely to require focusing on the wildlife reservoir(s) of *M. bovis* infection (Palmer, 2007). Current methods of diagnosis in live animals, such as the intradermal tuberculin test or interferon-gamma (IFN-γ) release assays, are not fully validated for species other than cattle (Monaghan et al., 1994). Rapid and accurate assays that could be used in a variety of *M. bovis*-susceptible mammals under field conditions would significantly improve wildlife TB surveillance efforts worldwide.

Prior studies have demonstrated the utility of membrane-based assays to detect specific antibodies during TB in cattle (Waters et al., 2006), cervids (Waters et al., 2004, 2005), elephants (Lyashchenko et al., 2006), camelids (Wernery et al., 2007; Lyashchenko et al., 2007a,b), and tapirs (Moser et al., 2008). The objectives of the present study were to (1) characterize the antibody responses of wild mammals infected with *M. bovis*, including badgers, deer, possums, and wild boar, (2) evaluate the usefulness of a lateral-flow test under field conditions, and (3) determine if a single serologic assay can be used for TB surveillance in a variety of different wildlife host species.

2. Methods

2.1. Animals and samples

Sera were collected from Eurasian badgers in Great Britain, white-tailed deer in the United States, brushtail possums in New Zealand, and wild boar in Spain and Portugal (Table 1).

Badger sera were obtained from two sources: (1) 1464 animals killed as part of the Randomised Badger Culling Trial (RBCT) (Donnelly et al., 2007), and (2) 68 animals captured, bled, and released as part of an on-going ecological study by the Central Science Laboratory (CSL) in Woodchester Park, south-west

Table 1
Study populations

Species	Institute, country	Number of animals	
		TB	Control
Badger	VLA, UK	386	1078
	CSL, UK	68	0
Deer	MDNR, USA	9	425
	NADC, USA	19[a]	10[b]
Possum	AgR HRI, New Zealand	38	91
Wild boar	IREC, Spain	50	50
	ICVS, Portugal	14	63[c]

[a] Inoculated with *M. bovis* intratonsilarly.
[b] Includes three animals experimentally infected with *M. avium* subsp. *paratuberculosis.*
[c] Includes three animals with *M. avium* and five animals with other non-TB mycobacteria identified by culture and PCR at necropsy.

England (Chambers et al., 2008). All work with animals was conducted under licenses issued by the Home Office, UK, following ethical clearance by the VLA and CSL. All sera were stored frozen at −20 °C until used for testing. Each badger from the RBCT was subjected to routine post-mortem examination and culture for the presence of *M. bovis* as described in Sawyer et al. (2007). The infection status of Woodchester Park badgers was determined by bacterial culture of clinical specimens (feces, urine, sputum, purulent exudate from abscesses, and bite wound swabs) collected from anaesthetized animals (Clifton-Hadley et al., 1993; Delahay et al., 2000). Since Woodchester Park badgers were live-sampled, only those animals excreting *M. bovis* were included in the present study.

Deer samples were obtained from experimentally infected animals at different stages of disease. White-tailed deer (1–3 years of age) were either raised within a TB-free herd at the National Animal Disease Center (NADC), Ames, Iowa, USA, or obtained from farmed herds with no history of TB. Groups consisted of seven non-infected animals, three deer inoculated with *M. avium* subsp. *paratuberculosis*, and 19 deer inoculated via the intratonsilar route with various doses of *M. bovis* (3×10^2–2×10^8 colony-forming units), as described previously (Waters et al., 2004; Palmer et al., 2007). All animals were euthanized at 4–11 months post-infection. Blood, diaphragm fluid and aqueous humor were collected during necropsy of experimentally infected deer. Specimens were extracted from diaphragms by freeze/thaw and mechanical disruption (using a garlic press). Aqueous humor was obtained by fine needle aspiration. Various tissues were collected for bacteriologic culture and microscopic examination. Disease was confirmed at necropsy in each infected deer by the presence of gross lesions, histopathological examination, and mycobacterial culture. The Institutional Animal Care and Use Committee approved protocols detailing procedures and animal care prior to initiation of the experiments.

In addition, fresh whole blood samples were collected from 434 free-ranging white-tailed deer in Michigan State where *M. bovis* infection is persistent in wild deer (Schmitt et al., 1997). The deer enrolled in the study inhabited the ''core'' area of the Michigan TB outbreak area (O'Brien et al., 2002). Blood samples were obtained from four sources: (1) culls of free-ranging deer conducted by hunters during 2005/2006 and 2006/2007 winter seasons as part of herd-health checks; (2) depopulation of a fenced captive deer shooting preserve in late 2006 following culture confirmation of grossly lesioned *M. bovis*-positive deer; (3) nuisance deer shot on cattle farms under disease control permits; and (4) deer tested as part of an ongoing live trap/test/cull project. Tissue samples used for culture included medial retropharyngeal lymph nodes, parietal pleura and lungs.

A group of brushtail possums naturally infected with *M. bovis* consisted of 29 animals captured at Castlepoint, Wairarapa and nine possums from the Orongorongo Valley near Wellington. All these had macroscopic TB lesions, from which *M. bovis* was cultured. Blood was collected from all of the animals immediately prior to euthanasia. A negative control group included 91 possums captured in Manawatu, an area of New Zealand that is free of bovine TB in domestic livestock and wild animals.

Hunter-harvested wild boar were sampled in Spain between November 1999 and February 2005 ($n = 100$) and in Portugal between December 2005 and January 2007 ($n = 77$). Various lymph nodes were examined for gross lesions and cultured for *M. bovis* as described previously (Gortázar et al., 2003; Martin-Hernando et al., 2007). Portuguese mycobacterial isolates were identified by PCR for a panel of selected genes: 16S RNA, IS1081, Rv3120, Rv1510, and IS1245, and confirmed by spoligotyping. According to Huard et al. (2003) and Bartos et al. (2006), this set of genes allows for differentiation between *M. bovis* or other members of the *M. tuberculosis* complex and *M. avium* or other non-TB mycobacteria.

2.2. Multiantigen print immunoassay (MAPIA)

We used a panel of 12 mycobacterial antigens including 8 purified recombinant proteins (ESAT-6, CFP10, MPB64, MPB59, MPB70, MPB83, Acr1, and the 38 kDa protein), two protein fusions (CFP10/ESAT-6 and Acr1/MPB83), and two native antigens, bovine protein purified derivative (B-PPD) and *M. bovis* culture filtrate (MBCF). MAPIA was performed as described previously (Lyashchenko et al., 2000). Briefly, antigens were immobilized on a nitrocellulose membrane (Schleicher & Schuell, Keene, N.H.) at a protein concentration of 0.05 mg/ml using a semi-automatic micro-aerosolization device (Linomat IV,

Camag Scientific Inc., Wilmington, Delaware) to generate invisible parallel bands. After antigen printing, the membrane was cut into 3 mm wide strips, perpendicular to the antigen bands, so that each strip carried all antigens. Strips were blocked for 1 h with 1% non-fat skimmed bovine milk in phosphate-buffered saline containing 0.05% Tween 20 and then incubated with individual serum samples diluted 1:50 in blocking solution for 1 h at room temperature. After washing, the strips were incubated for 1 h with peroxidase-conjugated protein G (deer, wild boars) or protein A (badgers, possums) diluted 1:1000 (Kirkegaard & Perry Laboratories), and subsequently washed again. IgG antibodies bound to immobilized antigens were visualized with 3,3′,5,5′-tetramethyl benzidine (Kirkegaard & Perry Laboratories). MAPIA results were read visually, with a band of any intensity being considered as a positive reaction.

2.3. Rapid test (RT)

A simple and rapid antibody detection assay was developed by Chembio Diagnostic Systems, Inc. using colored latex-based lateral-flow technology and a cocktail of selected *M. bovis* antigens including ESAT-6, CFP10, and MPB83 (Greenwald et al., 2003; Waters et al., 2006). Serum specimens were tested for the presence of specific antibody as previously described (Lyashchenko et al., 2006). Results were read at 20 min after adding sample buffer. Any visible band in the test area of the RT, in addition to the control line, was considered an antibody positive result, whereas no band in the test area in addition to the visible control line was considered a negative result.

2.4. Data analysis

Diagnostic performance of the RT was evaluated against the gold standard of *M. bovis* culture by calculating test sensitivity, specificity, and accuracy (% of RT results in agreement with TB status determined by culture) using available software (Lowry, 2007) and reported with the 95% confidence interval (CI). Test of significance between proportions (Fisher's exact test) and the calculation of odds ratio were performed using GraphPad InStat version 3.00 for Windows 95, GraphPad Software, San Diego California USA, www.graphpad.com. The statistical significance of the proportion of antibody detection rate in lesion positive wild boar in relation to those without visible lesions was performed by Chi-square tests (SPSS 11.0 Statistical Program).

3. Results

3.1. Antibody responses and antigen recognition

To compare antibody responses to *M. bovis* infection in different hosts, serum samples of all animals (possums) or of randomly selected culture-positive and culture-negative animals from naturally infected populations (badgers, deer, wild boar) were tested by MAPIA. Fig. 1 provides representative examples of the individual antigen reactivity patterns in each of the four mammal species. Table 2 shows the frequencies of IgG reactivity to *M. bovis* antigens found in infected and control animals. The MAPIA results confirmed our previous observations that MPB83 protein is serodominant in badgers with *M. bovis* infection and in experimentally infected white-tailed deer (Greenwald et al., 2003; Waters et al., 2004). The present study further revealed that this molecule is the most reactive antigen in brushtail possums and wild boar. In the naturally infected animals, the MPB83 seroreactivity rates ranged from 34% in possums to 89% in deer, whereas in culture-negative controls it varied from 1% in deer to 10% in badgers. ESAT-6 and CFP10 antigens were the second and third most frequently recognized antigen in the MAPIA in all the species, except for wild boar. MPB70 protein elicited serological responses in greater numbers of infected wild boar (68%) than did ESAT-6 (58%) or CFP10 (52%), although levels of MPB70 antibodies (evaluated visually by band intensity) were commonly lower than those of ESAT-6, CFP10, or MPB83 antibodies (Fig. 1). The other single proteins of *M. bovis* used in MAPIA reacted with variable numbers of sera from infected animals, ranging from 0% to 44%. Significant seroreactivity was found for MBCF, with a few *M. bovis*-infected animals displaying antibody only to this antigen (Fig. 1, B4). However, the crude native preparation of *M. bovis* showed high rates of false-positive results (from 10% in badgers to 26% in deer).

Heterogeneous antigen recognition patterns were observed in each host species, so that there was no

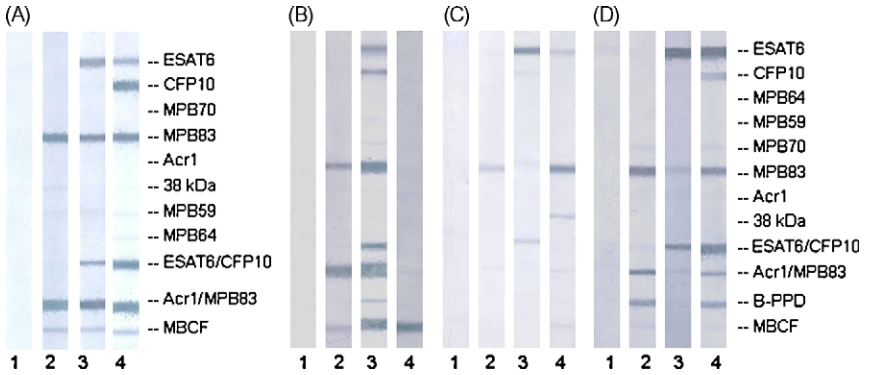


Fig. 1. Antibody responses detected by MAPIA in Eurasian badgers (A), white-tailed deer (B), brushtail possums (C), and European wild boar (D) naturally infected with *M. bovis*. Antigens printed onto nitrocellulose membrane, as described in Section 2, are indicated on the right. One control serum from culture-negative animal (strip 1) and three sera from different culture-positive animals (strips 2–4) were selected to show variable antigen recognition patterns in each host species. Visible bands of any intensity observed with certain antigen are IgG antibody positive reactions with respective antigens.

single antigen target common to all seropositive animals. It was demonstrated that the serological performance of the two antigen fusion proteins, CFP10/ESAT-6 and Acr1/MPB83, reflected the reactivity of the corresponding single antigens (Fig. 1). Subjective evaluations of the MAPIA band intensities and the numbers of antigens recognized by each animal in this study suggested that the strongest antibody responses were found in wild boars, whereas possums produced relatively weak antibody responses to *M. bovis* infection.

3.2. Antibody detection by rapid test

Serological evaluation of the RT revealed variable diagnostic performance when used in different host species (Table 3). Higher test sensitivity and specificity were found for deer and wild boar, compared to those observed in badgers and possums. The overall accuracy of the test ranged from 74% in possums to 97% in deer. When the diagnostic sensitivity was analyzed separately for deer with experimental and natural *M. bovis* infections, a lower rate of serological detection was found in the latter group (67%) than in animals inoculated intratonsilarly with high dose of *M bovis* (79%). To further gauge the RT specificity, serum samples from three deer developing experimental paratuberculosis (all three had strong antibody responses, as previously shown by Palmer et al., 2007) and from eight wild boar naturally infected with *M. avium* or other non-TB mycobacteria were tested. None of these 11 animals produced a positive RT result.

Table 2
Seroreactivity rates (%) of *M. bovis* antigens obtained in MAPIA with sera from naturally infected and uninfected animals

Antigen	Badger		Deer		Possum		Wild boar	
	TB ($n = 15$)	Control ($n = 29$)	TB ($n = 9$)	Control ($n = 98$)	TB ($n = 38$)	Control ($n = 91$)	TB ($n = 50$)	Control ($n = 50$)
MPB83	67	10	89	1	34	3	78	2
ESAT-6	27	0	67	2	21	1	58	8
CFP10	13	0	56	1	3	4	52	2
MPB70	7	0	44	0	2	0	68	0
38 kDa	7	0	11	1	2	3	30	0
Acr1	7	0	22	0	0	1	22	0
MPB64	13	0	11	1	0	0	2	0
MPB59	27	7	44	3	0	0	0	0
MBCF	53	10	89	26	34	20	44	12

Table 3
Diagnostic performance of rapid test in different host species

Species	Prevalence of infection (%) (95% CI)	Sensitivity (%) (95% CI)	Specificity (%) (95% CI)	Accuracy (%) (95% CI)
Badger	29.6 (27.6–32.2)	50.7 (46.0–55.3)	93.1 (91.4–94.5)	80.5 (78.5–82.5)
Deer	6.0[a] (4.1–8.7)	75.0 (54.8–88.6)	98.9 (97.2–99.6)	97.4 (95.4–98.6)
Possum	29.5 (21.9–38.2)	44.7 (29.0–61.5)	85.7 (76.4–91.9)	73.6 (65.0–80.8)
Wild boar	36.2 (29.2–43.7)	76.6 (64.0–85.9)	97.3 (91.9–99.3)	89.8 (84.2–93.7)

[a] Calculated prevalence of *M. bovis* infection is not representative for wild deer populations, as the TB group in this study included experimentally infected deer.

3.3. Antibody in various types of biological samples

Serum, plasma, fresh whole blood, diaphragm fluid, and aqueous humor were collected from three white-tailed deer experimentally infected with *M. bovis* and one non-infected deer. All the samples from the infected deer, except for the aqueous humor, yielded positive responses (Table 4). The intensity of RT reactions obtained with plasma, whole blood, and diaphragm fluid were comparable to that found for serum samples. No antibody reactivity was detected in any of the biological samples collected from the control deer. The MAPIA demonstrated that the antigen recognition patterns of antibodies found in diaphragm fluid and serum were similar (Fig. 2).

The use of whole blood in RT was more extensively evaluated in the Michigan study where samples were collected from 434 deer and tested under field conditions, followed by testing sera from the same animals in a blind-coded fashion. Nine deer were found to have TB lesions, from which *M. bovis* was cultured. Six of the infected animals were RT-reactive when serum samples were used, of which five deer produced antibody positive results with whole blood samples as well. Overall, the concordance between use of serum and whole blood was 96.8% (94.5–98.2 at 95% CI).

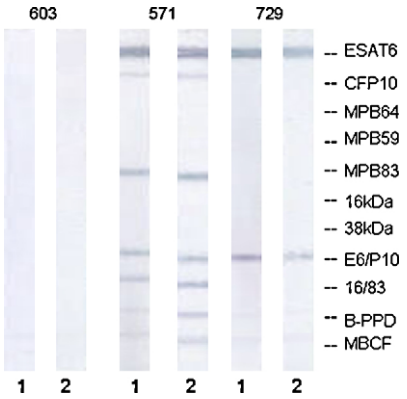


Fig. 2. MAPIA results obtained with sera (strip 1) and diaphragm fluids (strip 2) of white-tailed deer experimentally infected with *M. bovis* (571 and 729) and negative control (603). Antigens printed onto nitrocellulose membrane, as described in Section 2, are indicated on the right. Visible bands of any intensity observed with certain antigen are IgG antibody positive reactions with respective antigens.

3.4. Serology and severity of disease

A close association between strong antibody responses and the presence of gross lesions in wild boar infected with *M. bovis* was noticed (Table 5). While the overall sensitivity of the RT was 77%, the antibody detection rate in the boar with macroscopic lesions was five times higher (83%) than that in

Table 4
Antibody detection by rapid test in various types of biological samples from white-tailed deer experimentally inoculated with *M. bovis*

Group	Animal ID no.	Serum	Plasma	Whole blood	Diaphragm juice	Aqueous humor
Uninfected	603	–	–	–	–	–
M. bovis-infected	528	++	++	++	++	–
	571	+++	+++	+++	++	–
	729	++	++	+	++	–

Test results were scored visually as strong (+++), moderate (++), or weak (+) reactions, or non-reactive (–).

Table 5
Association between the presence of gross lesions and positive rapid test results in infected wild boar

Test	Visible lesions	No visible lesions	Total
RT-positive	48	1	49
RT-negative	10	5	15
Total	58	6	64

animals without visible lesions (17%). The difference was highly significant (χ^2 13.24, d.f. 1, $p = 0.0003$; $p = 0.002$, Fisher's exact test), with an odds ratio of 24 (2.5–228.4, 95% CI). In other words, the boar with gross lesions were on average 24 times more likely to be positive in the RT than those without visible lesions. With samples from Portugal, where most of the *M. bovis*-infected wild boar without lesions originated, all 10 animals with gross lesions were RT-reactive, whereas none of the four culture-positive boar without lesions had detectable antibodies.

4. Discussion

The present study characterized serological responses in infected animals of four species of wild mammals that are implicated in the persistence of *M. bovis* infection in cattle in different countries. Our results demonstrated that tuberculous badgers, white-tailed deer, brushtail possums, and wild boar produced variable levels of IgG antibodies against several *M. bovis* antigens. Importantly, the responses could be detected in each host by a recently developed 'point-of-care'-type lateral-flow test for bovine TB (Lyashchenko et al., 2006; Waters et al., 2006). MAPIA revealed antibodies to multiple proteins of *M. bovis* with heterogeneous antigen recognition patterns observed in the infected animals. These findings are in agreement with our previous reports on human TB serology (Lyashchenko et al., 2000) as well as other mammal species susceptible to organisms of the *M. tuberculosis* complex (Lyashchenko et al., 2004, 2006, 2007a,b; Waters et al., 2005, 2006). The serodominance of the MPB83 protein known to elicit the strongest antibody responses to experimental TB infection in cattle, badger, and deer (Lesellier et al., 2008; Lyashchenko et al., 2004; Waters et al., 2004) was extended in the present study to naturally infected animals as well as other, previously untested species (possums and wild boar).

Antibody detection methods are generally simple, rapid, and inexpensive. The lateral-flow assay format offers important features that make the RT evaluated in the present study an attractive screening tool for field applications. This is an easy-to-perform animal-side disposable kit which can use serum, plasma, whole blood, or other samples to provide ''yes-or-no'' visual read-outs within 15–20 min. The test speed is particularly useful for wildlife surveillance where a ''euthanize or release'' decision may be needed quickly on a physically restrained animal. The RT kits are stable at room temperature for up to 18–24 months, and they do not require refrigeration for storage, a power source, equipment, laboratory environment, or skilled personnel to perform the assay and interpret results. The test is suitable for use under field conditions, as it can be minimally affected by extremes of ambient temperature. Test results are unambiguous; high levels of reproducibility (lot-to-lot, operator-to-operator, laboratory-to-laboratory, and day-to-day) have been demonstrated in our unpublished studies, with the overall precision of 98.5% (Lci = 96.3%). Although the immunoassay itself is straightforward, obtaining the actual blood sample for testing may be less practical for some species (e.g. badgers) than others (e.g. deer). The requirement to anaesthetise an animal in order to obtain a blood sample may complicate surveillance or control programmes but not necessarily render them unfeasible.

The RT described here has been designed to detect specific antibodies of three major classes, IgM, IgG, and IgA. Moreover, the immunoassay format makes it independent of antibody origin, as long as the molecule has at least two functional antigen-binding sites. This multi-host diagnostic potential was demonstrated in the present study as an additional important feature of the testing technology. In fact, the majority of animals in naturally infected populations of the four species studied were correctly identified by the same device. The data described here suggest that the use of such a quick and easy field test may accommodate wildlife surveillance and bovine TB control strategies in many countries where persisting *M. bovis* infection in free-ranging wild mammals poses a constant threat to livestock.

Suboptimal RT sensitivities found in this study for badgers and possums (51% and 45%, respectively) are in line with previous attempts to detect antibodies to *M. bovis* in these animals (Buddle et al., 1995; Chambers et al., 2002, 2008; Greenwald et al., 2003). The strong IgG responses in wild boar appear in agreement with the reported observation that Ig heavy and light chains were up-regulated during *M. bovis* infection (Naranjo et al., 2006). This finding offers the possibility of using serology for large-scale testing of wildlife in epidemiological surveys. Additionally, the availability of the RT makes test-and-cull schemes an attractive approach in situations where mere reduction of wild populations is not satisfactory.

In wild boar, for which pathology data were available for analysis, strong antibody responses were commonly associated with the presence of gross lesions. Similar observations have been previously made for other host species (Chambers et al., 2002; Lesellier et al., 2008; Lyashchenko et al., 2004; Waters et al., 2004). This supports the view that serological assays may predominantly target animals in the advanced stages of disease progression typically characterized by higher rates of shedding, which may reflect enhanced potential for transmission (Chambers et al., 2008).

White-tailed deer experimentally infected with *M. bovis* produced antibodies that could be found by MAPIA and RT in serum, whole blood and other biological fluids equally well. The demonstrated feasibility of antibody detection from non-serological samples, such as tissue exudates from animal carcasses, provides a useful option for RT application under field conditions when a fresh blood specimen cannot be collected, although a recent badger study suggested that sample quality could affect the diagnostic performance of the RT by reducing its sensitivity if haemolized or lipaemic blood specimens were used (Chambers et al., 2008).

Although deer MAPIA analyses showed no significant difference between experimental and natural *M. bovis* infection in terms of the magnitude of antibody responses and variable antigen recognition profiles, the RT sensitivity appeared higher in animals inoculated intratonsilarly, when compared to that found in Michigan free-ranging deer. This difference may be due to (1) the use of high dose of *M. bovis* for most of the experimentally infected deer, and (2) collection of blood samples for serological testing at certain time-points of well-synchronized infection when most of the infected animals could have detectable antibody responses already developed. Recent studies on nonhuman primates found no difference in the diagnostic performance of similar serologic assays between natural and low-dose experimental infections with *M. tuberculosis* or *M. bovis* (Lyashchenko et al., 2007a).

As was shown for wild boar, our unpublished field studies on Michigan white-tailed deer also suggest that the RT is most effective at detecting animals with severe disseminated TB (based on post-mortem examination and culture) and that it typically yields a strong positive result within 3–5 min. Because deer with more advanced disease are most likely to be excreting *M. bovis* in significant quantities (Schmitt et al., 1997; Palmer, 2007), they pose the greatest risk of exposure to uninfected wildlife and livestock. Consequently, they are the most important animals to cull from the population. A similar strategy may also be appropriate for other countries with established wildlife reservoirs of *M. bovis* infection. Thus, serologic assays such as the RT may provide useful screening tools for controlling bovine TB in populations of different wildlife species, especially where the sensitivity is at its highest and the practical limitations can be overcome.

Acknowledgments

The authors are grateful to Peter Andersen and Jim McNair for kindly providing certain antigens used in this study. Badger samples were taken under projects funded by the Department for Environment, Food, and Rural Affairs (Defra), UK. The authors acknowledge the support of staff from CSL, VLA Starcross, Defra Wildlife Unit, and permission from the Independent Scientific Group for use of sera from the RBCT. Spanish wild boar samples were obtained with support from MEC Plan Nacional AGL2005-07401 and Santander – Fundación M. Botín.

References

Bartos, M., Hlozek, P., Svastova, P., Dvorska, L., Bull, T., Matlova, L., Parmova, I., Kuhn, I., Stubbs, J., Morakova, M., Kintr, J.,

Beran, V., Melicharek, I., Ocepek, M., Pavlik, I., 2006. Identification of members of *Mycobacterium avium* species by AccuProbes, serotyping, and single IS900, IS901, IS1245 and IS901-flanking region PCR with internal standards. J. Microbiol. Methods 64, 333–345.

Buddle, B.M., Nolan, A., McCarthy, A.R., Heslop, J., Aldwell, F.E., Jackson, R., Pfeiffer, D.U., 1995. Evaluation of three serological assays for the diagnosis of *Mycobacterium bovis* infection in brushtail possums. N.Z. Vet. J. 43, 91–95.

Chambers, M.A., Pressling, W.A., Cheeseman, C.L., Clifton-Hadley, R.S., Hewinson, R.G., 2002. Value of existing serological tests for identifying badgers that shed *Mycobacterium bovis*. Vet. Microbiol. 86, 183–189.

Chambers, M.A., Crawshaw, T., Waterhouse, S., Delahay, R., Hewinson, R.G., Lyashchenko, K.P., 2008. Validation of the BrockTB STAT-PAK assay for the detection of tuberculosis in Eurasian badgers (*Meles meles*) and influence of disease severity on diagnostic accuracy. J. Clin. Microbiol. 46, 1498–1500.

Clifton-Hadley, R.S., Wilesmith, J.W., Stuart, F.A., 1993. *Mycobacterium bovis* in the European badger (*Meles meles*): epidemiological findings in tuberculous badgers from a naturally infected population. Epidemiol. Infect. 111, 9–19.

Coleman, J.D., Coleman, M.C., Warburton, B., 2006. Trends in the incidence of tuberculosis in possums and livestock, associated with differing control intensities applied to possum populations. N.Z. Vet. J. 54, 52–60.

Corner, L.A., 2006. The role of wild animal populations in the epidemiology of tuberculosis in domestic animals: how to assess the risk. Vet. Microbiol. 112, 303–312.

Cosivi, O., Grange, J.M., Daborn, C.J., Raviglione, M.C., Fujikura, T., Cousins, D., Robinson, R.A., Huchzermeyer, H.F., de Kantor, I., Meslin, F.X., 1998. Zoonotic tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* in developing countries. Emerg. Infect. Dis. 4, 59–70.

Cousins, D.V., 2001. *Mycobacterium bovis* infection and control in domestic livestock. Dev. Sci. tech. Off. Int. Epiz. 20, 71–85.

Delahay, R.J., Langton, S., Smith, G.C., Clifton-hadley, R.S., Cheeseman, C.L., 2000. The spatio-temporal distribution of *Mycobacterium bovis* (bovine tuberculosis) infection in a high-density badger population. J. Anim. Ecol. 69, 428–441.

Donnelly, C.A., Wei, G., Johnston, W.T., Cox, D.R., Woodroffe, R., Bourne, F.J., Cheeseman, C.L., Clifton-Hadley, R.S., Gettinby, G., Gilks, P., Jenkins, H.E., Le Fevre, A.M., McInerney, J.P., Morrison, W.I., 2007. Impacts of widespread badger culling on cattle tuberculosis: concluding analyses from a large-scale field trial. Int. J. Infect. Dis. 11, 300–308.

Gortázar, C., Vicente, J., Gavier-Widen, D., 2003. Pathology of bovine tuberculosis in the European wild boar. Vet. Rec. 152, 779–780.

Greenwald, R., Esfandiari, J., Lesellier, S., Houghton, R., Pollock, J., Aagaard, C., Andersen, P., Hewinson, R.G., Chambers, M., Lyashchenko, K., 2003. Improved serodetection of *Mycobacterium bovis* infection in badgers (*Meles meles*) using multiantigen formats. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 46, 197–203.

Griffin, J.M., Williams, D.H., Kelly, G.E., Clegg, T.A., O'Boyle, I., Collins, J.D., More, S.J., 2005. The impact of badger removal on the control of tuberculosis in cattle herds in Ireland. Prev. Vet. Med. 67, 237–266.

Huard, R., Lazzarini, L., Butler, W., van Soolingen, D., Ho, J., 2003. PCR-based method to differentiate the subspecies of the *Mycobacterium tuberculosis* complex on the basis of genomic deletions. J. Clin. Microbiol. 41, 1637–1650.

Lesellier, S., Corner, L., Costello, E., Sleeman, P., Lyashchenko, K., Greenwald, R., Esfandiari, J., Singh, M., Hewinson, R.G., Chambers, M., Gormley, E., 2008. Antigen specific immunological responses of badgers (*Meles meles*) experimentally infected with *Mycobacterium bovis*. Vet. Immunol. Immunopathol. 122, 35–45.

Lowry, R., 2007. VassarStats: web site for statistical computation. Clinical calculator 1. From an observed sample: estimates of population prevalence, sensitivity, specificity, predictive values, and likelihood ratios. Vassar College, Poughkeepsie, New York, (http://faculty.vassar.edu/lowry/VassarStats.html), last accessed 5 July 2007.

Lyashchenko, K.P., Singh, M., Colangeli, R., Gennaro, M.L., 2000. A multiantigen print immunoassay for the serological diagnosis of infectious diseases. J. Immunol. Methods 242, 91–100.

Lyashchenko, K., Whelan, A.O., Greenwald, R., Pollock, J.M., Andersen, P., Hewinson, R.G., Vordermeier, H.M., 2004. Association of tuberculin-boosted antibody responses with pathology and cell-mediated immunity in cattle vaccinated with *Mycobacterium bovis* BCG and infected with *M. bovis*. Infect. Immun. 72, 2462–2467.

Lyashchenko, K.P., Greenwald, R., Esfandiari, J., Olsen, J.H., Ball, R., Dumonceaux, G., Dunker, F., Buckley, C., Richard, M., Murray, S., Payeur, J.B., Andersen, P., Pollock, J.M., Mikota, S., Miller, M., Sofranko, D., Waters, W.R., 2006. Tuberculosis in elephants: antibody responses to defined antigens of *Mycobacterium tuberculosis*, potential for early diagnosis, and monitoring of treatment. Clin. Vaccine Immunol. 13, 722–732.

Lyashchenko, K.P., Greenwald, R., Esfandiari, J., Greenwald, D., Nacy, C.A., Gibson, S., Didier, P.J., Washington, M., Szczerba, P., Motzel, S., Handt, L., Pollock, J.M., McNair, J., Andersen, P., Langermans, J.A.M., Verreck, F., Ervin, S., Ervin, F., McCombs, C., 2007a. PrimaTB STAT-PAK assay, a novel rapid lateral-flow test for tuberculosis in nonhuman primates. Clin. Vaccine Immunol. 14, 1158–1164.

Lyashchenko, K.P., Greenwald, R., Esfandiari, Meylan, M., Hengrave Burri, I., Zanolari, P., 2007b. Antibody responses in New World camelids with tuberculosis caused by *Mycobacterium microti*. Vet. Microbiol. 125, 265–273.

Martin-Hernando, M.P., Hofle, U., Vicente, J., Ruiz-Fons, F., Vidal, D., Barral, M., Garrido, J.M., de la Fuente, J., Gortazar, C., 2007. Lesions associated with *Mycobacterium tuberculosis* complex infection in the European wild boar. Tuberculosis 87, 360–367.

Michel, A.L., Bengis, R.G., Keet, D.F., Hofmeyr, M., Klerk, L.M., Cross, P.C., Jolles, A.E., Cooper, D., Whyte, I.J., Buss, P., Godfroid, J., 2006. Wildlife tuberculosis in South African conservation areas: implications and challenges. Vet. Microbiol. 112, 91–100.

Monaghan, M.L., Doherty, M.L., Collins, J.D., Kazda, J.E., Quinn, P.J., 1994. The tuberculin test. Vet. Microbiol. 40, 111–124.

Moser, I., Prodinger, W.M., Hotzel, H., Greenwald, R., Lyashchenko, K.P., Bakker, D., Gomis, D., Seidler, T., Ellenberger, C., Hetzel, U., Wuennemann, K., Moisson, P., 2008. *Mycobac-*

terium pinnipedii: transmission from South American sea lion (*Otaria byronia*) to Bactrian camel (*Camelus bactrianus bactrianus*) and Malayan tapirs (*Tapirus indicus*). Vet. Microbiol. 127, 399–406.

Naranjo, V., Höfle, U., Vicente, J., Martin, M.P., Ruiz-Fons, F., Gortazar, C., Kocan, K.M., de la Fuente, J., 2006. Genes differentially expressed in oropharyngeal tonsils and mandibular lymph nodes of tuberculous and nontuberculous European wild boar naturally exposed to *Mycobacterium bovis*. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 46, 298–312.

Naranjo, V., Gortazar, C., Vicente, J., de la Fuente, J., 2008. Evidence for the role of European wild boar as a reservoir of *Mycobacterium tuberculosis* complex. Vet. Microbiol. 127, 1–9.

O'Brien, D.J., Schmitt, S.M., Fierke, J.S., Hogle, S.A., Winterstein, S.R., Cooley, T.M., Moritz, W.E., Diegel, K.L., Fitzgerald, S.D., Berry, D.E., Kaneene, J.B., 2002. Epidemiology of Mycobacterium bovis in free-ranging white-tailed deer, Michigan, USA, 1995–2000. Prevent. Vet. Med. 54, 47–63.

O'Brien, D.J., Schmitt, S.M., Fitzgerald, S.D., Berry, D.E., Hickling, G.J., 2006. Managing the wildlife reservoir of *Mycobacterium bovis*: the Michigan, USA, experience. Vet. Microbiol. 112, 313–323.

Palmer, M.V., 2007. Tuberculosis: a reemerging disease at the interface of domestic animals and wildlife. Curr. Top. Microbiol. Immunol. 315, 195–215.

Palmer, M.V., Stabel, J.R., Waters, W.R., Bannantine, J.P., Miller, J.M., 2007. Experimental infection of white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) with *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. J. Wildl. Dis. 43, 597–608.

Porphyre, T., McKenzie, J., Stevenson, M., 2007. A descriptive spatial analysis of bovine tuberculosis in intensively controlled cattle farms in New Zealand. Vet. Res. 38, 465–479.

Schmitt, S.M., Fitzerald, S.D., Cooley, T.M., Bruning-Fann, C.S., Sullivan, L., Berry, D., Carlson, T., Minnis, R.B., Payeur, J.B., Sikarskie, J., 1997. Bovine tuberculosis in free-ranging white-tailed deer from Michigan. J. Wildl. Dis. 33, 749–758.

Sawyer, J., Mealing, D., Dalley, D., Dave, D., Lesellier, S., Palmer, S., Bowen-Davies, J., Crawshaw, T.R., Chambers, M.A., 2007. Development and evaluation of a test for tuberculosis in live European badgers (*Meles meles*) based on measurement of gamma interferon mRNA by real-time PCR. J. Clin. Microbiol. 45, 2398–2403.

Waters, W.R., Palmer, M.V., Bannantine, J.P., Whipple, D.L., Greenwald, R., Esfandiari, J., Andersen, P., McNair, J., Pollock, J.M., Lyashchenko, K.P., 2004. Antigen recognition by serum antibodies in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) experimentally infected with *Mycobacterium bovis*. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 11, 849–855.

Waters, W.R., Pamer, M.V., Bannantine, J.P., Greenwald, R., Esfandiari, J., Andersen, P., McNair, J., Pollock, J.M., Lyashchenko, K.P., 2005. Antibody responses in reindeer (*Rangifer tarandus*) infected with *Mycobacterium bovis*. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 12, 727–735.

Waters, W.R., Palmer, M.V., Thacker, T.C., Bannantine, J.P., Vordermeier, H.M., Hewinson, R.G., Greenwald, R., Esfandiari, J., McNair, J., Pollock, J.M., Andersen, P., Lyashchenko, K.P., 2006. Early antibody responses to experimental *Mycobacterium bovis* infection of cattle. Clin. Vaccine Immunol. 13, 648–654.

Wernery, U., Kinne, J., Jahans, K.L., Vordermeier, H.M., Esfandiari, J., Greenwald, R., Johnson, B., Ul-Hag, A., Lyashchenko, K.P., 2007. Tuberculosis outbreak in a dromedary racing herd and rapid serological detection of infected camels. Vet. Microbiol. 122, 108–115.

Journal of Wildlife Diseases, 42(3), 2006, pp. 704–708
© Wildlife Disease Association 2006

Antibodies to *Mycobacterium bovis* in Wild Carnivores from Doñana National Park (Spain)

P. Martín-Atance,[1,3,4] L. León-Vizcaíno,[1] F. Palomares,[2] E. Revilla,[2] M. González-Candela,[1] J. Calzada,[2] M. J. Cubero-Pablo,[1] and M. Delibes[2] [1] Infectious Diseases Area, Department of Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, Murcia University, 30100, Murcia, Spain; [2] Department of Applied Biology, Estación Biológica de Doñana, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Avda María Luisa s/n E-41013 Sevilla, Spain; [3] Centro de Investigación Agraria Albaladejito, Ctra. Toledo-Cuenca, km 174, Cuenca, Spain; [4] Corresponding author (email: albaladejito16b@jccm.es)

ABSTRACT: We conducted a retrospective serologic survey for antibodies against the MPB70 protein of *Mycobacterium bovis* in wild carnivores from Doñana National Park (southwestern Spain). Serum samples from 118 red foxes (*Vulpes vulpes*), 39 Iberian lynx (*Lynx pardinus*), 31 Eurasian badgers (*Meles meles*), five Egyptian mongoose (*Herpestes ichneumon*), four European genet (*Genetta genetta*), and one Eurasian otter (*Lutra lutra*) were analyzed using an indirect competitive enzyme-linked immunoassay. Antibodies against the MPB70 protein of *M. bovis* were detected in seven badgers, five foxes, and one lynx. The frequency of positive animals was significantly higher in badger (23%) than in lynx (3%) and fox (4%). Antibodies were not detected in other species. Annual antibody frequency peaked at 38% in badgers and 11% for red fox. These species may contribute to persistence of bovine tuberculosis in Doñana.

Key words: Badger, Doñana, epidemiology, Iberian lynx, MPB70, *Mycobacterium bovis*, red fox, wild carnivores.

Wild animals infected with *Mycobacterium bovis* not only represent a public health risk (Van Tiem, 1997) but also can impact wildlife conservation (Tessaro et al., 1990; Bengis et al., 1996). The transmission of *M. bovis* between wildlife and domestic livestock can be a major obstacle to bovine tuberculosis (BT) eradication in many countries (Clifton-Hadley et al., 1995b; O'Neil and Pharo, 1995; White & Harris, 1995). Bovine tuberculosis has been reported in wild carnivore species and it is well established that European badgers (*Meles meles*) are susceptible (Ragg et al., 1995; Keet et al., 1996; Gavier-Widen et al., 2001; Pérez et al., 2001).

In Doñana National Park (DNP), *M. bovis* has been confirmed in wild boar (*Sus scrofa*), fallow deer (*Dama dama*) (León-Vizcano et al., 1991), Iberian lynx (*Lynx pardinus*) (Briones et al., 2000; Pérez et al., 2001), and red fox (*Vulpes vulpes*) (Martn-Atance et al., 2005). The objective of this study was to describe the serological status of wild carnivores to determine the extent of prior exposures to *M. bovis*.

Doñana National Park is located in southwestern Spain (36°11′10″–36°47′30″N and 6°49′10″–6°09′05″W) covering an area of approximately 2,750 km^2; within this area is a 550-km^2 biological reserve (BR), which receives complete protection. Human activities are restricted to traditional, nonintensive use such as extensive grazing of cattle. Wild ungulates reach high densities in some areas of the park; in the ecotone between marshland and scrubland in the BR, for example, densities of up to 54, 48, and 22 individuals per km^2 can occur for red deer, wild boar, and fallow deer, respectively.

Carnivores were captured and marked with a microchip between 1988 and 1998 in seven geographical areas within DNP. These included the BR, Marismillas, Acebuche, Torrecuadros, Sotos, Coto del Rey (CR), and other areas not registered; all sampling was concentrated in BR and CR. Blood samples were obtained from the femoral, jugular, or cephalic veins and 247 different sera were obtained from 198 animals: 133 samples from 118 red fox, 68 samples from 39 Iberian lynx, 36 samples from 31 Eurasian badgers, five samples from five Egyptian mongoose (*Herpestes ichneumon*), four samples from four European genet (*Genetta genetta*), and one

TABLE 1. Prevalence of seropositive animals and percentages of competition both in the negative and positive sera for the six carnivore species included in the survey.

Specie	Serum samples			Animals			Percentage of competition							
							Seronegatives				Seropositives			
	n	AF[a]	RF[b]	*n*	AF	RF	Mean	SD	CI_{95}	Range	Mean	SD	CI_{95}	Range
Red fox	133	5	4%	118	5	4%	5.37	1.64	5.37±0.3	8.7–1.9	68.9	2.8	68.9±2.5	72.5–65.9
Iberian lynx	68	3	4%	39	1	3%	5.56	1.56	5.56±0.38	9.8–2.1	65.2	4.1	65.2±4.7	71.4–62.6
Eurasian badger	36	7	19%	31	7	23%[c]	5.47	2.15	5.47±0.78	9.8–2.1	64.8	6.5	64.8±5.3	66.9–57.1
Egytian mongoose	5	0	—	5	0	—	6.92	1.90	6.92±1.90	8.7–4.3	—	—	—	—
European genet	4	0	—	4	0	—	7.00	0.55	7.00±0.55	7.6–6.5	—	—	—	—
Eurasian otter	1	0	—	1	0	—	5.40	0	0	—	—	—	—	—

[a] AF Absolute frequency (number seropositive samples or animals).

[b] RF: Relative frequency (positives/number of serum samples of animals tested).

[c] Significant difference ($P < 0.05$), SD = standard deviation, CI = confidence interval.

sample from a Eurasian otter (*Lutra lutra*). Sera were frozen at −80 C until tested.

Antibodies to *M. bovis* antibodies were detected using the indirect competition enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) technique. This was developed according to the method described by Harboe et al. (1990) with modifications (Acosta et al., 2000). Antigen consisted of MPB70 protein (Harboe and Nagai, 1984) and an anti-*M. bovis* goat serum was used to measure antigen captured by test and control sera. Positive and negative control serum samples were from red fox; positive serum was obtained from a fox that was experimentally vaccinated with *M. bovis* BCG. The anti-*M. bovis* goat serum, with which the carnivore sera competed, had an optical density (OD) value of 0.110. The negative/positive cutoff value for ELISA with MPB70 antigen the was set at an OD value of 0.018 based on the mean+3 SD of OD values obtained from tuberculosis-negative goat sera (Acosta et al., 2000).

Antibody prevalence was calculated based on the number of serum samples or animals tested during the study period for each species. Prevalence estimates for Eurasian badgers, red foxes, and Iberian lynxes were compared using either the chi-square or Fisher's exact test, at a level of significance of $P \leq 0.05$ (Sokal and Rohlf, 1994). Invariable categorical analyses were used to estimate standardized odds ratios, relating potential risk indicators to the occurrence of antibodies; Cornefield's method was applied to calculate 95% confidence intervals for the odds ratio.

Antibodies were detected in 4%, 4%, and 19% of the total samples collected from Iberian lynx, red fox, and Eurasian badger, respectively; all other species tested negative. It should be noted that the three positive lynx samples (Table 1) were taken from the same animal, which was captured in the 1989, 1990, and 1991; antibody levels were maintained in this animal throughout this period with percentage of competition in the ELISA ranging from 62.6% to 71.4%. Samples from all other recaptures tested negative throughout the study.

The prevalence of seropositive animals was significantly higher in badger (23%) than in lynx (3%) and fox (4%) (Table 1). The competition range for positive sera was not significant between these species (Table 1); 95% confidence intervals of competition values also were very similar between these species.

All of the positive animals were de-

TABLE 2. Relative frequency of animals seropositive to *Mycobacterium bovis* MPB70 in different capture zones per year.

Species	Year	Sera collected		Positives		Relative seropositive frequency		
		BR[a]	CR[a]	BR	CR	BR	CR	Total
Badger	1991	7	1	2	1	29%	100%	38%
	1992	4	0	1	—	25%	—	17% (1/6)[b]
	1993	0	1	0	—	—	0%	0%
	1994	7	0	2	—	29%	—	25% (2/8)[b]
	1995	0	4	0	1	0%	25%	25%
	1996	0	4	—	0	—	0%	0%
	1997	3	2	0	0	0%	0%	0%
Red Fox	1988	0	1	—	0	—	0%	0%
	1990	1	0	0	—	0%	—	0%
	1991	15	3	1	1	7%	33%	11% (2/19)[b]
	1992	27	0	1	—	4%	—	3% (1/32)[b]
	1993	0	5	—	0	—	0%	0%
	1994	22	4	1	1	5%	25%	8%
	1995	0	10	—	0	—	0%	0%
	1996	0	16	—	0	—	0%	0%
	1997	8	7	0	0	0%	0%	0%
	1998	0	1	—	0	—	0%	0%
Lynx	1989	8	0	1	—	13%	—	11% (1/9)[b]
	1990	4	0	1	—	25%	—	25%
	1991	9	3	1	0	11%	0%	8%
	1992	1	1	0	0	0%	0%	0% (0/7)[b]
	1993	1	4	0	0	0%	0%	0%
	1994	1	4	0	0	0%	0%	0% (0/6)[b]
	1995	0	7	—	0	—	0%	0%
	1996	0	5	—	0	—	0%	0% (0/6)[b]
	1997	0	12	—	0	—	0%	0%

[a] BR = biological reserve; CR = Coto del Rey.

[b] Includes samples collected in Marismillas, Acebuche, Torrecuadros, Sotos, and unregistered areas.

tected in CR and BR. The prevalence of seropositive red fox was similar between these areas. For badgers, antibody prevalence was lower in CR than in BR despite the fact that badger density is much higher in CR (Table 2). The low number of detected seropositive animals found did not allow calculating the odds ratio as a function of sex or age group. In Table 2 the annual frequencies of positive sera are shown for the different species in the different years and capture zones.

The indirect ELISA with MPB70 antigen (Harboe et al., 1990) has a high level of sensitivity in goats (93.8%) (Acosta et al., 2000), but is not as sensitive in opossum (21%) (Buddle et al., 1995). Sensitivity for the competitive ELISA (cELISA) with the same antigen ranges from 85% to 89% for cattle and bison (*Bison bison*) (Sugden et al., 1997). Using the MPB83 antigen in the indirect ELISA, sensitivity for badgers is not high (40.7%), even in animals with visible lesions (62%) (Goodger et al., 1994; Clifton-Hadley et al., 1995a). All of these techniques have high specificity. The cELISA with MPB70 has not yet been validated in any of the carnivore species studied in this paper, but it is logical to assume that our results underestimate the actual prevalence of *M. bovis* infection in DNP.

The random group sampling method implies a certain lack of exactness, although it is an adequate technique for epidemiologic surveys such as this one. This deficiency could have been counteracted had it been feasible to carry out

a random or systematic selection of the whole population, because the prevalence values of a disease tend to be more variable between groups than within one group (Thrusfield, 1995).

The relative frequency values may be useful to determine which species are at risk for *M. bovis* infection in DNP; for example, prevalence of *M. bovis* MPB70 antibodies in badgers is very high compared to red fox. In the case of the lynx, only one seropositive animal was detected and another lynx died with a generalized *M. bovis* infection (Pérez et al., 2001). These observations suggest that lynx may represent an incidental host for *M. bovis*.

In BR, cases of clinical *M. bovis* infection in wild boar and fallow deer have been reported and *M. bovis* has been isolated from fallow deer (1.3%) and red deer (2.5%) fecal samples (León-Vizcano, 1990; León-Vizcano et al., 1991). Ungulate densities are extremely high in BR. Although wild ungulate densities are lower in the CR, both areas are shared with domestic cattle. The frequency of seropositive badgers follows the same trend; however, badger density is higher in CR than in BR (0.85 vs. 0.28 individuals/km^2). Badgers in DNP feed during the summer on dung beetles associated with ungulate dung, as well as scavenging on ungulate carcasses. Such behavior renders them highly likely to come into contact with *M. bovis* from infected ungulates. It has been suggested that there may be no relation between the population density of badgers and the prevalence of *M. bovis* infection (Cheeseman et al., 1998). Given the sparse badger population in DNP, the risk of ungulates being infected by contact with infected badgers should be relatively low.

REFERENCES

Acosta, B., F. Real, L. León, S. Déniz, O. Ferrer, I. Rosario, and A. Ramrez. 2000. ELISA for anti-MPB70: an option for the diagnosis of goat tuberculosis caused by Mycobacterium bovis. Australian Veterinary Journal 78: 423–424.

Bengis, R. G., N. P. J. Kriek, D. F. Keet, J. P. Raath, V. De Vos, and H. F. A. K. Huchzermeyer. 1996. An outbreak of bovine tuberculosis in a free-living African buffalo (*Syncerus caffer*-Sparrman) population in the Kruger National Park: A preliminary report. Onderstepoort Journal of Veterinary Research 63: 15–18.

Briones, V., L. de Juan, C. Sanchez, A. I. Vela, M. Galka, N. Montero, J. Goyane, A. Aranaz, A. Mateos, and L. Dominguez. 2000. Bovine tuberculosis and the endangered Iberian lynx. Emerging Infectious Diseases 6: 189–91.

Buddle, B. M., A. Nolan, A. R. McCarthy, J. Heslop, F. E. Aldwell, R. Jackson, and D. U. Pfeiffer. 1995. Evaluation of three serological assays for the diagnosis of *Mycobacterium bovis* infection in brushtail possums. New Zealand Veterinary Journal 43: 91–95.

Cheeseman, C. L., J. W. Wilesmith, F. A. Stuart, and P. J. Mallinson. 1988. Dynamics of tuberculosis in a naturally infected badger population. Mammal Review 18: 61–72.

Clifton-Hadley, R. S., A. R. Sayers, and M. P. Stock. 1995b. Evaluation of an ELISA for *Mycobacterium bovis* infection in badgers (*Meles meles*). Veterinary Record 137: 555–558.

———, J. W. Wilesmith, M. S. Richards, P. Upton, and S. Johnston. 1995a. The occurrence of *Mycobacterium bovis* infection in cattle in and around an area subject to extensive badger (*Meles meles*) control. Epidemiology and Infection 114: 179–193.

Gavier-Widen, D., M. A. Chambers, D. G. Newell, and R. G. Hewinson. 2001. Pathology of natural *Mycobacterium bovis* infection in European badgers (*Meles meles*) and its relationship with bacterial excretion. Veterinary Record 148: 299–304.

Goodger, J., A. Nolan, W. P. Russell, D. J. Dalley, C. J. Thorns, F. A. Stuart, P. Croston, and D. G. Newell. 1994. Serodiagnosis of *Mycobacterium bovis* infection in badgers: development of an indirect ELISA using a 25 k Da antigen. Veterinary Record 135: 82–85.

Harboe, M., and S. Nagai. 1984. MPB-70, a unique antigen of *Mycobacterium bovis* BCG. American Review Respiratory Diseases 129: 444–452.

———, H. G. Wiker, J. R. Duncan, M. M. Garcia, T. W. Dukes, B. W. Brooks, C. Turcotte, and S. Nagai. 1990. Protein G-based enzyme-linked immunosorbent assay for anti-MPB70 antibodies in bovine tuberculosis. Journal of Clinical Microbiology 28: 913–921.

Keet, D. F., N. P. Kriek, M. L. Penrith, A. Michel, and A. Huchzermeyer. 1996. Tuberculosis in buffaloes (*Syncerus caffer*) in the Kruger National Park: Spread of the disease to other species. Onderstepoort Journal of Veterinary Research 63: 239–244.

León-Vizcano, L. 1991. Informe Cientfico al Patronato del Parque Nacional de Doñana. Estación

Biológica de Doñana (CSIC), Sevilla, Spain, 32 pp.

———, A. Bernabe, A. Contreras, M. J. Cubero, S. Gomez, and R. Astorga. 1990. Outbreak of tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis* in wild boars (*Sus scrofa*). 32 International Symposiums über die Erkrankungen der Zoo-und Wildtiere. Eskilstuna. Akademie-Verlag, Berlin, Germany, pp. 185–190.

Martn-Atance, P., F. Palomares, M. González-Candela, E. Revilla, M. J. Cubero, J. Calzada, and L. León-Vizcano. 2005. Bovine tuberculosis in a free ranging red fox (*Vulpes vulpes*) from Doñana National Park (Spain). Journal of Wildlife Diseases 41(2): 435–436.

O'neil, B. D., and H. J. Pharo. 1995. The control of bovine tuberculosis in New Zealand. New Zealand Veterinary Journal 43: 249–255.

Pérez, J., J. Calzada, L. León-Vizcano, M. J. Cubero, J. Velarde, and E. Mozos. 2001. Tuberculosis in an Iberian lynx (*Lynx pardina*). Veterinary Record 148: 414–415.

Ragg, J. R., K. A. Waldrup, and H. Moller. 1995. The distribution of gross lesions of tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis* in feral ferrets (*Mustella furo*) from Otago, New Zealand. New Zealand Veterinary Journal 43: 338–341.

Sokal, R. R., and F. J. Rohlf. 1994. Biometry: The principles and practice of statistics in biological research. 3rd Edition. W.H. Freeman & Co, New York, New York, 880 pp.

Sugden, E. A., K. Stilwell, E. B. Rohonczy, and P. Martineau. 1997. Competitive and indirect enzyme-linked immunosorbent assays for *Mycobacterium bovis* infections based on MPB70 and lipoarabinomannan antigens. Canadian Journal of Veterinary Research 61: 8–14.

Tessaro, S. V., L. B. Fobres, and C. Turcotte. 1990. A survey of brucellosis and tuberculosis in bison in around Wood Buffalo National Park, Canada. Canadian Veterinary Journal 31: 174–180.

Thrusfield, M. 1995. Veterinary epidemiology. Blackwell Science Ltd, Oxford, UK, 483 pp.

Van Tiem, J. S. 1997. The public health risks of cervid production in the United States of America. La Revue Scientifique et Technique de l'Offices International des Épizooties 16: 564–570.

White, P. C. L., and S. Harris. 1995. Bovine tuberculosis in badger (*Meles meles*) populations in south-west England: The use of a spatial stochastic simulation model to understand the dynamics of the disease. Philosophical Transactions of the Royal Society London B 349: 391–413.

Received for publication 26 January 2005.

Available online at www.sciencedirect.com
ScienceDirect
Veterinary Microbiology 132 (2008) 87–95
veterinary microbiology
www.elsevier.com/locate/vetmic

Persistence and molecular evolution of *Mycobacterium bovis* population from cattle and wildlife in Doñana National Park revealed by genotype variation

Beatriz Romero [a], Alicia Aranaz [a,*], Ángel Sandoval [a,1], Julio Álvarez [a], Lucía de Juan [a], Javier Bezos [a], Celia Sánchez [b,2], Margarita Galka [b,3], Pilar Fernández [c], Ana Mateos [a], Lucas Domínguez [a]

[a] *Departamento de Sanidad Animal, VISAVET, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, 28040 Madrid, Spain*
[b] *Parque Nacional Doñana, Ministerio de Medio Ambiente, C.A. El Acebuche, Matalascañas, 21760 Huelva, Spain*
[c] *Área de Ecología, Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales, 14017 Córdoba, Spain*

Received 22 February 2008; received in revised form 16 April 2008; accepted 23 April 2008

Abstract

The role of wildlife in tuberculosis epidemiology is being widely studied since it can affect the effectiveness of eradication campaigns in cattle. The health problem is enhanced when it concerns also wildlife welfare and biodiversity conservation. This study was performed to understand the epidemiology of *Mycobacterium bovis* population affecting livestock and wild animals in the Doñana National Park using bacteriology and molecular characterisation techniques. Tuberculosis research was performed on 1209 cattle and wild animals (artiodactyla and carnivore) collected over 6 years in the Park. One hundred and sixty-three animals were found to be infected with *M. bovis*, comprising 7.96% of the cattle and 20.53% of the wild animals tested. Spoligotyping revealed nine patterns, being SB1232 and SB1230 the most prevalent (77.30% and 15.34% of infected animals, respectively). MIRU-VNTR analysis of a selected panel of 92 isolates showed eight different profiles, including several spoligotypes within the same MIRU-VNTR profile. The discriminatory capacity of both techniques in this panel was similar. The results obtained by combination of both techniques corroborate that wildlife species are infected with the *M. bovis* strains which are more prevalent in cattle and reveal their persistence. Genotype variation between isolates strongly suggests micro-evolutionary events in the *M. bovis* population in the same area. This study in the Doñana National Park exposes the risk of introduction of domestic animals into wildlife areas when there is not a warranty of disease freedom, appropriate diagnostic techniques and control measures.
© 2008 Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: *Mycobacterium bovis*; Cattle; Wild animals; DNA fingerprinting; Molecular evolution

* Corresponding author. Tel.: +34 91 3943721; fax: +34 91 3943795.
E-mail address: alaranaz@vet.ucm.es (A. Aranaz).
[1] Present address: Ordway Research Institute, Inc., Albany, NY 12208, USA.
[2] Present address: Subdirección General de Sanidad Animal, MAPA, 28071 Madrid, Spain.
[3] Present address: Clínica Veterinaria Noé Montequinto, Dos Hermanas, 41089 Sevilla, Spain.

0378-1135/$ – see front matter © 2008 Elsevier B.V. All rights reserved.
doi:10.1016/j.vetmic.2008.04.032

1. Introduction

Tuberculosis in wildlife, caused mainly by *Mycobacterium bovis*, has been reported worldwide (Livingstone, 2000; Bengis et al., 2002; Corner, 2006). The first concern about involvement of feral animals was their role in tuberculosis transmission, limiting the effectiveness of eradication campaigns in cattle. For example, in the UK and the Republic of Ireland, maintenance of bovine tuberculosis has been attributed to the presence of infected badgers (*Meles meles*) (Gallagher and Clifton-Hadley, 2000; Carter et al., 2007), and in Michigan (USA) the re-emergence of tuberculosis in cattle is thought to have been due to a reservoir in white-tailed deer (O'Brien et al., 2002). On the other hand, this disease has an enormous impact on wildlife welfare and biodiversity conservation which has been disregarded frequently, and even threatens endangered and emblematic species (Briones et al., 2000; Michel et al., 2006). Moreover, tuberculosis is also a zoonotic disease that can be transmitted by aerosols, skin abrasions or consumption of uncooked products (Winters et al., 2005; Evans et al., 2007).

In Spain, recent studies support the role of artiodactyls as wild hosts of tuberculosis. Red deer (*Cervus elaphus*), fallow deer (*Dama dama*) and the European wild boar (*Sus scrofa*) are game species with the highest densities in the Iberian Peninsula that have been found to be infected with *M. bovis* (Aranaz et al., 2004a; Parra et al., 2006; Vicente et al., 2006; Martín-Hernando et al., 2007; Naranjo et al., 2008).

Molecular epidemiology tools can provide a valuable insight into the importance of different hosts in the maintenance and spread of the infection although the information obtained cannot indicate a route of transmission. Mycobacterial interspersed repetitive units-variable number tandem repeats (MIRU-VNTR) have been proposed as an alternative (Skuce et al., 2005; Allix et al., 2006) to the spoligotyping method (Kamerbeek et al., 1997) because the latter has low discrimination power when *M. bovis* isolates are closely related to each other (Cousins et al., 1998; Skuce et al., 2002). However MIRU-VNTR analysis is not yet standardised in *M. bovis* and allelic diversity can vary among countries.

The aim of this report was to study the epidemiology of *M. bovis* in livestock and wild animals in the Doñana National Park. We used spoligotyping and MIRU-VNTR typing in order to compare their efficiency to discriminate between *M. bovis* isolates and to gain an insight into its route of transmission between wild and domestic animals within a restricted closed geographical area over a long period of time.

2. Materials and methods

2.1. Sample collection

This study was performed in the Doñana National Park, located in western Andalucía (south of Spain) (http://whc.unesco.org/en/list/685). During 1998–2003, samples from 1209 animals were collected in the National Park (Table 1), comprising domestic cattle (*Bos taurus*) ($n = 678$) and wild animals ($n = 531$) [red deer (*C. elaphus*) ($n = 168$), fallow deer (*D. dama*) ($n = 134$), wild boar (*S. scrofa*) ($n = 214$), Iberian lynx (*Lynx pardinus*) ($n = 10$), and fox (*Vulpes vulpes*) ($n = 5$)]. Cattle in this study were animals that used to graze in the Park. They were slaughtered in the 2002–2003 period, as part of tuberculosis surveillance coupled to massive reduction of the excessive number of grazing animals for conservational reasons. Wild animals were captured, necropsied and sampled during the health monitoring programme routinely developed at the Park from 1988 that considerably increased from 2001 to 2003. Wild artiodactyla were randomly hunted by the staff of the Park by active surveillance. Carnivores were found dead or terminally ill.

Necropsies were performed by veterinarians in the field on wild animals and in the slaughterhouse on cattle. Whenever possible, samples consisted of retropharyngeal/mandibular, mediastinal/bronchial, portal and mesenteric lymph nodes, lung and liver that were collected at the post-mortem examination. A minor group of these samples ($n = 136$) have been included in a preliminary study (Aranaz et al., 2004a).

2.2. Bacteriology

A pool of tissues from each animal were homogenized with sterile distilled water and decontaminated with 0.35% hexadecylpyridinium chloride

Table 1
Results of bacteriological culture and spoligotyping patterns of *Mycobacterium bovis* isolates cultured from cattle ($n = 678$) and wild animals ($n = 531$) in the Doñana National Park

Animal species	Number of animals	Positive culture	Species (number of positive cultures)	Spoligotypes (number. of isolates)
Cattle (*Bos Taurus*)	678	66	*M. bovis* (54)	SB0120 (1), SB0134 (2), SB0822 (3), SB0950 (1), SB1230 (10), SB1232 (34), SB1233 (1), SB1234 (2)
			Mycobacterium spp. (12)	
Red deer (*Cervus elaphus*)	168	36	*M. bovis* (26)	SB1230 (2), SB1232 (24)
			Mycobacterium spp. (10)	
Fallow deer (*Dama dama*)	134	35	*M. bovis* (17)	SB1230 (1), SB1232 (16)
			Mycobacterium spp. (18)	
Wild boar (*Sus scrofa*)	214	70	*M. bovis* (60)	SB0950 (1), SB1230 (11), SB1232 (48)
			Mycobacterium spp. (10)	
Iberian lynx (*Lynx pardinus*)	10	4	*M. bovis* (4)	SB0295 (1), SB1232 (3)
Fox (*Vulpes vulpes*)	5	2	*M. bovis* (2)	SB1230 (1), SB1232 (1)
Total	1209	213	*M. bovis* (163)	Nine spoligotyping profiles
			Mycobacterium spp. (50)	

A minor group of these samples was included in a previous report (Aranaz et al., 2004a). Spoligotype as defined in the *M. bovis* Spoligotype Database website (www.mbovis.org).

for 30 min (Corner and Trajstman, 1988), centrifuged at 3500 rpm (1068 × *g*) for 30 min and cultured onto Colestos and 0.2% (w/v) pyruvate-enriched Löwenstein–Jensen media (bioMèrieux España and Biomedics, Madrid, Spain) at 37 °C. Isolates were identified as *Mycobacterium tuberculosis* complex by staining for acid–alcohol fastness, colony morphology and PCR amplification of *Mycobacterium* genus-specific 16S rRNA fragment and MPB70 (Wilton and Cousins, 1992).

2.3. Spoligotyping

The *M. bovis* isolates were characterised by spoligotyping as described (Kamerbeek et al., 1997). The amplified product was detected by hybridization of the biotin-labelled PCR product onto spoligotyping membrane (Isogen Bioscience BV, Maarssen, The Netherlands). Purified sterile water and a clinical isolate of *M. tuberculosis* and *M. bovis* were included as controls in each batch of tests. The patterns were allocated a number in the *M. bovis* spoligotyping database. The results were recorded in SB (spoligotype bovis) code, followed by a field of 4 digits as defined on the *Mycobacterium bovis* Spoligotype Database website (www.mbovis.org).

2.4. MIRU-VNTR typing

A representative collection of the isolates ($n = 92$) was subjected to MIRU-VNTR analysis (Table 2). The panel included all isolates ($n = 12$) of the low-frequency spoligotyping patterns, and a selection of isolates ($n = 80$) of the high prevalent spoligotyping patterns which had been isolated throughout the years of the study. The analysis was carried out as described (Roring et al., 2002), and primers previously reported were used to amplify the ETR-A and ETR-B loci (formally VNTR 2165 and VNTR 2461) (Frothingham and Meeker-O'Connell, 1998), MIRU 4 and 40 (VNTR 580 and VNTR 802) (Supply et al., 2000) and QUB 3232, QUB 11a, QUB 11b, QUB 26 (VNTR 3232, VNTR 2163a, VNTR 2163b and VNTR 4052) (Roring et al., 2002; Skuce et al., 2002) using the recommended PCR conditions. Amplicon sizes were estimated by electrophoresis on a 2.5% agarose gel at 45 V during 2 h, using 100-bp ladder (Biotools B&M

Table 2
Molecular analysis of the panel of 92 *M. bovis* isolates from the Doñana National Park using spoligotyping and MIRU-VNTR techniques

Spoligotyping pattern[1]	Spoligotype UCM[2]	Spoligotype[3]	VNTR allelic profile								Number of animals					
			QUB 3232	ETR-A	ETR-B	QUB 26	QUB 11a	QUB 11b	MIRU 4	MIRU 40	Wild boar	Red deer	Fallow deer	Iberian lynx	Fox	Cattle
■■□■■■■■□■■■■■■□■■■■■■■■■■■■■■■■■■■■■□□□□□	SPB-003	SB0120	6	4	5	5	11	4	3	2						1
■■□□■■■■□■■■■■■□■■■■■■■■■■■■■■■■■■■■■□□□□□	SPB-116	SB0822	6	4	5	4	11	4	3	2						2
			6	-	-	-	-	-	5	1						1
■■□□■■■■□■■■□■■□■■■■■■■■■■■■■■■■■■■■■□□□□□	SPB-052	SB1232	6	4	5	4	11	4	3	2	14	8	13	3	1	22
			6	3	5	4	11	4	3	2						1
■■□□■■■■□■■■□■■□■■■■■■■■■■■■■■■□■■■■■■□□□□□	SPB-101	SB1233	6	4	5	4	11	4	3	2						1
■■□■■■■■□■■■■■■□■■■■■□■■■■■■■■■■■■■■■□■□□□□□	SPB-009	SB0295	7	6	4	5	11	2	3	2				1		
■■□■■■■□□□□□□■■□■■■■■□■■■■■■■■■■■■■■■□■□□□□□	SPB-054	SB1230	7	6	4	5	11	2	0	2	6	2	1		1	8
■■□□□■■■□■■■■■■□■■■■■■■■■■■■■■■■■■■■■□□□□□	SPB-013	SB0134	5	3	5	5	10	4	3	2						1
			5	3	5	5	10	3	3	2						1
■■□□□■■■□■■■■■■□■■■■■■■■■■■■■■□□□□■■■■□□□□□	SPB-140	SB1234	5	3	5	5	10	3	3	2						2
■■□■■■■■□■■■□■■□■■■■■■■■■■■■■■■■■■■■■□□□□□	SPB-053	SB0950	6/7	4/6	5/4	4/5	11	4/2	3/0	2	1					1

[1](■) indicates the presence of a spacer, (□) indicates the absence of the spacer. [2]Spoligotype code followed in the *M. bovis* collection at the UCM. [3]Spoligotype as defined in the *M. bovis* Spoligotype Database website (www.mbovis.org).

Labs, Madrid, Spain) and the number of repeats was calculated (Frothingham and Meeker-O'Connell, 1998; Roring et al., 2002; Skuce et al., 2002; Allix et al., 2006; Supply, 2006).

2.5. Discriminatory power

The discriminatory power, measured as the allelic diversity of MIRU-VNTRs (individually and in combinations), was calculated using the following equation: $h = 1 - \sum x_i^2[n/(n-1)]$, where n is the number of isolates and x_i the frequency of the ith allele at the locus. We used the website application http://insilico.ehu.es to calculate this parameter.

3. Results

3.1. Bacteriology

From the samples collected in the Doñana National Park from 1209 domestic and wild animals, we isolated *Mycobacterium* spp. from 213 animals: 163 isolates were identified as members of the *M. tuberculosis* complex and 50 isolates were atypical mycobacteria (Table 1). Fifty-four out of 678 cattle (7.96%) and 109 out of 531 wild animals (20.53%) were found to be infected by *M. tuberculosis* complex isolates.

3.2. Spoligotyping

The 163 isolates belonging to *M. tuberculosis* complex were characterised by spolygotyping and were identified as *M. bovis* because of the absence of the spacers 3, 9, 16 and 39–43. They were classified into nine spoligotyping patterns (SB0120, SB0134, SB0295, SB0822, SB0950, SB1230, SB1232, SB1233, SB1234) (Table 1). The most prevalent spoligotype (SB1232) was found in 126 infected animals (77.30%), and the second spoligotype in prevalence was SB1230, including 25 infected animals (15.34%). Both were detected all throughout the time span of this survey, without substantial variation regarding frequency. The other profiles were isolated from significantly fewer animals. The discriminatory capacity of spoligotyping was $h = 0.38$.

The spoligotypes SB0950, SB1230 and SB1232 were shared between domestic and wildlife animals (red deer, fallow deer, wild boar, Iberian lynx and fox). On the other hand, the spoligotypes SB0120, SB0134, SB0822, SB1233, and SB1234 were found only in *M. bovis* isolates from cattle.

Table 3
Number of profiles and allelic diversity obtained by MIRU-VNTR analysis and spoligotyping applied to the 92 *M. bovis* isolates of the panel

Locus	Alias	Number of allelic variants[a]	Allelic diversity
QUB 3232	VNTR 3232	3	0.40
ETR-A[b]	VNTR 2165	3	0.42
ETR-B[b]	VNTR 2461	2	0.34
QUB 26[b]	VNTR 4052	2	0.40
QUB 11a[b]	VNTR 2163a	2	0.08
QUB 11b[b]	VNTR 2163b	3	0.39
MIRU 4	VNTR 0580	2	0.34
MIRU 40	VNTR 0802	2	0.02
QUB 3232 + ETR-A		4	0.42
VNTR 3232 + QUB 11b		4	0.41
VNTR 3232 + MIRU 4		4	0.42
ETR-A + QUB 11b + MIRU 4		7	0.44
All VNTRs		8	0.46
Spoligotyping (including SB0950)		9	0.51
Spoligotyping		8	0.49
Spoligotyping + ETR-A + QUB 11b + MIRU 4		11	0.50
Spoligotyping + all VNTRs		11	0.50

h: discriminatory power, measured as the allelic diversity.
[a] SB0950 (mixed infection) has been excluded from analysis except when indicated.
[b] The isolate with the pattern SB0822 which yielded no band at these loci was excluded from the analysis.

3.3. MIRU-VNTR analysis

The selected panel of the isolates ($n = 92$) was characterised by the eight loci MIRU-VNTR analysis (Tables 2 and 3). The discriminatory capacity of spoligotyping in this panel was $h = 0.51$. The MIRU-VNTR loci classified the isolates in eight different types. The discriminatory power of the eight individual loci differed greatly, with allelic diversity ranking from 0.02 to 0.42 (Table 3). The six loci with the highest discriminatory power ($h \geq 0.2$) for this local *M. bovis* panel were QUB 3232, ETR-A, ETR-B, QUB 26, QUB 11b and MIRU 4 while the QUB 11a and MIRU 40 loci displayed very few allelic diversity. The VNTR technique was not able to type one of the 92 isolates at the ETR-A, ETR-B, QUB 26, QUB 11a and QUB 11b so this isolate was not taken into account to calculate the discriminatory index at the individual locus. The ability of VNTR typing to distinguish among the *M. bovis* field isolates was marginally improved by combining all MIRU-VNTRs ($h = 0.46$). This allelic diversity was similar to those obtained only with QUB 3232 or ETR-A ($h = 0.40$ and 0.42, respectively). The level of discrimination was further improved at 11 different allelic profiles when spoligotyping was included in combination with ETR-A, QUB 11b and MIRU 4 ($h = 0.50$). The addition of results of the other loci did not increase the discriminatory power (Table 3).

Additionally, the MIRU-VNTR analysis of *M. bovis* isolates of spoligotype SB0950, obtained from one cow and a wild boar, showed two PCR amplification bands in six of the loci. These double bands corresponded to those obtained for isolates belonging to spoligotype SB1232 and SB1230 (Table 2). For that reason, both SB0950 isolates were excluded to calculate the discriminatory index.

Moreover, the MIRU-VNTR allelic profile among the isolates with the spoligotyping patterns SB0822, SB1232 and SB1233 was identical (MIRU-VNTR profile 6-4-5-4-11-4-3-2). It also occurred in the case of isolates with spoligotypes SB0134 (one of the isolates) and SB1234 (MIRU-VNTR profile 5-3-5-5-10-3-3-2). On the other hand, the MIRU-VNTR technique distinguished among isolates that belong to spoligotypes SB0134, SB1232 and SB0822 into two MIRU-VNTR subtypes; these strains differed in a single copy at QUB 11b, ETR-A and MIRU 4 and 40, respectively.

M. bovis isolates with the same spoligotyping pattern and MIRU-VNTR profile (SB1232, 6-4-5-4-11-4-3-2 and SB1230, 7-6-4-5-11-2-0-2) were shared

by cattle and wild animals, including artiodactyla and carnivore.

4. Discussion

The presence of tuberculosis in a population of wild animals may interfere with the eradication scheme of bovine tuberculosis and raises problems of wildlife management and public health. In this study we used molecular techniques to analyse the *M. bovis* population isolated from livestock and wild animals from the Doñana National Park. The combination of spoligotyping and MIRU-VNTR analysis corroborates that wildlife (artiodactyla, carnivores) is infected with the *M. bovis* strains which are more prevalent in cattle (SB1230 and SB1232) and are maintained in the same area over time.

We hypothesize that *M. bovis* isolates have undergone micro-evolutionary steps. Thus, 64 out of 66 isolates with the patterns SB0822, SB1232 and SB1233 showed the same MIRU-VNTR allelic profile (6-4-5-4-11-4-3-2). The presence of spacers in their patterns would be compatible with one-step micro-evolution (SB0822 → SB1232 → SB1233) based on the loss of a single spacer or a group of contiguous spacers. The original SB0822 may have derived from one isolate of spoligotype SB0120, which contains all spacers described for *M. bovis* and is a widespread pattern in Spain. In a similar way, SB0134 and SB1234 differed among them on a single deletion event of the spacers 31–34; by MIRU-VNTR analysis differed only on the QUB 11b. However, the relationship between the SB0295 and SB1230, which vary in the presence of spacers 8–13 and the MIRU 4, is not clear because the Iberian lynx infected with *M. bovis* pattern SB0295 (not found in other animal species) had been translocated from Sierra Morena (south-east Spain). Therefore we postulate that these are examples of the appearance of new strains that diverged from pre-existing clones, which have lost spacers (van Embden et al., 2000; Smith et al., 2003; Aranaz et al., 2004b).

An exceptional case was the pattern SB0950. The MIRU-VNTR profile of these isolates was the sum of those obtained with the SB1232 and SB1230 patterns, recognising two strains whose overlapping patterns were classified as the SB0950 spoligotype. To our knowledge, this is the first description of co-infection by *M. bovis* in animals. Mixed infection is rarely considered in humans, and has been associated to high overexposure to tuberculosis (García de Viedma et al., 2003). In our setting, the presence of mixed infections is coherent with likelihood of infection with prevalent clones. An infection with multiple strains may be difficult to detect and the combined use of MIRU-VNTR analysis could be an affordable tool to discriminate mixed strains.

Regarding the overall performance of the typing techniques used in this study, both spoligotyping and MIRU-VNTR analysis displayed similar discriminatory capacity. The diversity of spoligotyping profiles in this area is similar to that found in Spain, however the discriminatory power ($h = 0.38$) is lower than that found at Spanish level (S. Rodriguez, personal communication). To our knowledge, the most frequent spoligotype (SB1232) has not been described in other countries so far, and SB1230 is restricted to the Iberian Peninsula (Duarte et al., 2008). In Spain, both *M. bovis* patterns are restricted to this geographical area.

In the panel of 92 isolates, spoligotyping and MIRU-VNTR techniques offered almost the same usefulness regarding number of allelic variants and discrimination power. However, there are differences in the performance of each locus. According to our results, loci QUB3232 and ETR-A match the main clusters defined by spoligotyping; while a combination of these loci with others with a lower allelic diversity allowed us to obtain a high discrimination. Currently, there is not a definitive international consensus on the best combination of markers. Despite the restricted geographical origin of these isolates, our results could be taken into account for the standardisation of the technique.

Molecular characterisation techniques helped us to track epidemiological links among *M. bovis* isolated from livestock and wild animals. Extensive-management stockbreeding was introduced in the Park to achieve a sustainable agriculture in an attempt to make better use of land resources. In the 1990s, there was a continuous increase in livestock in the Park as a result of agricultural subsidies. We have no clinical samples of feral animals prior to this increase; but the information derived from field necrospies on wild animals revealed no cases of tuberculosis (C. Sánchez, unpublished data). Therefore, it is likely that cattle

infected with bovine tuberculosis, misdiagnosed in the eradication campaigns, introduced the disease within the wildlife population. Our findings do not determine the direction and frequency of the transmission between livestock and wildlife, as it could happen frequently or it could have happened only occasionally with a subsequent transmission among wildlife. The high prevalence of the patterns shared between domestic and wildlife could be enhanced by the nature of the ecosystems. In this area there are strong seasonal differences in the availability of food and water supplies which force animal aggregation at these resources. This transmission could also be favoured by the over-density of some species and lack of hunting.

This study in the Doñana National Park exposes the risk of introduction of domestic animals into wildlife areas when there is not a warranty of disease freedom, and there is a lack of appropriate diagnostic techniques and control measures. Unfortunately, this situation is not new and other examples can be found worldwide, not only about tuberculosis, i.e. transmission from cattle to buffalo (*Syncerus caffer*) and then to other species in the Kruger National Park (Michel et al., 2006), but also related to other infectious diseases, such as brucellosis in the Yellowstone National Park (Dobson and Meagher, 1996). We also highlight the effect of tuberculosis on species at risk of extinction such as the Iberian lynx. The high rate of infection in artiodactyla (mainly fallow deer) that are preyed on by lynxes may affect the survival of this wild felid in this area (Briones et al., 2000). Moreover, many of the infections shared between livestock and wildlife are zoonoses (Daszak et al., 2000; Kruse et al., 2004).

The essential decision now is to focus the efforts to slow the progress of the epidemic. Nowadays, culling is the only feasible option to control tuberculosis in wildlife, but this raises ethical questions balanced against economic considerations and wildlife conservation (Littin and Mellor, 2005; McCallum and Hocking, 2005); furthermore, results are unpredictable (Carter et al., 2007; Vicente et al., 2007).

5. Conclusion

Spoligotyping and MIRU-VNTR analysis provides further evidence of the transmission of *M. bovis* population between cattle and wildlife species (artiodactyla and carnivores) sharing an ecosystem. This *M. bovis* population is persistent and undergoes micro-evolutionary steps over long period of time. The likelihood of inter-species pathogen transmission should be considered before introducing animals in areas that must be preserved from infectious diseases that have detrimental effects in both livestock and wildlife.

Acknowledgments

This research was supported by projects AGL 2006-06206 of the Spanish Ministry of Science and Technology and TB-STEP 212414 of the European Union, and by the Spanish Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. B. Romero is recipient of a research contract funded by Comunidad de Madrid (IV regional framework programme of research and technological innovation 2005–2008). We thank the guidelines and suggestions by partners of the EU coordination action ‘‘Veterinary European Network on Mycobacteria (VENoMYC)’’ during the WP7 workshop (Toledo, Spain, October 2006).

We are grateful to M. Gilmour for careful revision of the manuscript.

References

Allix, C., Walravens, K., Saegerman, C., Godfroid, J., Supply, P., Fauville-Dufaux, M., 2006. Evaluation of the epidemiological relevance of variable-number tandem-repeat genotyping of *Mycobacterium bovis* and comparison of the method with IS*6110* restriction fragment length polymorphism analysis and spoligotyping. J. Clin. Microbiol. 44, 1951–1962.

Aranaz, A., de Juan, L., Montero, N., Sánchez, C., Galka, M., Delso, C., Álvarez, J., Romero, B., Bezos, J., Vela, A.I., Briones, V., Mateos, A., Domínguez, L., 2004a. Bovine tuberculosis (*Mycobacterium bovis*) in wildlife in Spain. J. Clin. Microbiol. 42, 2602–2608.

Aranaz, A., Romero, B., Montero, N., Álvarez, J., Bezos, J., de Juan, L., Mateos, A., Domínguez, L., 2004b. Spoligotyping profile change caused by deletion of a direct variable repeat in a *Mycobacterium tuberculosis* isogenic laboratory strain. J. Clin. Microbiol. 42, 5388–5391.

Bengis, R.G., Kock, R.A., Fischer, J., 2002. Infectious animal diseases: the wildlife/livestock interface. Rev. Sci. Technol. 21, 53–65.

Briones, V., de Juan, L., Sánchez, C., Vela, A.I., Galka, M., Montero, N., Goyache, J., Aranaz, A., Domínguez, L., 2000. Bovine

tuberculosis and the endangered Iberian lynx. Emerg. Infect. Dis. 6, 189–191.

Carter, S.P., Delahay, R.J., Smith, G.C., Macdonald, D.W., Riordan, P., Etherington, T.R., Pimley, E.R., Walker, N.J., Cheeseman, C.L., 2007. Culling-induced social perturbation in Eurasian badgers *Meles meles* and the management of TB in cattle: an analysis of a critical problem in applied ecology. Proc. R. Soc. B 274, 2769–2777.

Corner, L.A., 2006. The role of wild animal populations in the epidemiology of tuberculosis in domestic animals: how to assess the risk. Vet. Microbiol. 112, 303–312.

Corner, L.A., Trajstman, A.C., 1988. An evaluation of 1-hexadecylpyridinium chloride as a decontaminant in the primary isolation of *Mycobacterium bovis* from bovine lesions. Vet. Microbiol. 18, 127–134.

Cousins, D.V., Skuce, R.A., Kazwala, R.R., van Embden, J.D., 1998. Towards a standardized approach to DNA fingerprinting of *Mycobacterium bovis*. International Union against tuberculosis and lung disease, tuberculosis in animals subsection. Int. J. Tuberc. Lung Dis. 2, 471–478.

Daszak, P., Cunningham, A.A., Hyatt, A.D., 2000. Emerging infectious diseases of wildlife-threats to biodiversity and human health. Science 287, 443–449.

Dobson, A., Meagher, M., 1996. The population dynamics of brucellosis in the Yellowstone National Park. Ecology 77, 1026–1036.

Duarte, E.L., Domingos, M., Amado, A., Botelho, A., 2008. Spoligotype diversity of *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium caprae* animal isolates. Vet. Microbiol. 130, 415–421.

Evans, J.T., Smith, E.G., Banerjee, A., Smith, R.M., Dale, J., Innes, J.A., Hunt, D., Tweddell, A., Wood, A., Anderson, C., Hewinson, R.G., Smith, N.H., Hawkey, P.M., Sonnenberg, P., 2007. Cluster of human tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis*: evidence for person-to-person transmission in the UK. Lancet 369, 1270–1276.

Frothingham, R., Meeker-O'Connell, W.A., 1998. Genetic diversity in the *Mycobacterium tuberculosis* complex based on variable numbers of tandem DNA repeats. Microbiology 144, 1189–1196.

Gallagher, J., Clifton-Hadley, R.S., 2000. Tuberculosis in badgers; a review of the disease and its significance for other animals. Res. Vet. Sci. 69, 203–217.

García de Viedma, D., Marín, M., Ruiz Serrano, M.J., Alcalá, L., Bouza, E., 2003. Polyclonal and compartmentalized infection by *Mycobacterium tuberculosis* in patients with both respiratory and extrarespiratory involvement. J. Infect. Dis. 187, 695–699.

Kamerbeek, J., Schouls, L., Kolk, A., van Agterveld, M., van Soolingen, D., Kuijper, S., Bunschoten, A., Molhuizen, H., Shaw, R., Goyal, M., van Embden, J., 1997. Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiology. J. Clin. Microbiol. 35, 907–914.

Kruse, H., Kirkemo, A.M., Handeland, K., 2004. Wildlife as source of zoonotic infections. Emerg. Infect. Dis. 10, 2067–2072.

Littin, K.E., Mellor, D.J., 2005. Strategic animal welfare issues: ethical and animal welfare issues arising from the killing of wildlife for disease control and environmental reasons. Rev. Sci. Technol. 24, 767–782.

Livingstone, P.G., 2000. Avances en materia de diagnóstico, control y erradicación de la tuberculisis bovina (*Mycobacterium bovis*) en animales domésticos y salvajes. In: 68th Sesión General del Comité Internacional, Office International del Epizooties, Paris, France, pp. 123–141.

Martín-Hernando, M.P., Hofle, U., Vicente, J., Ruiz-Fons, F., Vidal, D., Barral, M., Garrido, J.M., de la Fuente, J., Gortázar, C., 2007. Lesions associated with *Mycobacterium tuberculosis* complex infection in the European wild boar. Tuberculosis (Edinb.) 87, 360–367.

McCallum, H., Hocking, B.A., 2005. Reflecting on ethical and legal issues in wildlife disease. Bioethics 19, 336–347.

Michel, A.L., Bengis, R.G., Keet, D.F., Hofmeyr, M., Klerk, L.M., Cross, P.C., Jolles, A.E., Cooper, D., Whyte, I.J., Buss, P., Godfroid, J., 2006. Wildlife tuberculosis in South African conservation areas: implications and challenges. Vet. Microbiol. 112, 91–100.

Naranjo, V., Gortázar, C., Vicente, J., de la Fuente, J., 2008. Evidence of the role of European wild boar as a reservoir of *Mycobacterium tuberculosis* complex. Vet. Microbiol. 127, 1–9.

O'Brien, D.J., Schmitt, S.M., Fierke, J.S., Hogle, S.A., Winterstein, S.R., Cooley, T.M., Moritz, W.E., Diegel, K.L., Fitzgerald, S.D., Berry, D.E., Kaneene, J.B., 2002. Epidemiology of *Mycobacterium bovis* in free-ranging white-tailed deer, Michigan, USA, 1995–2000. Prev. Vet. Med. 54, 47–63.

Parra, A., García, A., Inglis, N.F., Tato, A., Alonso, J.M., Hermoso de Mendoza, M., Hermoso de Mendoza, J., Larrasa, J., 2006. An epidemiological evaluation of *Mycobacterium bovis* infections in wild game animals of the Spanish Mediterranean ecosystem. Res. Vet. Sci. 80, 140–146.

Roring, S., Scott, A., Brittain, D., Walker, I., Hewinson, G., Neill, S., Skuce, R., 2002. Development of variable-number tandem repeat typing of *Mycobacterium bovis*: comparison of results with those obtained by using existing exact tandem repeats and spoligotyping. J. Clin. Microbiol. 40, 2126–2133.

Skuce, R.A., McCorry, T.P., McCarroll, J.F., Roring, S.M., Scott, A.N., Brittain, D., Hughes, S.L., Hewinson, R.G., Neill, S.D., 2002. Discrimination of *Mycobacterium tuberculosis* complex bacteria using novel VNTR-PCR targets. Microbiology 148, 519–528.

Skuce, R.A., McDowell, S.W., Mallon, T.R., Luke, B., Breadon, E.L., Lagan, P.L., McCormick, C.M., McBride, S.H., Pollock, J.M., 2005. Discrimination of isolates of *Mycobacterium bovis* in Northern Ireland on the basis of variable numbers of tandem repeats (VNTRs). Vet. Rec. 157, 501–504.

Smith, N.H., Dale, J., Inwald, J., Palmer, S., Gordon, S.V., Hewinson, R.G., Smith, J.M., 2003. The population structure of *Mycobacterium bovis* in Great Britain: clonal expansion. Proc. Natl. Acad. Sci. 100, 15271–15275.

Supply, P., 2006. Protocol and Guidelines for Multilocus Variable Number Tandem Repeat Genotyping of *M. bovis* VENoMYC (Veterinary Network of Laboratories Researching into Improved Diagnosis and Epidemiology of Mycobacterial Diseases) WP7 Workshop, October 19–22 2006, Toledo, Spain, pp. 15–16.

Supply, P., Mazars, E., Lesjean, S., Vincent, V., Gicquel, B., Locht, C., 2000. Variable human minisatellite-like regions in the *Mycobacterium tuberculosis* genome. Mol. Microbiol. 36, 762–771.

van Embden, J.D., van Gorkom, T., Kremer, K., Jansen, R., Der Zeijst, B.A., Schouls, L.M., 2000. Genetic variation and evolutionary origin of the direct repeat locus of *Mycobacterium tuberculosis* complex bacteria. J. Bacteriol. 182, 2393–2401.

Vicente, J., Delahay, R.J., Walker, N.J., Cheeseman, C.L., 2007. Social organization and movement influence the incidence of bovine tuberculosis in an undisturbed high-density badger *Meles meles* population. J. Anim. Ecol. 76, 348–360.

Vicente, J., Hofle, U., Garrido, J.M., Fernández-De-Mera, I.G., Juste, R., Barral, M., Gortázar, C., 2006. Wild boar and red deer display high prevalences of tuberculosis-like lesions in Spain. Vet. Res. 37, 107–119.

Wilton, S., Cousins, D., 1992. Detection and identification of multiple mycobacterial pathogens by DNA amplification in a single tube. PCR Methods Appl. 1, 269–273.

Winters, A., Driver, C., Macaraig, M., Clark, C., Munsiff, S.S., Pichardo, C., Jereb, J., LoBue, P., Lynch, M., 2005. Tuberculosis cases caused by *Mycobacterium bovis* infections, New York City, 2001–2004. MMWR 54, 605–608.

Journal of Wildlife Diseases, 44(1), 2008, pp. 99-108
© Wildlife Disease Association 2008

MYCOBACTERIUM BOVIS IN WILDLIFE IN FRANCE

Gina Zanella[1], Benoît Durand[1], Jean Hars[3], François Moutou[1], Bruno Garin-Bastuji[2], Aurore Duvauchelle[4], Marc Fermé[4], Claudine Karoui[2] and Maria L. Boschiroli[2,5]

[1] Unité Epidémiologie, Agence française de sécurité sanitaire des aliments, 23 avenue du Général-de-Gaulle, 94706 Maisons-Alfort Cedex, France
[2] Unité Zoonoses Bactériennes, Agence française de sécurité sanitaire des aliments, 23 avenue du Général-de-Gaulle, 94706 Maisons-Alfort Cedex, France
[3] Unité Sanitaire de la faune, Office National de la Chasse et de la faune sauvage, 5 allée de Bethléem, 38610 Gières, France
[4] Clinique vétérinaire, 637 rue de Verdun, 76480 Duclair, France
[5] Corresponding author (email: ml.boschiroli@afssa.fr)

ABSTRACT: In early 2001, tuberculosis-like lesions were detected in three hunter-killed red deer (*Cervus elaphus*) in the Brotonne Forest (Normandy, France), and *Mycobacterium bovis* was isolated. In subsequent hunting seasons, two surveys were conducted in the area. In the first survey (2001–02 hunting season), nine (13%) of 72 red deer sampled were positive for *M. bovis*. In the 2005–06 hunting season, the prevalence of *M. bovis* infection increased to 24% (χ^2=3.85, df=1, *P*=0.05; 33 positive among 138 sampled). The prevalence remained stable in juveniles, but it increased significantly in adults: from 13% in 2001–02 to 32% in 2005–06 (χ^2=5.13, df=1, *P*=0.02). Wild boar (*Sus scrofa*) were heavily infected in both surveys. One roe deer (*Capreolus capreolus*) and one red fox (*Vulpes vulpes*) also tested positive in the second survey. *Mycobacterium bovis* was not isolated from Eurasian badgers (*Meles meles*). Spoligotyping and mycobacterial interspersed repetitive unit-variable number tandem repeat analysis demonstrated that all *M. bovis* strains isolated from wildlife were of the same genotype. Thus, the wildlife outbreak involved only a single strain, and this strain was the same as that circulating in nearby cattle herds since 1995. Sensitivity, specificity, and predictive values of the presence of macroscopic lesions as a diagnostic criterion were evaluated from the data obtained from red deer. Necropsy seems to be satisfactory as a routine tool to monitor the disease in wild red deer populations in which bovine tuberculosis has become established.

Key words: Cervus elaphus, diagnostic tests, France, molecular typing, *Mycobacterium bovis*, red deer, *Sus scrofa*, wild boar.

Journal of Wildlife Diseases, 41(2), 2005, pp. 435–436
© Wildlife Disease Association 2005

Bovine Tuberculosis in a Free Ranging Red Fox (*Vulpes vulpes*) from Doñana National Park (Spain)

P. Martín-Atance,[1,4] F. Palomares,[2] M. González-Candela,[3] E. Revilla,[2] M. J. Cubero,[3] J. Calzada,[2] and L. León-Vizcaíno,[3] [1] Centro de Investigación Agraria ''Albaladejito,'' Carretera Toledo–Cuenca, km. 174, 16001 Cuenca, Spain; [2] Departamento de Biología Aplicada, Estación Biológica de Doñana CSIC, Avenida Maria Luisa s/n E-41013, Sevilla, Spain; [3] Área de Enfermedades Infecciosas, Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Murcia University, 30071 Murcia, Spain; [4] Corresponding author (email: albaladejito16b@jccm.es)

ABSTRACT: During 1997 and 1998, a survey of Iberian carnivores was conducted to study the epidemiology of bovine tuberculosis in the Doñana National Park and surrounding areas in southwestern Spain. Post-mortem examinations were done on seven red foxes (*Vulpes vulpes*), two Egyptian mongoose (*Herpestes ichneumon*), one weasel (*Mustela nivalis*), two genets (*Genetta genetta*), one Iberian lynx (*Lynx pardinus*), one Eurasian badger (*Meles meles*), and two polecats (*Mustela putorius*). Lesions suggestive of bovine tuberculosis were not detected but, in culture, *Mycobacterium bovis* was isolated from the retropharyngeal lymph nodes of one adult male red fox. This is the first report of *M. bovis* infection in red fox in Spain.

Key words: Bovine tuberculosis, carnivores, epidemiology, *Mycobacterium bovis,* red fox, *Vulpes vulpes.*

Infections with *Mycobacterium bovis,* the etiological agent of bovine tuberculosis, have been reported from numerous wildlife species worldwide (Thoen, 1994), and, in many countries such as New Zealand, Ireland, the United Kingdom, and the United States, wildlife reservoirs for *M. bovis* have been documented (Clifton-Hadley et al., 2001). In Spain, reports of *M. bovis* are limited to a few species from the Doñana National Park, and include wild boar (*Sus scrofa*; León-Vizcaíno et al., 1990), fallow deer (*Dama dama*; León-Vizcaíno, 1989) and Iberian lynx (*Lynx pardinus*; Briones et al., 2000; Pérez et al., 2001). *Mycobacterium bovis* also has been isolated from red deer and fallow deer pellets (León-Vizcaíno, 1989).

In this study we investigated the presence of bovine tuberculosis in carnivores found dead in Doñana National Park (36°48′ to 37°7′N and 6°12′ to 6°34′W)and surrounding areas.

Carcasses of carnivores were collected during 1997 and 1998. Location, sex, and approximate age were recorded for each animal and carcasses were frozen and transported to the laboratory for postmortem examination. At necropsy, parotid, mandibular, medial retropharyngeal, bronchial, mediastinal, and mesenteric lymph nodes, along with kidneys, lungs, spleen, and liver were collected for histologic examination and microbiologic culture as described by Schmitt et al. (1997). Samples for histopathology were fixed in 10% neutral buffered formalin and sections were stained with hematoxylin and eosin and an acid-fast stain using the Ziehl-Neelsen method. Culture identity was confirmed by polymerase chain reaction as described by Cousins et al. (1991).

Sixteen carcasses were collected: seven red foxes (*Vulpes vulpes*; four adult females, three adult males), two adult male and one female Egyptian mongoose (*Herpestes ichneumon*), one adult male weasel (*Mustela nivalis*), one adult female Iberian lynx (*Lynx pardinus*), one adult male Eurasian badger (*Meles meles*), two adult male genets (*Genetta genetta*), and two adult male polecats (*Mustela putorius*). One male red fox was excluded from gross examination due to poor carcass condition. Gross and microscopic lesions consistent with *M. bovis* infection were not observed; all sections were negative for acid-fast organisms. *Mycobacterium bovis* was cultured from a pooled tissue sample from one adult male red fox.

Mycobacterium bovis has been reported in red foxes in the United Kingdom (Delahay et al., 2001) and Michigan, USA (Bruning-Fann et al., 2001); this is the first

report from this species in Spain. The distribution and severity of lesions associated with *M. bovis* infection can affect the transmission and potential reservoir status because successful transmission requires excretion of the infectious agent. Although most mammalian species are susceptible to bovine tuberculosis (Francis, 1958), only a few are thought to be reservoirs for *M. bovis.* The lack of gross or microscopic lesions in the carnivores of Doñana suggests either recent infection or potential resistance to tuberculosis, but based on these results there is no indication that this species can serve as an effective reservoir. With numerous historic reports of *M. bovis* in wildlife species at Doñana National Park, the presence of *M. bovis* in a carnivore species in not surprising. The potential role of this species in the epidemiology of *M. bovis* at this site will require further study.

This study was supported by the Healthy Animal Department of Murcia University and by DGCYT and DGES projects PB94-0480 and PB97-1163, and sponsored by Land Rover España. Field work was conducted with the permission of Doñana National Park (Spanish Ministry of Enviroment) and Consejería de Medio Ambiente (Junta de Andalucía). E.R. was supported by a FPU grant (Spanish Ministry of Education and Culture) and by a Ramon y Cajal Contract (Spanish Ministry of Science and Technology).

LITERATURE CITED

BRIONES, V., L. DE JUAN, C. SANCHEZ, A. I. VELA, M. GALKA, M. MONTERO, J. GOYACHE, A. ARANAZ, AND L. DOMINGUEZ. 2000. Bovine tuberculosis and the endangered Iberian lynx. Emerging Infectious Diseases 6: 189–91.

BRUNING-FANN, C. S., S. M. SCHMITT, S. D. FITZGERALD, J. S. FIERKE, P. D. FRIEDRICH, J. B. KANEENE, K. A. CLARKE, K. L. BUTLER, J. B. PAYEUR, D. L. WHIPPLE, T. M. COOLEY, J. M. MILLER, AND D. P. MUZO. 2001. Bovine tuberculosis free-ranging carnivores from Michigan. Journal of Wildlife Diseases 37: 58–64.

CLIFTON-HADLEY, R. S., C. M. SAUTER-LOUIS, I. W. LUGTON, R. JACKSON, P. A. DURR, AND J. W. WILESMITH. 2001. *Mycobacterium bovis* infections. *In* Infectious diseases of wild mammals, E. S. Williams and I. K. Barker (eds.). Iowa State University Press, Ames, Iowa, pp. 340–361.

COUSINS, D. V., S. D. WILTON, B. R. FRANCIS, AND B. L. GOW. 1991. Use of polymerase chain reaction for rapid diagnosis of tuberculosis. Journal of Clinical Microbiology 30: 255–258.

DELAHAY, R. J., C. L. CHEESEMAN, AND R. S. CLIFTON-HADLEY. 2001. Wildlife disease reservoirs: The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infection in the European badger (*Meles meles*) and other British mammals. Tuberculosis (Edinburgh) 81(1–2): 43–49.

FRANCIS, J. 1958. Tuberculosis in animals and man: A study in comparative pathology. Cassell and Company Limited, London, United Kingdon, 357 pp.

LEON-VIZCAINO, L. 1989. Informe Científico al Patronato del Parque Nacional de Doñana. Estación Biológica de Doñana (CSIC), Sevilla (unpublished document).

———, A. BERNABE, A. CONTRERAS, M. J. CUBERO, S. GOMEZ, AND R. ASTORGA. 1990. Outbreak of tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis* in wild boars (*Sus scrofa*). *In* Proceedings of the 32th International Symposiums Über die Erkrankungen der Zoo und Wildtiere, R. Ippen (ed). Eskilstuna Akademie-Verlag, Berlin, pp. 185–190.

PEREZ, J., J. CALZADA, L. LEON-VIZCAINO, M. J. CUBERO, J. VELARDE, AND E. MOZOS. 2001. Tuberculosis in an Iberian lynx (*Lynx pardina*). Veterinary Record 148: 414–415.

SCHMITT, S. M., S. D. FITZGERALD, T. M. COOLEY, C. S. BRUNNING, L. FANN, L. SULLIVAN, D. BERRY, T. CARLSON, R. B. MINNIS, J. B. PAYEUR, AND J. SIKARSKIE. 1997. Bovine tuberculosis in free ranging white-tailed deer in Michigan. Journal of Wildlife Diseases 33: 749–758.

THOEN, C. O. 1994. Tuberculosis in wild and domestic mammals. *In* Tuberculosis: Pathogenesis, protection and control, B. R. Bloom (ed.). American Society for Microbiology, Washington, D.C., pp. 157–162.

Received for publication 3 March 2004.

II

(Actos adoptados en aplicación de los Tratados CE/Euratom cuya publicación no es obligatoria)

DECISIONES

COMISIÓN

DECISIÓN DE LA COMISIÓN

de 25 de abril de 2008

por la que se establecen requisitos normalizados de presentación por los Estados miembros, con vistas a la financiación comunitaria, de los programas nacionales de erradicación, control y vigilancia de determinadas enfermedades de los animales y zoonosis

[notificada con el número C(2008) 1585]

(Texto pertinente a efectos del EEE)

(2008/425/CE)

LA COMISIÓN DE LAS COMUNIDADES EUROPEAS,

Visto el Tratado constitutivo de la Comunidad Europea,

Vista la Decisión 90/424/CEE del Consejo, de 26 de junio de 1990, relativa a determinados gastos en el sector veterinario ([1]), y, en particular, su artículo 24, apartado 10,

Considerando lo siguiente:

(1) La Decisión 90/424/CEE establece las modalidades de participación financiera de la Comunidad en los programas de erradicación, control y vigilancia de las enfermedades animales y las zoonosis. De conformidad con esa Decisión, procede introducir una acción financiera de la Comunidad para reembolsar los gastos de los Estados miembros en programas nacionales de erradicación, control y vigilancia de las enfermedades animales y zoonosis indicadas en el anexo de la Decisión.

(2) La Decisión 90/424/CEE establece que cada año, antes del 30 de abril, los Estados miembros deben presentar a la Comisión los programas anuales o plurianuales que piensan iniciar en el siguiente año y para los cuales solicitan una participación financiera de la Comunidad.

(3) De conformidad con el artículo 3 de la Decisión 90/424/CEE, modificada por la Decisión 2006/965/CE, los programas sobre la leucosis bovina enzoótica y la enfermedad de Aujeszky pueden financiarse hasta el 31 de diciembre de 2010.

(4) La Decisión 2004/450/CE de la Comisión, de 29 de abril de 2004, por la que se establecen los requisitos normativos relativos al contenido de las solicitudes de financiación comunitaria para los programas de erradicación, seguimiento y control de las enfermedades de los animales ([2]), establece que los Estados miembros que desean una participación financiera de la Comunidad en programas de erradicación, seguimiento y control de ciertas enfermedades animales deben presentar solicitudes que contengan determinada información establecida en dicha Decisión.

(5) La Decisión 2008/341/CE de la Comisión, de 25 de abril de 2008, por la que se establecen criterios comunitarios para los programas nacionales de erradicación, control y vigilancia de determinadas enfermedades animales y zoonosis ([3]), establece criterios que deben cumplir los programas nacionales para que la Comisión los apruebe con cargo a la acción financiera de la Comunidad prevista en el artículo 24, apartado 1, de la Decisión 90/424/CEE.

(6) Tras la adopción de la Decisión 2008/341/CE, y para mejorar el proceso de presentación, aprobación y evaluación del progreso en la ejecución de los programas, los requisitos estándar para las solicitudes por parte de los

([1]) DO L 224 de 18.9.1990, p. 19.

([2]) DO L 155 de 30.4.2004, p. 95; versión corregida en el DO L 193 de 1.6.2004, p. 71. Decisión modificada en último lugar por la Decisión 2007/268/CE (DO L 115 de 3.5.2007, p. 3).

([3]) DO L 115 de 29.4.2008, p. 44.

Estados miembros de financiación comunitaria para sus programas nacionales deben actualizarse y adaptarse a dichos criterios. Por motivos de claridad, procede derogar la Decisión 2004/450/CE y sustituirla por la presente Decisión.

(7) Las medidas previstas en la presente Decisión se ajustan al dictamen del Comité permanente de la cadena alimentaria y de sanidad animal.

HA ADOPTADO LA PRESENTE DECISIÓN:

Artículo 1

Los Estados miembros que deseen una contribución financiera de la Comunidad para sus programas nacionales de erradicación, control y seguimiento de las enfermedades de los animales y zoonosis enumeradas en el anexo de la Decisión 90/424/CEE presentarán solicitudes que contendrán, como mínimo, la información establecida en:

a) el anexo I de la presente Decisión por lo que se refiere a:

— tuberculosis bovina,

— brucelosis bovina,

— brucelosis ovina y caprina *(B. melitensis),*

— fiebre catarral ovina (lengua azul) en zonas endémicas o de alto riesgo,

— peste porcina africana,

— enfermedad vesicular porcina,

— peste porcina clásica,

— carbunco,

— perineumonía contagiosa bovina,

— rabia,

— equinococosis,

— triquinosis,

— infección por *Escherichia coli* verotoxigénica,

— leucosis bovina enzoótica y enfermedad de Aujeszky;

b) el anexo II de la presente Decisión por lo que se refiere a la salmonelosis (salmonela zoonótica);

c) el anexo III de la presente Decisión por lo que se refiere a las encefalopatías espongiformes transmisibles (EET): encefalopatía espongiforme bovina (EEB), tembladera y defecación crónica;

d) el anexo IV de la presente Decisión por lo que se refiere a la gripe aviar de aves de corral y aves salvajes;

e) el anexo V de la presente Decisión por lo que se refiere a:

— necrosis hematopoyética infecciosa,

— anemia infecciosa del salmón,

— viremia primaveral de la carpa (VPC),

— septicemia hemorrágica vírica (SHV),

— herpesvirosis de la carpa Koi,

— infección por *Bonamia ostreae,*

— infección por *Marteilia refringens,*

— enfermedad de las manchas blancas en los crustáceos.

Artículo 2

Queda derogada la Decisión 2004/450/CE.

Artículo 3

Los destinatarios de la presente Decisión serán los Estados miembros.

Hecho en Bruselas, el 25 de abril de 2008.

Por la Comisión

Androulla VASSILIOU

Miembro de la Comisión

ANEXO I

Requisitos normalizados de presentación de los programas nacionales de erradicación, control y vigilancia de determinadas enfermedades de los animales y zoonosis mencionados en el artículo 1, letra a) ([1])

1. **Identificación del programa**

Estado miembro:

Enfermedades ([2]):

Solicitud de cofinanciación de la Comunidad para ([3]):

Referencia del presente documento:

Persona de contacto (nombre y apellidos, teléfono, fax, correo electrónico):

Fecha de envío a la Comisión:

2. **Antecedentes de la evolución epidemiológica de las enfermedades** ([4]):

3. **Descripción del programa presentado** ([5]):

4. **Medidas del programa presentado:**

4.1. *Resumen de las medidas del programa*

Duración del programa:

Primer año:
- ☐ Control
- ☐ Realización de pruebas
- ☐ Sacrificio de animales positivos
- ☐ Matanza de animales que dieron positivo
- ☐ Vacunación
- ☐ Tratamiento
- ☐ Eliminación de los productos
- ☐ Erradicación, control o vigilancia.

Último año:
- ☐ Erradicación
- ☐ Realización de pruebas
- ☐ Sacrificio de animales que dieron positivo
- ☐ Matanza de animales que dieron positivo
- ☐ Ampliación del sacrificio
- ☐ Eliminación de los productos

- ☐ Otras medidas (*especifíquense*):

([1]) En los años segundo y subsiguientes de un programa plurianual ya aprobado por Decisión de la Comisión, solo hay que cumplimentar las secciones 1, 7 y 8.

([2]) Debe utilizarse un documento por enfermedad salvo que todas las medidas del programa que se apliquen a la población destinataria tengan por objeto el seguimiento, el control y la erradicación de distintas enfermedades.

([3]) Indíquense los años para los que se solicita cofinanciación.

([4]) Facilítese una información precisa sobre la población destinataria (especies, número de rebaños y animales presentes e incluidos en el programa), las principales medidas (pruebas de detección, pruebas y sacrificio para el consumo humano, pruebas y sacrificio para otros usos, calificación de rebaños y de animales, vacunación, etc., y los principales resultados (incidencia, prevalencia, calificación de rebaños y animales). Se presenta la información sobre períodos distintos si se modificaron sustancialmente las medidas. La información se documenta con los cuadros, gráficos o mapas epidemiológicos sumarios pertinentes.

([5]) Entréguese una descripción sucinta del programa junto con los principales objetivos (seguimiento, control, erradicación, calificación de los rebaños o regiones, reducción de la prevalencia y la incidencia, etc.), las principales medidas (pruebas de detección, pruebas y sacrificio para el consumo humano, pruebas y sacrificio para otros usos, calificación de rebaños y de animales, vacunación, etc.), la población animal destinataria, los ámbitos de ejecución y la definición de un caso positivo.

4.2. *Organización, vigilancia y papel de todos los interesados* ([1]) *implicados en el programa:*

4.3. *Descripción y delimitación de las zonas geográficas y administrativas en las que vaya a aplicarse el programa* ([2]):

4.4. *Descripción de las medidas del programa* ([3])*:*

4.4.1. Notificación de la enfermedad:

4.4.2. Animales destinatarios y población:

4.4.3. Identificación de los animales y registro de explotaciones:

4.4.4. Calificaciones de los animales y los rebaños ([4]):

4.4.5. Normas sobre el desplazamiento de los animales:

4.4.6. Pruebas y sistemas de muestreo utilizados:

4.4.7. Vacunas utilizadas y pautas de vacunación:

4.4.8. Información y evaluación de la gestión de las medidas de bioseguridad y la infraestructura de las explotaciones implicadas:

4.4.9. Medidas en caso de resultado positivo ([5]):

4.4.10. Sistema de indemnización a los propietarios de animales sacrificados:

4.4.11. Control y notificación de la aplicación del programa:

5. **Beneficios del programa** ([6]):

([1]) Preséntese una relación de las autoridades encargadas de supervisar y coordinar a los departamentos responsables de ejecutar el programa y de los distintos operadores participantes. Descríbanse las responsabilidades de todos los implicados.
([2]) Indíquense el nombre y la denominación, las fronteras administrativas y la superficie de las áreas administrativas y geográficas en las que debe aplicarse el programa. Deben adjuntarse mapas ilustrativos.
([3]) Proporcionar una descripción completa de todas las medidas, salvo que pueda hacerse referencia a la legislación comunitaria. Se menciona la legislación nacional por la que se establecen las medidas.
([4]) Si procede.
([5]) Descríbanse brevemente las medidas que se toman en el caso de los animales positivos (sacrificio, destino de las canales, uso o tratamiento de los productos animales, eliminación de todos los productos que pudieran transmitir la enfermedad o su tratamiento para evitar cualquier contaminación, procedimiento para la desinfección de las explotaciones infectadas, tratamiento terapéutico o preventivo elegido, procedimiento para la reposición con animales sanos en las explotaciones diezmadas por el sacrificio y creación de una zona de vigilancia alrededor de la explotación infectada, etc.).
([6]) Descripción de los beneficios para los ganaderos y para la sociedad en su conjunto.

6. **Datos sobre la evolución epidemiológica en los últimos cinco años** [1]

6.1. *Evolución de la enfermedad* [2]

6.1.1. Datos sobre los rebaños [a] (un cuadro por año y por enfermedad o especie)

Año: Situación a fecha de:
Enfermedad [b]: Especie animal:

Región [c]	Número total de rebaños [d]	Número total de rebaños incluidos en el programa	Número de rebaños controlados [e]	Número de rebaños positivos [f]	Número de nuevos rebaños positivos [g]	Número de rebaños diezmados	Porcentaje de rebaños positivos diezmados	Indicadores		
								Porcentaje de cobertura de los rebaños	Porcentaje de rebaños positivos Período de prevalencia en rebaños	Porcentaje de nuevos rebaños positivos Incidencia en rebaños
1	2	3	4	5	6	7	8 = (7/5) × 100	9 = (4/3) × 100	10 = (5/4)×100	11 = (6/4)×100
Total										

[a] Rebaños, manadas o explotaciones, según corresponda.
[b] Enfermedad y especie animal, en caso necesario.
[c] Se entenderá por región lo definido en el programa de erradicación aprobado del Estado miembro.
[d] Número total de rebaños existentes en la región, incluidos tanto los cubiertos por el programa como los no cubiertos.
[e] Por control se entiende realizar una prueba en un rebaño, en virtud del programa, de la enfermedad de que se trate con el fin de mantener, mejorar, etc., la calificación sanitaria del rebaño. En esta columna, un rebaño no debe contarse dos veces aunque haya sido sometido a controles más de una vez.
[f] Rebaños con, al menos, un animal positivo durante el período correspondiente, independientemente del número de veces que haya sido controlado.
[g] Rebaños cuya calificación en el período anterior era: desconocida, no indemne-negativa, indemne, oficialmente indemne o suspendida, y que tienen al menos un animal positivo en este período.

[1] Facilítense los datos sobre la evolución de la enfermedad, en su caso, en función de los cuadros siguientes.
[2] No es preciso proporcionar datos sobre la rabia.

6.1.2. Datos sobre los animales (un cuadro por año y por enfermedad o especie)

Año: Situación a fecha de:
Enfermedad ([a]): Especie animal:

Región ([b])	Número total de animales ([c])	Número de animales ([d]) que se van a someter a pruebas en virtud del programa	Número de animales ([d]) sometidos a pruebas	Número de animales sometidos a pruebas individuales ([e])	Número de animales que hayan dado positivo	Sacrificio		Indicadores	
						Número de animales que han dado resultados positivos sacrificados o desechados	Número total de animales sacrificados ([f])	Porcentaje de cobertura de animales	Porcentaje de animales positivos Prevalencia en animales
1	2	3	4	5	6	7	8	9 = (4/3) × 100	10 = (6/4) × 100
Total									

([a]) Enfermedad y especie animal, en caso necesario.
([b]) Región definida en el programa de erradicación aprobado del Estado miembro.
([c]) Número total de animales existentes en la región, incluidos tanto los cubiertos por el programa como los no cubiertos.
([d]) Se incluyen los animales sometidos a pruebas de manera individual o colectiva.
([e]) Se incluyen solo los animales sometidos a pruebas individualmente, pero no los sometidos a pruebas mediante muestras colectivas (por ejemplo: pruebas en camiones cisterna de leche).
([f]) Se incluyen todos los animales sacrificados, positivos o negativos, en el marco del programa.

6.2. *Datos desglosados sobre la vigilancia y las pruebas de laboratorio*

6.2.1. Datos desglosados sobre la vigilancia y las pruebas de laboratorio (un cuadro por año y enfermedad o especie)

Año: Enfermedad ([a]): Especie o categoría de animales:
Descripción de las pruebas serológicas empleadas:
Descripción de las pruebas microbiológicas o virológicas empleadas:
Descripción de las demás pruebas empleadas:

Región ([b])	Pruebas serológicas		Pruebas microbiológicas o virológicas		Otras pruebas	
	Número de muestras sometidas a prueba ([c])	Número de muestras positivas ([d])	Número de muestras sometidas a prueba ([c])	Número de muestras positivas ([d])	Número de muestras sometidas a prueba ([c])	Número de muestras positivas ([d])
Total						

([a]) Enfermedad y especie animal, en caso necesario.
([b]) Región definida en el programa de erradicación aprobado del Estado miembro.
([c]) Número de muestras sometidas a prueba.
([d]) Número de muestras positivas.

6.3. *Datos sobre infecciones (un cuadro por año y por enfermedad/especie)*

Año: Enfermedad ([a]): Especie animal:

Región ([b])	Número de rebaños infectados ([c])	Número de animales infectados
Total		

([a]) Enfermedad y especie animal, en caso necesario.
([b]) Se entenderá por región lo definido en el programa de erradicación aprobado del Estado miembro.
([c]) Rebaños, manadas o explotaciones, según corresponda.

6.4. *Datos sobre la calificación de los rebaños a finales de cada año* [1]

Año: Enfermedad [a]: Especie animal:

Región [b]	Calificación de los rebaños y animales incluidos en el programa [c]													
	Número total de rebaños y animales incluidos en el programa		Desconocida [d]		No indemne o no oficialmente indemne de la enfermedad				Suspendida la calificación de indemne u oficialmente indemne de la enfermedad [g]		Indemne de la enfermedad [h]		Oficialmente indemne de la enfermedad [i]	
					Último control positivo [e]		Último control negativo [f]							
	Rebaños	Animales [l]	Rebaños	Animales [l]	Rebaños	Animales [l]	Rebaños	Animales [l]	Rebaños	Animales [l]	Rebaños	Animales [l]	Rebaños	Animales [l]
Total														

[a] Enfermedad y especie animal, en caso necesario.
[b] Región definida en el programa de erradicación aprobado del Estado miembro.
[c] Al final del año.
[d] Información no disponible: no se dispone de resultados de controles previos.
[e] Calificación suspendida, según se define en la legislación comunitaria o nacional, respecto de la enfermedad en cuestión al final del período de notificación.
[f] Rebaño indemne, según se define en la legislación comunitaria o nacional, respecto de la enfermedad en cuestión.
[g] Rebaño oficialmente indemne, según se define en la legislación comunitaria o nacional, respecto de la enfermedad en cuestión.
[h] No indemne, y último control positivo: en el último control del rebaño apareció al menos un resultado positivo.
[i] No indemne, y último control negativo: en el último control del rebaño los resultados fueron negativos, pero no está «indemne» u «oficialmente indemne».
[l] Comprende los animales de los rebaños con la calificación mencionada (columna izquierda) incluidos en el programa.

[1] Únicamente se presentarán datos de la tuberculosis bovina, la brucelosis bovina, la brucelosis ovina y caprina *(B. melitensis)*, la leucosis bovina enzoótica y la enfermedad de Aujeszky.

6.5. *Datos sobre los programas de vacunación o tratamiento* ([1])

Año: Enfermedad ([a]): Especie animal:

Descripción de la vacuna, terapia u otro procedimiento utilizado:

Región ([b])	Número total de rebaños ([c])	Número total de animales	Información sobre el programa de vacunación o tratamiento					
			Número de rebaños ([c]) sometidos a un programa de vacunación o tratamiento	Número de rebaños ([c]) vacunados o tratados	Número de animales vacunados o tratados	Número de dosis de vacuna o tratamiento administradas	Número de adultos ([d]) vacunados	Número de animales jóvenes ([d]) vacunados
Total								

([a]) Enfermedad y especie animal, en caso necesario.
([b]) Región definida en el programa de erradicación aprobado del Estado miembro.
([c]) Rebaños, manadas o explotaciones, según corresponda.
([d]) Solo para la brucelosis bovina, la brucelosis ovina y caprina *(B. melitensis)* según lo definido en el programa.

6.6. *Datos sobre animales silvestres* ([2])

6.6.1. Estimación de la población silvestre

Año: Método de estimación ([a]):

Región ([b])	Estimación de la población de las especies de animales silvestres en cuestión			
	Especie:	Especie:	Especie:	Especie:
Total				

([a]) El cupo de caza se considera el método normalizado de estimación. Si se utiliza otro método, explíquese.
([b]) Región definida en el programa de erradicación aprobado del Estado miembro.

([1]) Únicamente si se ha vacunado.
([2]) Únicamente si el programa contiene medidas sobre animales silvestres o si los datos son epidemiológicamente pertinentes para la enfermedad.

6.6.2. Vigilancia de los animales silvestres (un cuadro por año y por enfermedad/especie)

Año: Enfermedad ([a]): Especie animal:
Descripción de las pruebas serológicas empleadas:
Descripción de las pruebas microbiológicas o virológicas empleadas:
Descripción de las demás pruebas empleadas:

Región ([b])	Pruebas microbiológicas o virológicas		Pruebas serológicas		Otras pruebas	
	Número de muestras sometidas a prueba	Número de muestras positivas	Número de muestras sometidas a prueba	Número de muestras positivas	Número de muestras sometidas a prueba	Número de muestras positivas
Total						

([a]) Enfermedad y especie animal, en caso necesario.
([b]) Región definida en el programa de erradicación aprobado del Estado miembro.

6.6.3. Datos sobre las vacunaciones o tratamientos de animales silvestres

Año: Enfermedad ([a]): Especie animal:
Descripción de la vacuna, terapia u otro procedimiento utilizado:

Región ([b])	km^2	Programa de vacunación o tratamiento		
		Número de dosis de vacuna o tratamiento que está previsto administrar	Número de campañas	Número de dosis de vacuna o tratamiento administradas
Total				

([a]) Enfermedad y especie animal, en caso necesario.
([b]) Región definida en el programa de erradicación aprobado del Estado miembro.

7. **Objetivos**

7.1. *Objetivos relacionados con la prueba (un cuadro por cada año de aplicación)*

7.1.1. Objetivos de las pruebas diagnósticas

Enfermedad ([a]): Especie animal:

Región ([b])	Tipo de prueba ([c])	Población destinataria ([d])	Tipo de muestra ([e])	Objetivo ([f])	Número de pruebas previstas
				Total	

([a]) Enfermedad y especie animal, en caso necesario.
([b]) Región definida en el programa de erradicación aprobado del Estado miembro.
([c]) Descripción de la prueba (por ejemplo, prueba de seroneutralización, AB-ELISA, rosa de Bengala, etc.).
([d]) Especificación de las especies y las categorías de animales que se prevé someter a pruebas (por ejemplo, sexo, edad, animales reproductores, animales destinados al matadero, etc.).
([e]) Descripción de la muestra (por ejemplo, sangre, suero, leche, etc.).
([f]) Descripción del objetivo (por ejemplo, calificación, vigilancia, confirmación de casos sospechosos, control de campañas, seroconversión, control de vacunas modificadas, pruebas de vacunas, control de la vacunación, etc.).

7.1.2. *Objetivos de las pruebas realizadas a rebaños y animales* [1]

7.1.2.1. Objetivos de la realización de pruebas a rebaños [a]

Enfermedad [b]: Especie animal:

Región [c]	Número total de rebaños [d]	Número total de rebaños incluidos en el programa	Número de rebaños que está previsto controlar [e]	Número de rebaños positivos previsibles [f]	Número de nuevos rebaños positivos previsibles [g]	Número de rebaños que se prevé diezmar	Porcentaje de rebaños positivos que se prevé diezmar	Indicadores de objetivos		
								Cobertura porcentual de los rebaños	Porcentaje de rebaños positivos Período de prevalencia previsto de los rebaños	Porcentaje de nuevos rebaños positivos Incidencia prevista en los rebaños
1	2	3	4	5	6	7	8 = (7/5)×100	9 = (4/3)×100	10 = (5/4)×100	11 = (6/4)×100
Total										

[a] Rebaños, manadas o explotaciones, según corresponda.
[b] Enfermedad y especie animal, en caso necesario.
[c] Región definida en el programa de erradicación aprobado del Estado miembro.
[d] Número total de rebaños existentes en la región, incluidos tanto los cubiertos por el programa como los no cubiertos.
[e] Por control se entenderá realizar una prueba de detección en un rebaño, en el marco del programa, de la enfermedad de que se trate con el fin de mantener, mejorar, etc., la calificación sanitaria del rebaño. En esta columna, un rebaño no debe contarse dos veces aunque haya sido sometido a controles más de una vez.
[f] Rebaños con, al menos, un animal positivo durante el período correspondiente, independientemente del número de veces que haya sido controlado.
[g] Rebaños cuya calificación en el período anterior era desconocida, no indemne o negativa, indemne, oficialmente indemne o suspendida y que tienen al menos un animal positivo en este período.

[1] No es preciso proporcionar datos sobre la rabia.

7.1.2.2. Objetivos de las pruebas realizadas a animales

Enfermedad ([a]): Especie animal:

Región ([b])	Número total de animales ([c])	Número de animales ([d]) incluidos en el programa	Número de animales ([d]) que se prevé someter a pruebas	Número de animales que se someterá a pruebas individuales ([e])	Número de animales previsiblemente positivos	Sacrificio		Indicadores de objetivos	
						Número de animales positivos que se prevé sacrificar	Número total de animales que está previsto sacrificar ([f])	Cobertura porcentual de animales prevista	Porcentaje de animales positivos (prevalencia de animales prevista)
1	2	3	4	5	6	7	8	9=(4/3)×100	10=(6/4)×100
Total									

([a]) Enfermedad y especie animal, en caso necesario.
([b]) Región definida en el programa de erradicación aprobado del Estado miembro.
([c]) Número total de animales existentes en la región, incluidos tanto los cubiertos por el programa como los no cubiertos.
([d]) Se incluyen los animales sometidos a pruebas de manera individual o colectiva.
([e]) Se incluyen solo los animales sometidos a pruebas individualmente, pero no los sometidos a pruebas mediante muestras colectivas (por ejemplo: pruebas en camiones cisterna de leche).
([f]) Se incluyen todos los animales sacrificados, positivos o negativos, en el marco del programa.

7.2. *Objetivos de la calificación de rebaños y animales* [1] *(un cuadro por cada año de aplicación)*

Enfermedad [a]: Especie animal:

Región [b]	Número total de rebaños y animales incluidos en el programa		Calificación de los rebaños y animales incluidos en el programa [c]											
			Previsiblemente desconocida [d]		Previsiblemente no indemne o no oficialmente indemne de la enfermedad				Suspendida la calificación de previsiblemente indemne u oficialmente indemne de la enfermedad [g]		Previsiblemente indemne de la enfermedad [h]		Previsiblemente oficialmente indemne de la enfermedad [i]	
					Último control positivo [e]		Último control negativo [f]							
	Rebaños	Animales [j]	Rebaños	Animales [j]	Rebaños	Animales [j]	Rebaños	Animales [j]	Rebaños	Animales [j]	Rebaños	Animales [j]	Rebaños	Animales [j]
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Total														

[a] Enfermedad y especie animal, en caso necesario.
[b] Región definida en el programa de erradicación aprobado del Estado miembro.
[c] Al final del año.
[d] Información no disponible: no se dispone de resultados de controles previos.
[e] No indemne, y último control positivo: en el último control del rebaño apareció al menos un resultado positivo.
[f] No indemne, y último control negativo: en el último control del rebaño los resultados fueron negativos, pero no está «indemne» u «oficialmente indemne».
[g] Calificación suspendida conforme a la definición de cada enfermedad con arreglo a la legislación comunitaria o nacional, en su caso, o conforme a la legislación nacional.
[h] Rebaño indemne conforme a la definición de cada enfermedad con arreglo a la legislación comunitaria o nacional, en su caso, o conforme a la legislación nacional.
[i] Rebaño oficialmente indemne conforme a la definición de cada enfermedad con arreglo a la legislación comunitaria o nacional, en su caso, o conforme a la legislación nacional.
[j] Comprende los animales de los rebaños con la calificación mencionada (columna izquierda) incluidos en el programa.

[1] Únicamente se presentarán datos de la tuberculosis bovina, la brucelosis bovina, la brucelosis ovina y caprina *(B. melitensis)*, la leucosis bovina enzoótica y la enfermedad de Aujeszky.

7.3. *Objetivos de la vacunación o el tratamiento (un cuadro por cada año de aplicación)*

7.3.1. Objetivos de la vacunación o el tratamiento ([1])

Enfermedad ([a]): Especie animal:

Región ([b])	Número total de rebaños ([c]) sometidos a un programa de vacunación o tratamiento	Número total de animales sometidos a un programa de vacunación o tratamiento	Objetivos del programa de vacunación o tratamiento					
			Número de rebaños ([c]) sometidos a un programa de vacunación o tratamiento	Número de rebaños ([c]) que está previsto vacunar o tratar	Número de animales que está previsto vacunar o tratar	Número de dosis de vacuna o tratamientos que está previsto administrar	Número de animales adultos ([d]) que está previsto vacunar	Número de animales jóvenes ([d]) que está previsto vacunar
Total								

([a]) Enfermedad y especie animal, en caso necesario.
([b]) Región definida en el programa de erradicación aprobado del Estado miembro.
([c]) Rebaños, manadas o explotaciones, según corresponda.
([d]) Solo para la brucelosis bovina y la brucelosis ovina y caprina *(B. melitensis)* según lo definido en el programa.

7.3.2. Objetivos de la vacunación o el tratamiento de los animales silvestres ([2])

Enfermedad ([a]): Especie animal:

Región ([b])	km^2	Objetivos del programa de vacunación o tratamiento		
		Número de dosis de vacuna o tratamiento que está previsto administrar en la campaña	Número de campañas previstas	Número total de dosis de vacunas o tratamiento que está previsto administrar
Total				

([a]) Enfermedad y especie animal, en caso necesario.
([b]) Región definida en el programa de erradicación aprobado del Estado miembro.

([1]) Si procede.
([2]) Si procede.

8. **Análisis detallado del coste del programa (un cuadro por año de aplicación)**

Costes relativos a	Especificación	Número de unidades	Coste por unidad en EUR	Cuantía total en EUR	Subvención comunitaria solicitada (sí/no)
1. **Realización de pruebas**					
1.1. Coste de los análisis	Prueba:				
	Prueba:				
	Prueba:				
1.2. Coste del muestreo					
1.3. Otros costes					
2. **Vacunación o tratamiento**					
2.1. Adquisición de vacunas/tratamientos					
2.2. Gastos de distribución					
2.3. Gastos administrativos					
2.4. Gastos de control					
3. **Sacrificio y eliminación**					
3.1. Indemnización por animales perdidos					
3.2. Gastos de transporte					
3.3. Costes de destrucción de los animales					
3.4. Pérdidas en caso de sacrificio					
3.5. Gastos por tratamiento de productos (leche, huevos para incubar, etc.)					
4. **Limpieza y desinfección**					

Costes relativos a	Especificación	Número de unidades	Coste por unidad en EUR	Cuantía total en EUR	Subvención comunitaria solicitada (sí/no)
5. **Salarios (personal contratado exclusivamente para el programa)**					
6. **Bienes fungibles y equipamiento específico**					
7. **Otros costes**					
			Total		

ANEXO II

Requisitos normalizados de presentación de los programas nacionales de control de la salmonelosis (salmonela zoonótica) mencionados en el artículo 1, letra b)

PARTE A

Requisitos generales para los programas nacionales de control de *Salmonella*

a) Especificar los objetivos del programa

b) Demostrar que cumple los requisitos mínimos de muestreo establecidos en la parte B del anexo II del Reglamento (CE) nº 2160/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo ([1]) con indicación de la población y animal pertinente y las fases de producción que cubre el muestreo.

Manadas reproductoras de *Gallus gallus:*

— manadas de cría
  — pollitos de un día
  — aves de cuatro semanas de edad
  — dos semanas antes de entrar en la fase o unidad de puesta

— manadas de aves reproductoras adultas — cada dos semanas durante la fase de puesta

Gallinas ponedoras:

— manadas de cría
  — pollitos de un día
  — pollitas dos semanas antes de entrar en la fase o unidad de puesta

— manadas ponedoras — cada 15 semanas durante la fase de puesta

Pollos de engorde — los que se envían al matadero

Pavos — los que se envían al matadero

Piaras de cerdos:

— cerdos reproductores — los que se envían al matadero o sus canales en el matadero

— cerdos de abasto — los que se envían al matadero o sus canales en el matadero

c) demostrar que cumple los requisitos específicos establecidos en las partes C, D y E del anexo II del Reglamento (CE) nº 2160/2003, y

d) especificar los elementos siguientes:

1. Generalidades

1.1. Un breve resumen de la presencia de salmonelosis [salmonela zoonótica] en el Estado miembro, con referencia específica a los resultados del seguimiento, de conformidad con el artículo 4 de la Directiva 2003/99/CE del Parlamento Europeo y del Consejo ([2]), en especial resaltando la prevalencia de las serovariedades de *Salmonella* a las que van dirigidos los programas de control.

1.2. La estructura y organización de las autoridades competentes pertinentes. Se hará referencia al flujo de información entre los organismos implicados en la ejecución del programa.

1.3. Los laboratorios autorizados que vayan a analizar las muestras recogidas en el marco del programa.

1.4. Los métodos utilizados para el examen de las muestras en el marco del programa.

([1]) DO L 325 de 12.12.2003, p. 1.
([2]) DO L 325 de 12.12.2003, p. 31.

1.5. Los controles oficiales (incluidos los planes de muestreo) de piensos, manadas de aves o rebaños.

1.6. Las medidas que han tomado las autoridades competentes en cuanto a los animales o productos en los que se ha detectado *Salmonella* spp., en especial para proteger la salud pública, y cualquier medida preventiva tomada, como la vacunación.

1.7. La legislación nacional pertinente para la ejecución de los programas, incluida cualquier disposición nacional referente a las actividades establecidas en el programa.

1.8. Todas las ayudas financieras concedidas a las empresas alimentarias y de piensos en el contexto del programa.

2. En relación con las empresas del sector alimentario y empresas de piensos a las que se aplica el programa:

2.1. La estructura de producción de las especies de que se trate y de los productos derivados de ellas.

2.2. La estructura de producción de piensos.

2.3. Las correspondientes directrices de prácticas ganaderas correctas u otras (obligatorias o voluntarias) sobre medidas de bioseguridad que definan, como mínimo:

— la gestión de la higiene en las granjas,

— las medidas para evitar que los animales, los piensos, el agua potable o los trabajadores de las granjas introduzcan en ellas infecciones, y

— la higiene en el transporte de animales desde las granjas o a ellas.

2.4. La vigilancia veterinaria periódica de las granjas.

2.5. La inscripción de las granjas en un registro.

2.6. La existencia de registros en las granjas.

2.7. Los documentos que deben acompañar a los animales que se expidan.

2.8. Otras medidas pertinentes que faciliten la trazabilidad de los animales.

PARTE B

1. **Identificación del programa**

Estado miembro:

Enfermedad: salmonelosis animal por *Salmonella* spp. zoonótica

Población animal que cubre el programa:

Años de aplicación:

Referencia del presente documento:

Persona de contacto (nombre y apellidos, teléfono, fax, correo electrónico):

Fecha de envío a la Comisión:

2. **Antecedentes de la evolución epidemiológica de la salmonelosis zoonótica especificada en el punto 1** ([1]):

([1]) Facilítese una información precisa sobre la población destinataria (especies, número de rebaños y animales presentes e incluidos en el programa), las principales medidas (pruebas de detección, pruebas y sacrificio para el consumo humano, pruebas y sacrificio para otros usos, calificación de rebaños y de animales, vacunación, etc.), y los principales resultados (incidencia, prevalencia, calificación de rebaños y animales). Se presenta la información sobre períodos distintos si se modificaron sustancialmente las medidas. La información se documenta con los cuadros, gráficos o mapas epidemiológicos sumarios pertinentes.

3. **Descripción del programa presentado** ([1]):

4. **Medidas del programa presentado:**

4.1. *Resumen de las medidas del programa*

Duración del programa:

Primer año:
- □ Control
- □ Realización de pruebas
- □ Sacrificio de animales que dieron positivo
- □ Matanza de animales que dieron positivo
- □ Vacunación
- □ Tratamiento de los productos animales
- □ Eliminación de los productos
- □ Seguimiento o vigilancia
- □ Otras medidas (especifíquense):

Último año:
- □ Control/erradicación
- □ Realización de pruebas
- □ Sacrificio de animales que dieron positivo
- □ Matanza de animales que dieron positivo
- □ Ampliación del sacrificio
- □ Eliminación de los productos

4.2. *Designación de la autoridad central responsable de la vigilancia y coordinación de los departamentos encargados de ejecutar el programa* ([2]):

4.3. *Descripción y delimitación de la zona geográfica y administrativa en la que vaya a aplicarse el programa* ([3]):

4.4. *Medidas aplicadas en el programa* ([4])

4.4.1. Medidas y disposiciones legislativas con relación al registro de explotaciones:

4.4.2. Medidas y disposiciones legislativas con relación a la identificación de los animales ([5]):

4.4.3. Medidas y disposiciones legislativas en lo relativo a la notificación de la enfermedad:

4.4.4. Medidas y disposiciones legislativas referentes a los casos positivos ([6]):

4.4.5. Medidas y disposiciones legislativas respecto a las diversas calificaciones de los animales y los rebaños:

4.4.6. Procedimientos de control del programa y, en particular, las normas relativas a los desplazamientos de los animales susceptibles de estar afectados o contaminados por una enfermedad dada y a la inspección regular de las explotaciones o zonas afectadas ([7]):

4.4.7. Medidas y disposiciones legislativas en relación con el control (pruebas de detección, vacunación, etc.) de la enfermedad:

4.4.8. Medidas y disposiciones legislativas en lo que respecta a la indemnización de los propietarios de animales sacrificados:

4.4.9. Información y evaluación de la gestión de las medidas de bioseguridad y la infraestructura de las explotaciones implicadas:

5. **Descripción general de costes y beneficios** ([8]):

([1]) Entréguese una descripción sucinta del programa junto con los principales objetivos (seguimiento, control, erradicación, calificación de los rebaños o regiones, reducción de la prevalencia y la incidencia, etc.), las principales medidas (pruebas de detección, pruebas y sacrificio para el consumo humano, pruebas y sacrificio para otros usos, calificación de rebaños y de animales, vacunación, etc.), la población animal destinataria, los ámbitos de ejecución y la definición de un caso positivo.

([2]) Preséntese una relación de las autoridades encargadas de supervisar y coordinar a los departamentos responsables de ejecutar el programa y de los distintos operadores participantes. Descríbanse las responsabilidades de todos los implicados.

([3]) Indíquense el nombre y la denominación, las fronteras administrativas y la superficie de las áreas administrativas y geográficas en las que debe aplicarse el programa. Deben adjuntarse mapas ilustrativos.

([4]) Menciónese, en su caso, la legislación comunitaria correspondiente. De no existir esta, debe hacerse referencia a la legislación nacional.

([5]) No se aplica a las aves de corral.

([6]) Breve descripción de las medidas relativas a los animales positivos (sacrificio, destino de las canales, uso o tratamiento de los productos animales, destrucción de todos los productos que podrían transmitir la enfermedad o tratamiento de los mismos para evitar cualquier posible contaminación, procedimiento de desinfección de las explotaciones infectadas, repoblación con animales sanos de las explotaciones donde se hayan efectuado sacrificios).

([7]) Descríbanse brevemente los procedimientos de control del programa y, en particular, las normas relativas a los desplazamientos de los animales susceptibles de estar afectados o contaminados por una enfermedad dada y a la inspección periódica de las explotaciones o zonas afectadas.

([8]) Indíquense todos los costes para las autoridades y la sociedad, y los beneficios para los explotadores y la sociedad en general.

6. **Datos sobre la evolución epidemiológica en los últimos cinco años** [1]

6.1. *Evolución de la salmonelosis zoonótica*

6.1.2. Datos sobre la evolución de la salmonelosis zoonótica

Año: Situación a fecha de:
Especie animal: Enfermedad o infección [a]:

Región [a1]	Categoría de manada [b]	Número total de manadas [c]	Número total de animales	Número total de manadas incluidas en el programa	Número total de animales incluidos en el programa	Número de manadas controladas [d]	Número de manadas [a] positivas [e]			Número de manadas diezmadas [a]		Número total de animales sacrificados o eliminados [a]		Cantidad de huevos destruidos (número o kg) [a]		Cantidad de huevos canalizados a ovoproductos (número o kg) [a]	
							(a1)	(a2)	(a3)	(a3)	(a4)	(a4)	(a3)	(a4)	(a3)	(a4)	(a3)
Total																	

[a] Para la salmonelosis zoonótica indique los serotipos cubiertos por los programas de control: (a1) para *Salmonella enteritidis*, (a2) para *Salmonella typhimurium*, (a3) para otros serotipos —especificar—, (a4) para *Salmonella enteritidis* o *Salmonella typhimurium*.
[a1] Región definida en el programa de erradicación aprobado por el Estado miembro.
[b] Por ejemplo, manadas reproductoras (de cría, adultas), de producción, de gallinas ponedoras, pavos reproductores, pavos de abasto, cerdos reproductores, cerdos de abasto, etc. Manadas o rebaños, según proceda.
[c] Número total de manadas existentes en la región, incluidos tanto los cubiertos por el programa como los no cubiertos.
[d] Practicar un control hace referencia a realizar una prueba de detección en la manada de salmonela en el marco del programa. En esta columna, un rebaño no debe contarse dos veces aunque haya sido sometido a controles más de una vez.
[e] Si se ha controlado una manada más de una vez, de conformidad con la nota d), una muestra positiva deberá tenerse en cuenta una sola vez.

[1] Los datos sobre la evolución de la salmonelosis zoonótica se proporcionan de acuerdo con los cuadros, en su caso.

6.2. *Datos desglosados sobre la vigilancia y las pruebas de laboratorio*

6.2.1. Datos desglosados sobre la vigilancia y las pruebas de laboratorio (un cuadro por año y enfermedad o especie)

Año: Especie animal [a]: Categoría [b]:
Descripción de las pruebas serológicas empleadas:
Descripción de las pruebas microbiológicas o virológicas empleadas:
Descripción de las demás pruebas empleadas:

Región [c]	Pruebas serológicas		Pruebas microbiológicas o virológicas		Otras pruebas	
	Número de muestras sometidas a prueba [d]	Número de muestras positivas [e]	Número de muestras sometidas a prueba [d]	Número de muestras positivas [e]	Número de muestras sometidas a prueba [d]	Número de muestras positivas [e]
Total						

[a] Especie animal, en caso necesario.
[b] Categoría u otras especificaciones, como reproductoras, ponedoras, de cría, pavos reproductores, pavos de cría, cerdos reproductores, cerdos de abasto, etc., en su caso.
[c] Región definida en el programa de erradicación aprobado por el Estado miembro.
[d] Número de muestras sometidas a prueba.
[e] Número de muestras positivas.

6.3. *Datos sobre infecciones* (un cuadro por año y por especie)

Año: Especie animal [a]:

Región [b]	Número de rebaños infectados [c]	Número de animales infectados
Total		

[a] Especie animal, en caso necesario.
[b] Región definida en el programa de control y erradicación aprobado por el Estado miembro.
[c] Rebaños, manadas o explotaciones, según corresponda.

6.4. *Datos sobre los programas de vacunación* ([1])

Año: Especie animal ([a]):

Descripción de la vacunación utilizada:

Región ([b])	Número total de rebaños ([c])	Número total de animales	Información sobre el programa de vacunación			
			Número de rebaños ([c]) incluidos en el programa de vacunación	Número de rebaños ([c]) vacunados	Número de animales vacunados	Número de dosis de vacuna administradas
Total						

([a]) Especie animal, en caso necesario.
([b]) Región definida en el programa de erradicación aprobado por el Estado miembro.
([c]) Rebaños, manadas o explotaciones, según corresponda.

7. **Objetivos**

7.1. *Objetivos relacionados con la prueba* (un cuadro por cada año de aplicación)

7.1.1. Objetivos de las pruebas diagnósticas

Especie animal ([a]):

Región ([b])	Tipo de prueba ([c])	Población destinataria ([d])	Tipo de muestra ([e])	Objetivo ([f])	Número de pruebas previstas
				Total	

([a]) Especie, en caso necesario.
([b]) Región definida en el programa de erradicación aprobado por el Estado miembro.
([c]) Descripción de la prueba.
([d]) Especificación de las especies y de las categorías de animales destinatarias, en su caso.
([e]) Descripción de la muestra (por ejemplo, excrementos).
([f]) Descripción del objetivo (por ejemplo, vigilancia, seguimiento o control de la vacunación).

([1]) Únicamente si se ha vacunado.

7.1.2. Objetivos de las pruebas a las que se someten las manadas ([1])

Año: Situación a fecha de:
Especie animal: Infección ([a]):

Región ([a1])	Categoría de manada ([b])	Número total de manadas ([c])	Número total de animales	Número total de manadas incluidas en el programa	Número total de animales incluidos en el programa	Número de manadas que está previsto controlar ([d])	Número de manadas ([e]) previsiblemente positivas ([a])			Número de manadas que se prevé diezmar ([a])		Número total de animales que se prevé sacrificar o eliminar ([a])		Cantidad de huevos que se prevé destruir (número o kg) ([a])		Cantidad de huevos que se prevé canalizar a ovoproductos (número o kg) ([a])	
							(a1)	(a2)	(a3)	(a4)	(a3)	(a4)	(a3)	(a4)	(a3)	(a4)	(a3)
Total																	

([a]) Para la salmonelosis zoonótica indique los serotipos cubiertos por los programas de control: a1) para *Salmonella enteritidis,* a2) para *Salmonella typhimurium,* a3) para otros serotipos —especificar—, a4) para *Salmonella enteritidis* o *Salmonella typhimurium*.
([a1]) Región definida en el programa de erradicación aprobado por el Estado miembro.
([b]) Por ejemplo, manadas reproductoras (de cría, adultas), de producción, de gallinas ponedoras, pavos reproductores, pavos de abasto, cerdos reproductores, cerdos de abasto, etc. Manadas o rebaños, según proceda.
([c]) Número total de manadas existentes en la región, incluidos tanto los cubiertos por el programa como los no cubiertos.
([d]) Practicar un control hace referencia a realizar una prueba de detección en la manada de salmonela en el marco del programa. En esta columna, un rebaño no debe contarse dos veces aunque haya sido sometido a controles más de una vez.
([e]) Si se ha controlado una manada más de una vez, de conformidad con la nota d), una muestra positiva deberá tenerse en cuenta una sola vez.

([1]) Especifique, en su caso, los tipos de manada (reproductora, ponedora, de cría).

7.2. *Objetivos de la vacunación (un cuadro por cada año de aplicación)*

7.2.1. Objetivos de la vacunación ([1])

Especie animal ([a]):

Región ([b])	Número de rebaños ([c]) incluidos en el programa de vacunación	Número total de animales incluidos en el programa de vacunación	Objetivos del programa de vacunación			
			Número de rebaños ([c]) incluidos en el programa de vacunación	Número de rebaños ([c]) que se prevé vacunar	Número de animales que se prevé vacunar	Número de dosis de vacuna que se prevé administrar
Total						

([a]) Especie, en caso necesario.
([b]) Región definida en el programa de erradicación aprobado por el Estado miembro.
([c]) Rebaños, manadas o explotaciones, según corresponda.

([1]) Si procede.

8. **Análisis detallado del coste del programa** (un cuadro por año de aplicación)

Costes relativos a	Especificación	Número de unidades	Coste unitario (en EUR)	Importe total en EUR	Subvención comunitaria solicitada (sí/no)
1. **Realización de pruebas**					
1.1. Coste de los análisis	Prueba: Número de pruebas bacteriológicas (cultivo) que se prevé realizar en el muestreo oficial				
	Prueba: Número de serotipado de las cepas pertinentes que se prevé realizar				
1.2. Coste del muestreo					
1.3. Otros costes					
2. **Vacunación o tratamiento de los productos animales**					
2.1. Compra de la vacuna o del tratamiento de los productos animales					
	Número de dosis de vacuna que se prevé comprar si la política de vacunación forma parte del programa según lo establecido explícitamente en el punto 4 del anexo II				
2.2. Gastos de distribución					
2.3. Gastos administrativos					
2.4. Gastos de control					
3. **Sacrificio y eliminación**					
3.1. Indemnización por animales perdidos					
3.2. Gastos de transporte					
3.3. Costes de destrucción de los animales					

Costes relativos a	Especificación	Número de unidades	Coste unitario (en EUR)	Importe total en EUR	Subvención comunitaria solicitada (sí/no)
3.4. Pérdidas en caso de sacrificio					
3.5. Gastos por tratamiento de los productos animales (leche, huevos para incubar, etc.)					
4. **Limpieza y desinfección**					
5. **Salarios (personal contratado exclusivamente para el programa)**					
6. **Bienes fungibles y equipamiento específico**					
7. **Otros costes**					
			Total		

ANEXO III

Requisitos normalizados de presentación de los programas nacionales de erradicación y vigilancia de las EET [1] mencionados en el artículo 1, letra c)

1. **Identificación del programa**

Estado miembro:

Enfermedades [2]:

Año de ejecución:

Referencia del presente documento:

Persona de contacto (nombre y apellidos, teléfono, fax, correo electrónico):

Fecha de envío a la Comisión:

2. **Descripción del programa**

3. **Descripción de la situación epidemiológica de la enfermedad**

4. **Medidas contempladas en el programa**

4.1. *Designación de la autoridad central responsable de la vigilancia y coordinación de los departamentos encargados de ejecutar el programa:*

4.2. *Descripción y delimitación de las zonas geográficas y administrativas en las que vaya a aplicarse el programa:*

4.3. *Sistema en vigor para el registro de explotaciones pecuarias:*

4.4. *Sistema en vigor para la identificación de animales:*

4.5. *Medidas en vigor para la notificación de la enfermedad:*

4.6. *Seguimiento*

4.6.1. Seguimiento de bovinos

	Número estimado de pruebas
Animales a que se hace referencia en el anexo III, capítulo A, parte I, puntos 2.1, 3 y 4, del Reglamento (CE) nº 999/2001 del Parlamento Europeo y del Consejo [1]	
Animales a que se hace referencia en el anexo III, capítulo A, parte I, punto 2.2, del Reglamento (CE) nº 999/2001	
Otros (especifíquense)	

[1] DO L 147 de 31.5.2001, p. 1.

[1] Encefalopatía espongiforme bovina (EEB), tembladera y defecación crónica.

[2] Debe utilizarse un documento por enfermedad salvo que todas las medidas del programa que se apliquen a la población destinataria tengan por objeto el control y la erradicación de distintas enfermedades.

4.6.2. Seguimiento de ovinos

	Número estimado de pruebas
Ovinos a los que se hace referencia en el anexo III, capítulo A, parte II, punto 2, del Reglamento (CE) nº 999/2001	
Ovinos a los que se hace referencia en el anexo III, capítulo A, parte II, punto 3, del Reglamento (CE) nº 999/2001	
Ovinos a los que se hace referencia en el anexo III, capítulo A, parte II, punto 5, del Reglamento (CE) nº 999/2001	
Ovinos a los que se hace referencia en el anexo VII, capítulo A, punto 3.4, letra d), del Reglamento (CE) nº 999/2001	
Ovinos a los que se hace referencia en el anexo VII, capítulo A, punto 5, letra b), inciso ii), del Reglamento (CE) nº 999/2001	
Otros [especifique otras especies animales mencionadas en el anexo III, capítulo A, parte III del Reglamento (CE) nº 999/2001]	

4.6.3. Seguimiento de caprinos

	Número estimado de pruebas
Caprinos a los que se hace referencia en el anexo III, capítulo A, parte II, punto 2, del Reglamento (CE) nº 999/2001	
Caprinos a los que se hace referencia en el anexo III, capítulo A, parte II, punto 3, del Reglamento (CE) nº 999/2001	
Caprinos a los que se hace referencia en el anexo III, capítulo A, parte II, punto 5, del Reglamento (CE) nº 999/2001	
Caprinos a los que se hace referencia en el anexo VII, capítulo A, punto 3.3, letra c), del Reglamento (CE) nº 999/2001	
Caprinos a los que se hace referencia en el anexo VII, capítulo A, punto 5, letra b), inciso ii), del Reglamento (CE) nº 999/2001	
Otros (especifíquense)	

4.6.4. Pruebas diferenciadoras

	Número estimado de pruebas
Pruebas moleculares primarias a las que se hace referencia en el anexo X, capítulo C, punto 3.2, letra c), inciso i), del Reglamento (CE) nº 999/2001	

4.6.5. Genotipado de animales positivos y otros elegidos al azar

	Número estimado de pruebas
Animales a los que se hace referencia en el anexo III, capítulo A, parte II, punto 8.1, del Reglamento (CE) nº 999/2001	
Animales a los que se hace referencia en el anexo III, capítulo A, parte II, punto 8.2, del Reglamento (CE) nº 999/2001	

4.7. ***Erradicación***

4.7.1. *Medidas tras la confirmación de un caso de EEB:*

4.7.1.1. Descripción:

4.7.1.2. Cuadro de síntesis

	Número estimado
Animales que deben ser sacrificados de conformidad con lo dispuesto en el anexo VII, capítulo A, punto 2.1, del Reglamento (CE) nº 999/2001	

4.7.2. *Medidas tras la confirmación de un caso de tembladera:*

4.7.2.1. Descripción:

4.7.2.2. Cuadro de síntesis

	Número estimado
Animales que deben ser sacrificados de conformidad con lo dispuesto en el anexo VII, capítulo A, punto 2.3, del Reglamento (CE) nº 999/2001	
Animales que deben ser sacrificados de conformidad con lo dispuesto en el anexo VII, capítulo A, punto 2.3, del Reglamento (CE) nº 999/2001	

4.7.3. *Programa de cría para la resistencia a las EET en ovinos*

4.7.3.1. Descripción general [1]:

4.7.3.2. Cuadro de síntesis

	Número estimado
Ovejas que han de genotiparse en el marco de un programa de cría mencionado en el artículo 6 *bis* del Reglamento (CE) nº 999/2001	
Carneros que han de genotiparse en el marco de un programa de cría mencionado en el artículo 6 *bis* del Reglamento (CE) nº 999/2001	

[1] Descripción del programa según los requisitos mínimos establecidos en el anexo VII, capítulo B, del Reglamento (CE) nº 999/2001.

5. **Costes**

5.1. *Desglose pormenorizado de los costes*

5.2. *Síntesis de los costes*

Costes relativos a	Especificación	Número de unidades	Coste unitario (en EUR)	Importe total (en EUR)	Subvención comunitaria solicitada (sí/no)
1. **Pruebas de EEB** (1)					
1.1. Pruebas de diagnóstico rápido	Prueba:				
	Prueba:				
	Prueba:				
	Prueba:				
2. **Pruebas de tembladera** (2)					
2.1. Pruebas de diagnóstico rápido	Prueba:				
	Prueba:				
	Prueba:				
3. **Pruebas diferenciadoras** (3)					
3.1. Pruebas moleculares primarias	Prueba:				
	Prueba:				
4. **Genotipado**					
4.1. Determinación del genotipo de animales en el marco de las medidas de seguimiento y erradicación establecidas en el Reglamento (CE) nº 999/2001 (4)	Procedimiento				
4.2. Determinación del genotipo de animales en el marco de un programa de cría (5)	Procedimiento				
5. **Sacrificio obligatorio**					
5.1. Animales que deben ser sacrificados de conformidad con lo dispuesto en el anexo VII, capítulo A, punto 2.1, del Reglamento (CE) nº 999/2001					
5.2. Animales que deben ser sacrificados de conformidad con lo dispuesto en el anexo VII, capítulo A, punto 2.3, del Reglamento (CE) nº 999/2001					
			TOTAL		

(1) Conforme a lo mencionado en el punto 4.6.1.
(2) Conforme a lo mencionado en los puntos 4.6.2. y 4.6.3.
(3) Conforme a lo mencionado en el punto 4.6.4.
(4) Conforme a lo mencionado en los puntos 4.6.5 y 4.7.2.2.
(5) Conforme a lo mencionado en el punto 4.7.3.2.

ANEXO IV

Requisitos normalizados de presentación de los programas nacionales de vigilancia de la gripe aviar de aves de corral y aves silvestres mencionados en el artículo 1, letra d)

1. **Identificación del programa**

Estado miembro:

Enfermedad:

Año de ejecución:

Referencia del presente documento:

Persona de contacto (nombre y apellidos, teléfono, fax, correo electrónico):

Fecha de envío a la Comisión:

2. **Descripción del programa de vigilancia de las aves de corral**

2.1. *Objetivos, requisitos y criterios generales*

2.2. *Planificación y ejecución*

Cuadro 2.2.1

Explotaciones de aves de corral ([a]) (excepto patos y gansos) objeto de muestreo

Examen serológico, conforme al anexo I, sección B, de la Decisión 2007/268/CE de la Comisión ([1]) , de explotaciones de pollos de carne (solo en caso de riesgo), pavos de engorde, pollos reproductores, pavos reproductores, gallinas ponedoras, gallinas ponedoras en régimen extensivo, rátidas, aves de caza de cría (faisanes, perdices, codornices, etc.), aves criadas para el consumo propio, otros [táchese lo que no proceda]

UTILÍCESE UN FORMULARIO PARA CADA CATEGORÍA DE AVES DE CORRAL

Código NUTS (2) ([b])	Nº total de explotaciones ([c])	Número total de explotaciones objeto de muestreo	Número de muestras por explotación	Número total de pruebas que deben realizarse por método	Métodos de análisis de laboratorio
Total					

([a]) Explotación, manada o establecimiento, según proceda.
([b]) Se refiere al lugar de la explotación de origen. Si no puede usarse el código NUTS 2 (nomenclatura de unidades territoriales estadísticas), hay que dar las coordenadas (longitud y latitud).
([c]) Número total de explotaciones de una categoría de aves de corral en la región NUTS 2 correspondiente.

Cuadro 2.2.2

Explotaciones de patos y gansos objeto de muestreo ([a]) de conformidad con el anexo I, sección C, de la Decisión 2007/268/CE

Investigación serológica

Código NUTS (2) ([b])	Nº total de explotaciones de patos y gansos	Nº total de explotaciones de patos y gansos objeto de muestreo	Número de muestras por explotación	Número total de pruebas que deben realizarse por método	Métodos de análisis de laboratorio
Total					

([a]) Explotación, manada o establecimiento, según proceda.
([b]) Se refiere al lugar de la explotación de origen. Si no puede usarse el código NUTS 2 (nomenclatura de unidades territoriales estadísticas), hay que dar las coordenadas (longitud y latitud).

([1]) DO L 115 de 3.5.2007, p. 3.

2.3. *Pruebas de laboratorio: descripción de las pruebas de laboratorio utilizadas*

3. **Descripción del programa de vigilancia de las aves silvestres**

3.1. *Objetivos, requisitos y criterios generales*

3.2. *Planificación y ejecución*

Cuadro 3.2.1

Aves silvestres — estudio de conformidad con el programa de vigilancia de la gripe aviar en aves silvestres establecido en el anexo II de la Decisión 2007/268/CE

Código NUTS 2 o región [a]	Aves silvestres objeto de muestreo [b]	Número total de aves objeto de muestreo	Número total de muestras que se prevé tomar a efectos de una vigilancia activa	Número total de muestras que se prevé tomar a efectos de una vigilancia pasiva
Total				

[a] Se refiere al lugar de recogida de aves o de muestras. Si no puede usarse el código NUTS 2, hay que indicar la región, tal como la define en el programa el Estado miembro.
[b] Descripción general de las aves silvestres objeto de muestreo en el marco de la vigilancia activa y pasiva.

3.3. *Pruebas de laboratorio: descripción de las pruebas de laboratorio utilizadas*

4. **Descripción de la situación epidemiológica de la enfermedad en las aves de corral en los últimos cinco años**

4.1. *Medidas que figuran en el programa para la vigilancia de aves de corral*

4.1.1. Designación de la autoridad central responsable de la vigilancia y coordinación de los departamentos encargados de ejecutar el programa

4.1.2. Sistema vigente para el registro de las explotaciones

4.1.3. Datos de la vacunación realizada

5. **Descripción de la situación epidemiológica de la enfermedad en las aves silvestres en los últimos cinco años**

5.1. *Medidas que figuran en el programa para la vigilancia de aves silvestres*

5.1.1. Designación de la autoridad central responsable de la vigilancia y coordinación de los departamentos encargados de ejecutar el programa

5.1.2. Descripción y delimitación de las zonas geográficas y administrativas en las que esté previsto aplicar el programa

5.1.3. Cálculo de la población de aves silvestres local y migratoria

6. **Medidas vigentes para la notificación de la enfermedad**

7. **Costes**

7.1. *Desglose pormenorizado de los costes:*

7.1.1. Aves de corral

7.1.2. Aves silvestres

7.2. *Síntesis de los costes*

7.2.1. Vigilancia de las aves de corral

Medidas de vigilancia de las aves de corral que pueden ser cofinanciadas			
Métodos de análisis de laboratorio	Número de pruebas que deben realizarse por método	Costes unitarios por prueba (en cada método)	Coste total
Cribado serológico previo ([1])			
Prueba de inhibición de la hemaglutinación de H5 y H7 ([2])			
Prueba de aislamiento del virus			
Reacción en cadena de la polimerasa			
Otras medidas previstas	**Especifíquense las actuaciones concretas**		
Muestreo			
Otros			
Total			

([1]) Especifíquense las pruebas de laboratorio que van a utilizarse.
([2]) Especifíquese el número de pruebas para cada subtipo de virus.

7.2.2. Vigilancia de aves silvestres

Medidas de vigilancia de las aves silvestres que pueden ser cofinanciadas			
Métodos de análisis de laboratorio	Número de pruebas que deben realizarse por método	Costes unitarios por prueba (en cada método)	Coste total
Cribado serológico previo			
Prueba de inhibición de la hemaglutinación de H5 y H7			
Prueba de aislamiento del virus			
Reacción en cadena de la polimerasa			
Otras medidas previstas	**Especifíquense las actuaciones concretas**		
Muestreo			
Otros			
Total			

ANEXO V

Requisitos normalizados de presentación de los programas nacionales de erradicación de determinadas enfermedades de los animales de acuicultura mencionados en el artículo 1, letra e)

	Requisitos o información necesaria	Información o explicación y justificación
1.	**Identificación del programa**	
1.1.	Estado miembro que presenta la declaración	
1.2.	Autoridad competente (dirección, fax, correo electrónico)	
1.3.	Referencia del presente documento	
1.4.	Fecha de envío a la Comisión	
2.	**Tipo de comunicación**	
2.1.	□ Solicitud para el programa de erradicación	
3.	**Legislación nacional** ([1])	
4.	**Solicitud de cofinanciación**	
4.1.	Indicar los años para los que se solicita cofinanciación	
4.2.	Acuerdo de la autoridad de gestión del programa operativo ([2]) (firma y sello)	
5.	**Enfermedades**	
5.1.	De los peces	□ VHS □ IHN □ SVC □ ISA □ KHV
5.2.	De los moluscos	□ *Marteilia refringens* □ *Bonamia ostrae*
5.3.	De los crustáceos	□ Enfermedad de la mancha blanca
6.	**Información general sobre los programas**	
6.1.	Autoridad competente ([3])	
6.2.	Organización, vigilancia y papel de todos los interesados implicados en el programa ([4])	
6.3.	Resumen de la estructura de la industria de la acuicultura en la zona, que especifique los tipos de producción, las especies, etc.	
6.4.	¿Desde cuándo es obligatoria la notificación a la autoridad competente de la sospecha y la confirmación de las enfermedades en cuestión?	
6.5.	¿Desde cuándo funciona en los Estados miembros un sistema de detección precoz que permita a la autoridad competente la investigación y la notificación efectivas de la enfermedad? ([5])	
6.6.	Fuente de animales de acuicultura de especies sensibles a la enfermedad en cuestión en el Estado miembro, la zona o las secciones de cría	
6.7.	Directrices relativas a las buenas prácticas de higiene ([6])	
6.8.	Situación epidemiológica de la enfermedad durante, como mínimo, los cuatro años previos al comienzo del programa ([7])	

Requisitos o información necesaria		Información o explicación y justificación
6.9.	Cálculo de los costes del programa y ventajas que esperan obtenerse de él ([8])	
6.10.	Descripción del programa presentado ([9]):	
6.11.	Duración del programa	
7.	**Área cubierta** ([10])	
7.1.	□ Estado miembro	
7.2.	□ Zona (toda la cuenca hidrográfica) ([11])	
7.3.	□ Zona (parte de la cuenca hidrográfica) ([12]) Identifique y describa la barrera artificial o natural que delimita la zona y justifique su capacidad de prevenir la migración ascendente de animales acuáticos de las partes inferiores de la cuenca hidrográfica.	
7.4.	□ Zona (más de una cuenca hidrográfica) ([13])	
7.5.	□ Compartimento independiente de la situación sanitaria circundante ([14])	
	Identifique y describa el suministro de agua de cada explotación ([15])	□ Pozo, perforación o manantial □ Depuradora que inactive el patógeno en cuestión ([16])
	Identifique y describa, para cada explotación, las barreras naturales o artificiales y justifique su capacidad de impedir que los animales acuáticos entren en compartimentos de cada explotación desde los arroyos circundantes.	
	Identifique y describa, para cada explotación, la protección contra inundaciones e infiltraciones de las aguas circundantes.	
7.6.	□ Compartimento dependiente de la situación sanitaria circundante ([17])	
	□ Una unidad epidemiológica por la localización geográfica y la distancia a otras explotaciones o zonas de cría ([18])	
	□ Todas las explotaciones que forman el compartimento pertenecen a un sistema común de bioseguridad ([19])	
	□ Otros requisitos adicionales ([20])	
7.7.	Explotaciones o zonas de cría de moluscos cubiertas por el programa (números de registro y situación geográfica)	
8.	**Medidas del programa presentado**	
8.1.	Resumen de las medidas del programa	
	Primer año □ Pruebas de detección □ Cría para el consumo humano o transformación posterior □ Inmediata □ Retardada □ Extracción y eliminación □ Inmediata □ Retardada □ Vacunación □ Otras medidas (especifíquense):	Último año □ Pruebas de detección □ Cría para el consumo humano o transformación posterior □ Inmediata □ Retardada □ Extracción y eliminación □ Inmediata □ Retardada □ Otras medidas (especifíquense):

Requisitos o información necesaria		Información o explicación y justificación
8.2.	Descripción de las medidas del programa ([21])	
	Población o especie destinataria	
	Pruebas y sistemas de muestreo utilizados. Laboratorios implicados en el programa ([22])	
	Normas de desplazamientos de animales	
	Vacunas utilizadas y pautas de vacunación	
	Medidas en caso de resultado positivo ([23]):	
	Sistema de indemnización a los propietarios	
	Control y vigilancia de la ejecución del programa y notificación	

([1]) Legislación nacional en vigor aplicable a la solicitud del programa de erradicación.
([2]) De conformidad con el artículo 12 del Reglamento (CE) nº 498/2007 de la Comisión, de 26 de marzo de 2007, por el que se establecen las disposiciones de aplicación del Reglamento (CE) nº 1198/2006 del Consejo relativo al Fondo Europeo de Pesca (DO L 120 de 10.5.2007, p. 1).
([3]) Describir la estructura, las competencias, los deberes y los poderes de las autoridades competentes implicadas.
([4]) Describir las autoridades responsables de la vigilancia y coordinación del programa y los diversos operadores implicados.
([5]) En particular, estos sistemas de detección precoz permitirán reconocer rápidamente los signos clínicos de sospecha de una enfermedad, clásica o emergente, o una mortalidad inexplicada en explotaciones o zonas de cría de moluscos, así como de animales silvestres, junto con su rápida notificación a la autoridad competente, para que comience los estudios diagnósticos lo antes posible. El sistema de detección precoz tendrá, como mínimo, los siguientes elementos: a) buena sensibilización del personal de la explotación de acuicultura o implicado en el tratamiento de estos animales, frente a cualquier signo compatible con una enfermedad, y formación de veterinarios o especialistas en sanidad de los animales acuáticos formados para reconocer y notificar la aparición de una enfermedad sospechosa; b) veterinarios o especialistas en sanidad de los animales acuáticos formados para reconocer y notificar la aparición de una enfermedad sospechosa; c) el acceso por parte de la autoridad competente a laboratorios que cuenten con equipos que permitan diagnosticar y diferenciar las enfermedades enumeradas y las emergentes.
([6]) Descríbase de conformidad con el artículo 9 de la Directiva 2006/88/CE del Consejo, de 24 de octubre de 2006, relativa a los requisitos zoosanitarios de los animales y de los productos de la acuicultura, y a la prevención y el control de determinadas enfermedades de los animales acuáticos (DO L 328 de 24.11.2006, p. 14).
([7]) Presentar la información utilizando el cuadro del anexo V, parte 10, de la presente Decisión.
([8]) Descripción de los beneficios para los explotadores y para la sociedad en su conjunto.
([9]) Descripción sucinta del programa con sus objetivos y medidas principales, la población destinataria, las zonas de aplicación y la definición de un caso positivo.
([10]) Se identificará y describirá claramente en un mapa, que debe adjuntarse a la aplicación.
([11]) La totalidad de una cuenca hidrográfica, desde su fuente hasta su estuario.
([12]) Una parte de una cuenca hidrográfica desde su fuente hasta una barrera artificial que impida que los animales acuáticos suban desde tramos inferiores de la cuenca.
([13]) Más de una cuenca hidrográfica, incluidos sus estuarios, debido a la relación epidemiológica entre las cuencas hidrográficas a través del estuario.
([14]) Compartimentos con una o más explotaciones o zonas de cría de moluscos, en los cuales la situación sanitaria relativa a una enfermedad específica es independiente de la de las aguas naturales circundantes.
([15]) Un compartimento independiente de la situación sanitaria de las aguas circundantes debe recibir el agua:
a) a través de una depuradora que inactive el patógeno en cuestión, para reducir el riesgo de introducción de la enfermedad hasta un nivel aceptable, o
b) directamente de un pozo, una perforación o un manantial. En caso de que dicho suministro de agua esté situado fuera de las instalaciones de la explotación, el agua deberá suministrarse directamente a la explotación y canalizarse a través de una tubería.
([16]) Dar información técnica que demuestre la inactivación del patógeno en cuestión para reducir el riesgo de introducción de la enfermedad hasta un nivel aceptable.
([17]) Compartimentos con una o más explotaciones o zonas de cría de moluscos, en los cuales la situación sanitaria relativa a una enfermedad específica depende de la de las aguas naturales circundantes.
([18]) Describa la localización geográfica y la distancia a otras explotaciones o zonas de cría que permiten considerar el compartimento como una unidad epidemiológica.
([19]) Describa el sistema común de bioseguridad.
([20]) Toda explotación o zona de cría de moluscos en un compartimento dependiente de la situación sanitaria de las aguas circundantes estará sujeta a medidas adicionales impuestas por la autoridad competente, cuando se consideren necesarias para prevenir la introducción de enfermedades. Dichas medidas podrán incluir la creación de una zona de seguridad en torno al compartimento en la que se aplique un programa de seguimiento, así como el establecimiento de una protección adicional contra posibles portadores o vectores patógenos.
([21]) Descripción completa, a menos que pueda hacerse referencia a la legislación comunitaria. Se mencionará la legislación nacional por la que se establecen las medidas.
([22]) Describa los métodos diagnósticos y los sistemas de muestreo. Cuando las normas aplicadas sean las de la OIE o de la UE, haga referencia a ellas. Si no, descríbalas. Indique los laboratorios que participan en el programa (laboratorio nacional de referencia o laboratorios designados).
([23]) Describir las medidas referentes a los animales positivos (recogida inmediata o diferida para el consumo humano, retirada o eliminación inmediata o diferida, medidas para evitar la propagación del patógeno durante la recogida, transformación posterior, retirada o eliminación, procedimiento de desinfección de las explotaciones o zonas de cría de moluscos infectadas, procedimiento para repoblar con animales sanos las explotaciones o zonas diezmadas y creación de la zona de vigilancia en torno a la explotación o zona infectada, etc.).

10. **Datos de la situación epidemiológica y la evolución de la enfermedad en los últimos cuatro años (un cuadro por cada año de aplicación)**

10.1. *Datos sobre los animales sometidos a prueba*

Estado miembro, zona o compartimento ([a]):

Enfermedad: Año:

Explotación o zona de cría de moluscos	Número de muestreos	Número de inspecciones clínicas	Temperatura del agua en el muestreo o la inspección	Especies en el muestreo	Especies muestreadas	Número de animales muestreados (total y por especies)	Número de pruebas	Resultados positivos de los análisis	Resultados positivos de las inspecciones clínicas
					Total				

([a]) Estado miembro, zona o compartimento según lo definido en el anexo V, punto 7.

10.2. *Datos sobre las pruebas en explotaciones o zonas de cría*

Enfermedad: Año:

Estado miembro, zona o compartimento [a]	Número total de explotaciones o zonas de cría de moluscos [b]	Número total de explotaciones o zonas de cría de moluscos en el programa	Número de explotaciones o zonas de cría de molusco sometidas a prueba [c]	Número de explotaciones o zonas de cría de moluscos positivas [d]	Número de nuevas explotaciones o zonas de cría de moluscos positivas [e]	Número de explotaciones o zonas de cría de moluscos diezmadas	Porcentaje de explotaciones o zonas de cría de moluscos positivas diezmadas	Animales retirados y eliminados [f]	Indicadores de objetivos		
									Porcentaje de cobertura de explotaciones o zonas de cría de moluscos	Porcentaje de explotaciones o zonas de cría de moluscos positivas Prevalencia de explotaciones o zonas de cría de moluscos durante el período	Porcentaje de nuevas explotaciones o zonas de cría de moluscos positivas Incidencia de explotaciones o zonas de cría de moluscos
1	2	3	4	5	6	7	8 =	9	10 =	11 = (5/4)×100	12 = (6/4)×100
Total											

[a] Estado miembro, zona o compartimento según lo definido en el anexo V, punto 7.
[b] Número total de explotaciones o zonas de cría de moluscos que existen en el Estado miembro, zona o compartimento según lo definido en el anexo V, punto 7.
[c] Se entiende someter a prueba una explotación o una zona de cría de moluscos conforme al programa de cada enfermedad para mejorar su situación sanitaria. En esta columna no debe contabilizarse dos veces una explotación o zona de cría de moluscos aunque se someta a prueba más de una vez.
[d] Explotaciones o zonas de cría de moluscos que tuvieron, como mínimo, un animal positivo durante el período, independientemente del número de veces en que se sometieron a prueba.
[e] Explotaciones o zonas de cría de moluscos cuya situación sanitaria en el período previo fue, de conformidad con el anexo III, parte A, de la Directiva 2006/88/CE, de categoría I, II, III o IV y que tuvieron, como mínimo, un animal positivo durante este período.
En el caso de los programas presentados antes del 1 de agosto de 2008, explotaciones o zonas de cría de moluscos que no dieron positivo a la enfermedad en cuestión durante el período previo y que tuvieron, como mínimo, un animal positivo durante este período.
[f] Número de animales × 1 000, o peso total de los animales retirados y eliminados.

11. **Objetivos (un cuadro por cada año de aplicación)**

11.1. *Objetivos relativos a los animales sometidos a pruebas*

Estado miembro, zona o compartimento ([a]):

Enfermedad: Año:

Explotación o zona de cría de moluscos	Número de muestreos	Número de inspecciones clínicas	Temperatura del agua en el muestreo o inspección	Especies en el muestreo	Especies muestreadas	Número de animales muestreados (total y por especies)	Número de pruebas
					Total		

([a]) Estado miembro, zona o compartimento según lo definido en el anexo V, punto 7.

11.2. *Objetivos relativos a las pruebas en explotaciones o zonas de cría*

Enfermedad: Año:

Estado miembro, zona o compartimento [a]	Número total de explotaciones o zonas de cría de moluscos [b]	Número total de explotaciones o zonas de cría de moluscos en el programa	Número de explotaciones o zonas de cría de moluscos que se prevé someter a prueba [c]	Número de explotaciones o zonas de cría de moluscos que se prevé serán positivas [d]	Número previsto de nuevas explotaciones o zonas de cría de moluscos positivas [e]	Número de explotaciones o zonas de cría de moluscos que se prevé diezmar	Porcentaje de explotaciones o zonas de cría de moluscos positivas que se prevé diezmar	Indicadores de objetivos		
								Porcentaje previsto de cobertura de explotaciones o zonas de cría de moluscos	Porcentaje de explotaciones o zonas de cría de moluscos positivas Prevalencia prevista de explotaciones o zonas de cría de moluscos durante el período	Porcentaje de nuevas explotaciones o zonas de cría de moluscos positivas Incidencia prevista de explotaciones o zonas de cría de moluscos
1	2	3	4	5	6	7	8 = (7/5)×100	9 = (4/3)×100	10 = (5/4)×100	11 = (6/4)×100
Total										

[a] Estado miembro, zona o compartimento según lo definido en el anexo V, punto 7.
[b] Número total de explotaciones o zonas de cría de moluscos que existen en el Estado miembro, zona o compartimento según lo definido en el anexo V, punto 7.
[c] Se entiende someter a prueba una explotación o una zona de cría de moluscos conforme al programa de cada enfermedad para mejorar su situación sanitaria. En esta columna no debe contabilizarse dos veces una explotación o zona de cría de moluscos aunque se someta a prueba más de una vez.
[d] Explotaciones o zonas de cría de moluscos que tuvieron, como mínimo, un animal positivo durante el período, independientemente del número de veces en que se sometieron a prueba.
[e] Explotaciones o zonas de cría de moluscos cuya situación sanitaria en el período previo fue, de conformidad con el anexo III, parte A, de la Directiva 2006/88/CE, de categoría I, II, III o IV y que tuvieron, como mínimo, un animal positivo durante este período.

12. **Análisis detallado del coste del programa (un cuadro por año de aplicación)**

Costes relativos a	Especificación	Número de unidades	Coste unitario (en EUR)	Importe total en EUR	Subvención comunitaria [1] solicitada (sí/no)
1. **Realización de pruebas**					
1.1. Coste de los análisis	Prueba:				
	Prueba:				
	Prueba:				
1.2. Coste del muestreo					
1.3. Otros costes					
2. **Vacunación o tratamiento**					
2.1. Adquisición de vacunas/tratamientos					
2.2. Gastos de distribución					
2.3. Gastos administrativos					
2.4. Gastos de control					
3. **Recogida y eliminación de los animales de acuicultura**					
3.1. Indemnización por animales perdidos					
3.2. Gastos de transporte					
3.3. Costes de eliminación					
3.4. Pérdidas en caso de recogida					
3.5 Costes del tratamiento de los productos					
4. **Limpieza y desinfección**					

Costes relativos a	Especificación	Número de unidades	Coste unitario (en EUR)	Importe total en EUR	Subvención comunitaria ([1]) solicitada (sí/no)
5. **Salarios (personal contratado exclusivamente para el programa)**					
6. **Bienes fungibles y equipamiento específico**					
7. **Otros costes**					
			Total		

([1]) Con referencia a fondos veterinarios o al Fondo Europeo de Pesca [Reglamento (CE) nº 1198/2006].

EN

Consolidated TEXT

produced by the CONSLEG system

of the Office for Official Publications of the European Communities

CONSLEG: 1964L0432 — 01/05/2004

Number of pages: 54

Office for Official Publications of the European Communities

This document is meant purely as a documentation tool and the institutions do not assume any liability for its contents

►B

COUNCIL DIRECTIVE
of 26 June 1964
on animal health problems affecting intra-Community trade in bovine animals and swine

(64/432/EEC)

(OJ P 121, 29.7.1964, p. 1977)

Amended by:

	Official Journal		
	No	page	date
►M1 Council Directive 66/600/EEC of 25 October 1966	P 192	3294	27.10.1966
►M2 Council Directive 70/360/EEC of 13 July 1970	L 157	40	18.7.1970
►M3 Council Directive 71/285/EEC of 19 July 1971	L 179	1	9.8.1971
►M4 Council Directive 72/97/EEC of 7 February 1972	L 38	95	12.2.1972
►M5 Council Directive 72/445/EEC of 28 December 1972	L 298	49	31.12.1972
►M6 Council Directive 72/462/EEC of 12 December 1972	L 302	28	31.12.1972
►M7 Council Directive 73/150/EEC of 5 June 1973	L 172	18	28.6.1973
►M8 Council Directive 74/387/EEC of 15 July 1974	L 202	36	24.7.1974
►M9 Council Directive 75/379/EEC of 24 June 1975	L 172	17	3.7.1975
►M10 Council Directive 77/98/EEC of 21 December 1976	L 26	81	31.1.1977
►M11 Council Directive 79/109/EEC of 24 January 1979	L 29	20	3.2.1979
►M12 Council Directive 79/111/EEC of 24 January 1979	L 29	26	3.2.1979
►M13 Council Directive 80/219/EEC of 22 January 1980	L 47	25	21.2.1980
►M14 Council Directive 80/1098/EEC of 11 November 1980	L 325	11	1.12.1980
►M15 Council Directive 80/1102/EEC of 11 November 1980	L 325	18	1.12.1980
►M16 amended by Council Directive 85/571/EEC of 19 December 1985	L 372	12	31.12.1985
►M17 Council Directive 80/1274/EEC of 22 December 1980	L 375	75	31.12.1980
►M18 Council Directive 81/476/EEC of 24 June 1981	L 186	20	8.7.1981
►M19 Council Directive 82/61/EEC of 26 January 1982	L 29	13	6.2.1982
►M20 Council Directive 82/893/EEC of 21 December 1982	L 378	57	31.12.1982
►M21 Council Directive 83/646/EEC of 13 December 1983	L 360	44	23.12.1983
►M22 Council Directive 84/336/EEC of 19 June 1984	L 177	22	4.7.1984
►M23 Council Directive 84/643/EEC of 11 December 1984	L 339	27	27.12.1984
►M24 Council Directive 84/644/EEC of 11 December 1984	L 339	30	27.12.1984
►M25 Council Directive 85/320/EEC of 12 June 1985	L 168	36	28.6.1985
►M26 Council Regulation (EEC) No 3768/85 of 20 December 1985	L 362	8	31.12.1985
►M27 Council Directive 85/586/EEC of 20 December 1985	L 372	44	31.12.1985
►M28 Council Decision 87/231/EEC of 7 April 1987	L 99	18	11.4.1987
►M29 Council Directive 87/489/EEC of 22 September 1987	L 280	28	3.10.1987

►**M30**	Council Directive 88/406/EEC of 14 June 1988	L 194	1	22.7.1988
►**M31**	Council Directive 89/360/EEC of 30 May 1989	L 153	29	6.6.1989
►**M32**	Council Directive 89/662/EEC of 11 December 1989	L 395	13	30.12.1989
►**M33**	Council Directive 90/422/EEC of 26 June 1990	L 224	9	18.8.1990
►**M34**	Council Directive 90/423/EEC of 26 June 1990	L 224	13	18.8.1990
►**M35**	Council Directive 90/425/EEC of 26 June 1990	L 224	29	18.8.1990
►**M36**	Council Directive 91/499/EEC of 26 June 1991	L 268	107	24.9.1991
►**M37**	Council Directive 91/687/EEC of 11 December 1991	L 377	16	31.12.1991
►**M38**	Council Directive 92/65/EEC of 13 July 1992	L 268	54	14.9.1992
►**M39**	Council Directive 92/102/EEC of 27 November 1992	L 355	32	5.12.1992
►**M40**	Council Directive 94/42/EC of 27 July 1994	L 201	26	4.8.1994
►**M41**	Council Directive 95/25/EC of 22 June 1995	L 243	16	11.10.1995
►**M42**	Council Directive 97/12/EC of 17 March 1997	L 109	1	25.4.1997
►**M43**	amended by Council Directive 98/99/EC of 14 December 1998	L 358	107	31.12.1998
►**M44**	Council Directive 98/46/EC of 24 June 1998	L 198	22	15.7.1998
►**M45**	Directive 2000/15/EC of the European Parliament and the Council of 10 April 2000	L 105	34	3.5.2000
►**M46**	Directive 2000/20/EC of the European Parliament and of the Council of 16 May 2000	L 163	35	4.7.2000
►**M47**	Commission Decision 2001/298/EC of 30 March 2001	L 102	63	12.4.2001
►**M48**	Commission Regulation (EC) No 535/2002 of 21 March 2002	L 80	22	23.3.2002
►**M49**	Commission Regulation (EC) No 1226/2002 of 8 July 2002	L 179	13	9.7.2002

Amended by:

►**A1**	Act of Accession of Denmark, Ireland and the United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland	L 73	14	27.3.1972
	(adapted by Council Decision of 1 January 1973)	L 2	1	1.1.1973
►**A2**	Act of Accession of Greece	L 291	17	19.11.1979
►**A3**	Act of Accession of Austria, Sweden and Finland	C 241	21	29.8.1994
	(adapted by Council Decision 95/1/EC, Euratom, ECSC)	L 1	1	1.1.1995
►**A4**	Act concerning the conditions of accession of the Czech Republic, the Republic of Estonia, the Republic of Cyprus, the Republic of Latvia, the Republic of Lithuania, the Republic of Hungary, the Republic of Malta, the Republic of Poland, the Republic of Slovenia and the Slovak Republic and the adjustments to the Treaties on which the European Union is founded	L 236	33	23.9.2003

Corrected by:

►**C1** Corrigendum, OJ L 120, 13.5.1975, p. 13 (64/432/EEC)

►**C2** Consolidated text of corrigenda to instruments published in Special Editions 1952-72, p. 10 (64/432/EEC)

►**C3** Consolidated text of corrigenda to instruments published in Special Editions 1952-72, p. 20 (66/600/EEC)

►**C4** Corrigendum, OJ L 120, 13.5.1975, p. 15 (71/285/EEC)

►**C5** Consolidated text of corrigenda to instruments published in Special Editions 1952-72, p. 90 (71/285/EEC)

►**C6** Corrigendum, OJ L 64, 10.3.1977, p. 28 (77/98/EEC)

►**C7** Corrigendum, OJ L 49, 24.2.1981, p. 16 (80/1098/EEC)

►**C8** Corrigendum, OJ L 329, 17.11.1981, p. 22 (80/1102/EEC)

►**C9** Corrigendum, OJ L 192, 2.7.1982, p. 23 (82/61/EEC)

►**C10** Corrigendum, OJ L 133, 22.5.1985, p. 32 (84/643/EEC)

►**C11** Corrigendum, OJ L 42, 13.2.1985, p. 20 (84/644/EEC)

▼B

COUNCIL DIRECTIVE

of 26 June 1964

on animal health problems affecting intra-Community trade in bovine animals and swine

(64/432/EEC)

THE COUNCIL OF THE EUROPEAN ECONOMIC COMMUNITY,

Having regard to the Treaty establishing the European Economic Community, and in particular Articles 43 and 100 thereof;

Having regard to the proposal from the Commission;

Having regard to the Opinion of the European Parliament ([1]);

Having regard to the Opinion of the Economic and Social Committee ([2]);

Whereas Council Regulation No 20 on the progressive establishment of a common organisation of the market in pigmeat ([3]) is already in force and a similar regulation is to be adopted for beef and veal and whereas these regulations also concern trade in live animals;

Whereas Regulation No 20 substitutes for the numerous traditional means of protection at the frontier a single system designed in particular to facilitate intra-Community trade; whereas the regulation to be adopted for beef and veal is also designed to eliminate obstacles to such trade;

Whereas, so long as intra-Community trade in bovine animals and swine is hindered by differences between the health requirements of Member States, the implementation of the above-mentioned regulations will not have the desired effect;

Whereas, to eliminate those differences, measures must be taken within the framework of the common agricultural policy and in line with regulations already adopted or in preparation on the progressive establishment of a common organisation of markets; whereas the animal health provisions of Member States must therefore be approximated;

Whereas the right of Member States under Article 36 of the Treaty to continue to apply prohibitions or restrictions on imports, exports or goods in transit justified on grounds of the protection of health and life of humans and animals nevertheless does not exempt them from the obligation to approximate the provisions on which those prohibitions and restrictions are based, in so far as the differences between those provisions hinder the implementation and functioning of the common agricultural policy;

Whereas, in the context of such approximation, the exporting country must be required to ensure that bovine animals and swine for breeding, production or slaughter intended for intra-Community trade, the places from which those animals come and are shipped and the means of transport used satisfy certain animal health requirements so as to ensure that the animals are not a source of contagious or infectious disease;

Whereas, so that Member States may be sure that these requirements are satisfied, provision must be made for the issue by an official veterinarian of a health certificate which will accompany the animals to their destination;

Whereas Member States must have the right to prohibit the introduction into their territory of bovine animals and swine if they are found to be suffering or are suspected of suffering from a contagious or infectious disease, if they may spread such disease without actually

([1]) OJ No 61, 19.4.1963, p. 1254/63.
([2]) OJ No 121, 29.7.1964, p. 2009/64.
([3]) OJ No 30, 20.4.1962, p. 945/62.

▼B

suffering from it or if they do not comply with Community animal health provisions;

Whereas there is no reason to allow Member States to prohibit the introduction of bovine animals and swine into their territory for reasons other than those of animal health and whereas, therefore, the consignor should at his own request or upon request of his representative be allowed to return the animals to the country of export unless there are reasons to the contrary;

Whereas, in case of prohibition or restriction, the reasons therefor should be made known to the consignor of the animals or his representative and to the competent central authority of the country of export so that they be aware of the reasons why such measures were imposed;

Whereas in the event of dispute between himself and the authority of the Member State of destination as to the justification for prohibition or restriction, the consignor should be enabled to obtain the opinion of a veterinary expert whom he may select from a panel drawn up by the Commission;

Whereas in some cases and for certain categories of animals it appears that the general provisions of this Directive may be relaxed without involving any health risk, by allowing consignee Member States to grant general or special derogations;

Whereas, in certain fields presenting special problems, the provisions in Member States cannot be approximated until a more thorough study has been made;

Whereas a simplified amendement procedure may be provided for Annexes B to D since the rules contained in those Annexes are of a technical nature and liable to change; whereas the Commission should therefore be entrusted with making such amendments after consulting the Member States;

HAS ADOPTED THIS DIRECTIVE:

▼M42

Article 1

This Directive shall apply to intra-Community trade in bovine animals and swine with the exception of feral pigs as defined in Article 2 (e) of Directive 80/217/EEC ([1]) without prejudice to the provisions laid down in Directives 80/215/EEC ([2]), 85/511/EEC, 88/407/EEC ([3]), 89/608/EEC ([4]), 90/425/EEC, 90/429/EEC ([5]), 90/667/EEC ([6]), 91/496/EEC, 91/628/EEC ([7]), 92/102/EEC ([8]), 92/119/EEC and Decision 90/424/EEC ([9]).

Article 2

1. The definitions given in Article 2 of Directive 90/425/EEC and Article 2 of Directive 91/628/EEC shall apply.

([1]) OJ No L 47, 21. 2. 1980, p. 11. Directive as last amended by Directive 93/384/EEC (OJ No L 166, 8. 7. 1993, p. 34).
([2]) OJ No L 47, 21. 2. 1980, p. 4. Directive as last amended by Directive 91/687/EEC (OJ No L 377, 31. 12. 1991, p. 16).
([3]) OJ No L 194, 22. 7. 1988, p. 10. Directive as last amended by Directive 93/60/EEC (OJ No L 186, 28. 7. 1993, p. 28).
([4]) OJ No L 351, 2. 12. 1989, p. 34.
([5]) OJ No L 224, 18. 8. 1990, p. 62. Directive as last amended by the 1994 Act of Accession.
([6]) OJ No L 363, 27. 12. 1990, p. 51. Directive as last amended by Directive 92/118/EEC.
([7]) OJ No L 340, 11. 12. 1991, p. 17. Directive as last amended by Directive 95/29/EC (OJ No L 148, 30. 6. 1995, p. 52).
([8]) OJ No L 355, 5. 12. 1992, p. 32. Directive as last amended by the 1994 Act of Accession.
([9]) OJ No L 224, 18. 8. 1990, p. 19. Decision as last amended by Decision 94/370/EC (OJ No L 168, 2. 7. 1994, p. 31).

▼**M42**

2. In addition the following definitions apply for the purposes of this Directive:

(a) *herd* means an animal or group of animals kept on a holding (within the meaning of Article 2 (b) of Directive 92/102/EEC) as an epidemiological unit; if more than one herd is kept on a holding, each of these herds shall form a distinct unit and shall have the same health status;

(b) *animal for slaughter* means a bovine animal (including the species *Bison bison* and *Bubalus bubalus*) or swine intended to be taken to a slaughterhouse or assembly centre from which it may only move to slaughter;

(c) *animals for breeding or production* means bovine animals (including the species *Bison bison* and *Bubalus bubalus*) and swine other than those referred to in (b), including those intended for breeding, milk or meat production, or draft purposes, shows or exhibition with the exception of animals taking part in cultural and sporting events;

(d) *officially tuberculosis-free bovine herd* means a bovine herd which satisfies the conditions laid down in ►**M43** Annex A.I, paragraphs 1 and 2 ◄;

(e) *officially tuberculosis-free Member State* or *region of a Member State* means a Member State or part of a Member State which satisfies the conditions laid down in ►**M43** Annex A.I, paragraphs 4 and 5 ◄;

(f) *officially brucellosis-free bovine herd* means a bovine herd which satisfies the conditions laid down in ►**M43** Annex A.II, paragraphs 1 and 2 ◄;

(g) *officially brucellosis-free region* means a region of a Member State which satisfies the conditions laid down in Annex A.II, paragraphs 7, 8 and 9;

(h) *officially brucellosis-free Member State* means a Member State which satisfies the conditions laid down in ►**M43** Annex A.II, paragraphs 7, 8 and 9 ◄;

(i) *brucellosis-free bovine herd* means a bovine herd which satisfies the conditions laid down in ►**M43** Annex A.II, paragraphs 4 and 5 ◄;

(j) *officially enzootic-bovine-leukosis-free herd* means a herd which satisfies the conditions laid down in Annex D, Chapter I, Sections A and B;

(k) *officially enzootic-bovine-leukosis-free Member State* or *region* means a region or Member State which meets the requirements laid down in ►**M43** Annex D, Chapter I, Sections E and F ◄;

(l) *official veterinarian* means the veterinarian appointed by the competent authority of the Member State;

(m) *approved veterinarian* means any veterinarian approved by the competent authority in accordance with the provisions of Article 14 (3) (B);

(n) *compulsorily notifiable diseases* means the diseases listed in Annex E (I);

(o) *assembly centre* means holdings, collection centres and markets, at which bovine animals or swine originating from different holdings are grouped together to form consignments of animals intended for trade. These assembly centres must be approved for trading purposes and meet the requirements laid down in Article 11;

(p) *region* means that part of a Member State's territory which is at least 2 000 km^2 in area and which is subject to inspection by the competent authorities and includes at least one of the following administrative regions:

— Belgium: province — provincie

— Germany: Regierungsbezirk

— Denmark: amt or island

▼M42

— France:	département
— Italy:	provincia
— Luxemburg	—
— Netherlands:	rrv-kring
— United Kingdom:	England, Wales and Northern Ireland: county Scotland: district or island area
— Ireland:	county
— Greece:	νομός
— Spain:	provincia
— Portugal:	continente: distrito, and other parts of Portugal's territory: região autónoma
— Austria:	Bezirk
— Sweden:	län
— Finland:	lääni/län

▼A4

— Czech Republic:	kraj
— Estonia:	maakond
— Cyprus:	επαρχία (district)
— Latvia:	rajons
— Lithuania:	apskritis
— Hungary:	megye
— Malta:	—
— Poland:	powiat
— Slovenia:	območje
— Slovakia:	kraj;

▼M42

(q) *dealer* means any natural or legal person who buys and sells animals commercially either directly or indirectly, who has a regular turnover of these animals and who within a maximum of 30 days of purchasing animals resells them or relocates them from the first premises to other premises not within his ownership and meets the conditions laid down in Article 13.

Article 3

1. Each Member State shall ensure that only animals that fulfil the relevant conditions laid down in this Directive are sent from its territory to that of another Member State.

2. Bovine animals and swine covered by this Directive must:

(a) be subjected:

— to an identity check, and

— to a clinical inspection within 24 hours of departure by an official veterinarian and show no clinical sign of disease;

(b) not have been obtained from a holding or an area which for health reasons is subject to prohibition or restriction affecting the species involved in accordance with Community and/or national legislation;

(c) be identified as provided for in Directive 92/102/EEC;

(d) not be animals which are to be slaughtered and not be restricted under a contagious or infectious disease eradication programme of a Member State or region;

(e) comply with the provisions of Articles 4 and 5.

▼**M42**

Article 4

1. Bovine animals and swine covered by this Directive must at no time between leaving the holding of origin and arriving at destination come into contact with cloven-hoofed animals other than animals that have the same health status.

2. Bovine animals and swine covered by this Directive must be transported in means of transport meeting the requirements of Directive 91/628/EEC and in addition the requirements of Article 12.

3. Rules for the approval of sites where cleansing and disinfection may be carried out shall be determined in accordance with the procedure set out in Article 17.

Article 5

1. Bovine animals and swine covered by this Directive must be accompanied during transportation to destination by a health ►**M43** certificate conforming to either model 1 or 2 set out in Annex F as appropriate ◄. The certificate shall consist of a single sheet or, where more than one page is required, shall be in such a form that any two or more pages are part of an integrated whole and indivisible and shall contain a serial number. It shall be drawn up on the day of the health inspection, in one of the official languages of the country of destination at least. The certificate shall be valid for 10 days from the date of the health examination.

2. The health inspection for the issuing of the health certificate (including additional guarantees) for a consignment of animals may be carried out in the holding of origin or of an assembly centre. For this purpose the competent authority shall ensure that any health certificate is drawn up by the official veterinarian after inspections, visits and controls as provided by this Directive.

However as regards:

(a) animals coming from approved assembly centres, such certification shall be:

— on the basis of an official document containing the necessary information completed by the official veterinarian for the holding of origin, or

— in the form of the ►**M43** certificate according to either model 1 or 2 in Annex F as appropriate ◄ with Sections A and B duly completed and certified by the official veterinarian for the holding of origin;

(b) animals coming from an approved holding which is participating in the surveillance network provided for in Article 14, such certification shall be:

— on the basis of an official document containing the necessary information completed by the approved veterinarian for the holding of origin, or

— in the form of the ►**M43** certificate according to either model 1 or 2 in Annex F as appropriate ◄ with Sections A and B duly completed and certified by the approved veterinarian for the holding of origin.

For this purpose, the official veterinarian will ensure where appropriate that the additional guarantees provided for in Community legislation are fulfilled.

3. The official veterinarian for the assembly centre shall carry out all necessary checks on animals arriving there.

4. The official veterinarian completing ►**M43** Section C of the certificate according to either model 1 or 2 in Annex F as appropriate ◄, shall ensure that the movement is registered on the Animo system on the day the certificate is issued.

5. The animals covered by this Directive may transit through an assembly centre which is located in one other Member State before

▼**M42**

being consigned to the Member State of destination. In this case, the ►**M43** certificate according to either model 1 or 2 in Annex F as appropriate ◄ ►**M43** (including Section C) ◄ must be completed by the official veterinarian responsible in the Member State where the animals originate. The official veterinarian responsible for the assembly centre of transit shall provide certification to the Member State of destination by completing a second ►**M43** certificate according to either model 1 or 2 in Annex F as appropriate ◄, endorsing it with the serial number of the original and attaching it to the original certificate or to an officially endorsed copy thereof. In this case the combined validity of the certificates shall not exceed that provided for in paragraph 1.

Article 6

1. Animals for breeding or production must, in addition to the requirements of Articles 3, 4 and 5:

— have remained in a single holding of origin for a period of 30 days prior to loading, or since birth in the holding of origin where the animals are less than 30 days old. The official veterinarian must, on the basis of the official identification provided for in Article 3 (2) (c) and official records, be satisfied that the animals have complied with this condition and furthermore that the animals have originated in the Community or have been imported from a third country in compliance with Community animal health legislation.

  However, in the case of animals transiting through an approved assembly centre in the Member State of origin, the period during which the assembly of these animals takes place outside the holding of origin shall not exceed six days,

— with regard to animals imported from a third country into a Member State which is not that of ultimate destination, be transported to the Member State of destination as quickly as practicable under cover of a certificate issued under Article 7 of Directive 91/496/EEC,

— with regard to animals imported from a third country upon arrival at destination and before any further movements satisfy the requirements of this Directive, and in particular the residency requirement in the first indent, and may not be brought into the herd until the veterinarian responsible for that holding has ascertained that the animals in question are not likely to jeopardize the health status of the holding.

  If an animal from a third country is introduced into a holding no animal from the holding may be traded for 30 days following introduction unless the imported animal is isolated from all other animals on the holding.

2. Bovine animals for breeding and production must, in addition to the requirements in Articles 3, 4 and 5:

(a) come frome an officially tuberculosis-free bovine herd, and in the case of animals more than six weeks old, have reacted negatively to an intradermal tuberculin test carried out during the 30 days prior to leaving the herd of origin, in accordance with the provisions of Annex B point 32 (d).

  This intradermal tuberculin test is not required if the animals originate in a Member State or part of a Member State recognized as officially tuberculosis free or in a Member State or part of a Member State with an approved surveillance network;

(b) in the case of uncastrated animals which come from an officially brucellosis-free bovine herd and more than 12 months old, have shown a brucella count lower that 30 international units (IU) of agglutination per millilitre when given a serum agglutination test (or any test approved by Standing Veterinary Committee (SVC) procedure following the adoption of the relevant protocols) carried out during the 30 days prior the leaving the herd of origin and complying with the provisions of Annex C Section A.

▼M42

This serum agglutination test (or any test approved by SVC procedure following the adoption of the relevant protocols) is not required if the animals originate in a Member State or part of a Member State recognized as officially brucellosis free or in a Member State or part of a Member State with an approved surveillance network;

(c) come from an officially enzootic-bovine-leukosis-free herd and, if more than 12 months old, have reacted negatively to an individual test carried out during the 30 days prior to leaving the herd of origin and complying with the provisions of Annex D.

The test is not required if the animals originate in a Member State or part of a Member State recognized as officially enzootic-bovine-leukosis free or in a Member State or part of a Member State with an approved surveillance network;

(d) at no time between leaving the holding of origin and arriving at destination come into contact with bovine animals which meet only the requirements in paragraph 3;

▼M46

(e) until 31 December 2000, not be subject to the test requirements laid down in (a) or (b) in the case of bovine animals aged less than 30 months intended for meat production which:

— come from a beef holding officially tuberculosis-free and officially brucellosis-free,

— are accompanied by an animal health certificate with paragraph 7 in Section A of Annex F Model 1 duly completed,

— remain under supervision until their slaughter,

— have not come into contact during transport with bovine animals not coming from herds officially free from those diseases,

and provided that:

— these arrangements are restricted to trade between Member States or regions of Member States with the same health status with regard to tuberculosis or brucellosis,

— the Member State of destination takes all necessary measures to avoid any contamination of indigenous herds,

— the Member States put in place a proper system of random sampling, inspections and controls designed to ensure the efficient implementation of these rules,

— the Commission monitors the proper operation of this Directive so as to ensure that Member States comply fully with the rules;

▼M42

3. Bovine animals for slaughter must, in addition to the requirements in Articles 3, 4 and 5, come from herds that are officially tuberculosis free, officially enzootic-bovine-leukosis free and in the case of uncastrated bovines, from herds that are officially brucellosis free.

However, until ►M46 31 December 2000 ◄, the destination countries may grant to Spain general or limited licences to introduce into their territories animals for slaughter from herds which are not officially free of tuberculosis, enzootic bovine leukosis and brucellosis, provided such animals:

— have in the 30 days prior to embarkation undergone the appropriate tests laid down in Annexes B, C and D, with negative results,

— are taken on arrival in the country of destination directly to a slaughterhouse and are slaughtered there as soon as possible but at least within 72 hours of arrival, in accordance with animal health requirements.

▼M42

Article 7

Animals for slaughter which have been taken on arrival in the country of destination:

— to a slaughterhouse, must be slaughtered there as soon as possible but at least within 72 hours of arrival, in accordance with animal health requirements, or

— to an approved assembly centre, must be removed after the market directly to a slaughterhouse to be slaughtered as soon as possible but at the latest within three working days of arrival at the assembly centre, in accordance with animal health requirements. At no time, between their arrival at the assembly centre and their arrival at the slaughterhouse, may they come into contact with cloven-hoofed animals other than animals that fulfil the conditions laid down in this Directive.

Article 8

Member States shall ensure that the suspected presence of any of the diseases referred to in Annex E (I) is compulsorily and immediately notifiable to the competent authority.

Each Member State shall forward to the Commission by 31 May each year, and for the first time in 1999, details of the occurence of diseases listed in Annex E (I) and of any other diseases covered by the additional guarantees provided for by Community legislation in its territory in the previous calendar year including details of the monitoring and eradication programmes in operation. This information shall be based on uniform criteria to be established by the procedure provided for in Article 17. The Commission shall present this information to the Member States in the framework of the SVC and in particular may utilize it in relation to the decisions referred to in Annexes A and D.

Article 9

1. A Member State which has a compulsory national control programme for one of the contagious diseases listed in Annex E (II) for all or part of its territory may submit the said programme to the Commission, outlining in particular:

— the distribution of the disease in the Member State,

— the reasons for the programme, taking into consideration the importance of the disease and the programme's likely benefit in relation to its cost,

— the geographical area in which the programme will be implemented,

— the status categories to be applied to the animal establishments, the standards which must be attained in each category, and the test procedures to be used,

— the programme monitoring procedures, the results of which must be supplied at least annually to the Commission,

— the action to be taken if, for any reason, an establishment loses its status,

— the measures to be taken if the results of the tests carried out in accordance with the provisions of the programme are positive.

2. The Commission shall examine the programmes presented by the Member States. Programmes as referred to in paragraph 1 may be approved in compliance with the criteria laid down in paragraph 1 in accordance with the procedure provided for in Article 17. According to the same procedure, the additional guarantees, general or limited, which may be required in intra-Community trade, shall be defined at the same time or at the latest three months after approval of the programmes. Such guarantees must not exceed those which the Member State implements nationally.

3. Programmes submitted by Member States may be amended or supplemented in accordance with the procedure laid down in Article 17. Amendments or additions to programmes which have already been

▼M42

approved or to guarantees which have been defined in accordance with paragraph 2 may be approved under the same procedure.

Article 10

1. Where a Member State considers that its territory or part of its territory is free from one of the diseases listed in Annex E (II), it shall present to the Commission appropriate supporting documentation, setting out in particular:

— the nature of the disease and the history of its occurrence in its territory,

— the results of surveillance testing based on serological, microbiological, pathological or epidemiological investigation and on the fact that the disease must by law be notified to the competent authorities,

— the period over which the surveillance was carried out,

— where applicable, the period during which vaccination against the disease has been prohibited and the geographical area concerned by the prohibition,

— the arrangements for verifying the absence of the disease.

2. The Commission shall examine documentation submitted by Member States. The additional guarantees, general or specific, which may be required in intra-Community trade may be defined in accordance with the procedure laid down in Article 17. Such guarantees must not exceed those which the Member State implements nationally.

3. The Member State concerned shall notify the Commission of any change in the details specified in paragraph 1 which relate to the disease, in particular regarding any new outbreaks of the disease. The guarantees defined in accordance with paragraph 2 may, in the light of such notification, be amended or withdrawn in accordance with the procedure laid down in Article 17.

Article 11

1. Member States shall ensure that, in order to be approved by the competent authority, assembly centres meet the following conditions at least. They must:

(a) be under the control of an official veterinarian who shall ensure that, in particular, the provisions of Article 4 (1) and (2) are complied with;

(b) be located in an area which is not subject to prohibiiton or restrictions in accordance with relevant Community legislation and/or national legislation;

(c) be cleaned and disinfected before use, as required by the official veterinarian;

(d) they must have, taking into account the animal capacity of the assembly centre:

— a facility dedicated exclusively for this purpose when used as an assembly centre,

— appropriate facilities for loading, unloading and adequate housing of a suitable standard for the animals, for watering and feeding them, and for giving them any necessary treatment; these facilities must be easy to clean and disinfect,

— appropriate inspection facilities,

— appropriate isolation facilities,

— appropriate equipment for cleaning and disinfecting rooms and trucks,

— an appropriate storage area for fodder, litter and manure,

— an appropriate system for collecting waste water,

— the use of an office for the official veterinarian;

(e) admit only animals that are identified and come from herds that are officially free of tuberculosis, brucellosis and leukosis or slaughter animals meeting the conditions set out in the present Directive and

▼M42

in particular Article 6 (3). To this end, when animals are admitted the owner or person in charge of the centre shall ensure they are properly identified and accompanied by health documents or appropriate certificates for the species and categories involved;

(f) be regularly inspected in order to ascertain that the requirements for approval continue to be fulfilled.

2. The owner or person in charge of the assembly centre shall be required, on the basis either of the accompanying documents for the animals or of the identification numbers or marks of the animals, to record on a register or a data base and retain for a minimum period of three years the following information:

— the name of the owner, the origin, date of entry and exit, number and identification of the bovine animals or the registration number of the holding of origin or of the herd of origin of the pigs entering the centre and their proposed destination,

— the registration number of the transporter and the licence number of the lorry delivering or collecting animals from the centre.

3. The competent authority shall issue an approval number to each approved assembly centre. Such approval may be limited to a particular species or to animals for breeding and production or to animals for slaughter. The competent authority shall notify the Commission of the list of approved assembly centres and of any updates. The Commission shall present this information to Member States in the framework of the SVC.

4. The competent authority may suspend or withdraw approval in the event of failure to comply with this Article or other appropriate provisions of this Directive or other directives in respect of health restrictions. Approval may be restored when the competent authority is satisfied that that assembly centre is in full compliance with all the appropriate provisions of this Directive.

5. The competent authority shall ensure that when operating assembly centres have sufficient approved veterinarians to carry out all duties.

6. Any detailed rules required for uniform application of this Article shall be adopted in accordance with the procedure provided for in Article 17.

Article 12

1. Member States shall ensure that the transporters referred to in Article 5 of Directive 91/628/EEC meet the following additional conditions:

(a) for the carriage of animals they must use means of transport that are:

— constructed in such a way that the animal faeces, litter or feed cannot leak or fall out of the vehicle,

— cleaned and disinfected immediately after every animal transport operation or that of any product which could affect animal health and if necessary before any new loading of animals, using disinfectants officially authorized by the competent authority;

(b) they must either have appropriate cleaning and disinfection facilities approved by the competent authority, including facilities for storing litter and dung, or they must provide documentary evidence that these operations are perfomed by a third party approved by the competent authority.

2. The transporter must ensure that for each vehicle used for the transport of animals a register is kept containing the following informa-

▼M42

tion at least which shall be retained for a minimum period of three years:

(i) places and dates of pick-up, and the name or business name and address of the holding or assembly centre where the animals are picked up;

(ii) places and dates of delivery, and the name or business name and address of the consignee(s);

(iii) species and number of animals carried;

(iv) date and place of disinfection;

(v) details of accompanying documentation (serial number, etc.).

3. Transporters shall ensure that the consignment of animals do not at any time, between leaving the holdings or the assembly centre of origin and arriving at their destination, come into contact with animals of a lower health status.

4. Member States shall ensure that transporters give a written undertaking stating in particular that:

— all the measures necessary to comply with this Directive shall be taken and in particular the provisions laid down in this Article and relating to the appropriate documentation that must accompany the animals,

— the transport of animals is entrusted to staff who possess the necessary ability, professional competence and knowledge.

5. In the event of failure to comply with the provisions of this Article the requirements of Article 18 of Directive 91/628/EEC shall apply *mutatis mutandis* relating to animal health.

Article 13

1. Member States shall ensure that all dealers are registered, approved and issued with an approval number by the competent authority and that they comply with the following conditions at least:

(a) they must deal only in animals that are identified and come from herds that are officially free of tuberculosis, brucellosis and leukosis or slaughter animals meeting the conditions set out in this Directive and in particular Article 6 (3). To this end, the dealer shall ensure that the animals are properly identified and are accompanied by health documents as appropriate for the species involved.

However, the competent authority may authorize the marketing of identified animals which do not fulfil the conditions laid down in the first paragraph, in so far as they are brought direct to a slaughterhouse in the Member State of origin without passing through their facilities, for slaughter as soon as possible in order to prevent the spreading of diseases. The necessary provisions should be taken to ensure that such animals, when they reach the abattoir, cannot come into contact with other animals and that they are slaughtered apart from other animals;

(b) the dealer shall be required, either on the basis of the document accompanying the animals, or on the basis of identification numbers or marks on the animals, to keep a record or data base and to store the following data for at least three years:

— the name of the owner, origin, date of purchase, categories, number and identification of bovine animals or registration number of the holding of origin or of the herd of origin of pigs purchased,

— the registration number of the transporter and/or the licence number of the lorry delivering and collecting animals,

— the name and address of the purchaser and the destination of the animals,

— copies of route plans and/or serial number of health certificates as applicable;

▼M42

(c) when the dealer keeps animals on his premises he shall ensure that:

— specific training is given to the staff in charge of the animals in applying the requirements of this Directive and in the care and welfare of the animals,

— controls and tests if necessary on the animals are carried out regularly by the official veterinarian and that all necessary steps are taken to prevent the spread of disease.

2. Member States shall ensure that all premises used by a dealer in connection with his business are registered and issued with an approval number by the competent authority and that they comply with the following conditions at least:

(a) they must be under the control of an official veterinarian;

(b) they must be located in an area which is not subject to prohibition or restrictions in accordance with the relevant Community legislation or national legislation;

(c) they must have:

— appropriate facilities of sufficient capacity and in particular inspection facilities and isolation facilities so that all animals can be isolated in the event of an outbreak of a contagious disease,

— appropriate facilities for unloading and where necessary adequate housing of a suitable standard for the animals, for watering and feeding them, and for giving them any necessary treatment; these facilities must be easy to clean and disinfect,

— an appropriate reception area for litter and manure,

— an appropriate system for collecting waste water;

(d) be cleaned and disinfected before use, as required by the official veterinarian.

3. The competent authority may suspend or withdraw approval in the event of failure to comply with this Article or other appropriate provisions of this Directive or other directives in respect of health restrictions. Approval may be restored when the competent authority is satisfied that the dealer is in full compliance with all the appropriate provisions of this Directive.

4. The competent authority must carry out regular inspections in order to ascertain that the requirements of this Article are fulfilled.

Article 14

1. The competent authority in a Member State may introduce a system of surveillance networks.

The surveillance network system must comprise at least the following elements:

— the herds,

— the owner or any other natural or legal person responsible for the holding,

— the approved veterinarian or the official veterinarian responsible for the holding,

— the official veterinary service of the Member State,

— the official veterinary diagnostic laboratories or any other laboratory approved by the competent authority,

— a computer database.

Official veterinarians for the slaughtering establishments and approved assembly centres will be associated with the network system.

2. The main objectives of the surveillance network system are to make the official classification of holdings, to maintain such classification by regular inspection, to collect epidemiological data and to carry out disease monitoring so as to ensure compliance with all the provisions of this Directive and other directives in respect of health restrictions.

▼M42

This surveillance network system shall be mandatory on all holdings in the territory of the Member State operating such a system. However, the competent authority may authorize the establishment of such a network on part of the territory made up of one or several adjacent regions as defined in Article 2 (2) (p). Where this derogation is accorded, animal movements to that part of the territory from other regions which are not part of the network system shall be subject to the provisions of this Directive.

The competent authority shall lay down the obligations and rights incumbent upon the approved veterinarians, the persons responsible for the holdings or their owners and any other participants in the system including the persons responsible for issuing health certificates.

3. The competent authority shall ensure that the obligations referred to in paragraph 2 at least include the following:

A. Every owner of or person responsible for a holding must:

(i) secure, by contract or legal instrument, the services of a veterinarian approved by the competent authority;

(ii) immediately call in the approved veterinarian for the holding when he suspects the occurrence of an infectious disease or of any notifiable disease;

(iii) notify the approved veterinarian of all arrivals of animals on his holding;

(iv) isolate the animals before introducing them into his holding to enable the approved veterinarian to check, where appropriate by means of the required tests, whether the holding's status may be maintained.

B. The approved veterinarians as provided for by Article 2 (2) (m) shall be under the control of the competent authority and must comply with the following requirements.

They must:

(i) meet the conditions for pursuing the veterinary profession;

(ii) have no financial interest or family links with the owner of or person responsible for the holding;

(iii) possess particular knowledge in the field of animal health as it applies to animals of the species concerned. This means that they must:

— regularly update their knowledge, especially as regards the relevant health regulations,

— meet the requirements laid down by the competent authority to ensure the proper functioning of the network,

— provide the owner of or person responsible for the holding with information and assistance in order that all steps are taken to ensure that the holding's status is maintained, particularly on the basis of programmes agreed with the competent authority,

— ensure compliance with the requirements concerning:

(i) the identification and health certification of the animals of the herd, the animals introduced and those traded;

(ii) compulsory reporting of infectious animal diseases and any other risk factor for animal health or welfare, and for human health;

(iii) establishing as far as possible the cause of death of animals and where they are to be consigned;

(iv) the hygiene conditions of the herd and of the livestock production units.

If the proper functioning of the system so requires, each Member State may limit the veterinarians' responsibility to a specific number of holdings or to a specific geographical area.

The competent authority shall draw up lists of approved veterinarians and of the approved holdings participating in

▼M42

the network. If the competent authority finds that a participant in the network no longer fulfils the conditions set out above, it shall suspend or withdraw approval, without prejudice to any penalties that may be applied.

C. The computer database must contain at least the following information:

(1) For each animal:

— identification code,

— date of birth,

— sex,

— breed or colour of coat,

— identification code of the mother or, in the case of an animal imported from a third country, the identification number given following inspection under Directive 92/102/EEC and corresponding to the identification number of origin,

— identification number of the holding where born,

— identification numbers of all holdings where the animal has been kept and the dates of each change of holding,

— date of death or slaughter.

(2) For each holding:

— an identification number consisting of not more than 12 figures (apart from the country code),

— name and address of the holder.

(3) The database must be able to supply the following particulars at any time:

— the identification number of all animals of the bovine species present on a holding, or in the case of groups of animals of the porcine species, the registration number of the holding of origin or herd of origin and the number of the health certificate where applicable,

— a list of all changes of holding for each animal of the bovine species starting from the holding of birth, or the holding of importation in the case of animals imported from third countries; and for groups of pigs the registration number of the last holding or last herd and for imported animals from third countries the holding of importation.

These particulars will be held on the database until three consecutive years have elapsed since the death of the bovine animal or until three consecutive years have elapsed since the record was made in the case of records for pigs.

▼M45

However, only points 2, 3 and 4 shall be applicable to porcine animals.

(4) In order to ensure the operation of the national computer databases concerning porcine animals, appropriate rules of application, including the information that the national databases must contain, shall be adopted in accordance with the procedure laid down in Article 17.

▼M42

4. All participants in the surveillance network other than those provided for in 3A and B shall be accountable to the competent authority. The competent authority in each Member State shall be responsible for setting up the network and shall carry out regular checks to ensure that it operates properly.

5. Member States which introduce a system of surveillance networks as outlined in paragraphs 1 to 4, operational for a period of at least 12 months, shall apply to the Commission to have it approved under the procedure provided for in Article 17.

For this purpose the Commission shall examine documentation submitted by Member States.

▼M42

The Commission experts shall validate the systems by means of a system of audits. Where the result of the audit is favourable the Commission shall within 90 days of receipt of the request for approval make a report to the SVC together with appropriate proposals.

Where repeated offences are noted, the approval of the surveillance network system can be suspended according to the procedure laid down in Article 17, at the request of the Commission or of one or more Member States.

6. Member States which have implemented in all their territory a recognized surveillance network system as laid down in this Article shall be authorized not to apply the provision referred to in Article 3 (2) (a), second indent to animal movements referred to by this Directive within their own territory.

7. Not later than 31 December 1999, acting on the basis of a report from the Commission, accompanied by proposals on which it shall act by a qualified majority, the Council shall review the provisions of this Article in the light of experience with a view to amending and updating them and, if appropriate, extending them to all Member States.

8. The financing of the surveillance network system will be covered within the framework of the revision of Annex B to Directive 85/73/EEC [1] in accordance with the provisions laid down in Article 8 of Directive 96/43/EC.

Article 15

1. Member States shall take the appropriate specific measures to penalize any infringement of this Directive whether by a natural or a legal person.

2. If it is confirmed that the provisions of this Directive are not or have not been complied with the competent authority of the place in which such a finding is made shall take all appropriate measures to safeguard animal health and to prevent the spread of disease.

Depending on the circumstances, such action by the competent authority may consist of taking the measures required to:

(a) arrange for the journey to be completed or the animals returned to their place of departure by the most direct route, providing this course of action would not further jeopardize the health or welfare of the animals;

(b) arrange for the animals to be held in suitable accommodation with appropriate care in the event of interruption of the journey;

(c) arrange for the slaughter of the animals. The destination and use of such animals after slaughter shall be regulated:

— in accordance with the provisions of Directive 64/433/EEC [2], or

— in accordance with the provisions of Directive 90/667/EEC where the health status of the animals cannot be established or where they are liable to be a risk to animal health or public health. However, where the provisions of Directive 90/667/EEC should apply, a regularization period may be accorded to the owner or his agent before that final possibility is invoked. In that case, the provisions of paragraph 3 of this Article shall apply.

3. The competent authority of the Member State of destination shall immediately notify the competent authority of the Member State of origin on the establishment of any infringement of this Directive.

---

(1) OJ No L 32, 5. 2. 1985, p. 14. Directive as amended by Directive 96/43/EC (OJ No L 162, 1. 7. 1996, p. 1).

(2) OJ No 121, 29. 7. 1964, p. 2012/64. Directive as last amended by Directive 95/23/EC (OJ No L 243, 11. 10. 1995, p. 7).

▼M42

In accordance with the provisions established by Directive 89/608/EEC, Member States shall provide mutual assistance to one another in the application of this Directive in order to ensure, in particular, compliance with the provisions laid down in this Article.

4. This Article shall not affect national rules applicable to penal sanctions.

Article 16

1. Annexes A, D (Chapter I), E and F shall be amended by the Council, acting by a qualified majority on a Commission proposal, in particular with regard to their adaptation to technological and scientific developments.

Annexes B, C and D (Chapter II) shall be amended by the Commission in accordance with the procedures provided for in Article 17.

However,

(a) before 1 July 1997, the Commission shall submit to the Council a proposal for the amendment of Annexes A and D (Chapter I), for the purpose of updating them and if necessary it will apply the same procedure to Annex F. The Council shall decide on these proposals by a qualified majority before 1 January 1998;

(b) before 30 June 1998, the Commission, in accordance with the procedure laid down in Article 17 and on the basis of the opinion of the Scientific Veterinary Committee, shall update and if necessary amend Annexes B, C and D (Chapter II) to adapt them to scientific developments.

2. Not later than 31 December 1999, acting on the basis of a report from the Commission, accompanied by suitable proposals on which it shall act by a qualified majority, the Council shall review the provisions of this Directive in the light of experience with a view to amending and updating them so that they comply with the rules laid down for completion of the internal market.

▼M46

3. Where necessary to facilitate the changeover to the new arrangements provided for in this Directive, the Commission, acting in accordance with the procedure laid down in Article 17a, may adopt transitional measures applicable for a period of not more than two years.

Article 17

1. The Commission shall be assisted by the Standing Veterinary Committee established by Decision 68/361/EEC (hereinafter referred to as the 'Committee').

2. Where reference is made to this paragraph, Articles 5 and 7 of Decision 1999/468/EC shall apply.

The period laid down in Article 5(6) of Decision 1999/468/EC shall be set at three months.

3. The Committee shall adopt its rules of procedure.

Article 17a

1. The Commission shall be assisted by the Standing Veterinary Committee established by Decision 68/361/EEC (hereinafter referred to as the 'Committee').

2. Where reference is made to this paragraph, Articles 5 and 7 of Decision 1999/468/EC shall apply, having regard to the provisions of Article 8 thereof.

The period laid down in Article 5(6) of Decision 1999/468/EC shall be set at three months.

3. The Committee shall adopt its rules of procedure.

▼**M45**

Article 18

Those Member States which have not introduced an approved surveillance network system shall ensure that a computer database complying with the provisions laid down in Article 14 is fully operational as follows:

(a) for bovine animals, from 31 December 1999;

(b) for a register of holdings of porcine animals, complying with the provisions laid down in Article 14(3)(c)(2) from 31 December 2000;

(c) for movements of porcine animals, complying with the provisions laid down in Article 14(3)(c)(3):

— from their holding of birth, by 31 December 2001,

— from all other holdings, by 31 December 2002.

There shall be an entry in the database for each separate movement of porcine animals. The entry shall comprise at least the following: the number of porcine animals being moved, the identification number of the holding or herd of departure, the identification number of the holding or herd of arrival and the departure and arrival dates.

▼**M42**

Article 19

The rules laid down in Directive 90/425/EEC shall apply in particular to checks at origin, to the organization of, and follow-up to, the checks to be carried out by the country of destination, and to the safeguard measures to be implemented.

Article 20

This Directive is addressed to the Member States.

▼M44

ANNEX A

I. Officially tuberculosis-free bovine herd

For the purposes of this section 'bovine animals' means all bovine animals with the exception of animals taking part in cultural or sporting events.

1. A bovine herd is officially tuberculosis-free if:

   (a) all the animals are free from clinical signs of tuberculosis;

   (b) all the bovine animals over six weeks old have reacted negatively to at least two official intradermal tuberculin tests carried out in accordance with Annex B, the first six months after the elimination of any infection from the herd and the second six months later or, where the herd has been assembled solely from animals that originate in officially tuberculosis-free herds, the first test shall be carried out at least 60 days after assembly and the second shall not be required;

   (c) following the completion of the first test referred to in (b), no bovine animal over six weeks old has been introduced into the herd unless it has reacted negatively to an intradermal tuberculin test performed and assessed according to Annex B and carried out either in the 30 days prior to, or the 30 days after the date of its introduction into the herd; in the latter case the animal(s) must be isolated physically from the other animals of the herd in a way to avoid any direct or indirect contact with the other animals until proven negative.

   However, the competent authority may not require this test to be carried out for movements of animals on its own territory if the animal is from an officially tuberculosis-free herd, except in a Member State where, on 1 January 1998 and until the status of officially tuberculosis-free region is obtained, the competent authority required such tests to be carried out for animals moving between herds participating in a network system as referred to in Article 14.

2. A bovine herd will retain officially tuberculosis-free status if:

   (a) the conditions detailed in 1(a) and (c) continue to apply;

   (b) all animals entering the holding come from herds of officially tuberculosis-free status;

   (c) all animals on the holding, with the exception of calves under six weeks old which were born in the holding, are subjected to routine tuberculin testing in accordance with Annex B at yearly intervals.

   However, the competent authority of a Member State may, for the Member State or part of the Member State where all the bovine herds are subject to an official programme to combat tuberculosis, alter the frequency of the routine tests as follows:

   — if the average — determined at 31 December of each year — of the annual percentages of bovine herds confirmed as infected with tuberculosis is not more than 1 % of all herds within the defined area during the two most recent annual supervisory periods, the interval between routine herd tests may be increased to two years and male animals for fattening within an isolated epidemiological unit may be exempted from tuberculin testing provided that they come from officially tuberculosis-free herds and that the competent authority guarantees that the males for fattening will not be used for breeding and will go direct for slaughter,

   — if the average — determined at 31 December of each year — of the annual percentages of bovine herds confirmed as infected with tuberculosis is not more than 0,2 % of all herds within the defined area during the two most recent biennial supervisory periods, the interval between routine tests may be increased to three years and/or the age at which animals have to undergo these tests may be increased to 24 months,

   — if the average — determined at 31 December of each year — of the annual percentages of bovine herds confirmed as infected with tuberculosis is not more than 0,1 % of all herds within the defined area during the two most recent supervisory triennial periods, the interval between routine tests may be increased to four years, or, providing the following conditions are met, the

▼M44

competent authority may dispense with tuberculin testing of the herds:

(1) before the introduction into the herd all the bovine animals are subjected to an intradermal tuberculin test with negative results;

▼M46

or

▼M44

(2) all bovine animals slaughtered are examined for lesions of tuberculosis and any such lesions are submitted to a histopathological and bacteriological examination for evidence of tuberculosis.

The competent authority may also, in respect of the Member State or a part thereof, increase the frequency of tuberculin testing if the level of the disease has increased.

3A. The officially tuberculosis-free status of a herd is to be suspended if:

(a) the conditions detailed in paragraph 2 are no longer fulfilled;

or

(b) one or more animals are deemed to have given a positive reaction to a tuberculin test, or a case of tuberculosis is suspected at post-mortem examination.

When an animal is considered to be a positive reactor it will be removed from the herd and slaughtered. Appropriate post-mortem, laboratory and epidemiological examinations shall be carried out on the positive reactor or the carcase of the suspect animal. The status of the herd will remain suspended until such time as all laboratory examinations have been completed. If the presence of tuberculosis is not confirmed, the suspension of the officially tuberculosis-free status may be lifted following a test of all animals over six weeks of age with negative results at least 42 days after the removal of the reactor animal(s);

or

(c) the herd contains animals of unresolved status as described in Annex B. In this case, the status of the herd is to remain suspended until the animals' status has been clarified. Such animals must be isolated from the other animals of the herd until their status has been clarified, either by a further test after 42 days or by post-mortem and laboratory examination;

(d) however, by way of derogation from the requirements of paragraph (c), in a Member State where the competent authority carries out routine herd testing using the comparative tuberculin test described in Annex B, and in the case of a herd where no confirmed reactor animals have been disclosed for at least three years, the competent authority may decide not to restrict the movement of other animals in the herd, provided that the status of any inconclusive reactors is resolved by a further test after 42 days and that no animals from the holding are allowed to enter into intra-Community trade until the status of any inconclusive reactors has been resolved. If at this further test any animal either gives a positive reaction or continues to give an inconclusive reaction, then the conditions of paragraph (b) apply. If the presence of disease is subsequently confirmed, all animals leaving the holding since the time of the last clear herd test must be traced and tested.

3B. The officially tuberculosis-free status of the herd is to be withdrawn if the presence of tuberculosis is confirmed by the isolation of *M. bovis* on laboratory examination.

The competent authority may withdraw status if:

(a) the conditions detailed in point 2 are no longer fulfilled, or

(b) classical lesions of tuberculosis are seen at post-mortem examination, or

(c) an epidemiological enquiry establishes the likelihood of infection,

(d) or for any other reasons considered necessary for the purpose of controlling bovine tuberculosis.

Tracing and checking is to be undertaken by the competent authority of any herd considered to be epidemiologically related. The officially tuberculosis-free status of a herd is to remain withdrawn until cleansing

▼M44

and disinfection of the premises and utensils has been completed and all animals over six weeks of age have reacted negatively to at least two consecutive tuberculin tests, the first no less than 60 days and the second no less than four months and no more than 12 months after the removal of the last positive reactor.

4. On the basis of information supplied in accordance with Article 8, a Member State or part of a Member State may be declared officially tuberculosis-free according to the procedure laid down in Article 17 if it meets the following conditions:

   (a) the percentage of bovine herds confirmed as infected with tuberculosis has not exceeded 0,1 % per year of all herds for six consecutive years and at least 99,9 % of herds have achieved officially tuberculosis-free status each year for six consecutive years, the calculation of this latter percentage to take place on 31 December each calendar year;

▼M46

   (b) each bovine animal is identified in accordance with Community legislation;

▼M44

   (c) all bovine animals slaughtered are subjected to an official post-mortem examination;

   (d) the procedures for suspension and withdrawal of officially tuberculosis-free status are complied with.

5. The Member State or part of a Member State will retain officially tuberculosis-free status if the conditions 4(a) to (d) continue to be met. However, if there is evidence of a significant change in the situation as regards tuberculosis in a Member State or part of a Member State which has been recognised as officially tuberculosis-free, the Commission may, in accordance with the procedure laid down in Article 17, take a Decision suspending or revoking the status until the requirements of the Decision have been fulfilled.

II. **Officially brucellosis-free and brucellosis-free bovine herds**

For the purposes of this section 'bovine animals' means all bovine animals with the exception of males for fattening provided that they come from officially brucellosis-free herds and that the competent authority guarantees that the males for fattening will not be used for breeding and will go direct for slaughter.

1. A bovine herd is officially brucellosis-free if:

   (a) it contains no bovine animals which have been vaccinated against brucellosis, except females which have been vaccinated at least three years previously;

   (b) all the bovine animals have been free from clinical signs of brucellosis for at least six months;

   (c) all the bovine animals over 12 months old have been subjected to one of the following test regimes with negative results in accordance with Annex C:

      (i) two serological tests specified in paragraph 10 at an interval of more than three months and less than 12 months;

      (ii) three tests on milk samples at three-monthly intervals followed at least six weeks later by a serological test specified in paragraph 10;

   (d) any bovine animal entering the herd comes from a herd of officially brucellosis-free status and, in the case of bovine animals over 12 months old, has shown a brucella titre of less than 30 IU of agglutination per ml when given a serum agglutination test in accordance with Annex C or has reacted negatively to any other test approved in accordance with the procedure at Article 17 during the 30 days prior to or the 30 days after the date of its introduction into the herd: in the latter case, the animal(s) must be isolated physically from the other animals of the herd in such a way as to avoid direct or indirect contact with the other animals until proven negative.

2. A bovine herd will retain officially brucellosis-free status if:

   (a) one of the following test regimes is carried out annually with negative results in accordance with Annex C:

      (i) three milk ring tests carried out at intervals of at least three months;

▼M44

(ii) three milk ELISAs carried out at intervals of at least three months;

(iii) two milk ring tests carried out at an interval of at least three months followed at least six weeks later by a serological test referred to in paragraph 10;

(iv) two milk ELISAs carried out at an interval of at least three months followed at least six weeks later by a serological test referred to in paragraph 10;

(v) two serological tests carried out at an interval of at least three months and not more than 12 months.

However, the competent authority of a Member State may, for the Member State or part of the Member State which is not officially brucellosis-free but where all the bovine herds are subject to an official programme to combat brucellosis, alter the frequency of the routine tests as follows:

— where not more than 1 % of bovine herds are infected, it may be sufficient to carry out each year two milk ring tests or two milk ELISAs at an interval of at least three months, or one serological test,

— where at least 99,8 % of bovine herds have been recognised as officially brucellosis-free for at least four years, the interval between checks may be extended to two years if all animals over 12 months of age are tested, or testing may be restricted to animals over 24 months of age if herds continue to be tested each year. The checks must be carried out using one of the serological tests referred to in paragraph 10;

(b) all bovine animals entering the herd come from herds of officially brucellosis-free status and, in the case of bovine animals over 12 months old, have shown a brucella titre of less than 30 IU of agglutination per ml when given a serum agglutination test in accordance with Annex C or have reacted negatively to any other test approved in accordance with the procedure at Article 17 during the 30 days prior to or the 30 days after the date of their introduction into the herd; in the latter case, the animal(s) must be isolated physically from the other animals of the herd in such a way as to avoid direct or indirect contact with the other animals until proven negative.

However, the test described in point (b) need not be required in Member States, or regions of Member States, where the percentage of bovine herds infected with brucellosis has not exceeded 0,2 % for at least two years and where the animal comes from an officially brucellosis-free bovine herd within that Member State or region and has not during transportation come into contact with bovine animals of lesser status;

(c) notwithstanding point (b), bovine animals from a brucellosis-free bovine herd may be introduced into an officially brucellosis-free herd if they are at least 18 months old and, if vaccinated against brucellosis, the vaccination was carried out more than a year previously.

Such animals must have shown, in the 30 days prior to introduction, a brucella titre lower than 30 IU of agglutination per ml and a negative result when given a complement fixation test, or other test approved under the procedure set out in Article 17.

If, however, a female bovine animal from a brucellosis-free herd is introduced into an officially brucellosis-free herd, under the provisions of the above paragraph, that herd shall be considered to be brucellosis-free for two years from the date on which the last vaccinated animal was introduced.

3A. The officially brucellosis-free status of a herd is to be suspended if:

(a) the conditions detailed in paragraphs 1 and 2 are no longer fulfilled; or

(b) as a result of laboratory tests or on clinical grounds one or more bovine animals is suspected of having brucellosis and the suspect animals have been slaughtered or isolated in a way to avoid any direct or indirect contact with the other animals.

Where the animal has been slaughtered and is no longer available for testing, the suspension may be lifted if two serum agglutination tests, carried out in accordance with Annex C on all bovine animals in the herd over 12 months old, show a titre lower than 30 IU of agglutination per ml. The first test shall be carried out at least 30 days after the removal of the animal and the second at least 60 days later.

▼M44

Where the animal has been isolated from the animals in the herd, it may be reintroduced into the herd and the status of the herd may be restored following:

(a) a serum agglutination test which has shown a titre lower than 30 IU of agglutination per ml and has given a negative result to a complement fixation test, or

(b) a negative result to any other combination of tests approved for that purpose under the procedure set out in Article 17.

3B. The officially brucellosis-free status of the herd is to be withdrawn if, as a result of laboratory tests or epidemiological investigations, brucella infection has been confirmed in the herd.

The status of the herd is not to be restored until either all bovine animals present in the herd at the time of the outbreak have been slaughtered, or the herd has been subject to check testing and all animals over 12 months of age have given negative results to two consecutive tests at 60-day intervals, the first being carried out not less than 30 days after removal of the positive animal(s).

In the case of bovine animals which were pregnant at the time of the outbreak, the final check must be carried out at least 21 days after the last animal pregnant at the time of the outbreak has calved.

4. A bovine herd is brucellosis-free if it complies with the conditions in 1(b) and (c) and when vaccination has been carried out as follows:

(i) female bovine animals have been vaccinated:

— before the age of six months old with live strain 19 vaccine, or

— before the age of 15 months old with killed 45/20 adjuvant vaccine which has been officially inspected and approved, or

— with other vaccines approved under the procedure laid down in Article 17;

(ii) bovine animals under 30 months old which have been vaccinated with live strain 19 vaccine may give a serum agglutination test result greater than 30 IU but less than 80 IU of agglutination per millilitre provided that, on the complement fixation test, they give a result less than 30 EEC units in the case of females vaccinated less than 12 months previously or less than 20 EEC units in all other cases.

5. A bovine herd will retain brucellosis-free status if:

(i) it is subject to one of the testing regimes listed in 2(a);

(ii) bovine animals entering the herd comply with the requirements of 2(b); or

— come from herds of brucellosis-free status, and in the case of bovine animals over 12 months old, have shown, in the 30 days prior to or in isolation after introduction into the herd, less than 30 IU of agglutination per ml when given a serum agglutination test and a negative result to a complement fixation test in accordance with Annex C, or

— come from herds of brucellosis-free status, are under 30 months old and have been vaccinated with live strain 19 vaccine if they give a serum agglutination test result greater than 30 IU but less than 80 IU of agglutination per millilitre provided that, on the complement fixation test, they give a result less than 30 EEC units in the case of females vaccinated less than 12 months previously or less than 20 EEC units in all other cases.

6A. The brucellosis-free status of a herd is to be suspended if:

(a) the conditions detailed in paragraphs 4 and 5 have not been complied with; or

(b) as a result of laboratory tests or on clinical grounds one or more bovine animals over 30 months old is suspected of having brucellosis and the animal(s) under suspicion have been slaughtered, or isolated in a way to avoid any direct or indirect contact with other animals.

Where the animal has been isolated, it may be reintroduced into the herd and the status of the herd may be restored, if it subsequently shows a serum agglutination titre lower than 30 IU of agglutination per ml and has given a negative result to a complement fixation test, or other test approved under the procedure set out in Article 17.

Where the animals have been slaughtered and are no longer available for testing, the suspension may be lifted if two serum agglutination

▼M44

tests, carried out in accordance with Annex C on all bovine animals in the holding over 12 months old, show a titre lower than 30 IU of agglutination per ml. The first test is to be carried out at least 30 days after the removal of the animal and the second at least 60 days later.

If the animals to be tested in the previous two subparagraphs are under 30 months old and have been vaccinated with live strain 19 vaccine they may be considered to be negative if they give a serum agglutination test result greater than 30 IU but less than 80 IU of agglutination per millilitre provided that, on the complement fixation test, they give a result less than 30 EEC units in the case of females vaccinated less than 12 months previously or less than 20 EEC units in all other cases.

6B. The brucellosis-free status of the herd is to be withdrawn if, as a result of laboratory tests of epidemiological investigations, brucella infection has been confirmed in a herd. The status of the herd is not to be restored until either all the bovine animals present in the herd at the time of the outbreak have been slaughtered or the herd has been subject to check testing and all unvaccinated animals over 12 months of age have given negative results to two consecutive tests at 60 day intervals, the first being carried out not less than 30 days after removal of the positive animal(s).

If all the animals to be tested referred to in the preceding paragraph are less than 30 months old and have been vaccinated with live strain 19 vaccine, they may be considered negative if they show a brucella titre of more than 30 IU but less than 80 IU of agglutination per ml, provided that in the complement fixation test they show a titre of less than 30 EEC units in the case of females vaccinated less than 12 months previously or a titre of less than 20 EEC units in all other cases.

In the case of bovine animals which were pregnant at the time of the outbreak, the final check must have been carried out at least 21 days after the last animal pregnant at the time of the outbreak has calved.

7. A Member State or a region of a Member State may be declared officially brucellosis-free according to the procedure laid down in Article 17 if it meets the following conditions:

(a) no case of abortion due to brucella infection and no isolation of *B. abortus* has been recorded for at least three years and at least 99,8 % of herds have achieved officially brucellosis-free status each year for five consecutive years, the calculation of this percentage to take place on 31 December each calendar year. However, where the competent authority adopts a policy of whole herd slaughter, isolated incidents shown by epidemiological enquiry to be due to the introduction of animals from outside the Member State or part of the Member State and herds whose officially brucellosis-free status has been suspended or withdrawn for reasons other than suspicion of disease, is to be disregarded for the purpose of the above calculation provided that the central competent authority of the Member State concerned by these incidents makes an annual record and forwards them to the Commission in accordance with Article 8(2), and

▼M46

(b) each bovine animal is identified in accordance with Community legislation, and

▼M44

(c) notification of cases of abortion is mandatory and they are investigated by the competent authority.

8. Subject to paragraph 9, a Member State or a region of a Member State declared officially brucellosis-free is to retain this status if:

(a) the conditions imposed by paragraph 7(a) and (b) are still fulfilled and notification of cases of abortion suspected of being due to brucellosis is mandatory and are investigated by the competent authority;

(b) every year for the first five years after attaining status, all bovine animals over 24 months of age in not less than 20 % of herds have been tested and have reacted negatively to a serological test carried out in accordance with Annex C or, in the case of dairy herds, by examination of milk samples in accordance with Annex C;

(c) every bovine animal suspected of being infected with brucellosis is notified to the competent authority and undergoes official epidemiological investigation for brucellosis comprising at least two

▼**M44**

serological blood tests, including the complement fixation test, and a microbiological examination of appropriate samples;

(d) during the period of suspicion, which is to continue until negative results have been obtained from the tests provided for in (c), the officially brucellosis-free status of the herd of origin or transit of the suspected bovine animal and of the herds linked epidemiologically to it is to be suspended;

(e) in the event of an outbreak of brucellosis that has spread, all bovine animals have been slaughtered. Animals of the remaining susceptible species will undergo appropriate tests and premises and equipment will be cleaned and disinfected.

9. A Member State or a region of a Member State declared officially brucellosis-free is to report the occurrence of all cases of brucellosis to the Commission. If there is evidence of a significant change in the situation as regards brucellosis in a Member State or part of a Member State which has been recognised as officially brucellosis-free, the Commission may according to the procedure laid down in Article 17 propose that the status be suspended or revoked until the requirements of the Decision have been fulfilled.

10. For the purposes of section II, a serological test means either a serum agglutination test, buffered brucella antigen test, complement fixation test, plasma agglutination test, plasma ring test, micro-agglutination test or individual blood ELISA, as described in Annex C. Any other diagnostic test approved under the procedure laid down in Article 17 and described in Annex C will also be accepted for the purposes of section II. A milk test means a milk ring test or a milk ELISA in accordance with Annex C.

▼M49

ANNEX B

TUBERCULOSIS

1. IDENTIFICATION OF THE AGENT

The presence of *Mycobacterium bovis (M. bovis)*, agent of bovine tuberculosis, in clinical and post-mortem specimens may be demonstrated by examination of stained smears or immunoperoxidase techniques and confirmed by cultivation of the organism on primary isolation medium.

Pathological material for the confirmation of *M. bovis* should be taken from abnormal lymph nodes and parenchymatous organs such as lungs, liver, spleen, etc. In the cases where the animal does not present pathological lesions, samples from the retropharyngeal, bronchial, mediastinal, supramammary, mandibular and some mesenteric lymph nodes and liver should be collected for examination and culture.

Identification of isolates may be usually carried out by determining cultural and biochemical properties. The polymerase chain reaction (PCR) may also be employed for the detection of the *M. tuberculosis* complex. DNA analysis techniques may prove to be faster and more reliable than biochemical methods for the differentiation of *M. bovis* from other members of the *M. tuberculosis* complex. Genetic fingerprinting allows distinguishing between different strains of *M. bovis* and will enable patterns of origin, transmission and spread of *M. bovis* to be described.

The techniques and media used, their standardisation and the interpretation of results must conform to that specified in the OIE Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines, Fourth Edition, 2000, Chapter 2.3.3 (bovine tuberculosis).

2. THE TUBERCULIN SKIN TEST

Tuberculin PPD (Purified Protein Derivatives) that fulfil the standards laid down in paragraph 2.1 shall be used for carrying out official tuberculin skin test following the procedures referred to in paragraph 2.2.

2.1. **Standards for tuberculin (bovine and avian)**

2.1.1. *Definition*

Tuberculin purified protein derivative (tuberculin PPD, bovine or avian) is a preparation obtained from the heat-treated products of growth and lysis of Mycobacterium bovis or Mycobacterium avium (as appropiate) capable of revealing a delayed hypersensitivity in an animal sensitised to microorganisms of the same species.

2.1.2. *Production*

It is obtained from the water-soluble fractions prepared by heating in free-flowing steam and subsequently filtering cultures of M. bovis or M. avium (as appropiate) grown in a liquid synthetic medium. The active fraction of the filtrate, consisting mainly of protein, is isolated by precipitation, washed and re-dissolved. An antimicrobial preservative that does not give rise to false positive reactions, such as phenol, may be added. The final sterile preparation, free from mycobacteria, is distributed aseptically into sterile tamper-proof glass containers which are then closed so as to prevent contamination. The preparation may be freeze-dried.

2.1.3. *Identification of the product*

Inject a range of graded doses intradermally at different sites into suitably sensitised albino guinea-pigs, each weighing not less than 250 g. After 24 h to 28 h, reactions appear in the form of oedematous swellings with erythema with or without necrosis at the points of injection. The size and severity of the reactions vary according to the dose. Unsensitised guinea-pigs show no reactions to similar injections.

▼M49

2.1.4. *Tests*

2.1.4.1. pH: The pH is 6.5 to 7.5.

2.1.4.2. Phenol: If the preparation to be examined contains phenol, its concentration is not more than 5 g/l.

2.1.4.3. Sensitising effect: Use a group of three guinea-pigs that have not been treated with any material which will interfere with the test. On 3 occasions at intervals of five days inject intradermally into each guinea-pig a dose of the preparation to be examined equivalent to 500 IU in 0,1 ml. 15 to 21 days after the third injection inject the same dose (500 IU) intradermally into these animals and into a control group of three guinea-pigs of the same mass and which have not previously received injections of tuberculin. 24 to 28 hours after the last injections, the reactions of the two groups are not significantly different.

2.1.4.4. Toxicity: Use two guinea-pigs, each weighing not less than 250 g and which have not previously been treated with any material which will interfere with the test. Inject subcutaneously into each guinea-pig 0,5 ml of the preparation to be examined. Observe the animals for seven days. No abnormal effects occur during the observation period.

2.1.4.5. Sterility: It complies with the test for sterility prescribed in the monograph on Vaccines for veterinary use 4th Edition 2002 of the European Pharmacopoeia.

2.1.5. *Potency*

The potency of tuberculin purified protein derivative (bovine and avian) is determined by comparing the reactions produced in sensitised guinea-pigs by the intradermal injection of a series of dilutions of the preparation to be examined with those produced by known concentrations of a reference preparation of tuberculin (bovine or avian, as appropiate) purified protein derivative calibrated in International Units.

To test the potency, sensitise not fewer than nine albino guinea-pigs, each weighing 400 g to 600 g, by the deep intramuscular injection of 0,0001 mg of wet mass of living M. bovis of strain AN5 suspended in 0.5 ml of a 9 g/l solution of sodium chloride R for bovine tuberculin, or a suitable dose of inactivated or live M. avium for avian tuberculin. Not less than four weeks after the sensitisation of the guinea-pigs, shave their flanks to provide space for not more than four injection sites on each side. Prepare dilutions of the preparation to be examined and of the reference preparation using isotonic phosphate-buffered saline (pH 6,5-7,5) containing 0,005 g/l of polysorbate 80 R. Use not fewer than three doses of the reference preparation and not fewer than three doses of the preparation to be examined. Choose the doses such that the lesions produced have a diameter of not less than 8 mm and not more than 25 mm. Allocate the dilutions randomly to the sites using a Latin square design. Inject each dose intradermally in a constant volume of 0,1 ml or 0,2 ml. Measure the diameters of the lesions after 24 to 28 hours and calculate the result of the test using the usual statistical methods and assuming that the diameters of the lesions are directly proportional to the logarithm of the concentration of the tuberculins.

The test is not valid unless the fiducial limits of error (P = 0,95) are not less than 50 % and not more then 200 % of the estimated potency. The estimated potency is not less than 66 % and not more than 150 % of the stated potency for bovine tuberculin. The estimated potency is not less than 75 % and not more than 133 % of the stated potency for avian tuberculin. The stated potency is not less than 20 000 IU/ml for both tuberculins (bovine and avian).

2.1.6. *Storage*

Store protected from light, at a temperature of 5 ± 3 ºC.

2.1.7. *Labelling*

The label states:

— the potency in International Units per millilitre,

— the name and quantity of any added substance,

▼M49

— for freeze-dried preparations:

— -the name and volume of the reconstituting liquid to be added,

— -that the product should be used immediately after reconstitution.

2.2. **Test procedures**

2.2.1. The following shall be recognised as official intradermal tuberculin tests:

— the single intradermal test: this test requires a single injection of bovine tuberculin,

— the intradermal comparative test: this test requires one injection of bovine tuberculin and one injection of avian tuberculin given simultaneously.

2.2.2. The dose of tuberculin injected shall be:

— not less than 2 000 IU of bovine tuberculin,

— not less than 2 000 IU of avian tuberculin.

2.2.3. The volume of each injection dose shall not exceed 0,2 ml.

2.2.4. Tuberculin tests shall be carried out by injecting tuberculin(s) into the skin of the neck. The injection sites shall be situated at the border of the anterior and middle thirds of the neck. When both avian and bovine tuberculins are injected in the same animal, the site for injection of avian tuberculins shall be about 10 cm from the crest of the neck and the site for the injection of bovine tuberculin about 12,5 cm lower on a line roughly parallel with the line of the shoulder or on different sides of the neck; in young animals in which there is not room to separate the sites sufficiently on one side of the neck, one injection shall be made on each side of the neck at identical sites in the centre of the middle third of the neck.

2.2.5. The technique of tuberculin testing and interpretation of reactions shall be as follows:

2.2.5.1. Technique:

Injection sites shall be clipped and cleansed. A fold of skin within each clipped area shall be taken between the forefinger and thumb and measured with callipers and recorded. The dose of tuberculin shall then be injected by a method that ensures that the tuberculin is delivered intradermically. A short sterile needle, bevel edge outwards, with graduated syringe charged with tuberculin, inserted obliquely into the deeper layers of the skin may be used. A correct injection shall be confirmed by palpating a small pea-like swelling at each site of injection. The skin-fold thickness of each injection site shall be remeasured 72 hours (± 4 hours) after injection and recorded.

2.2.5.2. Interpretation of reactions

The interpretation of reactions shall be based on clinical observations and the recorded increase(s) in skin-fold thickness at the sites of injection 72 hours after injection of tuberculin(s).

(a) Negative reaction: if only limited swelling is observed, with an increase of not more than 2 mm in the thickness of the fold of skin without clinical signs such as diffuse or extensive oedema, exudation, necrosis, pain or inflammation of the lymphatic ducts in that region or of the lymph nodes.

(b) Inconclusive reaction: if no clinical signs such as mentioned in a) are observed and if the increase in skin-fold thickness is more than 2 mm and less than 4 mm.

(c) Positive reaction: if clinical signs such as mentioned in a) are observed or there is an increase of 4 mm or more in the thickness of the fold of skin at the injection site.

2.2.5.3. The interpretation of official intradermal tuberculin tests shall be as follows:

2.2.5.3.1. Single intradermal test:

(a) positive: a positive bovine reaction as defined in paragraph 2.2.5.2(c);

(b) inconclusive: an inconclusive reaction as defined in paragraph 2.2.5.2(b);

(c) negative: a negative bovine reaction as defined in paragraph 2.2.5.2(a).

▼M49

Animals inconclusive to the single intradermal test shall be subjected to another test after a minimum of 42 days.

Animals which are not negative to this second test shall be deemed to be positive to the test.

Animals positive to the single intradermal test may be subjected to an intradermal comparative test if false positive reaction or interference reaction is suspected.

2.2.5.3.2. Intradermal comparative test for the establishment and maintenance of officially tuberculosis-free herd status:

(a) positive: a positive bovine reaction which is more than 4 mm greater than the avian reaction, or the presence of clinical signs;

(b) inconclusive: a positive or inconclusive bovine reaction which is from 1 to 4 mm greater than the avian reaction, and the absence of clinical signs;

(c) negative: a negative bovine reaction, or a positive or inconclusive bovine reaction but which is equal to or less than a positive or inconclusive avian reaction and the absence of clinical signs in both cases.

Animals inconclusive to the intradermal comparative test shall be subjected to another test after a minimum of 42 days. Animals, which are not negative to this second test, shall be deemed to be positive to the test.

2.2.5.3.3. Officially tuberculosis-free herd status may be suspended and animals from the herd shall not be allowed to enter intra-Community trade until such time as the status of the following animals is resolved:

(a) animals which have been deemed to be inconclusive to the single intradermal tuberculin test;

(b) animals which have been deemed to be positive to the single intradermal tuberculin test but are awaiting retest with an intradermal comparative test;

(c) animals which have been deemed to be inconclusive to the intradermal comparative test.

2.2.5.3.4. Where animals are required by Community legislation to be subjected to an intradermal test prior to movement, the test shall be interpreted so that no animal which shows an increase in skin-fold thickness greater than 2 mm or the presence of clinical signs is entered into intra-Community trade.

2.2.5.3.5. To enable detection of the maximum number of infected and diseased animals in a herd or in a region, Member States may modify the criteria for the interpretation of the test in order to achieve improved test sensitivity considering all inconclusive reactions referred in 2.2.5.3.1(b) and 2.2.5.3.2(b) as positive reactions.

3. SUPPLEMENTARY TESTING

To enable detection of the maximum number of infected and diseased animals in a herd or in a region, Member States may authorise the employ of the gamma-interferon assay referred in the OIE Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines, 4th Edition, 2000, Chapter 2.3.3. (bovine tuberculosis), in addition to the tuberculin test.

4. STATE INSTITUTES AND NATIONAL REFERENCE LABORATORIES

4.1. **Tasks and responsibilities**

The State Institutes and Reference Laboratories included in paragraph 3.2 shall be responsible for the official testing of tuberculins or reagents included in paragraph 2 and 3 in their respective States to ensure each of these tuberculins or reagents are adequate in relation to the standards above referred.

4.2. **List of State institutes and national reference laboratories**

1. Germany:

   Paul-Ehrlich Institut (PEI), Bundesamt für Sera und Impstoffe, D-23207 Langen; Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin — Bereich Jena — D-07743 Jena;

2. Belgium:

▼M49

Institut Scientifique de la Santé Publique — Louis Pasteur, 14 Rue Juliette Wytsman — B 1050 Bruxelles — Belgique;

3. France:

   Laboratoire national des médicaments vétérinaires, Fougères;

4. Grand Duchy of Luxembourg:

   Institute of the supplying country;

5. Italy:

   Istituto superiore di sanità, Rome;

6. Netherlands:

   Centraal Instituut voor Dierziekte Controle Lelystad (CIDC-Lelystad), Lelystad;

7. Denmark:

   Danmarks Veterinærinstitut, Bülowsvej 27, DK-1790 København;

8. Ireland:

   Institute of the supplying country;

9. United Kingdom:

   Veterinary Laboratory Agency, Addlestone, Weybridge;

10. Greece:

    Κέντρο Κτηνιατρικών Ιδρυμάτων, Νεαπόλεως 25, 153 10 Αθήνα;

11. Spain:

    Laboratorio de Sanidad y producción animal de Granada;

12. Portugal:

    Laboratorio Nacional de Investigação Veterinária, Lisbon;

13. Austria:

    Bundesanstalt für veterinärmedizinische Untersuchungen, Mödling;

14. Finland:

    Eläinlääkintä — ja elintarviketutkimus — laitos — Forskningsanstalten för veterinärmedicin och livsmedel, Helsinki;

15. Sweden:

    Statens veterinärmedicinska anstalt, Uppsala;

▼A4

16. Czech Republic: Státní veterinární ústav Praha, Sídlištní 24/136, 165 03 Praha 6; Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv, Hudcova 56 A, 621 00 Brno;

17. Estonia: Ravimiamet, Ravila 19, 504 11 Tartu;

18. Cyprus: Εργαστήριο Αναφοράς για τις Ασθένειες των Ζώων, Κτηνιατρικές Υπηρεσίες 1417 Λευκωσία,(National Reference Laboratory for Animal Health Veterinary Services, CY-1417 Nicosia);

19. Latvia: Valsts veterinārmedicīnas diagnostikas centrs, Lejupes iela 3, LV-1076 Rīga;

20. Lithuania: Nacionalinė veterinarijos laboratorija, J. Kairiūkščio g. 10, LT-2021 Vilnius;

21. Hungary: Állatgyógyászati Oltóanyag-, Gyógyszer- és Takarmányellenőrző Intézet (ÁOGYTI), Pf. 318., Szállás u. 7., H-1475 Budapest;

22. Malta:

    Institute of the supplying country;

23. Poland: Laboratorium Zakładu Mikrobiologii Państwowego Instytutu Weterynaryjnego, Al. Partyzantów 57, PL-24-100 Puławy;

24. Slovenia: Nacionalni veterinarski inštitut, Gerbičeva 60, SI-1000 Ljubljana;

25. Slovakia: Ústav štátnej kontroly veterinárnych biopreparátov a liečiv, Biovetská 34, SK-949 01 Nitra.

▼M48

ANNEX C

BRUCELLOSIS

1. IDENTIFICATION OF THE AGENT

The demonstration by modified acid-fast or immunospecific staining of organisms of *Brucella* morphology in abortion material, vaginal discharges or milk provides presumptive evidence of brucellosis, especially if supported by serological tests.

After isolation, the species and biovar should be identified by phage lysis and/or oxidative metabolism tests, cultural, biochemical and serological criteria.

The techniques and media used, their standardisation and the interpretation of results must conform to that specified in the OIE Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines, Fourth Edition, 2000, Chapter 2.3.1 (bovine brucellosis), Chapter 2.4.2 (caprine and ovine brucellosis) and Chapter 2.6.2 (porcine brucellosis).

2. IMMUNOLOGICAL TESTS

2.1. **Standards**

2.1.1. The *Brucella abortus* biovar 1 Weybridge strain No 99 or USDA strain 1119-3 must be used for the preparation of all antigens used in the rose bengal test (RBT), serum agglutination test (SAT), complement fixation test (CFT) and the milk ring test (MRT).

2.1.2. The standard reference serum for the RBT, SAT, CFT and MRT is the OIE international reference standard serum (OIEISS) formerly named WHO second international anti-*Brucella abortus* Serum (ISAbS).

2.1.3. The standard reference sera for ELISAs are:

— the OIEISS,

— the weak positive OIE ELISA standard serum (OIEELISA$_{WP}$SS),

— the strong positive OIE ELISA standard serum (OIEELISA$_{SP}$SS),

— The negative OIE ELISA standard serum (OIEELISA$_{N}$SS).

2.1.4. The above listed standard sera are available from the Veterinary Laboratories Agency (VLA), Weybridge, United Kingdom.

2.1.5. The OIEISS, the OIEELISA$_{WP}$SS, the OIEELISA$_{SP}$SS and the OIEELISA$_{N}$SS are international primary standards from which secondary reference national standards ('working standards') must be established for each test in each Member State.

2.2. **Enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs) or other binding assays for the detection of bovine brucellosis in serum or milk**

2.2.1. *Material and reagents*

The technique used and the interpretation of results must have been validated in accordance with the principles laid down in Chapter 1.1.3 of the OIE Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines, Fourth Edition, 2000, and should at least include laboratory and diagnostic studies.

2.2.2. *Standardisation of the test*

2.2.2.1. Standardisation of the test procedure for individual serum samples:

(a) a 1/150 pre-dilution ([1]) of the OIEISS or a 1/2 pre-dilution of the OIEELISA$_{WP}$SS or a 1/16 pre-dilution of the OIEELISA$_{SP}$SS made up in a negative serum (or in a negative pool of sera) should give a positive reaction;

(b) a 1/600 pre-dilution of the OIEISS or a 1/8 pre-dilution of the OIEELISA$_{WP}$SS or a 1/64 pre-dilution of the OIEELISA$_{SP}$SS made up in a negative serum (or in a negative pool of sera) should give a negative reaction;

(c) the OIEELISA$_{N}$SS should always give a negative reaction.

([1]) For the purpose of this Annex, dilutions given for making up liquid reagents are expressed as, for example, 1/150 shall mean a 1 in 150 dilution.

▼M48

2.2.2.2. Standardisation of the test procedure for pooled serum samples:

(a) a 1/150 pre-dilution of the OIEISS or a 1/2 pre-dilution of the $OIEELISA_{WP}SS$ or a 1/16 pre-dilution of the $OIEELISA_{SP}SS$ made up in a negative serum (or in a negative pool of sera) and again diluted in negative sera by the number of samples making up the pool should give a positive reaction;

(b) the $OIEELISA_{N}SS$ should always give a negative reaction;

(c) the test must be adequate to detect evidence of infection in a single animal of the group of animals, of which samples of serum have been pooled.

2.2.2.3. Standardisation of the test procedure for pooled milk or whey samples:

(a) a 1/1000 pre-dilution of the OIEISS or a 1/16 pre-dilution of the $OIEELISA_{WP}SS$ or a 1/125 pre-dilution of the $OIEELISA_{SP}SS$ made up in a negative serum (or in a negative pool of sera) and again diluted 1/10 in negative milk should give a positive reaction;

(b) the $OIEELISA_{N}SS$ diluted 1/10 in negative milk should always give a negative reaction;

(c) the test must be adequate to detect evidence of infection in a single animal of the group of animals, of which samples of milk or whey have been pooled.

2.2.3. *Conditions for use of the ELISAs for diagnosis of bovine brucellosis:*

2.2.3.1. Using the abovementioned calibrating conditions for ELISAs on serum samples, the diagnostic sensitivity of ELISA shall be equal or greater than the RBT or CFT taking into account the epidemiological situation under which it is employed.

2.2.3.2. Using the abovementioned calibrating conditions for ELISA on pooled milk samples, the diagnostic sensitivity of ELISA shall be equal or greater than the MRT taking into account not only the epidemiological situation but also the average and expected extreme husbandry systems.

2.2.3.3. Where ELISAs are used for certification purposes in accordance with Article 6(1) or for the establishment and maintenance of a herd status in accordance with Annex A(II)(10), pooling of samples of serum must be carried out in such a way that the test results can be undoubtedly related to the individual animal included in the pool. Any confirmatory test must be carried out on samples of serum taken from individual animals.

2.2.3.4. The ELISAs may be used on a sample of milk taken from the milk collected from a farm with at least 30 % of dairy cows in milk. If this method is used, measures must be taken to ensure that the samples taken for examination can be undoubtedly related to the individual animals from which the milk derived. Any confirmatory test must be carried out on samples of serum taken from individual animals.

2.3. **Complement fixation test (CFT)**

2.3.1. The antigen represents a bacterial suspension in phenol-saline (NaCl 0,85 % (m/v) and phenol at 0,5 % (v/v)) or in a veronal buffer. Antigens may be delivered in the concentrated state provided the dilution factor to be used is indicated on the bottle label. The antigen must be stored at 4 ºC and not frozen.

2.3.2. Serums must be inactivated as follows:

— bovine serum: 56 to 60 ºC for 30 to 50 minutes,

— porcine serum: 60 ºC for 30 to 50 minutes.

2.3.3. In order to carry out the genuine reaction within the test procedure, a complement dose higher than the minimum necessary for total haemolysis should be used.

2.3.4. In carrying out the complement fixation test, the following controls must be made each time:

(a) control of the anti-complementary effect of the serum;

(b) control of the antigen;

(c) control of sensitised red blood cells;

(d) control of the complement;

(e) control using a positive serum of sensitivity at the start of the reaction;

(f) control of the specificity of the reaction using a negative serum.

▼M48

2.3.5. *Calculation of results*

The OIEISS contains 1 000 international CFT units (ICFTU) per ml. If the OIEISS is tested in a given method the result is given as a titre (T_{OIEISS}). The test result for the test serum given as titre ($T_{TESTSERUM}$) must be expressed in ICFTU per ml. In order to convert the expression of a titre into ICFTU, the factor (F) necessary to convert a titre of an unknown test serum ($T_{TESTSERUM}$) tested by that method into the ICFTU expression can be found from the formula:

$$F = 1\,000 \times 1/T_{OIEISS}$$

and the content of international CFT units per ml of test serum ($ICFTU_{TESTSERUM}$) from the formula:

$$ICFTU_{TESTSERUM} = F \times T_{TESTSERUM}$$

2.3.6. *Interpretation of results*

A serum containing 20 or more ICFTU per ml is considered to be positive.

2.4. **Milk ring test (MRT)**

2.4.1. The antigen represents a bacterial suspension in phenol-saline (NaCl 0,85 % (m/v) and phenol at 0,5 % (v/v)) stained with haematoxylin. The antigen must be stored at 4 ºC and not frozen.

2.4.2. The antigen sensitivity must be standardised in relation to the OIEISS in such a way that the antigen produces a positive reaction with a 1/500 dilution of the OIEISS in negative milk, while a 1/1 000 dilution should be negative.

2.4.3. The ring test must be made on samples representing the contents of each milk churn or the content of each bulk tank from the farm.

2.4.4. The milk samples must not have been frozen, heated or subjected to violent shaking.

2.4.5. The reaction must be carried out using one of the following methods:

— on a column of milk of at least 25 mm height and on a volume of milk of 1 ml to which either 0,03 ml or 0,05 ml of one of the standardised stained antigens has been added,

— on a column of milk of at least 25 mm height and on a volume of milk of 2 ml to which 0,05 ml of one of the standardised stained antigens has been added,

— on a volume of milk of 8 ml to which 0,08 ml of one of the standardised stained antigens has been added.

2.4.6 The mixture of milk and antigens must be incubated at 37 ºC for 60 minutes, together with positive and negative working standards. A subsequent 16 to 24 hour incubation at 4 ºC increases the sensitivity of the test.

2.4.7. Interpretation of results:

(a) negative reaction: coloured milk, colourless cream;

(b) positive reaction:

— identically coloured milk and cream, or

— colourless milk and coloured cream.

2.5. **Rose bengal plate Test (RBT)**

2.5.1. The antigen represents a bacterial suspension in buffered *Brucella* antigen diluent at a pH of 3,65 ± 0,05, stained by the use of rose bengal dye. The antigen shall be delivered ready for use and must be stored at 4 ºC and not frozen.

2.5.2. The antigen shall be prepared without reference to the cell concentration, but its sensitivity must be standardised in relation to the OIEISS in such a way that the antigen produces a positive reaction with a serum dilution of 1/45 and a negative reaction with a dilution of 1/55.

2.5.3. The RBT shall be carried out in the following manner:

(a) serum (20-30 µl) is mixed with an equal volume of antigen on a white tile or enamel plate to produce a zone approximately 2 cm in diameter. The mixture is rocked gently for 4 minutes at ambient temperature, and then observed in a good light for agglutination;

▼M48

(b) an automated method may be used but must be at least as sensitive and accurate as the manual method.

2.5.4. *Interpretation of results*

Any visible reaction is considered to be positive, unless there has been excessive drying round the edges.

Positive and negative working standards should be included in each series of tests.

2.6. **Serum agglutination test (SAT)**

2.6.1. The antigen represents a bacterial suspension in phenol-saline (NaCl 0,85 % (m/v) and phenol at 0,5 % (v/v)). Formaldehyde must not be used.

Antigens may be delivered in the concentrated state provided the dilution factor to be used is indicated on the bottle label.

EDTA may be added to the antigen suspension to 5 mM final test dilution to reduce the level of false positives to the serum agglutination test. Subsequently the pH of 7,2 must be readjusted in the antigen suspension.

2.6.2. The OIEISS contains 1 000 international units of agglutination.

2.6.3. The antigen shall be prepared without reference to the cell concentration, but its sensitivity must be standardised in relation to the OIEISS in such a way that the antigen produces either a 50 % agglutination with a final serum dilution of 1/600 to 1/1 000 or a 75 % agglutination with a final serum dilution of 1/500 to 1/750.

It may also be advisable to compare the reactivity of new and previously standardised batches of antigen using a panel of defined sera.

2.6.4. The test is performed either in tubes or in microplates. The mixture of antigen and serum dilutions should be incubated for 16 to 24 hours at 37 ºC.

At least three dilutions must be prepared for each serum. Dilutions of suspect serum must be made in such a way that the reading of the reaction at the positivity limit is made in the median tube (or well for the microplate method).

2.6.5. *Interpretation of results:*

The degree of *Brucella* agglutination in a serum must be expressed in IU per ml.

A serum containing 30 or more IU per ml is considered to be positive.

3. COMPLEMENTORY TESTS

3.1. **Brucellosis skin test (BST)**

3.1.1. *Conditions for the use of BST*

(a) The brucellosis skin test shall not be used for the purpose of certification for intra-Community trade.

(b) The brucellosis skin test is one of the most specific tests for the detection of brucellosis in unvaccinated animals, however diagnosis should not be made on the basis of positive intradermal reactions alone.

(c) Bovine animals, tested with negative result in one of the serological tests defined in this Annex and reacting positively to the BST shall be regarded as infected.

(d) Bovine animals, tested with positive result in one of the serological tests defined in this Annex may be subject to a BST in order to support the interpretation of the serological test results, in particular where in brucellosis free or officially free herds a cross-reaction with antibodies against other bacteria cannot be excluded.

3.1.2. The test must be carried out by use of a standardised and defined brucellosis allergen preparation that does not contain smooth lipopolysaccharide (LPS) antigen, as this may provoke non-specific inflammatory reactions or interfere with subsequent serological tests.

One of such preparation is Brucellin INRA prepared from a non smooth strain of *B. melitensis*. The requirements for its production are detailed

▼M48

in Section B2 of Chapter 2.4.2. of the OIE Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines, Fourth Edition, 2000.

3.1.3. *Test procedure*

3.1.3.1. A volume of 0,1 ml of brucellosis allergen is injected intradermally into the caudal fold, the skin of the flank, or the side of the neck.

3.1.3.2. The test is read after 48-72 hours.

3.1.3.3. The skin thickness at the injection site is measured with vernier callipers before injection and at re-examination.

3.1.3.4. Interpretation of results:

Strong reactions are easily recognised by local swelling and induration.

Skin thickening of 1,5 to 2 mm shall be considered as positive reaction to the BST.

3.2. **Competitive enzyme-linked immunosorbent assay (cELISA)**

3.2.1. *Conditions for the use of cELISA*

(a) The cELISA shall not be used for the purpose of certification for intra-Community trade.

(b) The cELISA has shown to have a higher specificity than for example the indirect ELISA and may therefore be used in order to support the interpretation of the serological test results.

3.2.2. *Test procedure*

The test shall be carried out in accordance with the prescription in the OIE Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines, Fourth Edition, 2000, Chapter 2.3.1(2)(a).

4. NATIONAL REFERENCE LABORATORIES

4.1. **Tasks and responsibilities**

National reference laboratories shall be responsible for:

(a) the approval of the results of the validation studies demonstrating the reliability of the test method used in the Member State;

(b) determination of the maximum number of samples to be pooled in ELISA kits used;

(c) calibration of the standard secondary reference national standard sera ('working standards') against the primary international standard serum referred to in paragraph 2.1;

(d) quality checks of all antigens and ELISA kits batches used in the Member State;

(e) cooperation within the European Union Network of National Reference Laboratories for Brucellosis.

4.2. **List of national reference laboratories**

BELGIUM

Centre d'études et de recherches vétérinaires et agrochimiques (CERVA/CODA)
Groeselenberg 99
B-1180 Bruxelles/Brussel

▼A4

CZECH REPUBLIC

Státní veterinární ústav Olomouc, Jakoubka ze Stříbra 1, 779 00 Olomouc

▼M48

DENMARK

Danish Veterinary Institute
Bulowsvej 27
DK-1790 Copenhagen

GERMANY

Bundesinstitut für Gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BGVV)
Nationales Veterinärmedizinisches Referenzlabor für Brucellose

▼M48

Postfach 33 00 13
D-14191 Berlin

▼A4

ESTONIA

Institute of the supplying country

▼M48

GREECE

Veterinary Laboratory of Larissa
Department of Microbiology
6th km of National Road Larissa-Trikala
GR-4111 10 Larissa

SPAIN

Laboratorio Central de Veterinaria de Santa Fe
Camino del Jau S/N
E-18320 Santa Fe (Granada)

FRANCE

Laboratoire national et OIE/FAO de référence pour la brucellose
Agence française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA)
BP 67
F-94703 Maisons-Alfort Cedex

IRELAND

Brucellosis Laboratory
Model Farm Road
Cork
Ireland

ITALY

Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise
Via Campo Boario
I-64100 Teramo

▼A4

CYPRUS

Εργαστήριο Αναφοράς για τις Ασθένειες των Ζώων, Κτηνιατρικές Υπηρεσίες, 1417 ΛευκωσίαNational Reference Laboratory for Animal Health Veterinary Services

CY-1417 Nicosia

LATVIA

Valsts veterinārmedicīnas diagnostikas centrs, Lejupes iela 3,
LV-1076 Rīga

LITHUANIA

Nacionalinė veterinarijos laboratorija, J. Kairiūkščio g. 10,
LT-2021 Vilnius

▼M48

LUXEMBOURG

State Laboratory for Veterinarian Medicine
54, avenue Gaston Diderich
B.P. 2081
L-1020 Luxembourg

▼A4

HUNGARY

Állatgyógyászati Oltóanyag-, Gyógyszer- és Takarmányellenőrző Intézet (ÁOGYTI),
Pf. 318., Szállás u. 7., H-1475 Budapest

MALTA

Institute of the supplying country

▼M48

NETHERLANDS

Centraal Instituut voor DierziekteControle
CIDC-Lelystad
Houtribweg 39P.O. Box 2004

▼M48

8203 AA Lelystad
Nederland

AUSTRIA

Bundesanstalt für veterinärmedizinische Untersuchungen
Robert-Koch-Gasse 17
A-2340 Modling

▼A4

POLAND

Laboratorium Zakładu Mikrobiologii Państwowego Instytutu Weterynaryjnego, Al. Partyzantów 57, PL-24-100 Puławy

▼M48

PORTUGAL

Laboratório Nacional de Investigação Veterinária (LNIV)
Estrada de Benfica, n.º 701
P-1549-011 Lisboa

▼A4

SLOVENIA

Nacionalni veterinarski inštitut, Gerbičeva 60,
SI-1000 Ljubljana

SLOVAKIA

Štátny veterinárny ústav, Pod dráhami 918,
SK-960 86 Zvolen

▼M48

FINLAND

National Veterinary and Food Research Institute
Hämeentie 57
PO Box 45
FIN-00581 Helsinki

SWEDEN

National Veterinary Institute
S-751 89 Uppsala

UNITED KINGDOM

1. FAO/WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Brucellosis
   Veterinary Laboratories Agency
   New Haw
   Addlestone
   Surrey KT15 3NB
   United Kingdom
2. Immunodiagnostics Department
   Veterinary Sciences Division
   Stoney Road Stormont
   Belfast BT4 3SD
   United Kingdom

▼**M42**

ANNEX D

▼**M44**

CHAPTER I

OFFICIALLY ENZOOTIC-BOVINE-LEUKOSIS-FREE HERDS, MEMBER STATES AND REGIONS

A. Officially enzootic-bovine-leukosis-free herd means a herd in which:

(i) there is no evidence, either clinical or as a result of a laboratory test, of any case of enzootic bovine leukosis in the herd and no such case has been confirmed in the previous two years; and

(ii) all animals over 24 months of age have reacted negatively during the preceding 12 months to two tests carried out in accordance with this Annex, at an interval of at least four months; or

(iii) it meets the requirements of (i) above and is situated in an officially enzootic-bovine-leukosis-free Member State or region.

B. A herd shall retain officially enzootic-bovine-leukosis-free status provided:

(i) the condition in A(i) continues to be fulfilled;

(ii) any animals introduced into the herd come from an officially enzootic-bovine-leukosis-free herd;

(iii) all animals over 24 months of age continue to react negatively to a test carried out in accordance with Chapter II at intervals of three years;

(iv) breeding animals introduced into a herd and originating from a third country have been imported in accordance with Directive 72/462/EEC.

C. The officially leukosis-free status of a herd is to be suspended if the conditions detailed in B are not fulfilled, or where as a result of laboratory tests or on clinical grounds one or more bovine animals are suspected of having enzootic bovine leukosis and the suspect animal(s) are immediately slaughtered.

D. The status is to remain suspended until the following requirements are complied with:

1. If a single animal in an officially enzootic-bovine-leukosis-free herd has reacted positively to one of the tests referred to in Chapter II, or where infection is otherwise suspected in one animal in a herd:

(i) the animal which has reacted positively, and, in the case of a cow, any calf it may have produced, must have left the herd for slaughter under the supervision of the veterinary authorities;

(ii) all animals in the herd more than 12 months old have reacted negatively to two serological tests (at least 4 months and less than 12 months apart) carried out in accordance with Chapter II three months at least after removal of the positive animal and any possible progeny thereof;

(iii) an epidemiological inquiry has been conducted with negative results and the herds linked epidemiologically to the infected herd have been subjected to the measures laid down in (ii).

However, the competent authority may grant a derogation from the obligation to slaughter the calf of an infected cow where it was separated from its mother immediately after calving. In this case, the calf must be made subject to the requirements provided for in 2(iii).

2. Where more than one animal from an officially enzootic-bovine-leukosis-free herd has reacted positively to one of the tests referred to in Chapter II, or where infection has otherwise been suspected in more than one animal in a herd:

(i) any animals which have reacted positively and, in the case of cows, their calves, must be removed for slaughter under the supervision of the veterinary authorities;

(ii) all animals in the herd aged over 12 months must react negatively to two tests carried out in accordance with Chapter II at an interval of at least four months and no more than 12 months;

(iii) all other animals in the herd must, after identification, remain on the holding until they are aged over 24 months and have been tested in accordance with Chapter II after reaching that age, except that the competent authority may permit such animals to go directly for slaughter under official supervision;

(iv) an epidemiological inquiry has been conducted with negative results and any herd linked epidemiologically to the infected herd has been subjected to the measures laid down in (ii).

▼M44

However, the competent authority may grant a derogation from the obligation to slaughter the calf of an infected cow where it was separated from its mother immediately after calving. In this case, the calf must be made subject to the requirements provided for in 2(iii).

E. In accordance with the procedure in Article 17 and on the basis of information supplied in accordance with Article 8, a Member State or part of a Member State may be considered officially enzootic-bovine-leukosis-free if:

(a) all the conditions of paragraph A are fulfilled and at least 99,8 % of the bovine herds are officially enzootic-bovine-leukosis-free;

or

(b) no case of enzootic bovine leukosis has been confirmed in the Member State or the part of the Member State for the past three years, and the presence of tumours suspected of being due to EBL is compulsorily notifiable, with investigations of cause being carried out, and

in the case of a Member State, all animals aged over 24 months in at least 10 % of the herds, selected randomly, have been tested with negative results in accordance with Chapter II in the previous 24 months, or

in the case of a part of a Member State, all animals aged over 24 months have undergone a test provided for in Chapter II with negative results in accordance with Chapter II in the previous 24 months;

or

(c) any other method which demonstrates to a confidence rating of 99 % that less than 0,2 % of herds were infected.

F. A Member State or a region of a Member State is to retain officially enzootic-bovine-leukosis-free status if:

(a) all animals slaughtered within the territory of that Member State or region are submitted to official post-mortem examinations at which all tumours which could be due to the EBL virus are sent for laboratory examination,

(b) the Member State reports to the Commission all cases of enzootic bovine leukosis that occur in the region,

(c) all animals which react positively to any of the tests provided for in Chapter II are slaughtered and their herds remain subject to restrictions until re-establishment of their status in accordance with Section D, and

(d) all animals more than two years old have been tested, either once in the first five years after the status is granted under Chapter II or during the first five years after the grant of the status under any other procedure demonstrating with a certainty level of 99 % that less than 0,2 % of herds have been infected. However, where no case of enzootic bovine leukosis has been recorded in a Member State or in a region of a Member State in a proportion of one herd out of 10 000 for at least three years, a decision may be taken in accordance with the procedure laid down in Article 17 that routine serological tests may be reduced provided that all bovine animals more than 12 months old in at least 1 % of herds, selected at random each year, have been subjected to a test carried out in accordance with Chapter II.

G. The officially enzootic-bovine-leukosis-free status of a Member State or part of a Member State is to be suspended, in accordance with the procedure in Article 17 if, as a result of investigations carried out in accordance with paragraph F above, there is evidence of a significant change in the situation as regards enzootic bovine leukosis in a Member State or part of a Member State which has been recognised as officially enzootic-bovine-leukosis-free.

The officially enzootic-bovine-leukosis-free status may be restored in accordance with the procedure in Article 17 when the criteria laid down by the same procedure are fulfilled.

▼M42

CHAPTER II

TESTS FOR ENZOOTIC BOVINE LEUKOSIS

Tests for enzootic bovine leukosis shall be carried out by the immune-diffusion test under the conditions described in A and B or by the enzyme-linked immunosorbent assay (Elisa) under the conditions described in C. The immune-diffusion method may only be used for individual tests. If test results are the subject of a duly-substantiated challenge, an additional check shall be carried out by means of the immune-diffusion test.

▼M42

A. **Agar gel immune-diffusion test for enzootic bovine leukosis**

1. The antigen to be used in the test must contain bovine leukosis virus glycoproteins. The antigen must be standardized against a standard serum (El serum) supplied by the State Veterinary Serum Laboratory, Copenhagen.

2. The official institutes indicated below must be made responsible for calibrating the standard working antigen of the laboratory against the official EEC standard serum (El serum) provided by the State Veterinary Serum Laboratory, Copenhagen.

(a) Germany: Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere, Tubingen;

(b) Belgium: Institut national de recherches vétérinaires, Brussels;

(c) France: Laboratoire national de pathologie bovine, Lyon;

(d) Grand Duchy of Luxembourg:

(e) Italy: Istituto zooprofilattico spenmentale, Perugia;

(f) Netherlands: Instituut voor Dierhouderij en Diergezondheid (ID-DLO), Lelystad;

(g) Denmark: Statens Veterinaere Serum Laboratorium, Copenhagen;

(h) Ireland: Veterinary Research Laboratory, Abbotstown, Dublin;

(i) United Kingdom:

(1) Great Britain: Veterinary Laboratory Agency, Addlestone, Weybridge, England;

(2) Northern Ireland: Veterinary Research Laboratory, Stormont, Belfast;

(j) Spain: Subdirreccion general de sanidad animal. Laboratorio de sanidad y produccion animal Algete, Madrid;

(k) Portugal: Laboratorio Nacional de Investigaçáo Veterinária, Lisbon;

(l) Greece: Κέντρο Κτηνιατρικών Ιδρυμάτων Νεαπόλεως 25, 153 10 Αθήνα;;

(m) Austria: Bundesanstalt für Tierseuchenbekämpfung, Mödling;

(n) Finland: Eläinlääkintä-ja elintarvikelaitos, Helsinki/Anstalten för veterinärmedicin och livsmedel, Helsingfors;

(o) Sweden: Statens veterinärmedicinska anstalt, Uppsala;

▼A4

(p) Czech Republic: Státní veterinární ústav Praha,

Sídlištní 24/136, 165 03 Praha 6;

(q) Estonia: Veterinaar- ja Toidulaboratoorium,

Kreutzwaldi 30, 51006 Tartu;

(r) Cyprus: Εργαστήριο Αναφοράς για τις Ασθένειες των Ζώων, Κτηνιατρικές Υπηρεσίες, 1417 Λευκωσία National Reference Laboratory for Animal Health Veterinary Services,CY-1417 Nicosia;

(s) Latvia: Valsts veterinārmedicīnas diagnostikas centrs

Lejupes iela 3
LV-1076 Rīga;

(t) Lithuania: Nacionalinė veterinarijos laboratorija,

J. Kairiūkščio g. 10,
LT-2021 Vilnius;

(u) Hungary: Országos Állategészségügyi Intézet (OÁI),Pf. 2., Tábornok u. 2., H-1581 Budapest;

(v) Malta: Institute of the supplying country;

(w) Poland: Laboratorium Zakładu Biochemii

Państwowego Instytutu Weterynaryjnego,
Al. Partyzantów 57, PL-24-100 Puławy;

(x) Slovenia: Nacionalni veterinarski inštitut, Gerbičeva 60,

SI-1000 Ljubljana;

(y) Slovakia: Štátny veterinárny ústav, Pod dráhami 918,

SK-960 86 Zvolen.

▼M42

3. The standard antigens used in the laboratory must be submitted at least once a year to the EEC reference laboratories listed in 2 for testing against the official EEC standard serum. Apart from this standardization, the antigen in use can be calibrated in accordance with B.

4. The reagents for the test shall consist of:

   (a) antigen: the antigen must contain specific glycoproteins of enzootic bovine leukosis virus which has been standardized against the official EEC serum;

   (b) the test serum;

   (c) known positive control serum;

   (d) agar gel:

   0,8 % agar,

   8,5 % NaCl,

   0,05 M Tris-buffer pH 7,2;

   15 ml of this agar must be introduced into a petri dish of 85 mm diameter, resulting in a depth of 2,6 mm of agar.

5. A test pattern of seven moisture-free wells must be cut in the agar to the bottom of the plate; the pattern must consist of one central well and six wells in a circle around it.

   Diameter of central well: 4 mm

   Diameter of peripheral wells: 6 mm

   Distance between central and peripheral wells: 3 mm

6. The central well must be filled with the standard antigen. Peripheral wells 1 and 4 (see diagram below) are filled with the known positive serum, wells 2, 3, 5 and 6 with the test sera. The wells must be filled until the meniscus disappears.

7. This results in the following quantities being obtained:

   antigen: 32 µl

   control serum: 73 µl

   test serum: 73 µl.

8. Incubation must be for 72 hours at room temperature (20 to 27ºC) in a closed humid chamber.

9. The test may be read at 24 and 48 hours but a final result may not be obtained before 72 hours:

   (a) a test serum is positive if it forms a specific precipitin line with the BLV antigen and forms a complete line of identity with the control serum;

   (b) a test serum is negative if it does not form a specific precipitin line with the BLV antigen and if it does not bend the line of the control serum;

   (c) the reaction cannot be considered conclusive if it:

      (i) bends the line of the control serum towards the BLV antigen well without forming a visible precipitin line with the antigen;

      or

      (ii) if it cannot be read either as negative or as positive.

   In inconclusive reactions the test may be repeated and concentrated serum utilized.

10. Any other well configuration or pattern may be utilized provided that the E4 serum diluted 1:10 in negative serum can be detected as positive.

B. **Method for antigen standardization**

Solutions and materials required

1. 40 ml of 1,6 % agarose in 0,05 M Tris/HCl buffer, pH 7,2 with 8,5 % NaCl;

2. 15 ml of a bovine leukosis serum, having antibody only to bovine leukosis virus glycoproteins, diluted 1:10 in 0,05 M Tris/HCl buffer, pH 7,2 with 8,5 % NaCl;

▼M42

3. 15 ml of a bovine leukosis serum, having antibody only to bovine leukosis virus glycoproteins, diluted 1:5 in 0,05 M Tris/HCl buffer, pH 7,2 with 8,5 % NaCl;
4. four plastic petri dishes with a diameter of 85 mm;
5. a punch with a diameter of 4 to 6 mm;
6. a reference antigen;
7. the antigen which is to be standardized;
8. a water bath (56ºC).

Procedure

Dissolve the agarose (1,6 %) in the Tris/HCl buffer by carefully heating to 100ºC. Place in 56ºC water bath for approximately one hour. Also, place the bovine leukosis serum dilutions in a 56ºC water bath.

Now mix 15 ml of the 56ºC agarose solution with the 15 ml bovine leukosis serum (1:10), quickly shake and pour 15 ml into each of two petri dishes. Repeat this procedure with the bovine leukosis serum diluted 1:5.

When the agarose has hardened, holes are made in it as follows:

Addition of antigen

(i) Petri dishes 1 and 3:

well A — undiluted reference antigen,

well B — 1:2 diluted reference antigen,

wells C and E — reference antigen,

well D — undiluted test antigen.

(ii) Petri dishes 2 and 4:

well A — undiluted test antigen,

well B — 1:2 diluted test antigen,

well C — 1:4 diluted test antigen,

well D — 1:8 diluted test antigen.

Additional instructions

1. The experiment shall be carried out with two serum dilutions (1:5 and 1:10) in order to achieve optimal precipitation
2. If the precipitation diameter is too small with both dilutions, then the serum must be further diluted.
3. If the precipitation diameter in both dilutions is too large and faint, then a lower serum must be chosen.
4. The final concentration of the agarose must be 0,8 %; that of the sera 5 and 10 % respectively.
5. Plot the measured diameters in the following coordinate system. The dilution of the antigen to be tested with the same diameter as the reference antigen is the working dilution.

C. **Enzyme-linked immunosorbent assay (Elisa) for detecting enzootic bovine leukosis**

1. The material and reagents to be used are as follows:
   (a) solid-phase microplates, cuvettes or any other solid phase;
   (b) the antigen is fixed to the solid phase with or without the aid of polyclonal or monoclonal catching antibodies. If antigen is coated directly to the solid phase, all test samples giving positive reactions have to be retested against control antigen in the case of EBL. The control antigen should be identical to the antigen except for the BLV antigens. If catching antibodies are coated to the solid phase, the antibodies must not react to antigens other than BLV antigens;
   (c) the biological fluid to be tested;
   (d) a corresponding positive and negative control;
   (e) conjugate;
   (f) a substrate adapted to the enzyme used;
   (g) a stopping solution, if necessary;

▼**M42**

(h) solutions for the dilution of the test samples for preparations of the reagents and for washing;

(i) a reading system appropriate to the substrate used.

2. *Standardization and sensitivity of test*

The sensitivity of the Elisa assay must be of such a level that E4 serum is scored positive when diluted 10 times (serum samples) or 250 times (milk samples) more than the dilution obtained of individual samples when these are included in pools. In assays where samples (serum and milk) are tested individually E4 serum diluted 1 to 10 (in negative serum) or 1 to 250 (in negative milk) must be scored positive when tested in the same assay dilution as used for the individual test samples. The official institutes listed in A.2 will be responsible for checking the quality of the Elisa method, and in particular for determining, for each production batch, the number of samples to be pooled on the basis of the count obtained for the E4 serum.

The E4 serum will be supplied by the National Veterinary Laboratory, Copenhagen.

3. *Conditions for use of the Elisa test for EBL*

The Elisa method may be used on a sample of milk or whey taken from the milk collected from a farm with at least 30 % of dairy cows in milk.

If this method is used, measures must be taken to ensure that the samples taken can be identified with the animals from which the milk or sera examined were taken.

▼**M42**

ANNEX E (I)

(a) **Bovine diseases**

— Foot-and-mouth disease
— Rabies
— Tuberculosis
— Brucellosis
— Contagious bovine pleuropneumonia
— Enzootic bovine leukosis
— Anthrax

(b) **Swine diseases**

— Rabies
— Brucellosis
— Classical swine fever
— African swine fever
— Foot-and-mouth disease
— Swine vesicular disease
— Anthrax

▼**M42**

ANNEX E (II)

— Aujeszky's disease
— Infectious bovine rhinotracheitis
— Brucella suis infection
— Transmissible gastro-enteritis

▼M44

ANNEX F

Model 1

HEALTH CERTIFICATE FOR ANIMALS OF THE BOVINE SPECIES FOR SLAUGHTER (1)/BREEDING (1)/PRODUCTION (1)

Member State of origin: .....

Certificate number (7)

Region of origin: .....

Reference number to original certificate (8)

SECTION A

Name and address of consignor: .....

.....

Name and address of holding of origin: .....

..... (2)

Dealer's approval number: ..... (3)

Address and approval number of assembly centre in the Member State of origin (1) or transit (1):

..... (3)

..... (3)

Health information

I certify that each animal of the consignment described below

1. comes from a holding of origin and an area which, in conformity with Community or national legislation, is not subject to any prohibition or restriction for reasons of animal diseases affecting bovine animals;

2. comes form a herd of origin situated in a Member State or part of its territory

   (a) with a surveillance network approved by: Commission Decision .../.../EC (3)

   (b) which is recognised as being:

   — officially tuberculosis-free Commission Decision .../.../EC (3)

   — officially brucellosis-free Commission Decision .../.../EC (3)

   — officially leukosis-free Commission Decision .../.../EC (3)

3. (3) is an animal for breeding (1) or production (1) that:

   — has been resident, as far as can be ascertained, on the holding of origin during the past 30 days, or since birth if less than 30 days of age, and no animal imported from a third country was introduced into that holding during this period, unless it was isolated from all other animals on the holding,

▼M44

— comes from a herd which is officially free of tuberculosis, brucellosis and leukosis and had been tested with negative results during the 30 days prior to departure from the holding of origin, in accordance with Article 6(2) of Directive 64/432/EEC, as follows:

Test	Test not required for the following categories of animals	Required Yes/No (4) (5)	Date of testing or sampling
Tuberculin test	Animals less than 6 weeks of age		
Serum agglutination test (6) for brucellosis	Castrated animals and animals less than 12 months of age		
Test of leukosis	Animals less than 12 months of age		

4. (3) is an animal for slaughter coming from an officially tuberculosis and leukosis-free herd and is

— either castrated (3)

or

— uncastrated and comes from an officially brucellosis-free herd (3);

5. (3) is an animal for slaughter originating from a herd which is not officially free of tuberculosis, brucellosis, and leukosis, and is dispatched in accordance with Article 6(3) of Directive 64/432/EEC under licence No ..... from a holding in Spain, and has been tested with negative results during the 30 days prior to departure from the holding of origin, as follows:

Test	Date of testing or sampling
Tuberculin test	
Serum agglutination test (6) for brucellosis	
Test for leukosis	

6. (11) based on the information provided either in an official document or a certificate in which Sections A and B were completed by the official veterinarian or the approved veterinarian responsible for the holding of origin, fulfils the applicable health requirements of points 1 to 5 of Section A which are therefore not detailed in this certificate;

►(1) 7. (3) is an animal less than 30 months old intended for meat production originating from a herd which is officially tuberculosis, brucellosis and leukosis free, and is dispatched in accordance with Article 6(2)(e) of Directive 64/432/EEC under licence No ... ◄

SECTION B

Description of the consignment

Date of departure: .....

Total number of animals: .....

Identification of animal(s):

Number of passport	Number of temporary document (for animals less than 4 weeks old)	Official identification (until 31. 8. 1999 for animals for slaughter in accordance with Article 4(1) of Council Regulation (EC) No 820/97)

Continue if necessary on an attached schedule signed and stamped by the official or approved veterinarian.

►(1) M46

▼M44

Approval number of transporter (if different from transporter stated in Section C and/or if distance of transport exceeds 50 km):.....

Means of transport:..... Registration: .....

Section A and B certification

Official stamp	Place	Date	Signature (*)

Name and capacity in capital letters:

Address of signing veterinarian:

(*) Sections A and B of the certificate must be either stamped and signed by

the **official veterinarian of the holding of origin** if different from the official veterinarian signing Section C,

or

signed by the **approved veterinarian of the holding of origin** where the Member State of dispatch has introduced a surveillance network system approved under Commission Decision .../.../EC,

or

signed by the **official veterinarian responsible for the approved assembly centre** at the date of departure of the animals.

SECTION C (9)

Name and address of consignee: .....

.....

Name and address of holding of destination (1) or approved assembly centre in the Member State of destination (1) (complete this field in printed characters)

Name: .....

Street: .....

Country/province: .....

Postal code: ..... Member State: .....

Dealer's approval number: ..... (3)

Approval number of transporter (if distance of transport exceeds 50 km): ..... (10)

Means of transport: ..... Registration: .....

After inspection as required by regulations, I certify that:

1. the above described animals had been inspected on (insert date) ..... during the 24 hours before scheduled departure and had not shown clinical signs of infectious or contagious disease;
2. the holding of origin and where applicable the approved assembly centre and the area they are situated in are not subject to any prohibitions or restrictions for reasons of animal diseases affecting bovine animals in conformity with Community or national legislation;
3. all applicable provisions of Council Directive 64/432/EEC have been fulfilled;
4. (3) the above animals meet the additional guarantees for:

   — Disease: .....

   — In accordance with Commission Decision .../.../EC;
5. the animals did not remain more than six days in the approved assembly centre (3);

►(1) 6. at the time of inspection the above animals were fit to be transported on the intended journey in accordance with the provisions of Directive 91/628/EEC (12).◄

►(1) M47

▼M44

Section C certification

Official stamp	Place	Date	Signature (*)

Name and capacity in capital letters:

Address of signing veterinarian:

(*) Section C of the certificate must be stamped and signed by the official veterinarian of either the holding of origin,
or
the approved assembly centre situated within the Member State of origin,
or
the approved assembly centre situated within the Member State of transit when completing the certificate for dispatch of animals to the Member State of destination.

Additional information

1. The certificate must be stamped and signed in colour different to the printing.
2. This certificate remains valid for 10 days following the date of the health inspection carried out in the Member State of origin and referred to in Section C.
3. The required details of this certificate have to be entered into the ANIMO system on the day of issuing the certificate and at least within 24 hours thereof.

(1) Delete as appropriate.

(2) Not applicable where animals are from several holdings.

(3) Delete if not applicable.

(4) Not required if a system of surveillance networks is approved by Commission Decision .../.../EC.

(5) Not required if the Member State or the part of the Member State where the herd is situated is recognised as being officially free of the diease concerned.

(6) Or any other test approved in accordance with Article 17 of Directive 64/432/EEC.

(7) To be completed by the official veterinarian of the Member State of origin.

(8) To be completed by the official veterinarian at the approved assembly centre of the Member State of transit.

(9) Delete if certificate is used for movement of animals within Member State of origin and only Sections A and B are completed and signed.

(10) Delete if transporter is not different to transporter identified in Section B.

(11) Point 6 of Section A must be signed by the official veterinarian at the approved assemby centre after documentary and identity checks on animals arriving with an official document or Sections A and B completed certificate, otherwise this point must be deleted.

(12) This statement does not exempt transporters from their obligations in accordance with Community provisions in force in particular regarding the fitness of animals to be transported.

▼M44

Model 2

HEALTH CERTIFICATE FOR ANIMALS OF THE PORCINE SPECIES FOR SLAUGHTER (1)/BREEDING (1)/PRODUCTION (1)

Member State of origin: .....

Certificate number (4)

Region of origin: .....

Reference number to original certificate (5)

SECTION A

Name and address of consignor: .....

.....

Name and address of holding of origin: .....

..... (2)

Dealer's registration number: ..... (3)

Address and approval number of assembly centre in the Member State of origin (1) or transit (1)

..... (3)

..... (3)

Health information

I certify that each animal of the consignment described below

1. comes from a holding of origin and an area which, in conformity with Community or national legislation, is not subject to any prohibition or restriction for reasons of animal diseases affecting porcine animals;
2. (3) is an animal for breeding (1) or production (1) that has been resident, as far as can be ascertained, on the holding of origin during the past 30 days or since birth if less than 30 days of age, and no animal imported from a third country was introduced into that holding during this period, unless it was isolated from all other animals on the holding.

SECTION B

Description of the consignment

Date of departure: .....

Total number of animals: .....

Identification of animal(s):

Breed	Date of birth	Official identification

Continue if necessary on an attached schedule signed and stamped by the official or approved veterinarian.

▼M44

Approval number of transporter (if different from transporter stated in Section C and/or if distance of transport exceeds 50 km):

.....

Means of transport:..... Registration: .....

Section A and B certification

Official stamp	Place	Date	Signature (*)

Name and capacity in capital letters:

Address of signing veterinarian:

(*) Sections A and B of the certificate must be either
stamped and signed by the **official veterinarian of the holding of origin** if different from the official veterinarian signing Section C, or
signed by the **approved veterinarian of the holding of origin** where the Member State of dispatch has introduced a surveillance network system approved under Commission Decision .../.../EC or,
signed by the **official veterinarian responsible for the approved assembly centre** at the date of departure of the animals.

SECTION C (6)

Name and address of consignee:.....

.....

Name and address of holding of destination (complete this field in printed characters):

Name: .....

Street: .....

Country/province: .....

Postal code:..... Member State: .....

Approval number of transporter (if distance of transport exceeds 50 km): ..... (7)

Means of transport:..... Registration: .....

After inspection as required by regulations, I certify that:

1. the above described animals had been inspected on (insert date)..... during the 24 hours before scheduled departure and had not shown clinical signs of infectious or contagious disease;

2. the holding of origin and where applicable the approved assembly centre and the area they are situated in are not subject to any prohibitions or restrictions for reasons of animal diseases affecting porcine animals in conformity with Community or national legislation;

3. all applicable provisions of Council Directive 64/432/EEC have been fulfilled;

4. (3) the above animals meet the additional guarantees for:

   — disease:.....

   — in accordance with Commission Decision .../.../EC;

5. the animals did not remain more than six days in the approved assembly centre (3);

▶(1) 6. at the time of inspection the above animals were fit to be transported on the intended journey in accordance with the provisions of Directive 91/628/EEC (8).◀

▶(1) M47

▼M44

Section C certification

Official stamp	Place	Date	Signature (*)

Name and capacity in capital letters:

Address of signing veterinarian:

(*) Section C of the certificate must be stamped and signed by the official veterinarian of either the holding of origin, or
the approved assembly centre situated within the Member State of origin, or
the approved assembly centre situated within the Member State of transit when completing the certificate for dispatch of animals to the Member State of destination.

Additional information

1. The certificate must be stamped and signed in colour different to the printing.
2. This certificate remains valid for 10 days following the date of the health inspection carried out in the Member State of origin and referred to in Section C.
3. The required details of this certificate have to be entered into the ANIMO system on the day of issuing the certificate and at least within 24 hours thereof.

(1) Delete as appropriate.
(2) Not applicable where animals are from several holdings.
(3) Delete if not applicable.
(4) To be completed by the official veterinarian of the Member State of origin.
(5) To be completed by the official veterinarian at the assembly centre of the Member State of transit.
(6) Delete if certificate is used for movement of animals within Member State of origin and only Sections A and B are completed and signed.
(7) Delete if transporter is not different to transporter identified in Section B.
(8) This statement does not exempt transporters from their obligations in accordance with Community provisions in force in particular regarding the fitness of animals to be transported.

DIRECTIVA 1999/22/CE DEL CONSEJO

de 29 de marzo de 1999

relativa al mantenimiento de animales salvajes en parques zoológicos

EL CONSEJO DE LA UNIÓN EUROPEA,

Visto el Tratado constitutivo de la Comunidad Europea y, en particular, el apartado 1 de su artículo 130 S,

Vista la propuesta de la Comisión,

Visto el dictamen del Comité Económico y Social [1],

De conformidad con el procedimiento establecido en el artículo 189 C del Tratado [2],

Considerando que el Reglamento (CE) nº 338/97 del Consejo, de 9 de diciembre de 1996, relativo a la protección de especies de la fauna y flora silvestres mediante el control de su comercio [3], establece que la importación en la Comunidad de especímenes vivos de un gran número de especies ha de estar subordinada a que se acredite disponer de instalaciones adecuadas para su albergue y cuidado; que dicho Reglamento prohíbe la exhibición pública con fines comerciales de especímenes de las especies enumeradas en el anexo A, salvo en caso de que esté justificada una excepción concreta con fines educativos, o para investigación o cría;

Considerando que la Directiva 79/409/CEE del Consejo, de 2 de abril de 1979, relativa a la conservación de las aves silvestres [4], y la Directiva 92/43/CEE del Consejo, de 21 de mayo de 1992, relativa a la conservación de los hábitats naturales y de la fauna y flora silvestres [5], prohíben la captura, el mantenimiento y el comercio de un gran número de especies y prevén excepciones en determinadas circunstancias, como investigación y enseñanza, repoblación, reintroducción y cría;

Considerando que la correcta aplicación de la legislación comunitaria actual y futura en materia de conservación de la fauna silvestre, así como la necesidad de garantizar que los parques zoológicos desempeñen debidamente su importante papel en la educación pública, la investigación científica y la conservación de las especies, hacen necesario el establecimiento de una base común para la legislación de los Estados miembros relativa a la autorización e inspección de los parques zoológicos, el mantenimiento de animales en los parques zoológicos, la formación del personal y la educación del público visitante;

Considerando que la Comunidad debe intervenir para que los parques zoológicos de la Comunidad contribuyan a la conservación de la biodiversidad con arreglo a la obligación comunitaria de adoptar medidas en materia de conservación *ex situ*, con arreglo al artículo 9 del Convenio sobre la diversidad biológica;

Considerando que algunas organizaciones como la Asociación europea de zoológicos y acuarios han establecido directrices para el cuidado y alojamiento de los animales en los parques zoológicos que podrían ser de utilidad, cuando proceda, para el establecimiento y adopción de orientaciones nacionales,

HA ADOPTADO LA PRESENTE DIRECTIVA:

Artículo 1

Objetivos

Los objetivos de la presente Directiva son proteger la fauna silvestre y conservar la biodiversidad mediante la adopción, por parte de los Estados miembros, de medidas relativas a la autorización e inspección de los parques zoológicos en la Comunidad, potenciando así su papel en la conservación de la biodiversidad.

Artículo 2

Definición

A efectos de la presente Directiva, por «parques zoológicos» se entenderán todos los establecimientos permanentes en donde se mantengan animales vivos de especies silvestres para su exposición al público, durante siete o más días al año pero no los circos, las tiendas de animales ni los establecimientos a los que los Estados miembros eximan de los requisitos de la presente Directiva por no exponer un número significativo de animales o especies al público y por no poner en peligro los objetivos de la misma.

Artículo 3

Requisitos aplicables a los parques zoológicos

Los Estados miembros deberán adoptar medidas de conformidad con lo previsto en los artículos 4, 5, 6 y 7 para garantizar que todos los parques zoológicos cumplan las siguientes medidas de conservación:

---

[1] DO C 204 de 15.7.1996, p. 63.
[2] Dictamen del Parlamento Europeo de 29 de enero de 1998 (DO C 56 de 23.2.1998, p. 34). Posición común del Consejo de 20 de julio de 1998 (DO C 364 de 25.11.1998, p. 9), Decisión del Parlamento Europeo de 10 de febrero de 1999 (aún no publicada en el Diario Oficial).
[3] DO L 61 de 3.3.1997, p. 1; Reglamento cuya última modificación la constituye el Reglamento (CE) nº 2307/97 (DO L 325 de 27.11.1997, p. 1).
[4] DO L 103 de 25.4.1979, p. 1; Directiva cuya última modificación la constituye la Directiva 97/49/CE de la Comisión (DO L 223 de 13.8.1997, p. 9).
[5] DO L 206 de 22.7.1992, p. 7. Directiva cuya última modificación la constituye la Directiva 97/62/CE (DO L 305 de 8.11.1997, p. 42).

— participación en la investigación que redunde en la conservación de especies, o formación en técnicas pertinentes de conservación, o intercambio de información sobre la conservación de especies o, cuando proceda, cría en cautividad, repoblación o reintroducción de especies en el medio silvestre;

— fomento de la educación y de la toma de conciencia por el público en lo que respecta a la conservación de la biodiversidad, en particular facilitando información sobre las especies expuestas y sus hábitats naturales;

— alojamiento de los animales en condiciones que persigan la satisfacción de las necesidades biológicas o de conservación de cada especie, entre otras cosas proporcionando a las especies los recintos adecuados a cada una de ellas y manteniendo un nivel elevado en la cría de animales, con un programa avanzado de atención veterinaria preventiva y curativa y de nutrición;

— prevención de la huida de los animales para evitar posibles amenazas ecológicas a las especies indígenas y prevención de la introducción de plagas y parásitos de procedencia exterior;

— mantenimiento de los registros actualizados de las colecciones del parque zoológico adaptados a las especies registradas.

Artículo 4

Autorización e inspección

1. Los Estados miembros deberán adoptar medidas sobre autorización e inspección de los parques zoológicos existentes o nuevos para garantizar que se cumplan los requisitos del artículo 3.

2. Cada parque zoológico deberá contar con una autorización válida en un plazo de cuatro años tras la entrada en vigor de la presente Directiva o, en el caso de parques zoológicos de nueva creación, antes de su apertura al público.

3. Cada autorización deberá incluir condiciones relativas a la ejecución de los requisitos del artículo 3. El cumplimiento de estas condiciones deberá controlarse, entre otros, mediante inspecciones periódicas y se deberán adoptar las medidas pertinentes para garantizar dicho cumplimiento.

4. Antes de conceder o denegar una autorización, de ampliar su duración o de modificarla de forma significativa, se deberá efectuar una inspección por parte de las autoridades competentes del Estado miembro con el fin de determinar el cumplimiento o incumplimiento de las condiciones de autorización o de las condiciones de autorización propuestas.

5. Si un parque zoológico no cuenta con una autorización de conformidad con la presente Directiva o las condiciones de autorización no se cumplen:

a) la autoridad competente cerrará el parque zoológico o parte del mismo al público, o

b) el parque zoológico deberá ajustarse a las condiciones impuestas por la autoridad competente para garantizar el cumplimiento de las condiciones de autorización.

En el caso de que dichas condiciones no se cumplan en un plazo adecuado, que deberán fijar las autoridades competentes y que no podrá exceder de dos años, la autoridad competente retirará o modificará la autorización y cerrará el parque zoológico o parte del mismo.

Artículo 5

Las condiciones de autorización que se determinan en el artículo 4 no se aplicarán cuando un Estado miembro pueda demostrar en una forma que la Comisión considere satisfactoria que el objetivo de la presente Directiva, de acuerdo con lo dispuesto en el artículo 1, así como las condiciones aplicables a los parques zoológicos establecidas en el artículo 3 se cumplen y mantienen de manera constante mediante un sistema normativo y de registro. El mencionado sistema debería contener, entre otras, disposiciones relativas a la inspección y cierre de los parques zoológicos equivalentes a las contenidas en los apartados 4 y 5 del artículo 4.

Artículo 6

Cierre de parques zoológicos

En caso de que deba cerrarse un parque zoológico o parte del mismo, la autoridad competente deberá garantizar que los animales afectados sean tratados o trasladados con arreglo a condiciones que el Estado miembro considere pertinentes y adecuadas al objetivo y a las disposiciones de la presente Directiva.

Artículo 7

Autoridades competentes

Los Estados miembros designarán las autoridades competentes a los efectos de la presente Directiva.

Artículo 8

Sanciones

Los Estados miembros fijarán las sanciones aplicables a las infracciones de las disposiciones nacionales que se adopten con arreglo a la presente Directiva. Dichas sanciones serán proporcionadas, disuasorias y eficaces.

Artículo 9

Aplicación

1. Los Estados miembros pondrán en vigor las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas necesarias para ajustarse a la presente Directiva a más tardar en abril de 2002. Informarán inmediatamente de ello a la Comisión.

Cuando los Estados miembros adopten dichas medidas, éstas incluirán una referencia a la presente Directiva o irán acompañadas de tal referencia en su publicación oficial. Corresponderá a los Estados miembros decidir los métodos de plasmación de dicha referencia.

2. Los Estados miembros comunicarán a la Comisión las principales disposiciones legales de Derecho nacional que adopten en el ámbito regido por la presente Directiva.

Artículo 10

Entrada en vigor

La presente Directiva entrará en vigor el día de su publicación en el *Diario Oficial de las Comunidades Europeas*.

Artículo 11

Los destinatarios de la presente Directiva serán los Estados miembros.

Hecho en Bruselas, el 29 de marzo de 1999.

Por el Consejo

El Presidente

F. MÜNTEFERING

DIRECTIVA 2000/20/CE DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO

de 16 de mayo de 2000

por la que se modifica la Directiva 64/432/CEE del Consejo relativa a problemas de policía sanitaria en materia de intercambios intracomunitarios de animales de las especies bovina y porcina

EL PARLAMENTO EUROPEO Y EL CONSEJO DE LA UNIÓN EUROPEA,

Visto el Tratado constitutivo de la Comunidad Europea y, en particular, su artículo 37 y la letra b) del apartado 4 de su artículo 152,

Vista la propuesta de la Comisión,

Visto el dictamen del Comité Económico y Social [1],

Previa consulta al Comité de las Regiones,

De conformidad con el procedimiento establecido en el artículo 251 del Tratado [2],

Considerando lo siguiente:

(1) La Directiva 64/432/CEE [3] ha sido modificada por la Directiva 97/12/CE [4] y por la Directiva 98/46/CE [5].

(2) La aplicación de la Directiva 64/432/CEE modificada por las dos Directivas mencionadas ha planteado problemas que hacen preciso adoptar medidas transitorias destinadas a evitar perturbaciones en el comercio de animales vivos de las especies bovina y porcina.

(3) La Directiva 64/432/CEE, y el Reglamento (CE) nº 820/97 del Consejo, de 21 de abril de 1997, por el que se establece un sistema de identificación y registro de los animales de la especie bovina y relativo al etiquetado de la carne de vacuno y de los productos a base de carne de vacuno [6], disponen que se creen bases de datos informatizadas, entre otros para los animales de la especie bovina, para registrar información sobre los animales y sus movimientos.

(4) Han surgido problemas en lo que se refiere a la aplicación de las condiciones de policía sanitaria de los animales y, en particular, en lo que atañe a la identificación y el registro de los mismos.

(5) La Directiva 64/432/CEE debe modificarse para garantizar la coherencia de las normas comunitarias y posibilitar que la Comisión adopte medidas transitorias que permitan a los Estados miembros adaptarse a las nuevas condiciones de comercio.

(6) En consecuencia, resulta oportuno aplazar la entrada en vigor de determinadas disposiciones de dicha Directiva.

(7) Las medidas necesarias para la ejecución de la presente Directiva deben ser aprobadas con arreglo a lo dispuesto en la Decisión 1999/468/CE del Consejo, de 28 de junio de 1999, por la que se establecen los procedimientos para el ejercicio de las competencias de ejecución atribuidas a la Comisión [7].

HAN ADOPTADO LA PRESENTE DIRECTIVA:

Artículo 1

La Directiva 64/432/CEE se modificará como sigue:

1) En el apartado 2 del artículo 6 se añadirá el texto siguiente:

«e) Hasta el 31 de diciembre de 2000 no será preciso cumplir los requisitos establecidos, en las letras a) o b) cuando se trate de animales de la especie bovina de edad inferior a los 30 meses destinados a la producción de carne y que:

— procedan de una explotación bovina oficialmente indemne de tuberculosis y de brucelosis,

— vayan acompañados de un certificado sanitario conforme al punto 7 de la sección A del anexo F, modelo 1, debidamente cumplimentado,

— estén bajo supervisión hasta que sean sacrificados,

— no hayan entrado en contacto, durante su transporte, con animales de la especie bovina que no procedan de rebaños oficialmente indemnes de esas enfermedades,

siempre y cuando:

— ello se aplique exclusivamente al comercio entre Estados miembros o entre regiones de Estados miembros que gocen de las mismas condiciones sanitarias en lo que respecta a la tuberculosis o la brucelosis,

— el Estado miembro destinatario adopte las medidas oportunas para impedir la contaminación de rebaños nativos,

— los Estados miembros establezcan un sistema adecuado de controles por sondeo, de inspecciones y de verificaciones que garantice la aplicación eficaz de la presente normativa,

— la Comisión controle la correcta aplicación de la presente Directiva a fin de garantizar que los Estados miembros cumplen íntegramente la normativa.».

2) En el párrafo segundo del apartado 3 del artículo 6 la fecha «31 de diciembre de 1999» se sustituirá por la fecha «31 de diciembre de 2000».

3) En el artículo 16 se añadirá el apartado 3 siguiente:

«3. Cuando resulte necesario para facilitar la transición al nuevo sistema establecido por la presente Directiva, la Comisión, con arreglo al procedimiento previsto en el artículo 17 *bis*, podrá adoptar medidas transitorias cuya duración no podrá exceder de dos años.».

[1] DO C 51 de 23.2.2000, p. 31.
[2] Dictamen del Parlamento Europeo de 16 de marzo de 2000 (aún no publicado en el Diario Oficial) y Decisión del Consejo de 17 de abril de 2000.
[3] DO 121 de 29.7.1964, p. 1977/64; Directiva cuya última modificación la constituye la Directiva 98/99/CE (DO L 358 de 31.12.1998, p. 107).
[4] DO L 109 de 25.4.1997, p. 1.
[5] DO L 198 de 15.7.1998, p. 22.
[6] DO L 117 de 7.5.1997, p. 1.
[7] DO L 184 de 17.7.1999, p. 23.

4) El artículo 17 se sustituirá por el texto siguiente:

«*Artículo 17*

1. La Comisión estará asistida por el Comité veterinario permanente creado mediante la Decisión 68/361/CEE, denominado en lo sucesivo "el Comité".

2. En los casos en que se haga referencia al presente apartado, serán de aplicación los artículos 5 y 7 de la Decisión 1999/468/CE.

El plazo a que hace referencia en el apartado 6 del artículo 5 de la Decisión 1999/468/CE queda fijado en tres meses.

3. El Comité aprobará su reglamento interno.».

5) Se añadirá el artículo 17 *bis* siguiente:

«*Artículo 17* bis

1. La Comisión estará asistida por el Comité veterinario permanente creado mediante la Decisión 68/361/CEE, denominado en lo sucesivo "el Comité".

2. En los casos en que se haga referencia al presente apartado, serán de aplicación los artículos 5 y 7 de la Decisión 1999/468/CE, observando lo dispuesto en su artículo 8.

El plazo a que se hace referencia en el apartado 6 del artículo 5 de la Decisión 1999/468/CE queda fijado en tres meses.

3. El Comité aprobará su reglamento interno.».

6) En el tercer guión de la letra c) del punto 2 de la sección I del anexo A se añadirá la palabra «o» entre los puntos 1 y 2.

7) El texto de la letra b), del punto I.4 y del punto II.7, respectivamente, del anexo A se sustituirá por el texto siguiente:

«b) todos y cada uno de los animales bovinos estarán identificados con arreglo a lo dispuesto en la legislación comunitaria, y».

8) En la sección A del modelo 1 del anexo F se añadirá el apartado siguiente:

«7) ([3]) es un animal de menos de 30 meses de edad, destinado a la producción de carne y procedente de un rebaño oficialmente indemne de tuberculosis, brucelosis y leucosis, y se expide de conformidad con la letra e) del apartado 2 del artículo 6 de la Directiva 64/432/CEE con el número de licencia …».

Artículo 2

1. Los Estados miembros pondrán en vigor las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas necesarias para dar cumplimiento a lo establecido en la presente Directiva con efectos a partir del 1 de diciembre de 1999. Informarán de ello inmediatamente a la Comisión.

Cuando los Estados miembros adopten dichas disposiciones, éstas harán referencia a la presente Directiva o irán acompañadas de dicha referencia en su publicación oficial. Los Estados miembros establecerán las modalidades de la mencionada referencia.

2. Los Estados miembros comunicarán a la Comisión el texto de las principales disposiciones de Derecho interno que adopten en el ámbito regulado por la presente Directiva.

Artículo 3

La presente Directiva entrará en vigor el día de su publicación en el *Diario Oficial de las Comunidades Europeas*.

Artículo 4

Los destinatarios de la presente Directiva serán los Estados miembros.

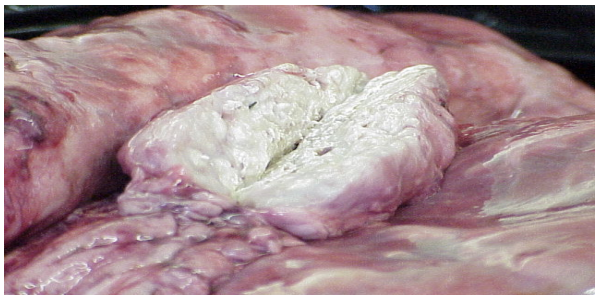
Hecho en Bruselas, el 16 de mayo de 2000.

Por el Parlamento Europeo	*Por el Consejo*
La Presidenta	*El Presidente*
N. FONTAINE	L. CAPOULAS SANTOS

MINISTERIO DE
AGRICULTURA, PESCA Y
ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL
DE SANIDAD ANIMAL



PROGRAMA NACIONAL DE ERRADICACION DE TUBERCULOSIS BOVINA PRESENTADO POR ESPAÑA PARA LOS AÑOS 2008-2010. PRESENTADO PARA SU COFINANCIACIÓN EN 2008.

jparamio@mapya.es www.rasve.es jsaezllo@mapya.es

1. IDENTIFICACIÓN DEL PROGRAMA

Estado miembro: España

Enfermedad: Tuberculosis Bovina

Año de ejecución: 2008-2010

Referencia del presente documento: PN TB 2008-2010

Persona de contacto (nombre, nº de teléfono, nº de fax, correo electrónico):

Sr. D. José Luís Paramio Lucas, nº de teléfono 91 347 3705, nº de fax 91 347 8299, jparamio@mapya.es

Sr. D. José Luís Sáez LLorente, nº de teléfono 913474060, nº de fax 913478299, jsaezllo@mapya.es

Fecha de envío a la Comisión: 30 de abril de 2007

2.DATOS SOBRE LA EVOLUCIÓN EPIDEMIOLÓGICA DE LA ENFERMEDAD

La erradicación de la tuberculosis en ganado bovino es el objetivo final de cualquier programa de lucha contra la enfermedad en los países desarrollados y, a nivel de la Unión Europea, constituye un prioridad esencial, tanto para la protección de la salud pública frente a esta enfermedad zoonótica como para el buen funcionamiento del mercado intracomunitario de animales vivos y sus productos y para el aumento de la productividad ganadera y por consiguiente, de la mejora del nivel de renta de los ganaderos.

En sus prioridades para el año 2007 en relación con las enfermedades animales objeto de erradicación, control y vigilancia, la Comisión Europea califica la tuberculosis bovina como de Categoría I "Enfermedades animales con impacto sobre la salud pública", si bien indicando su menor impacto zoonótico que otras enfermedades endémicas.

El programa de lucha en España se inició de forma sistemática a partir de 1986, tras la incorporación de nuestro país a la CEE. Previamente, las actuaciones se habían centrado en los rebaños lecheros desde los años 60, lo que explica en parte, junto con otras razones de tipo ecológico y epidemiológico, el mayor avance en la lucha que en esa sub-población se manifiesta en la actualidad, con valores próximos a la erradicación. El avance conseguido con la aplicación del Programa Nacional de Erradicación de tuberculosis bovina a lo largo del los años ha supuesto beneficios incuestionables no sólo para la economía y la sanidad animal, sino también para la seguridad alimentaria y la salud pública, al integrarse desde sus principios con los programas de inspección en control higiénico de la carne y el tratamiento térmico de la leche y productos lácteos.

Los Programas Nacionales de Erradicación de la Tuberculosis Bovina han sufrido diversas modificaciones y orientaciones a lo largo de los años, con el fin de adaptarse a los cambios acontecidos en el manejo de los animales y la estructura de las explotaciones, en los flujos comerciales y en el conocimiento científico de las distintas ramas de la enfermedad (asesoramiento, diagnóstico, epidemiología, patogenia...). Los programas que España presentó para su co-financiación ante la Comisión Europea en el año 2005 y anteriores dividían la población bovina en dos sub-poblaciones por su diferente situación epidemiológica: el bovino de aptitud lechera y el bovino de aptitud cárnica, con diferenciados objetivos para cada una. Así mismo, dentro de la sub-población de aptitud cárnica, las 17 Comunidades Autónomas se encuadraban dentro de tres grupos, con diferentes objetivos, en función de la prevalencia de rebaño que habían experimentado en años precedentes. Los objetivos para los diferentes sub-grupos se establecían anualmente.

Los Programas Nacionales de Erradicación de la Tuberculosis Bovina 2006 y 2007, aprobados para su co-financiación mediante la Decisión 2005/873/CE y la Decisión 2006/875/CE, supusieron un cambio cualitativo en el planteamiento de los objetivos, de forma que sentaron las bases para garantizar actuaciones continuadas en el tiempo bajo un enfoque plurianual, establecido en 5 años. Ello permite un establecimiento de medidas progresivas que permitan un logro más eficiente y eficaz de los objetivos marcados y hace que los programas aplicados sean mejor evaluables. Así mismo, en dichos programas se toman como base los 2 principios fundamentales que rigen toda la normativa comunitaria sobre erradicación de la tuberculosis bovina:

- los Estados Miembros son los primeros responsables de la erradicación de la enfermedad, para lo cual pueden recibir una ayuda financiera de la comunidad (Directiva 77/391/CEE)

- la erradicación de la tuberculosis bovina debe ser el objetivo final (Directiva 64/432/CEE)

En dichos programas se establecieron objetivos globales para el sector bovino sin diferenciar la aptitud productiva y considerando 3 estratos de Comunidades Autónomas en función de sus niveles de enfermedad a nivel de rebaño:

1. Comunidades Autónomas con prevalencia de rebaño 0

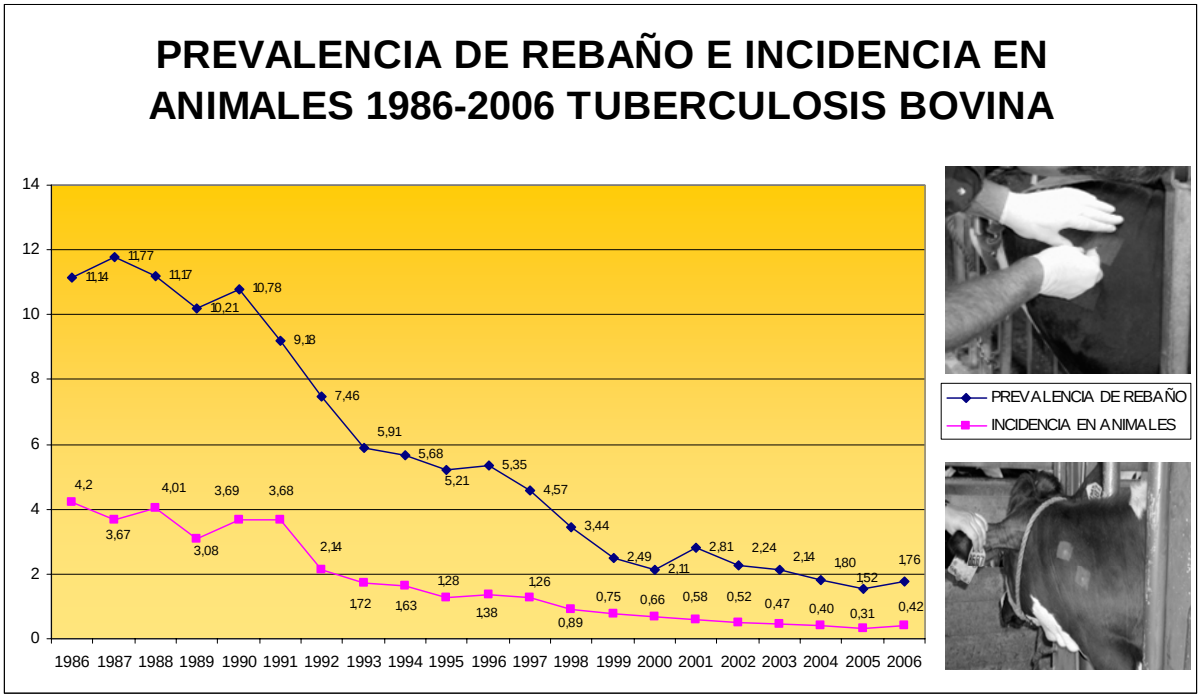
2. Comunidades Autónomas con prevalencia de rebaño inferior al 1% o “de baja prevalencia”

3. Comunidades Autónomas con prevalencia de rebaño superior al 1% o “de alta prevalencia”

El enfoque plurianual permite establecer una serie de medidas constantes a lo largo de los años, aunque en función de la evolución de la enfermedad puede ser necesario implementar medidas adicionales. Por ello, para la elaboración de este programa plurianual que se presenta para el periodo 2008-2010 se han tenido en cuenta, además de las distintas partes implicadas en la ejecución del programa (Comunidades Autónomas, Sectores Productivos, Asesores Científicos), las recomendaciones de las misiones de la FVO y del subgrupo de la Tuberculosis Bovina de la Task Force para España, así como el documento de trabajo SANCO/10200/2006 de dicho subgrupo "Erradicación de la Tuberculosis Bovina en la UE".

Así mismo, la elaboración de todo programa en sanidad animal requiere la evaluación previa del los indicadores epidemiológicos más relevantes y disponibles gracias a los sistemas de control y vigilancia que se vienen aplicando a lo largo de los años. Por ello, se presentan a continuación la evolución de dichos indicadores, que permiten evaluar las tendencias de evolución de la enfermedad:

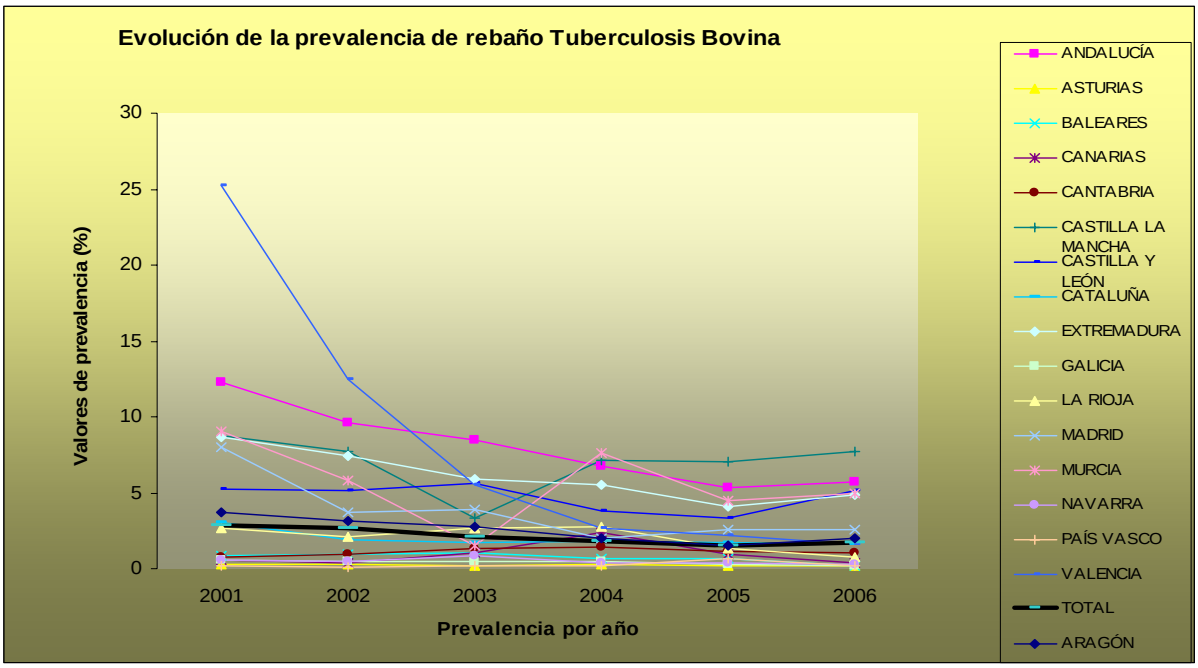
PREVALENCIA DE REBAÑO:



Como se puede apreciar en la evolución de este indicador epidemiológico, la tendencia que ha manifestado mediante la ejecución del programa nacional en los últimos 20 años ha sido de un descenso sostenido pero moderado de la enfermedad, con rebrotes puntuales aproximadamente cada 5 años. Esa misma tendencia se ha manifestado en el año 2006, en el que se ha producido un ascenso de este indicador que debe ser, a nuestro juicio, también puntual y cuyo análisis detallado figura en el Informe Final de dicho año. El programa presentado en el año

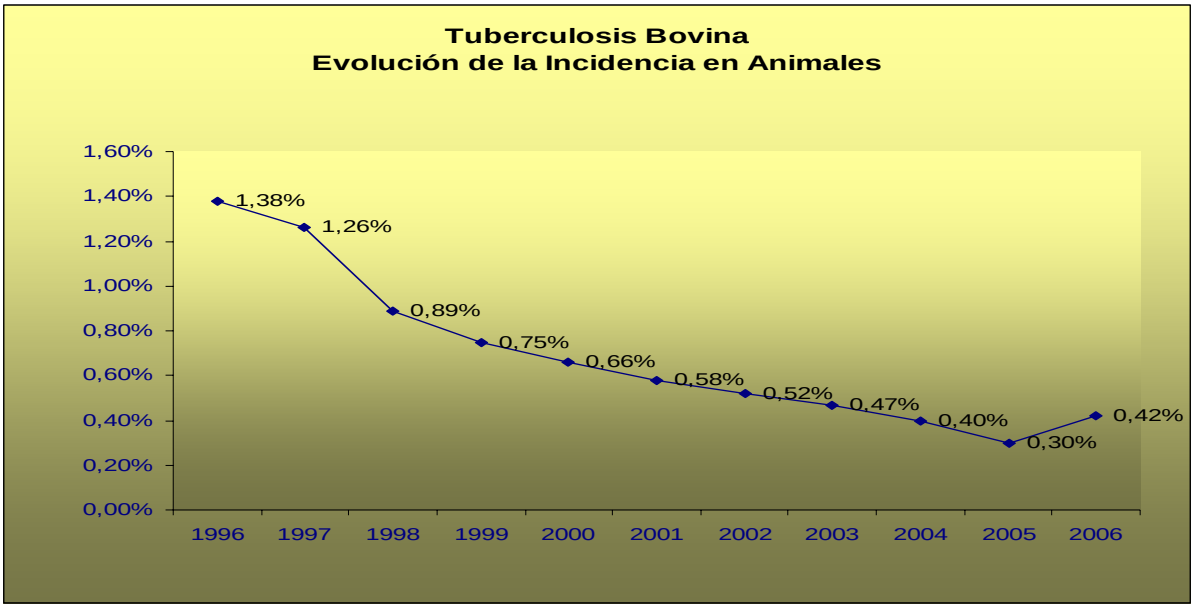
2006 y sobre todo, en el 2007, introdujo una serie de medidas correctoras que deben proporcionar resultados positivos apreciables en los años siguientes del programa plurianual. No obstante, este aumento aconseja la introducción de medidas adicionales de refuerzo, aunque menores. La evolución de la enfermedad en las distintas Comunidades Autónomas se refleja en los siguientes tabla y gráfico:

CCAA	EVOLUCIÓN DE LA PREVALENCIA DE REBAÑO (EN %)					
	2001	2002	2003	2004	2005	2006
ANDALUCÍA	12,32	9,65	8,47	6,73	5,32	5,76
ARAGÓN	3,74	3,14	2,75	2,03	1,56	1,96
ASTURIAS	0,3	0,32	0,22	0,24	0,18	0,17
BALEARES	0,82	0,92	1,02	0,65	0,65	0,22
CANARIAS	0,53	0,34	1,05	2,4	1	0,36
CANTABRIA	0,73	1	1,34	1,41	1,16	1,05
CASTILLA LA MANCHA	8,8	7,69	3,36	7,19	7,02	7,71
CASTILLA Y LEÓN	5,21	5,1	5,66	3,78	3,37	5,11
CATALUÑA	3,09	1,93	1,74	1,78	1,7	1,65
EXTREMADURA	8,69	7,45	5,95	5,57	4,05	4,84
GALICIA	0,56	0,52	0,43	0,46	0,31	0,20
LA RIOJA	2,7	2,05	2,7	2,76	1,31	0,72
MADRID	8,04	3,69	3,92	1,99	2,58	2,59
MURCIA	9,02	5,79	1,48	7,59	4,46	4,96
NAVARRA	0,6	0,52	0,82	0,36	0,38	0,27
PAÍS VASCO	0,16	0,06	0,17	0,22	0,64	0,19
VALENCIA	25,22	12,47	5,56	2,63	2,16	1,61
TOTAL	**2,9**	**2,7**	**2,14**	**1,8**	**1,52**	**1,76**



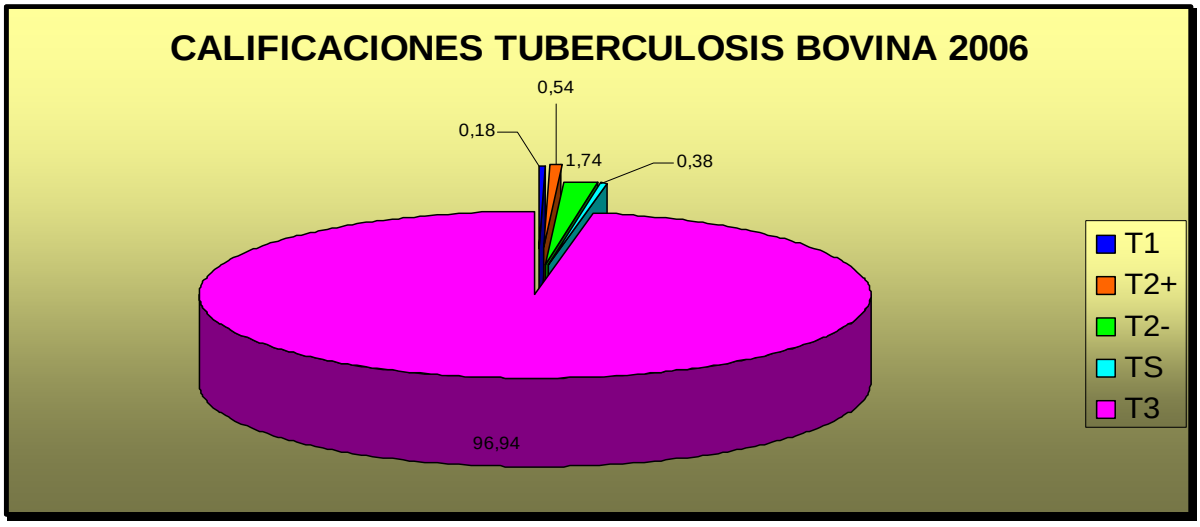
INCIDENCIA EN ANIMALES:

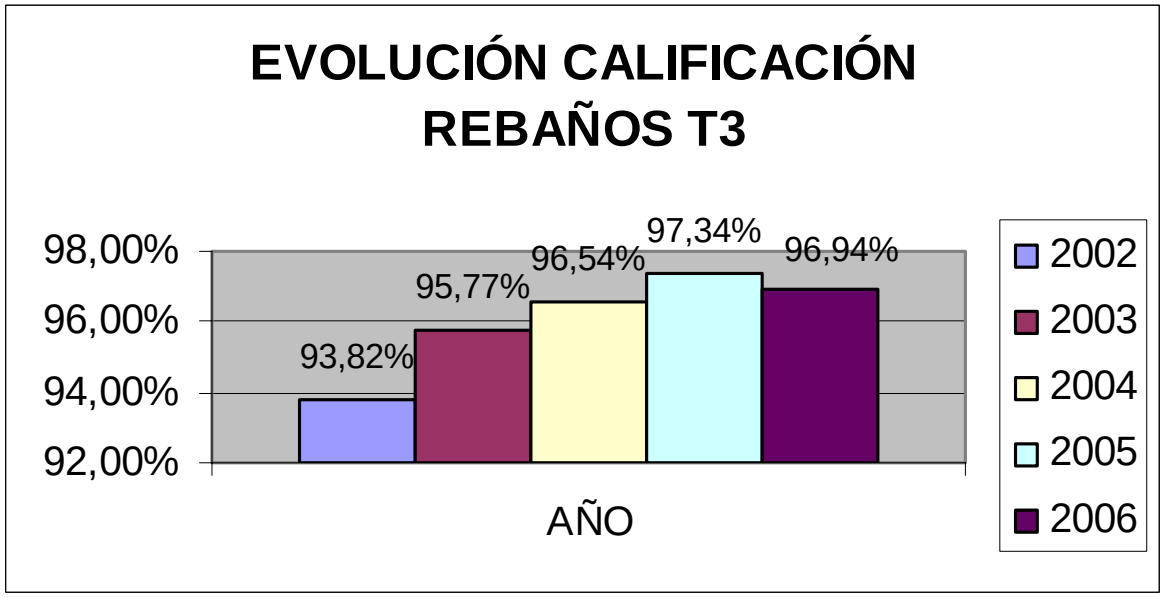
La evolución de éste indicador epidemiológico muestra un retroceso en el descenso continuo experimentado en los últimos 10 años:



CALIFICACIÓN DE LOS REBAÑOS:

Se ha producido un retroceso en el porcentaje de rebaños calificados como oficialmente indemnes de tuberculosis, que se ha situado en el 96,94% (97,34% en 2005):





El número total de rebaños referidos a 2006 y comunicado mediante el sistema Web RASVE por las Comunidades Autónomas asciende a 164.435 (166.306 en 2005, 171.190 en 2004) de los cuales 141.710 (146.924 en 2005, 154.610 en 2004) estaban incluidos en el programa, con un total de en torno a 6 millones de animales, de los cuales aproximadamente 4,7 millones estaban incluidos en el programa. De ellos, 129.617 rebaños son de aptitud cárnica y 34.818 de aptitud lechera. El número de cabras se sitúa en torno a los 3 millones de cabezas.

El programa se dirige al ganado bovino, incluyendo así mismo al ganado caprino que conviva con el ganado vacuno. La población destinataria de las medidas descritas en los Programas de Erradicación son todos los animales de la especie bovina destinados a reproducción, producción de carne, leche u otras producciones, o a trabajo, certámenes o exposiciones. Se incluyen todas aquellas unidades de cebo calificadas como T3 y sólo se excluyen las unidades de cebo no calificadas, entendidas como unidades cerradas y cuyo destino exclusivo es el matadero.

En el caso del ganado de Lidia y espectáculos taurinos tradicionales, por sus especiales características, se establece un sistema diferenciado en la ejecución del programa, en función de su sistema de explotación o crianza y de la dificultad que entraña el manejo de estos animales. Este sistema se establece mediante el Real Decreto 1939/2004, de 27 de septiembre, por el que se regula la calificación sanitaria de las ganaderías de reses de lidia y el movimiento de animales pertenecientes a éstas. A través de este sistema diferenciado se pretende extender este programa a las explotaciones de raza brava de todo el territorio nacional.

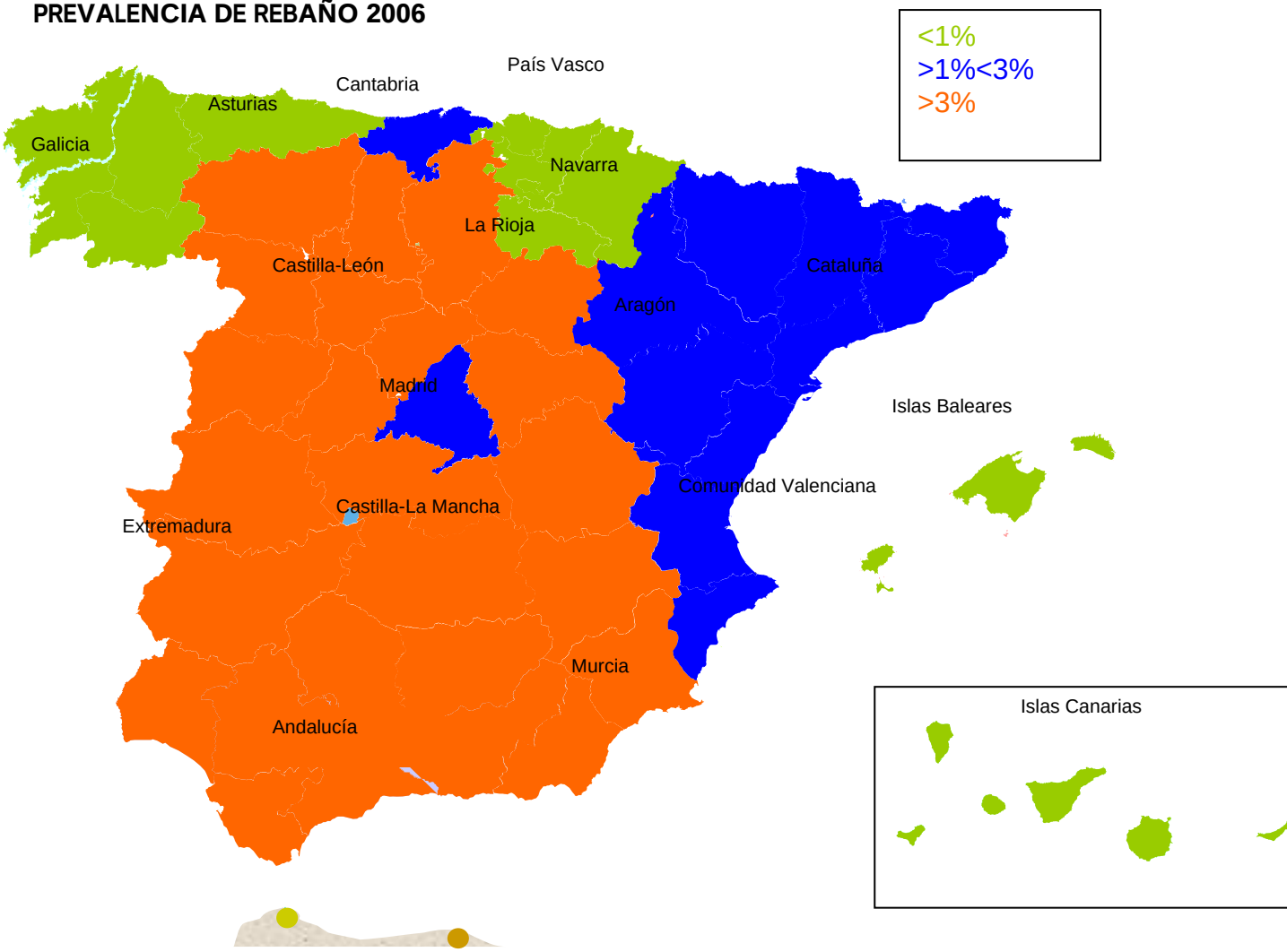
Aunque la evolución de la enfermedad muestra un avance en la lucha moderado pero sostenido en los últimos años, con retrocesos puntuales, hay que destacar que existen diferencias importantes entre Comunidades Autónomas, pues mientras en las Comunidades Autónomas del norte de España, donde se concentra el ganado lechero, donde la prevalencia de rebaño en este sub-sector fue del 0,66%, el porcentaje de establos libres supera el 99%, mientras que en otras este porcentaje es sensiblemente más bajo. Este hecho se debe a que las campañas de saneamiento se iniciaron más tarde en el vacuno de carne, por lo que la erradicación lleva un cierto retraso en las Comunidades Autónomas donde el porcentaje del vacuno de aptitud cárnica es mayor.

A ello se une que el bovino de carne, donde la prevalencia de rebaño fue del 2,10% se explota en su mayoría en regiones en general caracterizadas por una orografía desfavorable, que condiciona el sistema de explotación y de manejo de los animales, con explotaciones de ganado bovino en régimen extensivo constituido principalmente por razas autóctonas (incluida la lidia) sometidas a un régimen de pastoreo en común en zonas de difícil acceso y en determinadas zonas compartiendo explotación con otras especies, en especial el ganado caprino. La convivencia con la fauna salvaje, reservorio de la enfermedad, es otro factor condicionante que vulnera la óptima evolución del programa de erradicación, habiéndose aislado *M. bovis* en jabalí, ciervo o corzo.

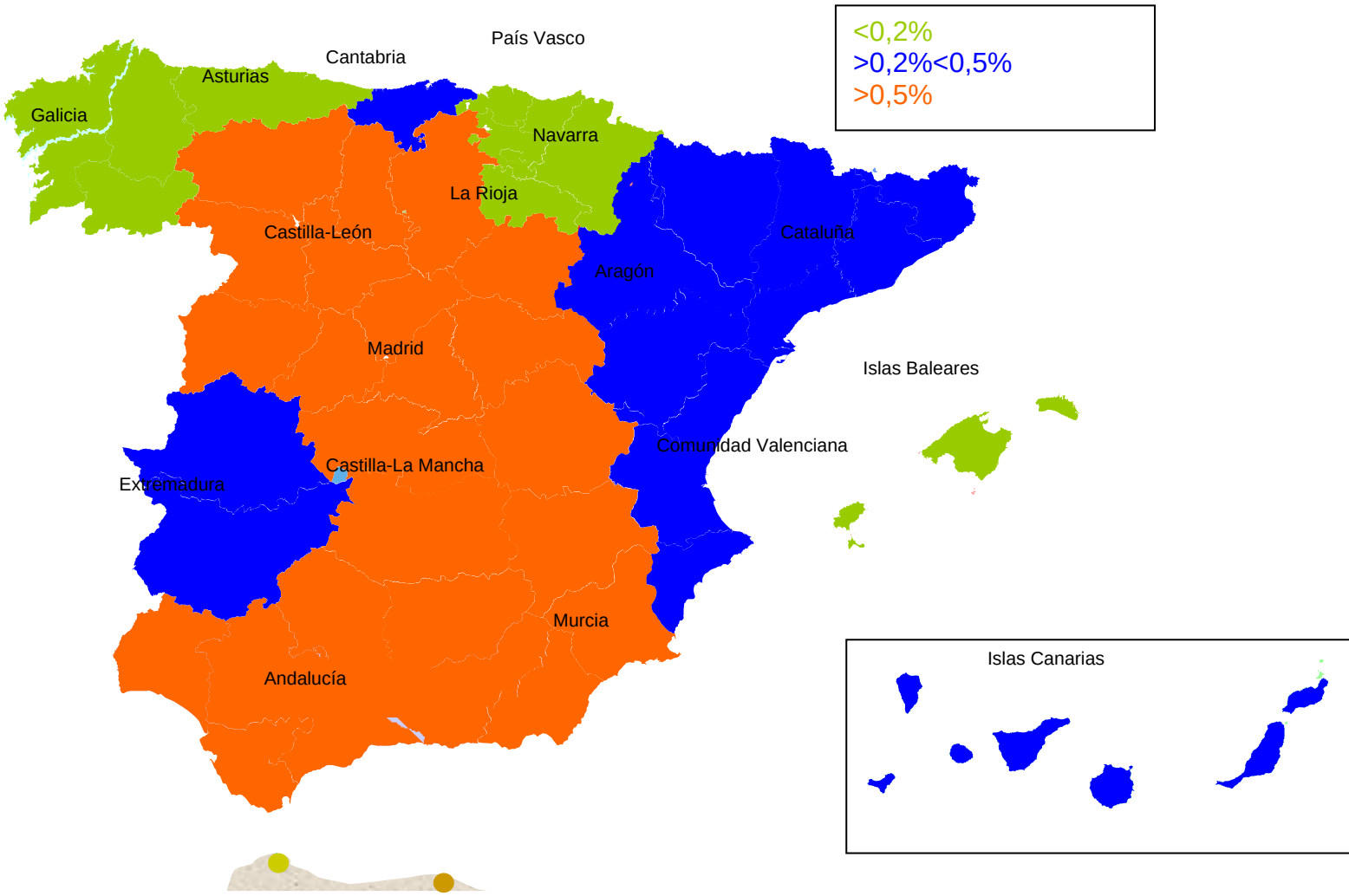
A todas estas peculiaridades que presentan los países de gran extensión, con factores geográficos diversos que hacen que existan regiones o áreas con características ecológicas y epidemiológicas similares y, por ello, con prevalencias de enfermedad homogéneas, debemos añadir que otro hechos que afectan a la lucha frente a la enfermedad son: la elevada cantidad de movimientos de animales existentes entre rebaños, lo que dificulta su control; la escasa sensibilidad y especificidad de la prueba cutánea principalmente en casos dudosos o rebaños co-infectados con paratuberculosis; la lentitud en las pruebas laboratoriales de confirmación de la enfermedad; o la dificultad de establecer el vínculo epidemiológico en los nuevos focos, lo que en determinados casos indica que existen problemas de diagnóstico en la calificación de los rebaños. A buena parte de estas dificultades se intentó dar respuesta mediante el programa 2007.

MAPAS DE LA ENFERMEDAD

PREVALENCIA DE REBAÑO 2006



INCIDENCIA DE ANIMALES 2006



3. DESCRIPCION DEL PROGRAMA PRESENTADO:

3.1 OBJETIVO PRINCIPAL:

Los Estados Miembros son los primeros responsables de la erradicación de la tuberculosis bovina. Por lo tanto, el objetivo final es la erradicación de la enfermedad, considerando como tal la consecución de no mas de un 0,1% de rebaños bovinos infectados por año durante 6 años consecutivos, y que al menos el 99,99% de los rebaños son oficialmente libres durante esos 6 años consecutivos.

3.2 ÁREA DE APLICACIÓN

Comprende todo el territorio nacional, aunque siguiendo criterios del Comité FAO/OMS, al ser España un estado de gran extensión y con elementos y factores geográficos diversos, se plantean estrategias diferentes referidas a regiones u otras áreas que tienen características ecológicas y /o epidemiológicas similares y presentan una prevalencia de enfermedad homogénea.

3.3 POBLACIÓN DIANA

Actualmente el programa se desarrolla para todos los bovinos que define la Directiva 64/432/CEE y modificaciones, incorporada al ordenamiento jurídico interno por el Real Decreto 1716/2000, por el que se establecen las normas sanitarias para el intercambio intracomunitario de animales de las especies bovina y porcina, incluidas todas aquellas unidades de cebo calificadas T3.

Por lo tanto, sólo pueden quedar excluidas del programa las explotaciones de cebo siempre que sean unidades de cebo puras, explotadas en condiciones cerradas de forma que no supongan ningún riesgo de diseminación de la enfermedad. Dichas explotaciones, no incluidas en el programa, sólo pueden trasladar animales con destino directo y exclusivo a matadero, lo que se verifica a través de la base de datos SIMOGAN y de los distintos sistemas de expedición de documentación sanitaria de traslado de las comunidades autónomas. El Real Decreto 2611/1996 y sus modificaciones contemplan a este tipo de explotaciones como cebaderos no calificados.

3.4 PRINCIPALES MEDIDAS

El control diagnóstico de Tuberculosis Bovina se realiza en animales a partir de las 6 semanas de edad (IDTB). Las principales medidas adoptadas se basan en pruebas de detección de animales positivos y sacrificio obligatorio de los mismos, estando prohibida la utilización de tratamientos y profilaxis vacunal frente a la enfermedad. Siempre que exista un grave riesgo para la salud pública u otra razón de índole sanitaria, a criterio de las autoridades competentes, se podrá ampliar el sacrificio, procediendo a realizar el vaciado sanitario de la explotación. Como técnica de rutina se utiliza la IDTB simple o de comparación, complementándose estratégicamente con el uso del gamma-interferón en aquellos casos en que se precisa incrementar la detección de animales infectados.

Otras medidas implementadas, han consistido en instaurar medidas profilácticas sobre las explotaciones donde se han detectado bovinos reaccionantes positivos, implicando tanto a las instalaciones como a los pastos y un control exhaustivo de los movimientos y reposición de estas explotaciones, así como la intensificación de las pruebas diagnósticas para elevar con la mayor brevedad posible su calificación sanitaria. En los años 2006 y 2007 se introdujo la obligatoriedad de realizar chequeos previos a los movimientos de animales, con algunas excepciones, con el objetivo de proteger a los rebaño libres de enfermedad. Dado el aumento de la prevalencia de rebaño experimentado en 2006, conviene limitar aun más

dichas excepciones con el principal objetivo de incrementar la prevención de introducción de la enfermedad en las unidades libres a través del elevado número de movimientos de animales existente entre rebaños pero también entre unidades del mismo rebaño situadas en zonas geográficas y epidemiológicas distintas.

Todas estas medidas de prevención, control y erradicación deben ser necesariamente complementadas, para que sean efectivas, por prácticas adecuadas de manejo aplicables a la prevencion y el control de otras enfermedades infecto-contagiosas. Por ello, las autoridades competentes realizarán, durante las distintas actividades de ejecución del programa, la entrega de las Guías de Prácticas Correctas de Higiene (www.mapya.es), elaboradas por el M.A.P.A. y los distintos sectores productivos (vacuno de leche, vaca nodriza, vacuno de cebo http://www.mapa.es/app/voc/estudios/estudios.aspx) y la explicación a los responsables de los rebaños de las medidas de sanidad y bienestar animal que en ellas se contemplan.

3.5 DEFINICIÓN DE CASO POSITIVO

Un rebaño se considera positivo, de acuerdo con el RD 2611/1996 y modificaciones, si en él al menos un animal susceptible de ser examinado por su edad no ha superado las pruebas oficiales (tanto de rutina como complementarias) con resultado favorable ó no ha sido sometido a la totalidad de las pruebas de diagnóstico previstas en el Real Decreto 1716/2000.

3.6 OBJETIVOS DETALLADOS DEL PROGRAMA

El análisis de los datos y de los objetivos propuestos en el Programa de Erradicación del año 2006 y anteriores, hace necesario continuar con la sectorización por Comunidades Autónomas en función de la prevalencia actual de la enfermedad y con la segregación de objetivos según la situación real de la misma, intensificando en cada uno de los grupos considerados las medidas contempladas en programas anteriores para conseguir los objetivos propuestos en dichos programas a corto plazo (3 años), con el fin de poder avanzar hacia objetivos mas ambiciosos en programas posteriores.

Así mismo, dado que el Programa 2006 inició un enfoque plurianual, que está siendo continuado en el año 2007, los objetivos se marcan en consonancia con lo establecido en dicho programa para los años 2008, 2009 y 2010. No se incluyen medidas básicas distintas a las del programa 2007, sino sólo medidas de refuerzo ante el repunte sufrido en 2006, ya que en dicho programa se incorporaron las principales recomendaciones en la lucha contra la enfermedad aconsejadas por el subgrupo de la Task Force para España.

a) **Comunidades Autónomas con una prevalencia de rebaño de 0%:** El objetivo es mantener este nivel de prevalencia de rebaño durante 2008, 2009 y 2010 y alcanzar un porcentaje de rebaños oficialmente indemnes de al menos el 99,99%. Son aquellas reflejadas en el punto A del anexo I.

b) **Comunidades Autónomas con un rango de prevalencia de rebaño inferior a 1%:** El objetivo es alcanzar en 2010 un nivel de prevalencia de rebaño del 0% en aquellas CCAA cuya prevalencia en el año 2006 ha sido inferior a 1% y al menos tener un 99,99% de rebaños calificados como oficialmente indemnes. Por lo tanto, en los años 2008, 2009 y 2010 deben conseguir una disminución anual del 33,33% en la prevalencia de rebaño. Son aquellas reflejadas en el punto B del anexo I.

c) **Comunidades Autónomas con un rango de prevalencia de rebaño superior al 1%:** El objetivo es alcanzar los valores de prevalencia de rebaño (0,1%) que se exigen para considerar la erradicación de la enfermedad en el año 2010. Por tanto, en los años 2008, 2009 y 2010 deben conseguir una disminución en el nivel de prevalencia de rebaño de un 33%. Son aquellas reflejadas en el punto C del anexo I.

Se relacionan a continuación las **medidas específicas** en función de la sectorización recogida en los *Objetivos detallados del programa* (distintas medidas en cada grupo de CCAA) y **medidas generales** aplicables a todas las CCAA:

A) Comunidades Autónomas con un rango de prevalencia de rebaño inferior a 1% (grupos a y b) o de "baja prevalencia":

A.1 <u>Explotaciones bovinas T3</u>:

Realización, como mínimo, de un chequeo anual en todos los animales que, por su edad, sean susceptibles de ser investigados.

En aquellas explotaciones calificadas como T3 en que aparezca algún animal positivo, se realiza una encuesta epidemiológica rigurosa para tratar de identificar la causa de dicha positividad. Esta encuesta epidemiológica se realizará siguiendo el "Manual para la realización de encuestas epidemiológicas 2006" y deberá contener al menos los datos que figuran en el mismo. En todos los casos se manifestará en la encuesta la opinión del encuestador y de los servicios veterinarios oficiales encargados de realizar la evaluación epidemiológica final sobre la posible fuente de infección.

Se procede al sacrificio de el/los reaccionantes positivos para la toma de muestras según establece el apartado 1 del anexo I del Real Decreto 2611/1996, con el fin de confirmar o descartar Mycobacterium bovis. Esta toma de muestras se realizará de acuerdo con el "Manual de procedimiento para la toma y envío de muestras para el cultivo microbiológico de tuberculosis 2006". En el resto de animales de la

explotación se procede a realizar una IDTB comparativa, así como cualquier otra prueba complementaria oficial que se considere necesaria para realizar un diagnóstico diferencial de la enfermedad, principalmente con paratuberculosis y otras micobacterias aviares y ambientales que provocan reacciones cruzadas. Estas pruebas se realizarán siguiendo el "Manual de procedimiento para la realización de la prueba IDTB de comparación y del gamma-interferón 2007".

Todos los Manuales a que se refiere este programa nacional están disponibles en el link http://rasve.mapa.es/, dentro de su epígrafe "Programas sanitarios".

Los criterios para la suspensión o retirada de la calificación T3 se realizan según lo establecido en el anexo I del Real Decreto 1716/2000. Si los exámenes y toma de muestras post-mortem en los reaccionantes positivos no se realizan o bien no se completan según el protocolo establecido (Manual) por cualquier causa, el estatuto T3 será, en cualquier caso, retirado. En los casos en que la enfermedad sea confirmada, se procede a comprobar las salidas de animales con destino reproducción que se hayan producido desde la explotación durante los 6 meses anteriores a la aparición de el/los animales positivos, con el fin de que puedan someterse a pruebas para comprobar si pueden haber actuado como fuentes de infección en las explotaciones de destino. Se utilizará así mismo la Base Nacional de Espoligotipos en la investigación del posible origen de la enfermedad.

A.2. Explotaciones bovinas T2

Realización, como mínimo, de 2 chequeos al año.

Se realiza el seguimiento anatomopatológico, microbiológico y epidemiológico de las explotaciones positivas, y siempre en el caso de aparezcan animales positivos en rebaños previamente negativos, comprobándose el grado de cumplimiento de las medidas de bioseguridad general que figuran en las Guías de Prácticas Correctas de Higiene.

De igual forma, se realizarán encuestas epidemiológicas en rebaños definidos como "intermitentes" en el Manual. Se valora especialmente en estas zonas la conveniencia de realizar vacíos sanitarios, principalmente en el caso de repetidas actuaciones positivas, y siempre (excepto situaciones excepcionales, como protección de recursos genéticos) que aparezca un rebaño positivo confirmado en el las Comunidades Autónomas del grupo a) o en comarcas veterinarias de las Comunidades Autónomas del grupo b) cuya prevalencia de rebaño sea del 0%.

B) Comunidades Autónomas con un rango de prevalencia de rebaño mayor de 1%:

B.1. Explotaciones bovinas T3:

Se siguen los mismos criterios que en el epígrafe A.1, con las siguientes particularidades:

En aquellas comarcas o unidades veterinarias donde la prevalencia de rebaños se sitúe por debajo del 1% se siguen los mismos criterios que los establecidos para CCAA de baja prevalencia (encuesta epidemiológica, confirmación, IDTB comparativa, uso de otros métodos diagnósticos complementarios).

En los demás casos (comarcas o UVL con prevalencia>1%) se utiliza, salvo en casos puntuales debidamente justificados mediante la encuesta epidemiológica ("rebaños intermitentes"), la IDTB simple, aplicando una interpretación severa de la técnica (recomendación Task Force (29/05/2000), de forma que cualquier resultado no negativo sea considerado como positivo si en la realización de la prueba existe además al menos un reactor positivo, o si existe además al menos otro u otros animales cuyo resultado no sea negativo.

Las explotaciones de aptitud reproductora ubicadas en comarcas o UVL cuya prevalencia de rebaño en 2006 haya sido superior al 3% deberán aumentar su frecuencia de chequeos rutinarios a 2 pruebas anuales, con un intervalo mínimo entre ellas de 6 meses.

B.2. Explotaciones bovinas T2:

Se realizan, como mínimo, tres chequeos al año. Se aplicará la interpretación estricta del test IDTB simple (recomendación Task Force (29/05/2000)), de forma que ante la realización de la prueba, cualquier resultado no negativo será considerado positivo desde el primer momento.

Se realiza el seguimiento anatomopatológico, microbiológico y epidemiológico de los brotes, si la situación epidemiológica así lo requiere, y siempre en el caso de aparezcan animales positivos en rebaños previamente negativos. De igual forma, se realizarán encuestas epidemiológicas en rebaños definidos como "intermitentes" en el Manual.

Se utilizará así mismo la Base Nacional de Espoligotipos en la investigación del posible origen de la enfermedad, comprobándose además el grado de cumplimiento de las medidas de bio-seguridad general que figuran en las Guías de Prácticas Correctas de Higiene.

Si por parte de los SVO se identifica como reservorio o fuente de infección una especie de fauna silvestre o cinegética que cohabita con el ganado en la misma explotación, los SVO junto con el titular de la explotación y las autoridades competentes en Medio Ambiente, acordarán un plan integral que permita controlar la transmisión y limitar el contacto entre el ganado y la fauna silvestre, incluyendo la separación de las dos poblaciones cuando sea posible o limitando la densidad de las especies cinegéticas en la explotación (sacrificios selectivos, no aporte de alimentación suplementaria...).

Si una vez identificado un reservorio silvestre no se establece un plan integral de control en la explotación, no se aplicará el vaciado sanitario (salvo excepciones), el

intervalo mínimo entre la 2 pruebas de calificación del rebaño se aumentará a 9 meses como mínimo y en todos los movimientos posteriores a la calificación, se utilizarán en el chequeo previo al movimiento del lote, siempre que se trate de animales con destino reproducción, las pruebas de la IDTB simple y del gamma-interferón en paralelo.

B.3. Estrategia de uso de gamma-interferón en explotaciones positivas:

En comarcas o UVLs con prevalencia de rebaño en 2006 superior al 1%, se procederá a la utilización de las pruebas de IDTB simple y de gamma-interferón en paralelo en aquellos rebaños que presenten al menos 2 positividades reiteradas (consecutivas o alternas).

En comarcas o UVLs de especial incidencia (con prevalencia de rebaño en 2006 mayor del 3%) se aplicará la misma estrategia además en todos los nuevos rebaños positivos confirmados, en la primera repetición que se realice tras la prueba de detección positiva. Cuando existan dificultades añadidas, de tipo técnico o logístico y principalmente en áreas remotas (ya que las muestras deben llegar al laboratorio dentro de las 8 horas siguientes a su extracción), que dificulten la aplicación de esta medida, la CA afectada informará a la SGSA de las causas, medidas y calendario previstos para corregir esa situación, relacionando las comarcas veterinarias afectadas por dicha excepción provisional. En esos casos el intervalo entre las 2 pruebas negativas de calificación se aumentará a un mínimo de 9 meses si la prueba del gamma-interferón no ha sido realizada.

La técnica del gamma-interferón es de una gran utilidad para aumentar la sensibilidad del diagnóstico y se contempla como una prueba complementaria en el ámbito de la normativa comunitaria y nacional. El uso de esta técnica en paralelo con la IDTB permite la detección de más animales infectados (2 de cada 3 falsos negativos a la IDTB usada como única técnica), reduciéndose el tiempo necesario para la eliminación de la infección, por lo que es necesario un uso estratégico de esa técnica en las zonas de alta prevalencia. En los casos en que en el rebaño existan enfermedades concomitantes como la paratuberculosis, la eficacia de este uso estratégico se puede ver comprometida, por lo que en las decisiones de gestión del riesgo en estos rebaños se tendrá en cuenta el asesoramiento científico proporcionado por el Departamento de Sanidad Animal de la Facultad de Veterinaria de la UCM.

El uso de la técnica del gamma-interferón sólo se realizará, en el marco de este programa nacional, para permitir la detección del máximo número de animales infectados, lo que debe ser tenido siempre en cuenta en la interpretación de los resultados por parte de los SVO en su utilización en las unidades epidemiológicas no libres de la infección. El punto de corte utilizado es el autorizado en el expediente de registro del kit por la SGSA. En rebaños en que tras el uso de la prueba, los datos laboratoriales y epidemiológicos sugieran que el mismo puede considerarse, en principio, como rebaño ya no infectado, los SVO evaluarán la conveniencia o no de utilizar nuevamente la prueba y los criterios de interpretación, en su caso.

La técnica se realizará en todos los animales mayores de 6 meses, como mínimo.

C. Medidas comunes aplicables en todas las Comunidades Autónomas*:*

Chequeos previos a los movimientos:

Se realizan chequeos previos en los movimientos de animales (todos los animales mayores de 6 semanas objeto del movimiento, independientemente del tipo que sea), excepto los que tengan como destino un matadero o unidades de cebo cerradas cuyo destino posterior sea matadero, o bien entre unidades de rebaño o explotación pertenecientes al mismo titular y situadas en la misma provincia, siempre que no sean unidades donde se junten animales de distintos titulares o el origen del movimiento sea una UVL de alta prevalencia (>1%).

La obligación de realizar pruebas previas o posteriores al movimiento no se aplicará, así mismo, a rebaños que lleven calificados como T3 más de 3 años consecutivos, salvo en los siguientes casos, en que sí serán necesarias:

1. En los movimientos de retorno de trashumancia (a la CCAA de origen de los animales) o de pastos de aprovechamiento en común.

2. En los movimientos de animales de aptitud reproductora con destino a explotaciones de reproducción o certámenes ganaderos.

3. En movimientos que tengan como origen una comarca o UVL de alta prevalencia (>1%), salvo las excepciones previstas en el primer párrafo (matadero o unidades de cebo cerradas con destino posterior matadero).

Las pruebas se realizan, de forma general, dentro de los 30 días anteriores al movimiento. No obstante, cuando por causa justificada el movimiento del animal o grupo de animales no se haya realizado en los 30 días de validez de la prueba, dicha validez podrá ampliarse hasta un máximo de 45 días en el caso de que el animal o grupo de animales deban ser objeto de un movimiento entre explotaciones, al igual que en el caso de que deban realizar un nuevo cambio de explotación.

También el chequeo podrá realizarse posteriormente al movimiento, previo acuerdo de las autoridades competentes de origen y de destino de los animales, para lo cual será necesario mantener el aislamiento de los animales hasta obtener el resultado negativo a la prueba. En estas condiciones, las pruebas podrán realizarse dentro del plazo de 45 días.

No cumplimiento de los objetivos previstos en el programa:

Con carácter general, para todas las Comunidades Autónomas, si no se cumple con los objetivos previstos, se deberá remitir un informe anual con la exposición de motivos que lo justifique.

Vigilancia en fauna silvestre:

Se continuará con el sistema vigilancia de animales silvestres en todas las Comunidades Autónomas (salvo en aquellas sin especies silvestres reservorio o de escasa extensión geográfica, donde será optativo) para evaluar su posible papel como reservorio de la enfermedad si a través de las encuestas epidemiológicas se identifican o sospechan reservorios silvestres. Dicho sistema autonómico se complementa mediante el "CONVENIO DE COLABORACIÓN ENTRE EL ORGANISMO AUTÓNOMO PARQUES NACIONALES (MMA), El MINISTERIO DE AGRICULTURA PESCA Y ALIMENTACIÓN (MAPA) Y EL CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (CSIC) PARA LA EJECUCIÓN DE UN PROGRAMA DE VIGILANCIA SANITARIA DE LAS POBLACIONES DE ANIMALES SILVESTRES EN LAS FINCAS Y CENTROS ADSCRITOS AL ORGANISMO AUTÓNOMO PARQUES NACIONALES".

Control en el acceso a pastos de aprovechamiento en común

Se controlará y asegurará la correcta aplicación de las medidas de calificación de pastos con el establecimiento por parte de las Comunidades Autónomas de un protocolo escrito de control riguroso del acceso a los mismos, de forma que se asegure que los pastos donde aparecen animales reaccionantes positivos no son reutilizados en un periodo mínimo de 60 días, salvo las excepciones previstas en la normativa. Al considerarse el pasto como una unidad epidemiológica, la excepción referida consiste en la aplicación de los establecido en el artículo 24 del Real Decreto 2611/1996, según el cual, ante la confirmación de la enfermedad, el único movimiento permitido es a matadero hasta que, tras la realización de la batería de pruebas necesarias, todos los animales que permanecen aislados en dichos pastos obtengan resultados negativos. Dicho protocolo incluirá al menos 2 visitas de inspección, de las cuales se dejará constancia mediante acta normalizada.

Pueden acceder a pastos calificados sanitariamente, únicamente los animales de explotaciones calificadas sanitariamente. Cada pasto se considera una única unidad epizootiológica y ostenta una única calificación sanitaria que afecta a todas las explotaciones con animales en dicho pasto. Si se introduce ganado nuevo, automáticamente el pasto adquiere la calificación más baja del ganado ubicado en el mismo. Las pruebas para la recuperación de la calificación se realizan de acuerdo a lo establecido en la normativa comunitaria. En las zonas desprovistas de barreras físicas o naturales, se reforzará la prevención procediendo a la división artificial de los pastos. Con el fin de cumplir con lo dispuesto, los ayuntamientos con ordenanza de pastos, mantendrán actualizado el registro de los pastos comunes así como la ocupación de los mismos.

Control en rebaños de ganado caprino:

Se llevarán a cabo pruebas oficiales de diagnóstico en aquellos rebaños que conviven o aprovechan pastos comunes con el ganado bovino de los rebaños caprinos, en el caso de que alguna de las dos especies se detecte como no libre de la enfermedad, y de aquellos rebaños que, aunque no cumpliendo con el requisito de convivencia, se detecten mediante la encuesta epidemiológica y/o la Base de Espoligotipos como fuentes de la enfermedad para los rebaños de bovino del área de explotación

Se utilizará como prueba de rutina la IDTB comparativa, pudiendo aplicar adicionalmente la prueba de gamma-interferón. Esta especie puede actuar como reservorio de *M. bovis* y sobre todo de *M. caprae*, especie perteneciente a *M. tuberculosis complex* y que puede afectar al ganado vacuno, siendo indistinguible de la enfermedad provocada por *M. bovis* y contribuyendo al mantenimiento de la tuberculosis bovina

En el caso de detectarse algún animal positivo, se sacrificará e indemnizará conforme a lo establecido en el Real Decreto 1328/2000, de 7 de julio. Se procederá a la toma de muestras para el cultivo, aislamiento y tipificación de la cepa, de forma que permitan su comparación y la realización de deducciones epidemiológicas en la Base Nacional de Espoligotipos.

Identificación y sacrificio de reaccionantes positivos:

En el caso de la aparición de animales reaccionantes positivos a esta enfermedad, se identificarán mediante bolo ruminal o sistemas de marcaje genético. Este sistema de identificación no será necesario si los animales se marcan y se transportan al matadero o se sacrifican en la explotación el mismo día del marcado, y además, en el primer caso, se transportan en vehículos precintados por la autoridad competente. En el ganado de lidia se considerará también como válido para esta identificación el método tradicional descrito en el Capítulo II de la Orden del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación de 12 de marzo de 1990, por la que se aprueba el Reglamento Específico del Libro Genealógico de la Raza Bovina de Lidia.

Se procederá al sacrificio de los mismos, bajo control oficial, lo más rápidamente posible y a más tardar, quince días después de la notificación oficial al propietario o al poseedor de los resultados de las pruebas y se indemnizará al ganadero de acuerdo con los baremos oficialmente establecidos, excepto en el caso de animales pertenecientes a un cebadero. Los Servicios Veterinarios Oficiales de los mataderos autorizados remitirán, junto con la documentación contemplada en el artículo 16 del RD 2611/96, el bolo ruminal o el sistema de marcaje genético.

Los animales reaccionantes positivos son enviados a mataderos autorizados para este fin, y la utilización de las carnes para consumo humano se realizará de acuerdo con lo dispuesto en el Reglamento 853/2004, del Parlamento Europeo y del Consejo, por el que se establecen normas específicas de higiene en los alimentos de origen animal. El sacrificio será realizado en un matadero autorizado de la Comunidad Autónoma donde radique la explotación de los animales positivos, y dentro de la Comunidad Autónoma, preferentemente en un matadero autorizado de la provincia donde se encuentre ubicada la explotación. Si no existiesen mataderos

autorizados en la Comunidad Autónoma de origen, en el matadero más próximo. Ello facilitará tanto la toma de muestras para los posibles estudios anatomopatológicos como el seguimiento de los animales hasta su sacrificio. Existe en los Servicios Veterinarios Oficiales de la Administración General del Estado, una relación de todos los mataderos autorizados en España para realizar el sacrificio de animales positivos en Campañas de Saneamiento Ganadero.

Medidas de bioseguridad en explotaciones positivas:

Se pondrá especial interés en las explotaciones en las que haya aparecido algún animal positivo en el correcto cumplimiento de las medidas profilácticas establecidas en el artículo 21 del Real Decreto 2611/1996

De forma concreta, los Servicios Veterinarios oficiales certificarán que se han efectuado correctamente las medidas de limpieza y desinfección, que se ha respetado, en su caso, el periodo mínimo de 60 días de vacío sanitario para la reutilización de los pastos, y la correcta gestión del estiércol. Estos certificados podrán expedirse en base a otros que hayan sido cumplimentados por empresas acreditadas y debidamente homologadas, principalmente en lo referente a la gestión del estiércol y a la desinfección de las instalaciones.

Asesoramiento científico:

Como complemento a las funciones del LNR, la colaboración y asesoramiento que realiza en este Programa Nacional el Departamento de Sanidad Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid, implica que se le puedan remitir desde los laboratorios de las distintas Comunidades Autónomas (en la medida de sus necesidades) muestras para el cultivo, aislamiento y caracterización molecular de *M. Bovis.* Así mismo, los laboratorios de las Comunidades Autónomas que tengan previsto realizar caracterización molecular adecuarán sus procedimientos con dicho Departamento, bajo supervisión del LNR, y remitirán la información necesaria a dicho departamento para continuar con la elaboración de la Base de Datos Nacional de Espoligotipos, que sirve de soporte a los estudios epizootiológicos.

Sistema de vigilancia en mataderos:

Los sistemas de vigilancia y control a nivel de granja deben ser necesariamente complementados por un sistema de vigilancia en matadero de los animales que procedan de rebaños oficialmente indemnes (T3) o negativos (T2-).

Los responsables de lo mataderos notificarán, por el medio mas rápido posible, a las autoridades competentes en sanidad animal donde radique el matadero, los casos sospechosos de tuberculosis que identifiquen los SVO de salud pública durante la inspección post-mortem de los animales sacrificados de rutina (no reactores positivos), de acuerdo con los artículos 5 y 57 de la Ley 8/2003, de sanidad animal. Las autoridades competentes en sanidad animal comunicarán, en su caso, a las autoridades competentes en sanidad animal de la Comunidad Autónoma de

origen de los animales, la sospecha referida, de lo cual guardarán el correspondiente registro. En la explotación de origen de los animales se aplicarán actuaciones de sospecha de acuerdo con el artículo 18 del Real Decreto 2611/1996.

La toma de muestras se realizará en todos los casos de lesiones sospechosas, bien por los SVO de salud pública del matadero, bien por los SVO de sanidad animal de la provincia donde radique el matadero, para lo cual existirán los mecanismos adecuados de coordinación y comunicación. Las muestras se tomarán, en la medida de lo posible, siguiendo el "Manual de Procedimiento para la Toma y Envío de Muestras para el Cultivo Microbiológico de Tuberculosis", y se remitirán al Laboratorio de Sanidad Animal de la Comunidad Autónoma donde radique el matadero o al LNR. De los resultados de las pruebas diagnósticas se informará a los SVO de Sanidad Animal responsables del rebaño de origen de los animales.

4. MEDIDAS GENERALES DEL PROGRAMA

4.1 Resumen de las medidas

Duración del programa: PLURIANUAL (3 AÑOS)

Primer año: 2008 Ultimo año: 2010

□Control ■Erradicación □ Seguimiento o vigilancia

■Pruebas de detección
■Sacrificio para el consumo humano de animales +
■Sacrificio para otros usos de animales +
■Ampliación del sacrificio
■Eliminación de los productos
■ Otras medidas (especifíquense): ya especificadas

4.2 Designación de la autoridad central responsable de la supervisión y coordinación de los departamentos encargados de ejecutar el programa

La Subdirección General de Sanidad Animal es la encargada de la coordinación del Programa de erradicación, y quien informa a la Comisión de la evolución de esta enfermedad. Los responsables de la ejecución de este Programa son los Servicios competentes de las Comunidades Autónomas.

A través del Real Decreto 1440/2001, de 21 de diciembre, por el que se establece el sistema de alerta sanitaria veterinaria se creó el **"Comité Nacional del Sistema de Alerta Sanitaria Veterinaria"**, que asume competencias en materia de estudio y proposición de medidas para la erradicación de las enfermedades y seguimiento de la evolución de la situación epidemiológica para las enfermedades objeto de

programas de erradicación, así como la aprobación de medidas excepcionales en el marco de dichos programas.

El citado Comité está adscrito al Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, y en él están representadas todas las Comunidades Autónomas. Es la Autoridad encargada de supervisar y coordinar en el marco de las funciones asignadas mediante el Real Decreto 1440/2001, de 21 de diciembre, por el que se establece el sistema de alerta sanitaria veterinaria.

Las funciones del citado Comité han sido evaluadas y figuran en el Perfil de País dentro de la Misión DG(SANCO)/7733/2005 CP FINAL. En relación con los Programas Nacionales de Erradicación de Enfermedades, en la pag. 49 de dicho informe se comprueba que las funciones del Comité se encuadran en el siguiente contexto:

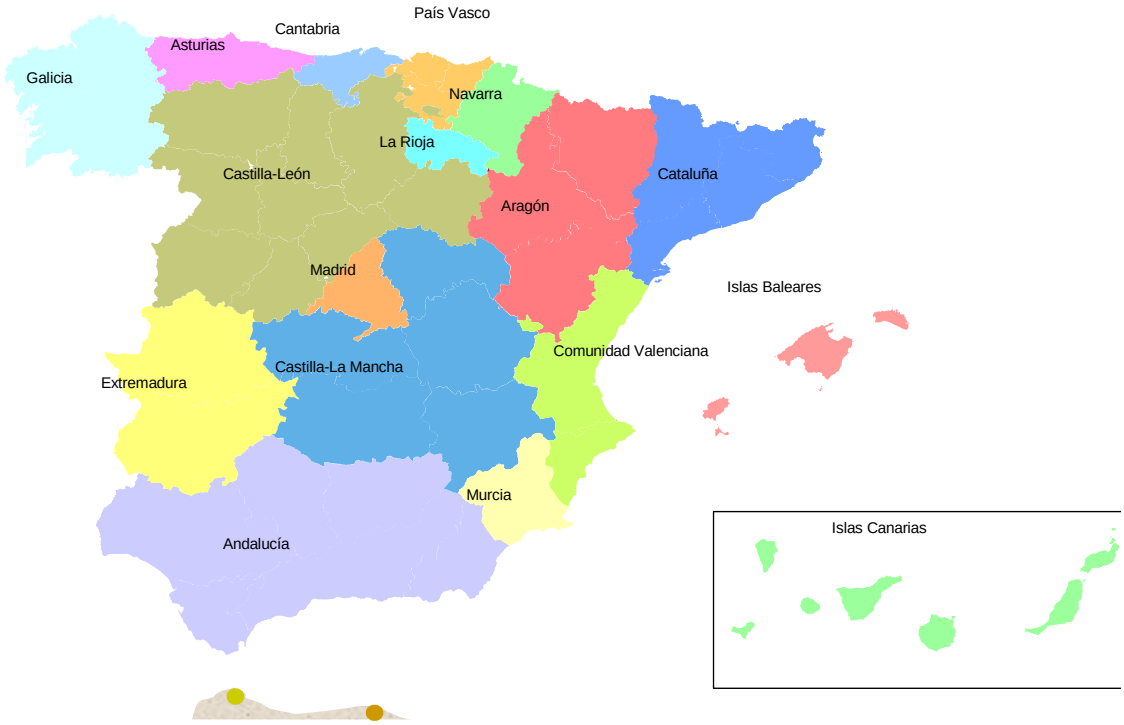
"La supervisión y coordinación de las actividades propias de la ejecución de los Programas Nacionales se efectúa desde la Subdirección General de Sanidad Animal del Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación y, para aquellas cuestiones que requieren del consenso y aprobación efectiva de medidas, a través del Comité Nacional del Sistema de Alerta Sanitaria Veterinaria (con representación de todas las Comunidades Autónomas).

El Comité Nacional del Sistema de Alerta Sanitaria Veterinaria actúa como órgano colegiado decisorio, con la obligatoriedad de adopción de sus resoluciones por parte de todas las autoridades competentes en la ejecución de los programas nacionales. Entre sus responsabilidades tiene asignada la de aprobar o rechazar medidas, tanto en el ámbito de las actividades regulares (Programas Nacionales anuales), como en el de las extraordinarias (Programas o acciones excepcionales, vacunaciones, acciones especiales, etc.).

Según el artículo 28.2 de la Ley 8/2003, de 24 de abril, de sanidad animal, el régimen de funcionamiento del Comité, así como el resto de funciones (no mencionadas expresamente en el texto del citado artículo), serán los establecidos reglamentariamente. En ausencia del desarrollo reglamentario previsto, las funciones se acuerdan por medio de debates en el seno de las reuniones del propio Comité."

4.3. Descripción y delimitación de las zonas geográficas y administrativas en la que vaya a aplicarse el programa:

El programa es de aplicación en todo el territorio nacional.



La organización del desarrollo de las Campañas de Saneamiento Ganadero en cada Comunidad Autónoma, incluye los siguientes niveles:

1.-Nivel Regional, el Director Regional de Campañas que armoniza y controla las Campañas en todas las provincias de la región.

2.-Nivel Provincial, a través coordinador provincial que armoniza y controla las actuaciones de las distintas comarcas de la provincia.

3.-Nivel Comarcal, a través de los coordinadores especialistas en Campañas de Saneamiento y responsables de:

a) Supervisión de equipos, veterinarios colaboradores,...

b) Reuniones con ganaderos para preparar las campañas.

c) Coordinación con oficinas de las Consejerías a nivel comarcal.

d) Repetición de pruebas y actuación en casos dudosos, si es necesario.

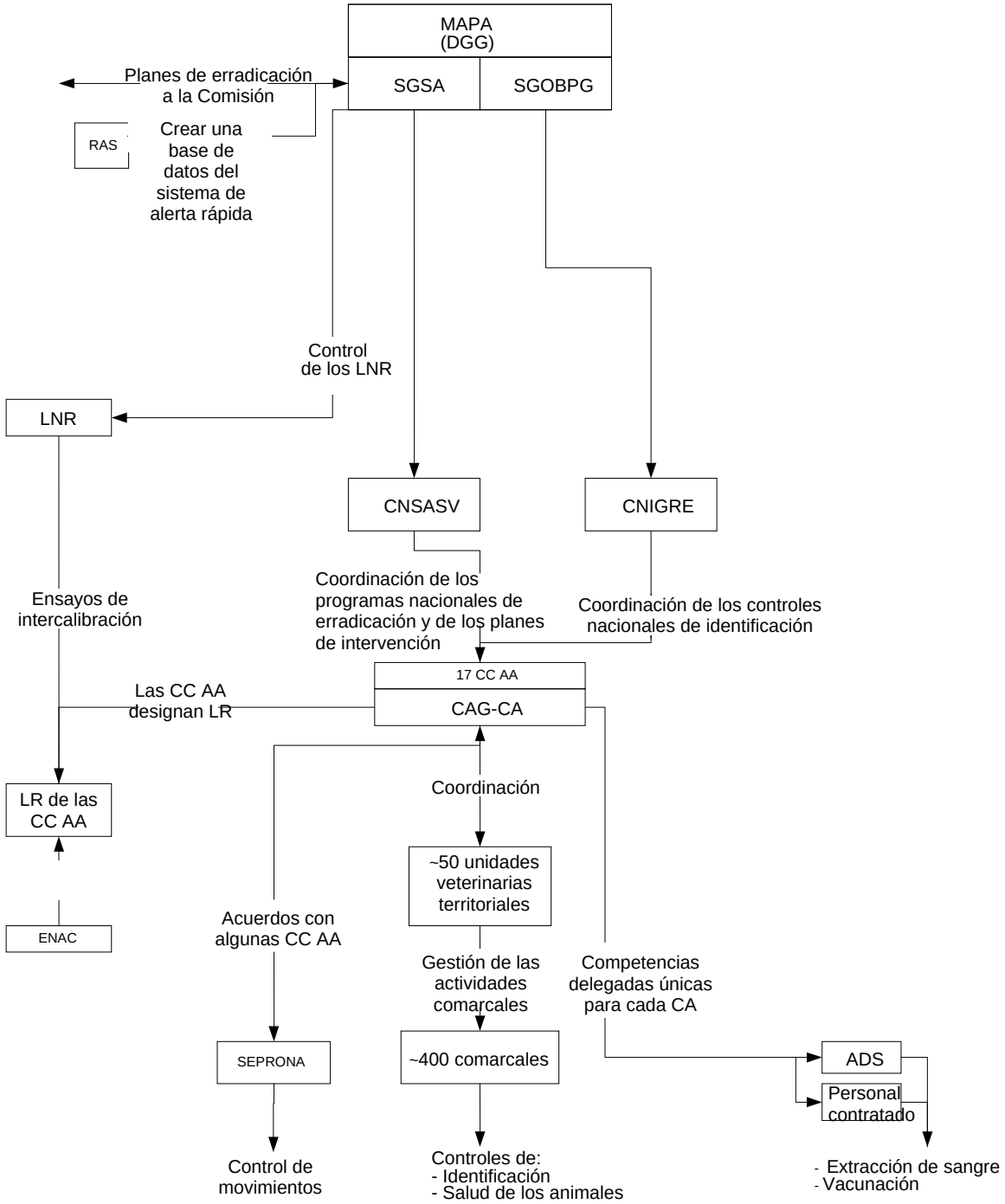
4.-Nivel de campo: existen equipos encargados de efectuar las pruebas diagnósticas, bajo la dependencia directa de los coordinadores.

Este personal, dependiente de las Comunidades Autónomas, es el encargado del control, ejecución y desarrollo del programa.

En los casos en que los equipos que ejecutan el programa a nivel de campo sean entidades privadas (empresas, cooperativas, A.D.S...), la Comunidad Autónoma dispone de un protocolo escrito de inspecciones in situ sobre el trabajo realizado por dichos equipos de campo por parte de los servicios veterinarios oficiales. Dicho protocolo incluye al menos 2 inspecciones anuales sin previo aviso sobre cada equipo de campo, en que se comprobarán obligatoriamente la correcta realización de la técnica diagnóstica a todos los animales que deben ser investigados por su edad, la conservación de los reactivos de diagnóstico y buen estado de los cutímetros y jeringas. De cada una de estas inspecciones se realiza el correspondiente informe y se recogen, además, las implicaciones en el caso de detectarse irregularidades.

Esta organización podrá sufrir modificaciones sobre la base de las adaptaciones que cada Comunidad Autónoma efectúe teniendo en cuenta su propia estructura administrativa. En el Anexo siguiente, se relaciona el personal encargado del control y la ejecución del programa:

	AUTORIDADES COMPETENTES ADMINISTRACIÓN		COMPETENCIAS DELEGADAS	
	Nivel Central	Nivel Periférico CCAA		
M.A.P.A	2 vet			
ANDALUCIA	3 vet	64 vet	250 ADS	
ARAGÓN	2 vet			91 vet contr.
ASTURIAS	8 vet, 2 auxiliares, 1 informático 1 administrativo Laboratorio: 2 vet. 7 aux lab,2 admin	45 vet		54 vet campo empresa servicios
ISLAS BALEARES	3 vet, 1 auxiliar		18ADS	7 vet contrat
ISLAS CANARIAS	4 vet			23 vet, 3 capataces
CANTABRIA	4 vet, 4 admin. Laboratorio: 2 vet, 3 técnic analist, 1 informárti	12 vet		42 vet campo
CASTILLA LA MANCHA	8 vet		300 ADS	
CASTILLA Y LEÓN	4 vet	105		200 contrat , 55 personal de laboratorio
CATALUÑA	10 vet Laboratorio. 7 técnicos superiores, 18 aux lab	40 veter	74 ADS bovino	41 vet contrt o-c
EXTREMADURA	13 vet , 5 aux		85 ADS	109 vet contrat, 39 personal de laboratorio
GALICIA	15 veteri	80 vet		188 vet contratdos
MADRID	7 veter, 3 aux, 10 grabad.		18 ADS	4 vet contratados
MURCIA	3 vet, 2 admin	8 vet	23ADS	8 vet contr
NAVARRA	6 vet , 4 adm			
PAIS VASCO	1 vet	3 vet		30 vet clínicos de campo
LA RIOJA	2 vet, 2 aux,1 aydt pecuario. Laboratorio: 2 tecnicos superiores y 3 aux. labor	15 vet	25 ADS	6 vet. Contrat de campo
VALENCIA	2 vet	8 vet	24 ADS	


MAPA
(DGG)
SGSA
SGOBPG
Planes de erradicación
a la Comisión
RAS
Crear una
base de
datos del
sistema de
alerta rápida
Control
de los LNR
LNR
CNSASV
CNIGRE
Coordinación de los
programas nacionales de
erradicación y de los planes
de intervención
Coordinación de los controles
nacionales de identificación
Ensayos de
intercalibración
17 CC AA
CAG-CA
Las CC AA
designan LR
LR de las
CC AA
ENAC
Coordinación
~50 unidades
veterinarias
territoriales
Acuerdos con
algunas CC AA
Gestión de las
actividades
comarcales
Competencias
delegadas únicas
para cada CA
SEPRONA
~400 comarcales
ADS
Personal
contratado
Control de
movimientos
Controles de:
- Identificación
- Salud de los animales
- Extracción de sangre
- Vacunación

4.4. Medidas aplicadas en el programa:

4.4.1. Medidas y disposiciones legislativas con relación al registro de explotaciones pecuarias:

Todas las explotaciones de ganado bovino deberán estar registradas de acuerdo a lo establecido en el Real Decreto 205/96, de 9 de febrero, modificado por el Real Decreto 1980/1998 que recoge lo establecido en el Reglamento 820/97 del Consejo, derogado por el Reglamento 1760/2000.

La última modificación al respecto en la legislación nacional, lo constituye el Real Decreto 479/2004, de 26 de marzo, que establece y regula el Registro general de explotaciones ganaderas.

4.4.2. Medidas y disposiciones legislativas respecto a la identificación de los animales:

Las disposiciones legislativas en materia de identificación de los animales de la especie bovina están recogidas en el Real Decreto 205/1996, de 9 de febrero, por el que se establece un sistema de identificación y registro de las especies bovina, porcina, ovina y caprina, modificado por el Real Decreto 1980/1998, de 18 de septiembre, por el que se establece un sistema de identificación y registro de los animales de la especie bovina.

4.4.3. Medidas y disposiciones legislativas en lo relativo a la notificación de la enfermedad:

La declaración oficial de la enfermedad se efectuará de conformidad con lo dispuesto en la Ley 8/2003, de Sanidad animal, y con el Real Decreto 2459/1996, de 2 de diciembre, por el que se establece la lista de las enfermedades de los animales de declaración obligatoria y se de la normativa para su comunicación. La tuberculosis es una enfermedad de declaración obligatoria en España.

4.4.4. Medidas y disposiciones legislativas referentes a los casos positivos:

Los casos positivos se tratarán según las disposiciones establecidas en la Directiva 64/432/CEE y sus modificaciones posteriores, la Directiva 97/12/CE y la Directiva 98/46/CE. A nivel nacional, las medidas adoptadas frente a casos positivos están descritas en el Capítulo II del Real Decreto 2611/1996.

Los bovinos en los que se haya comprobado oficialmente la existencia de tuberculosis, así como los animales considerados infectados por los órganos competentes de las Comunidades Autónomas, serán sacrificados bajo control oficial, lo más rápidamente posible, y, a más tardar, quince días después de la notificación oficial al propietario o al poseedor de las pruebas. Si bien, se contemplan ciertas excepciones en situaciones muy concretas y siempre por causa

de fuerza mayor. El sacrificio de los reaccionantes positivos podrá realizarse en mataderos autorizados para tal fin, en la propia explotación o en lugares expresamente autorizados para ello.

Si el sacrificio se realiza en matadero, se podrá proceder a la utilización de las carnes para el consumo humano, siempre de acuerdo con lo dispuesto en los Reglamentos 853/2004 y 854/2004.

Si el sacrificio se realiza en cualquiera de los otros dos lugares autorizados para ello, después del sacrificio, se deberá proceder al traslado a centros de eliminación y transformación de animales muertos y subproductos de origen animal, regulados por el Reglamento 1774/2002, incorporado al ordenamiento jurídico español por el Real Decreto 1429/2003.

Finalizado el sacrificio de los animales positivos, se procederá a la limpieza y desinfección de las explotaciones y utensilios, bajo la supervisión de un Veterinario Oficial. Asimismo, serán sometidos a desinfección y control, los mataderos y medios de transporte.

La reposición de animales en aquellas explotaciones que hayan sido objeto de sacrificio obligatorio en aplicación de este Programa de Erradicación, sólo podrá realizarse después de que los bovinos de más de seis semanas que queden en la explotación hayan presentado un resultado favorable en, al menos un examen de investigación de tuberculosis.

Las autoridades competentes en Sanidad Animal comunicarán, con una periodicidad mensual, a la autoridad competente responsable del control sanitario de los establecimientos de transformación de la leche, la relación de explotaciones ganaderas de aptitud láctea no calificadas sanitariamente dentro de su ámbito territorial, para que se proceda a la comunicación de las mismas, en caso necesario, a los propietarios de los establecimientos lácteos.

4.4.5. Medidas y disposiciones legislativas respecto a las diversas calificaciones de los animales y los rebaños:

Las calificaciones de los animales y rebaños están recogidas en el Real Decreto 2611/1996 y sus modificaciones posteriores, el Real Decreto 1047/2003 y Real Decreto 51/2004.

La titulación sanitaria de las explotaciones, provincias o regiones como oficialmente indemnes a esta enfermedad, se irá otorgando conforme a los requisitos exigidos por la normativa comunitaria, Directivas 97/12/CE y 98/46/CE.

4.4.6. Procedimientos de control del programa y, en particular, las normas relativas a los desplazamientos de los animales susceptibles de estar afectados o contaminados por una enfermedad dada y a la inspección regular de las explotaciones o zonas afectadas:

Los movimientos de animales se realizan bajo control veterinario, tal como se establece en el Real Decreto 2611/96 y sus posteriores modificaciones.

Para el movimiento de bovinos en España, es necesaria la expedición por parte de los Servicios Veterinarios Oficiales de la "Guía de Origen y Sanidad Pecuaria", documento que ampara este traslado.

Asimismo a través del registro oficial de las explotaciones, establecido en el Real Decreto 205/96, de 9 de febrero, modificado por el Real Decreto 1980/98 por el que se establece un sistema de registro de los animales de las especies bovina, porcina, ovina y caprina, se controla la entrada y salida de los animales de las explotaciones.

En relación a los animales susceptibles de estar afectados o contaminados por tuberculosis, se aislarán dentro de la explotación y se prohibirán los movimientos de los mismos, salvo con destino a matadero para ser sacrificados sin demora.

En el **ámbito de la ejecución**, la Campaña de Saneamiento Ganadero en una explotación, se inicia con la llegada a la misma del equipo de campo (técnicos veterinarios) que realizan las siguientes actuaciones:

Identificación de la explotación y de los animales (libro de registro).

Realización de la prueba de IDTB de los animales.

A las 72 horas se procederá a la lectura de resultados de la prueba de IDTB.

Marcaje especial de los animales reaccionantes positivos inmediatamente después de la lectura del resultado, utilizando un bolo ruminal o sistemas de marcaje genético, que en ningún caso se considerarán sustitutivos del sistema de identificación oficial mediante doble crotal auricular, sino complementario para reforzar la vigilancia y trazabilidad de los reactores positivos hasta el sacrifio de los mismos. El ganadero será informado por escrito de que la leche procedente de su rebaño no puede ser destinada al consumo humano en ningún caso si procede de animales positivos y sin haber sido sometida a un tratamiento térmico autorizado en el caso de los demás animales del rebaño, de acuerdo con el Reglamento 853/2004. Así mismo será informado por escrito de que su explotación queda sujeta a restricciones en los desplazamientos, especificando la base legal y las repercusiones sancionadoras que el incumplimiento de dichas restricciones supone.

Los animales positivos son sacrificados de forma obligatoria. Para ello, en el momento del marcado, se da al ganadero la documentación necesaria (conduce o conduce y Certificado Sanitario de Origen) para que puedan realizar su traslado al matadero. En el documento de traslado (conduce, acta de traslado...) se incluirá de forma obligatoria, al menos, los siguientes epígrafes:

- indicación para los transportistas de ganado de que los animales positivos no pueden ser transportados junto con otos animales que no procedan de

explotaciones positivas, con un espacio para que el transportista en cuestión firme que ha leído dicha indicación

- espacio para indicar la fecha de entrada de los animales en el matadero por el responsable del mismo

- espacio para reseñar y reflejar la existencia o no existencia de lesiones post-mortem

- fecha de expiración del documento y destino de las copias del mismo

- código del bolo ruminal, en caso necesario

El sacrificio de los animales no puede ser prorrogado en un plazo superior a 15 días desde la fecha indicada por la documentación sanitaria, salvo casos excepcionales y siempre por causa de fuerza mayor.

Una vez sacrificados los animales en los mataderos autorizados a tal fin, serán remitidas muestras de los órganos y/o tejidos diana para la confirmación de tuberculosis a los Laboratorios de Sanidad Animal autorizados. Ello mejorará la sensibilidad diagnóstica en la ejecución de la campaña, con la utilización de técnicas oficiales de identificación del agente sobre muestras del animal sacrificado (PCR, estudios anatomopatológicos, histológicos o microbiológicos), siguiendo el protocolo establecido en el Manual. Así mismo, el bolo ruminal será recuperado en el caso de que los preestómagos se destinen a consumo humano, y siempre se comprobará el código mediante lectura del mismo, verificando su coincidencia con el código anotado en el conduce.

4.4.7. Medidas y disposiciones legislativas en relación con el control (pruebas de detección, vacunación, etc.) de la enfermedad:

Están recogidas en el Anexo I del Real Decreto 1047/2003, de 1 de agosto:

Las pruebas diagnósticas utilizadas son las establecidas en el Real Decreto 2611/1996, de 20 de diciembre y su modificación posterior, el Real Decreto 1047/2003, de 1 de agosto. Serán realizadas por los Laboratorios autorizados de acuerdo con el Real Decreto 2611/1996, que participarán todos los años en al menos un ensayo de aptitud interlaboratorial realizado por el LNR.

Se consideran como pruebas de diagnóstico oficial:

a) IDTB simple: Comporta una única inyección de tuberculina bovina.

b) IDTB comparativa: Esta tuberculinización comporta una inyección de tuberculina bovina y una inyección de tuberculina aviar administradas simultáneamente.

c) Gamma-interferón: Según el Reglamento 1226/2002 de la Comisión, por el que se modifica el anexo B de la Directiva 64/432/CEE del Consejo, para permitir la detección del máximo número de animales infectados o enfermos de una explotación o una región, se podrá emplear, adicionalmente a la IDTB, la prueba del interferón gamma a que se refiere el capítulo 2.3.3. (tuberculosis bovina) de la quinta edición (2004) del *Manual de normas para las pruebas de diagnóstico y las vacunas de la OIE.*

d) Identificación del agente: según el Real Decreto 1047/2003

No obstante, cuando la situación epidemiológica así lo requiera a efectos de investigación se utilizarán otras técnicas de diagnóstico: técnicas de PCR sobre tejidos infectados y los estudios adicionales que se consideren oportunos incluidos los anatomopatológicos, histológicos o microbiológicos, principalmente con el objetivo de confirmar la enfermedad y sobre todo en aquellas explotaciones calificadas como oficialmente indemnes en las que se suspenda la calificación.

4.4.8. Medidas y disposiciones legislativas en lo que respecta a la indemnización de los propietarios de animales sacrificados:

El Real Decreto 1328/2000, de 7 de julio, establece los baremos de indemnización por sacrificio obligatorio de los animales objeto de los programas nacionales de erradicación de enfermedades. Se exceptúan los animales de unidades de cebo.

5. Descripción general de costes y beneficios:

Las dificultades que entraña la erradicación de la tuberculosis bovina son bien conocidas, los que ocasiona opiniones encontradas en relación con la evaluación económica de los programas de erradicación, principalmente en zonas endémicas y con características geográficas y ecológicas particulares. Sin embargo, el carácter zoonótico de la enfermedad justifica por si sólo el mantenimiento de las estrategias de erradicación. Por ello, toda evaluación coste/beneficio debe ser considerada dentro del ámbito de la seguridad alimentaria y la salud pública.

En el inicio del programa los costes de indemnización por sacrificio de los animales fueron muy elevados debido a la alta incidencia. Estos valores disminuyeron progresivamente debido a la favorable evolución del programa, por el contrario los gastos de ejecución se han incrementado, siendo necesario mantener el grado de financiación para alcanzar el objetivo final. Así mismo se ha producido un aumento de los costes en el ámbito laboratorial, por el uso de una mayor diversidad de pruebas diagnósticas con el objetivo de confirmar o, en su caso, realizar el diagnóstico diferencial de la enfermedad.

La inversión ha sido rentable, ya que se han reducido los establos infectados y se ha incrementado el número de de calificados como oficialmente indemnes, lo que

facilita el comercio de animales y las garantías sanitarias que ello comporta al reducirse los riesgos de transmisión de la enfermedad. Así mismo el número de casos de tuberculosis humana debidos a *M. bovis* es muy bajo, como lo demuestra el descenso del número de enfermos por causa de este agente hasta valores prácticamente testimoniales, con 5 casos declarados al Sistema de Información Microbiológica (Centro Nacional de Epidemiología).

Los principales beneficios para los ganaderos se derivan del incremento de renta al liberarse de las limitaciones del movimiento de animales impuestas en función calificación sanitaria. Este hecho les permite ampliar el número de operadores comerciales con los que poder realizar transacciones comerciales y reforzar su postura negociadora, así como la valorización de sus productos. Y lo más importante: la erradicación de la enfermedad ofrece incuestionables beneficios a toda la sociedad por la lucha y eliminación de esta grave zoonosis.

6. Agradecimientos:

Este Programa ha sido elaborado por el Grupo de Trabajo de la Tuberculosis bovina, que está formado por:

Iscle Selga (Cataluña)
Jesús Alonso (Castilla La Mancha)
Carmen Pieltain (Canarias)
Enrique Villalba (Andalucía)
Mercedes Gutiérrez (Cantabria)
Fulgencio Garrido (LNR Santa Fe)
José Luís Paramio (SGSA)
José Luís Sáez Llorente (SGSA)

7. Anexo I:

A. CCAA de prevalencia 0

B. CCAA de baja prevalencia

ASTURIAS, BALEARES, CANARIAS, GALICIA, LA RIOJA, NAVARRA, PAÍS VASCO

C. CCAA de alta prevalencia

ANDALUCÍA, ARAGÓN, CANTABRIA, CASTILLA LA MANCHA, CASTILLA Y LEÓN, CATALUÑA, EXTREMADURA, MADRID, MURCIA, VALENCIA

Datos sobre la evolución epidemiológica en los últimos cinco años

6.1. Evolución de la enfermedad

6.1.1. Datos sobre la evolución de la enfermedad:

Se adjuntan los datos anteriores al año 2002 siguiendo el sistema de notificación que se realizaba mediante la Decisión 2000/322/CE, y los datos de 2003, 2004, 2005 y 2006 según la Decisión 2002/677/CE

6.1.1.1. Datos sobre rebaños 2002 a 2006: Anexo II

6.1.1.2. Datos sobre los animales 2002 a 2006: Anexo III

MINISTERIO DE
AGRICULTURA, PESCA Y
ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL
DE SANIDAD ANIMAL

ANEXO II

DATOS DE LOS REBAÑOS

Estado miembro: España **Fecha:** 31/05/2007 **Año:** 2006 **Periodo de información:** Informe Final

Enfermedad: Tuberculosis **Especie animal:** bovinos

CCAA	Número total de rebaños	Número total de rebaños incluidos en el programa	Número de rebaños controlados	Número de rebaños positivos	Número de nuevos rebaños positivos	Número de rebaños diezmados	Rebaños positivos diezmados (%)	Indicadores		
								Cobertura de rebaños (%)	Rebaños positivos (%) Prevalencia del periodo en rebaños	Nuevos rebaños positivos (%) Incidencia en rebaños
ANDALUCÍA	9.128	8.096	7.154	412	126	4	0,97	88,36	5,76	1,76
ARAGÓN	3.388	1.022	1.022	20	13	1	5,00	100,00	1,96	1,27
ASTURIAS	22.227	21.848	21.848	38	28	7	18,42	100,00	0,17	0,13
BALEARES	577	470	445	1	0	1	100,00	94,68	0,22	0,00
CANARIAS	1.386	1.386	1.386	5	3	1	20,00	100,00	0,36	0,22
CANTABRIA	9.228	9.206	9.206	97	74	34	35,05	100,00	1,05	0,80
CASTILLA LA MANCHA	3.467	2.191	2.191	169	91	7	4,14	100,00	7,71	4,15
CASTILLA Y LEÓN	25.244	17.610	17.610	899	562	18	2,00	100,00	5,11	3,19
CATALUÑA	6.373	4.695	4.610	76	39	10	13,16	98,19	1,65	0,85
EXTREMADURA	12.058	10.523	10.411	504	65	8	1,59	98,94	4,84	0,62
GALICIA	52.805	50.659	50.659	101	93	40	39,60	100,00	0,20	0,18
LA RIOJA	376	278	278	2	1	0	0,00	100,00	0,72	0,36
MADRID	1.747	1.747	1.547	40	29	8	20,00	88,55	2,59	1,87
MURCIA	414	383	383	19	9	1	5,26	100,00	4,96	2,35
NAVARRA	1.956	1.877	1.838	5	4	0	0,00	97,92	0,27	0,22
PAÍS VASCO	13.358	9.155	5.775	11	11	0	0,00	63,08	0,19	0,19
VALENCIA	703	564	559	9	7	1	11,11	99,11	1,61	1,25
TOTAL 2006	**164.435**	**141.710**	**136.922**	**2.408**	**1.155**	**141**	**5,86**	**96,62**	**1,76**	**0,84**
TOTAL 2005	**166.306**	**146.924**	**142.840**	**2.168**	**1.412**	**165**	**7,61**	**97,22**	**1,52**	**0,99**

6.1. Evolución de la enfermedad

6.1.1.1. Datos sobre rebaños

Año: 2002 **Situación a fecha de:** 31/12/2002

Enfermedad: TUBERCULOSIS **Especie animal:** BOVINA

Región[c]	Número total de rebaños[d]	Número total de rebaños incluidos en el programa	Número de rebaños controlados[e]	Número de rebaños positivos[f]	Número de nuevos rebaños positivos[g]	Número de rebaños con vació sanitario	Porcentaje de rebaños positivos con vació sanitario	INDICADORES		
								Porcentaje de cobertura de los rebaños	Porcentaje de rebaños positivos Prevalencia en rebaños en el periodo	Porcentaje de nuevos rebaños positivos Incidencia en rebaños
1	2	3	4	5	6	7	8 = (7/5)x100	9 = (4/3)x100	10 = (5/4)x100	11 = (6/4)x100
ANDALUCÍA	13.504	8.872	7.940	766				89,50	9,65	
ARAGÓN	1.177	1.177	1.177	37				100,00	3,14	
ASTURIAS	30.019	26.955	26.955	86				100,00	0,32	
BALEARES	633	633	541	5				85,47	0,92	
CANARIAS	2.390	2.390	1.775	6				74,27	0,34	
CANTABRIA	11.273	11.273	11.273	113				100,00	1,00	
CASTILLA MANCHA	2.706	2.483	2.483	191				100,00	7,69	
CASTILLA Y LEÓN	22.505	22.505	22.505	1.148				100,00	5,10	
CATALUÑA	3.912	3.912	3.739	72				95,58	1,93	
EXTREMADURA	12.220	11.205	11.155	831				99,55	7,45	
GALICIA	65.913	65.913	65.250	340				98,99	0,52	
LA RIOJA	341	341	341	7				100,00	2,05	
MADRID	1.807	1.807	1.410	52				78,03	3,69	
MURCIA	125	125	121	7				96,80	5,79	
NAVARRA	2.836	2.662	2.513	13				94,40	0,52	
PAÍS VASCO	9.887	6.862	6.790	4				98,95	0,06	
VALENCIA	450	450	441	55				98,00	12,47	
Total	181.698	169.565	166.409	3.733				98,14	2,24	

MINISTERIO DE
AGRICULTURA, PESCA Y
ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

Datos sobre rebaños 2003 TUBERCULOSIS BOVINA

CCAA	Número total de rebaños	Número total de rebaños incluidos en el programa	Número de rebaños controlados	Número de rebaños positivos	Número de nuevos rebaños positivos	Número de rebaños diezmados	Rebaños positivos diezmados (%)	Indicadores		
								Cobertura de rebaños (%)	Rebaños positivos (%) Prevalencia del periodo en rebaños	Nuevos rebaños positivos (%) Incidencia en rebaños
ANDALUCÍA	9857	8255	8021	679	387	1	0,15	97,17	8,47	4,82
ARAGÓN	1165	1165	1165	32	11	0	0	100	2,75	0,94
ASTURIAS	26641	25856	25856	56	51	6	10,71	100	0,22	0,2
BALEARES	860	545	492	5	5	0	0	90,28	1,02	1,02
CANARIAS	1800	1800	1714	18	18	0	0	95,22	1,05	1,05
CANTABRIA	10776	10776	10776	144	101	18	12,5	100	1,34	0,94
CASTILLA LA MANCHA	2390	2390	2390	152	0	2	1,32	100	6,36	0
CASTILLA Y LEÓN	21060	21060	21060	1193	721	16	1,34	100	5,66	3,42
CATALUÑA	3776	3776	3674	64	54	7	10,94	97,3	1,74	1,47
EXTREMADURA	12404	11130	11050	663	64	8	4,08	99,28	5,95	0,58
GALICIA	61751	61751	61751	264	225	49	18,56	100	0,43	0,36
LA RIOJA	333	333	333	9	6	0	0	100	2,7	1,8
MADRID	1755	1755	1609	63	14	1	1,59	91,68	3,92	0,87
MURCIA	713	203	203	3	3	0	0	100	1,48	1,48
NAVARRA	2494	2309	2309	19	10	0	0	100	0,82	0,43
PAÍS VASCO	9276	5997	5997	10	9	0	0	100	0,17	0,15
VALENCIA	450	450	450	25	4	0	0	100	5,56	0,89
TOTAL 2003	**167501**	**159551**	**158850**	**3399**	**1683**	**108**	**3,68**	**99,56**	**2,14**	**1,06**
TOTAL 2002	**181698**	**169565**		**3733**					**2,7**	

ANEXO II

DATOS DE LOS REBAÑOS

Estado miembro: España **Fecha:31**/05/2005 **Año:**2004 **Periodo de información:** Informe Final

Enfermedad: Tuberculosis bovina **Especie animal**: Bovino

CCAA	Número total de rebaños	Número total de rebaños incluidos en el programa	Número de rebaños controlados	Número de rebaños positivos	Número de nuevos rebaños positivos	Número de rebaños diezmados	Rebaños positivos diezmados (%)	Indicadores		
								Cobertura de rebaños (%)	Rebaños positivos (%) Prevalencia del periodo en rebaños	Nuevos rebaños positivos (%) Incidencia en rebaños
ANDALUCÍA	9981	8670	7565	509	281	4	0,79	87,26	6,73	3,71
ARAGÓN	3729	1132	1132	23	8	1	4,35	100,00	2,03	0,71
ASTURIAS	25053	24212	24212	58	48	9	15,52	100,00	0,24	0,20
BALEARES	593	463	463	3	3	2	66,67	100,00	0,65	0,65
CANARIAS	1795	1795	1795	43	37	2	4,65	100,00	2,40	2,06
CANTABRIA	10318	10297	10297	145	105	26	17,93	100,00	1,41	1,02
CASTILLA LA MANCHA	2239	2211	2211	159	20	1	0,63	100,00	7,19	0,91
CASTILLA Y LEÓN	25042	20296	20296	768	519	18	2,34	100,00	3,78	2,56
CATALUÑA	6586	3560	3477	62	47	6	9,68	97,67	1,78	1,35
EXTREMADURA	12885	10879	10879	606	313	3	0,50	100,00	5,57	2,88
GALICIA	57690	57589	57589	266	240	57	21,43	100,00	0,46	0,42
LA RIOJA	451	326	326	9	7	1	11,11	100,00	2,76	2,15
MADRID	1681	1681	1612	32	18	0	0,00	95,90	1,99	1,12
MURCIA	464	224	224	17	15	0	0,00	100,00	7,59	6,70
NAVARRA	2066	1976	1939	7	5	0	0,00	98,13	0,36	0,26
PAÍS VASCO	9797	8825	7250	16	14	1	6,25	82,15	0,22	0,19
VALENCIA	830	474	456	12	3	0	0,00	96,20	2,63	0,66
TOTAL 2004	**171190**	**154610**	**151723**	**2735**	**1683**	**131**	**4,79**	**98,13**	**1,80**	**1,11**
TOTAL 2003	**167501**	**159551**	**158850**	**2932**	**1683**	**108**	**3,68**	**99,56**	**1,85**	**1,06**

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE
SANIDAD ANIMAL

DATOS DE LOS REBAÑOS

Estado miembro: España **Fecha:** 31/05/2006 **Año:** 2005 **Periodo de información:** Informe Final

Enfermedad: Tuberculosis **Especie animal:** bovinos

CCAA	Número total de rebaños	Número total de rebaños incluidos en el programa	Número de rebaños controlados	Número de rebaños positivos	Número de nuevos rebaños positivos	Número de rebaños diezmados	Rebaños positivos diezmados (%)	Indicadores		
								Cobertura de rebaños (%)	Rebaños positivos (%) Prevalencia del periodo en rebaños	Nuevos rebaños positivos (%) Incidencia en rebaños
ANDALUCÍA	9.295	8.015	7.494	399	271	3	0,75	93,5	5,32	3,62
ARAGÓN	3.682	1.092	1.092	17	16	0	0	100	1,56	1,47
ASTURIAS	23.183	22.823	22.823	42	32	7	16,67	100	0,18	0,14
BALEARES	723	536	464	3	3	0	0	86,57	0,65	0,65
CANARIAS	1.502	1.502	1.502	15	9	1	6,67	100	1	0,6
CANTABRIA	9.762	9.744	9.744	113	88	49	43,36	100	1,16	0,9
CASTILLA LA MANCHA	3.881	2.181	2.181	153	62	2	1,31	100	7,02	2,84
CASTILLA Y LEÓN	22.003	18.980	18.980	640	457	27	4,22	100	3,37	2,41
CATALUÑA	6.137	4.780	4.715	80	58	6	7,5	98,64	1,7	1,23
EXTREMADURA	12.738	10.615	10.615	430	217	9	2,09	100	4,05	2,04
GALICIA	54.957	53.019	53.019	167	145	48	28,74	100	0,31	0,27
LA RIOJA	421	306	306	4	3	0	0	100	1,31	0,98
MADRID	1.655	1.553	1.553	40	22	0	0	100	2,58	1,42
MURCIA	408	224	224	10	10	0	0	100	4,46	4,46
NAVARRA	1.886	1.886	1.844	7	7	7	100	97,77	0,38	0,38
PAÍS VASCO	13.358	9.155	5.774	37	9	4	10,81	63,07	0,64	0,16
VALENCIA	715	513	510	11	3	2	18,18	99,42	2,16	0,59
TOTAL 2005	**166.306**	**146.924**	**142.840**	**2.168**	**1.412**	**165**	**7,61**	**97,22**	**1,52**	**0,99**
TOTAL 2004	**171.190**	**154.610**	**151.723**	**2.735**	**1.683**	**131**	**4,79**	**98,13**	**1,80**	**1,11**

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE
SANIDAD ANIMAL

ANEXO III

DATOS DE LOS ANIMALES

Estado miembro: España **Fecha:** 31/05/2007 **Año:** 2006 **Periodo de información:** Informe Final

Enfermedad: Tuberculosis **Especie animal:** Bovinos

CCAA	Número total de animales	Número de animales que se van a someter a pruebas en virtud del programa	Número de animales sometidos a pruebas	Número de animales sometidos a pruebas individualmente	Número de animales positivos	Sacrificio		Indicadores	
						Número de animales que han dado resultados positivos, sacrificados o desechados	Número total de animales sacrificados	Cobertura de animales (%)	Animales positivos (%) Prevalencia en animales
ANDALUCÍA	651.539	588.933	499.301	499.301	4.003	4.003	4.003	84,78	0,80
ARAGÓN	316.401	78.678	78.678	78.678	253	253	301	100,00	0,32
ASTURIAS	379.582	372.242	372.242	372.242	144	144	432	100,00	0,04
BALEARES	26.227	26.227	22.166	22.166	8	8	8	84,52	0,04
CANARIAS	19.050	19.050	19.050	19.050	38	38	331	100,00	0,20
CANTABRIA	290.593	282.477	282.477	282.477	1.124	1.124	2.502	100,00	0,40
CASTILLA LA MANCHA	391.296	220.012	220.012	220.012	3.036	3.036	3.933	100,00	1,38
CASTILLA Y LEÓN	1.228.784	1.011.824	1.011.824	1.011.824	5.324	5.148	6.354	100,00	0,53
CATALUÑA	662.960	302.327	301.264	301.264	946	892	1.264	99,65	0,31
EXTREMADURA	680.553	615.746	615.746	615.746	2.701	2.381	2.509	100,00	0,44
GALICIA	956.444	767.312	767.312	765.312	400	400	1.093	100,00	0,05
LA RIOJA	39.774	22.755	22.755	22.755	34	1	39	100,00	0,15
MADRID	118.708	100.857	100.857	100.857	527	527	740	100,00	0,52
MURCIA	72.884	36.001	36.001	36.001	394	381	485	100,00	1,09
NAVARRA	103.993	95.503	90.293	90.293	39	39	48	94,54	0,04
PAÍS VASCO	225.397	149.174	104.124	104.124	54	54	54	69,80	0,05
VALENCIA	61.013	47.437	47.402	47.212	169	169	205	99,93	0,36
TOTAL 2006	**6.225.198**	**4.736.555**	**4.591.504**	**4.589.314**	**19.194**	**18.598**	**24.301**	**96,94**	**0,42**
TOTAL 2005	**6.327.398**	**4.771.759**	**4.690.709**	**4.690.709**	**14.581**	**15.535**	**21.510**	**98,30**	**0,31**

6.1. Evolución de la enfermedad

6.1.1.2. Datos sobre animales

Año: 2002 **Situación a fecha de:** 31/12/2002

Enfermedad: TUBERCULOSIS **Especie animal:** BOVINA

Región[b]	Número total de animales[c]	Número de animales[d] que se van a someter a pruebas en virtud del programa	Número de animales[d] sometidos a pruebas	Número de animales sometidos a pruebas individual mente[e]	Número de animales positivos	Sacrificio		INDICADORES	
						Número de animales positivos sacrificados o desechados	Número total de animales sacrificados[f]	Cobertura de animales (%)	Animales positivos (%) Prevalencia en animales
1	2	3	4	5	6	7	8	9=(4/3)x100	10=(6/4)x100
ANDALUCÍA	709.726	624.167	594.787	594.787	8.812		8.807	95,29	1,48
ARAGÓN	62.621	62.621	62.621	82.915	336		339	100,00	0,54
ASTURIAS	450.490	427.931	427.931	427.931	375		436	100,00	0,09
BALEARES	39.800	35.000	24.237	24.237	8		12	69,25	0,03
CANARIAS	26.463	26.463	17.749	17.749	20		25	67,07	0,11
CANTABRIA	335.307	335.307	335.307	371.060	996		1.247	100,00	0,30
CASTILLA MANCHA	223.520	223.520	223.520	223.520	1.632		2.817	100,00	0,73
CASTILLA Y LEÓN	1.117.674	1.117.674	1.117.674	1.117.674	5.549		5.798	100,00	0,50
CATALUÑA	224.293	224.271	224.271	228.073	1.309		1.481	100,00	0,58
EXTREMADURA	680.927	487.026	487.026	558.091	2.932		3.538	100,00	0,60
GALICIA	864.936	864.936	864.936	864.936	1.359		1.823	100,00	0,16
LA RIOJA	25.576	25.576	25.551	25.551	49		49	99,90	0,19
MADRID	78.143	78.143	78.143	80.212	528		528	100,00	0,68
MURCIA	9.850	9.850	9.850	12.133	15		15	100,00	0,15
NAVARRA	132.398	85.480	83.504	83.504	386		372	97,69	0,46
PAÍS VASCO	170.737	117.183	116.658	116.658	24		27	99,55	0,02
VALENCIA	28.651	28.651	28.651	39.322	892		884	100,00	3,11
Total	5.181.112	4.773.802	4.722.420	4.868.358	25.228		28.206	98,92	0,53

ANEXO III

DATOS DE LOS ANIMALES

Estado miembro: España **Fecha:** 29/03/2004 **Año:** 2003 **Periodo de información:** Informe Final

Enfermedad: Tuberculosis bovina **Especie animal:** Bovinos

CCAA	Número total de animales	Número de animales que se van a someter a pruebas en virtud del programa	Número de animales sometidos a pruebas	Número de animales sometidos a pruebas individualmente	Número de animales positivos	Sacrificio		Indicadores	
						Número de animales que han dado resultados positivos, sacrificados o desechados	Número total de animales sacrificados	Cobertura de animales (%)	Animales positivos (%) Prevalencia en animales
ANDALUCÍA	669113	569755	552768	552768	6215	6207	6243	97,02	1,12
ARAGÓN	63556	63556	63556	63556	292	200	200	100	0,46
ASTURIAS	437274	422301	422301	422301	267	267	473	100	0,06
BALEARES	39000	25500	25417	25417	8	8	8	99,67	0,03
CANARIAS	19700	19700	19594	19594	128	75	128	99,46	0,65
CANTABRIA	297388	318648	318648	318648	1126	1126	1540	100	0,35
CASTILLA LA MANCHA	211075	211075	211075	211075	1352	1352	2680	100	0,64
CASTILLA Y LEÓN	1113143	1113143	1113143	1113143	7295	7000	9493	100	0,66
CATALUÑA	261821	255936	248143	248143	483	420	930	96,96	0,19
EXTREMADURA	667018	569891	569891	569891	2765	2716	3085	100	0,49
GALICIA	851120	851120	851120	851120	785	785	1684	100	0,09
LA RIOJA	24580	24580	24580	24580	52	52	52	100	0,21
MADRID	95179	95179	92270	92270	531	460	465	96,94	0,58
MURCIA	90000	23253	23253	23253	19	19	19	100	0,08
NAVARRA	122871	87471	87471	87471	377	377	377	100	0,43
PAÍS VASCO	157003	114685	110497	110497	38	38	38	96,35	0,03
VALENCIA	28651	28651	28651	28651	454	454	420	100	1,58
TOTAL 2003	**5148492**	**4794444**	**4762378**	**4762378**	**22187**	**21556**	**27835**	**99,33**	**0,47**

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

ANEXO III
DATOS DE LOS ANIMALES

Estado miembro: España Fecha: 31/05/2005 **Año:** 2004 Periodo de información: Informe Final

Enfermedad: Tuberculosis bovina Especie animal: Bovinos

CCAA	Número total de animales	Número de animales que se van a someter a pruebas en virtud del programa	Número de animales sometidos a pruebas	Número de animales sometidos a pruebas individualmente	Número de animales positivos	Sacrificio	
						Número de animales que han dado resultados positivos, sacrificados o desechados	Número total de animales sacrificados
ANDALUCÍA	671628	594426	539879	539879	5484	5475	5503
ARAGÓN	280167	64074	64074	64074	158	153	321
ASTURIAS	417663	409135	409135	409135	349	349	635
BALEARES	33991	26085	25437	25437	15	15	53
CANARIAS	21767	21767	21767	21767	147	147	154
CANTABRIA	314775	307208	307208	307208	1237	1237	2028
CASTILLA LA MANCHA	236564	203438	236564	236564	2170	1566	1651
CASTILLA Y LEÓN	1296527	1085999	1085999	1085999	4623	4567	5156
CATALUÑA	812650	257084	238130	238130	462	382	542
EXTREMADURA	707927	527045	527045	527045	2521	2414	2490
GALICIA	968995	824362	824362	824362	1104	1104	2136
LA RIOJA	41012	25315	25315	25315	36	36	61
MADRID	106775	93248	91259	91259	111	111	111
MURCIA	73209	27380	27380	27380	30	28	28
NAVARRA	108732	100189	100189	100189	18	18	67
PAÍS VASCO	163887	117962	117962	117962	50	31	114
VALENCIA	71972	34996	34866	34866	169	169	169
TOTAL 2004	**6328241**	**4719713**	**4676571**	**4676571**	**18684**	**17802**	**21219**
TOTAL 2003	**5148492**	**4794444**	**4762378**	**4762378**	**22187**	**21556**	**27835**

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE
SANIDAD ANIMAL

ANEXO III

DATOS DE LOS ANIMALES

Estado miembro: España **Fecha:** 31/05/2005 **Año:** 2005 **Periodo de información:** Informe Final

Enfermedad: Tuberculosis **Especie animal:** Bovinos

CCAA	Número total de animales	Número de animales que se van a someter a pruebas en virtud del programa	Número de animales sometidos a pruebas	Número de animales sometidos a pruebas individualmente	Número de animales positivos	Sacrificio		Indicadores	
						Número de animales que han dado resultados positivos, sacrificados o desechados	Número total de animales sacrificados	Cobertura de animales (%)	Animales positivos (%) Prevalencia en animales
ANDALUCÍA	638.374	553.294	537.777	537.777	3.759	3.759	3.849	97,2	0,7
ARAGÓN	284.122	65.672	65.672	65.672	62	62	62	100	0,09
ASTURIAS	396.494	383.535	383.535	383.535	202	202	643	100	0,05
BALEARES	37.184	37.002	30.343	30.343	5	5	5	82	0,02
CANARIAS	19.467	19.467	19.467	19.467	80	80	464	100	0,41
CANTABRIA	302.254	301.580	301.580	301.580	1.035	1.035	3.002	100	0,34
CASTILLA LA MANCHA	351.181	211.141	211.141	211.141	1.568	2.784	3.129	100	0,74
CASTILLA Y LEÓN	1.266.355	1.066.569	1.066.569	1.066.569	3.423	3.380	4.164	100	0,32
CATALUÑA	757.529	366.991	364.442	364.442	795	795	944	99,31	0,22
EXTREMADURA	716.655	519.637	519.637	519.637	2.089	1.909	2.210	100	0,4
GALICIA	955.929	796.723	796.723	796.723	709	709	2.196	100	0,09
LA RIOJA	41.010	24.687	24.687	24.687	46	46	46	100	0,19
MADRID	102.414	97.184	97.184	97.184	210	210	210	100	0,22
MURCIA	67.168	25.282	25.282	25.282	50	50	50	100	0,2
NAVARRA	98.985	98.985	88.170	88.170	211	211	211	89,07	0,24
PAÍS VASCO	225.397	149.174	104.124	104.124	79	40	67	69,8	0,08
VALENCIA	66.880	54.836	54.376	54.376	258	258	258	99,16	0,47
TOTAL 2005	**6.327.398**	**4.771.759**	**4.690.709**	**4.690.709**	**14.581**	**15.535**	**21.510**	**98,3**	**0,31**
TOTAL 2004	**6.328.241**	**4.719.713**	**4.676.571**	**4.676.571**	**18.684**	**17.802**	**21.219**	**99,09**	**0,40**

6.2. Datos desglosados sobre la vigilancia y las pruebas de laboratorio

6.2.1. Datos desglosados sobre la vigilancia y las pruebas de laboratorio (un cuadro por año y enfermedad/especie)

Año: 2006 **Enfermedad[(a)]: Tuberculosis** **Especie animal/categoría[(b)]: Bovina**

Descripción de las pruebas serológicas empleadas: Gamma-Interferón

Descripción de las pruebas microbiológicas o virológicas empleadas: Toma de muestras de animales positivos a la IDTB. Tinción Ziehl-Nielsen, cultivo, espoligotipado cuando se logra aislamiento de Mycobacterium spp, PCR

Descripción de las demás pruebas empleadas: Intradermo-reacción.

Región	Pruebas serológicas		Pruebas microbiológicas o virológicas		Otras pruebas	
	Nº de muestras sometidas a pruebas	Nº de muestras positivas	Nº de muestras sometidas a pruebas	Nº de muestras positivas	Nº de muestras sometidas a pruebas	Nº de muestras positivas
ANDALUCIA	181		554	143	554269	4003
ARAGÓN	-				89.556	253
ASTURIAS	610	26	2716 analisis bacteiológico 1200 PCR	144 análisis bact. 84 PCR	424925	215
BALEARES	66	4		-	23613	6
CANARIAS	282	19	35	9	21617	38
CANTABRIA	2134		1140 análisis bacteriológico 602 PCR	-	338500	1124
CASTILLA-MANCHA	2572	436	13 análisis bacteriológico	3	262568	2601
CASTILLA-LEON	3711		601 análisis bacteriológico 1957 PCR		1331557	5324
CATALUÑA	10035	651	909 microscopía 48 histop	254 mi 14 his	320296	786
EXTREMADURA	0	0	-	-	615746	2701
GALICIA	5307	378	1890 análisis bacteriológico 288 PCR	242	786899	375
LA RIOJA	-	-	14 análisis bacteriológico	3	24812	34
MADRID	2171	267	275 análisis bacteriológico	60	105607	527
MURCIA	1126	9	85 análisis bacteriológico	0	40593	372
NAVARRA	0	0	100 análisis bacteriológico		101676	39
PAIS VASCO					104162	54
VALENCIA					47401	169
TOTAL						

6.2. Datos desglosados sobre la vigilancia y las pruebas de laboratorio

6.2.1. Datos desglosados sobre la vigilancia y las pruebas de laboratorio (un cuadro por año y enfermedad/especie)

Año: 2002 **Enfermedad[(a)]: Tuberculosis** **Especie animal/categoría[(b)]: Bovina**

Descripción de las pruebas serológicas empleadas: Gamma-Interferón A/P

Descripción de las pruebas microbiológicas o virológicas empleadas: Toma de muestras en ganglios de animales positivos a la IDTB. Tinción Ziehl-Nielsen, cultivo, espoligotipado cuando se logra aislamiento de Mycobacterium spp

Descripción de las demás pruebas empleadas: Intradermo-reacción.

Región	Pruebas serológicas		Pruebas microbiológicas o virológicas		Otras pruebas	
	Nº de muestras sometidas a pruebas	Nº de muestras positivas	Nº de muestras sometidas a pruebas	Nº de muestras positivas	Nº de muestras sometidas a pruebas	Nº de muestras positivas
ANDALUCIA	0	0	75	1	735.255	8.812
ARAGÓN	-	-	5	5	62.627	339
ASTURIAS	-	-	6	2	428.194	373
BALEARES	-	-	-	-	32.136	4
CANARIAS	0	0	0	0	-	-
CANTABRIA	371.060	996	-	-	-	-
CASTILLA-MANCHA	-	-	80	26	-	-
CASTILLA-LEON	828	59	57	33	6.707	329
CATALUÑA	0	0	0	0	228.073	1.300
EXTREMADURA	558.149	2.932	-	-	-	-
GALICIA	79	0	170	0	-	-
LA RIOJA	-	-	-	-	26.335	49
MADRID	0	0	80	26	0	0
MURCIA						
NAVARRA	0	0	25	25	84.327	405
PAIS VASCO						
VALENCIA						
TOTAL						

6.2. Datos desglosados sobre la vigilancia y las pruebas de laboratorio

6.2.1. Datos desglosados sobre la vigilancia y las pruebas de laboratorio (un cuadro por año y enfermedad/especie)

Año: 2003 **Enfermedad[(a)]: Tuberculosis** **Especie animal/categoría[(b)]: Bovina**

Descripción de las pruebas serológicas empleadas: Gamma-Interferón A/P, ELISA

Descripción de las pruebas microbiológicas o virológicas empleadas: Toma de muestras en ganglios de animales positivos a la IDTB. Tinción Ziehl-Nielsen, cultivo, espoligotipado cuando se logra aislamiento de Mycobacterium spp, PCR

Descripción de las demás pruebas empleadas: Intradermo-reacción.

Región	Pruebas serológicas		Pruebas microbiológicas o virológicas		Otras pruebas	
	Nº de muestras sometidas a pruebas	Nº de muestras positivas	Nº de muestras sometidas a pruebas	Nº de muestras positivas	Nº de muestras sometidas a pruebas	Nº de muestras positivas
ANDALUCIA	408		199	13	613366	6215
ARAGÓN	2		2		84928	292
ASTURIAS	717		293		421301	267
BALEARES	0		0		25437	8
CANARIAS	0	0	0	0	29870	128
CANTABRIA	371.060		133		378121	1126
CASTILLA-MANCHA	0		0		251158	1352
CASTILLA-LEON	3040		462		1279100	7295
CATALUÑA	0		0		497858	483
EXTREMADURA	0		0		594034	2765
GALICIA	1784		3400		853647	785
LA RIOJA	0		6		26968	52
MADRID	0		0		91259	531
MURCIA	224		3		27314	19
NAVARRA	0		0		109220	377
PAIS VASCO	0		0		117962	38
VALENCIA	0		0		39176	454
TOTAL						22187

6.2. Datos desglosados sobre la vigilancia y las pruebas de laboratorio

6.2.1. Datos desglosados sobre la vigilancia y las pruebas de laboratorio (un cuadro por año y enfermedad/especie)

Año: 2004 **Enfermedad[(a)]: Tuberculosis** **Especie animal/categoría[(b)]: Bovina**

Descripción de las pruebas serológicas empleadas: Gamma-Interferón A/P, ELISA

Descripción de las pruebas microbiológicas o virológicas empleadas: Toma de muestras en ganglios de animales positivos a la IDTB. Tinción Ziehl-Nielsen, cultivo, espoligotipado cuando se logra aislamiento de Mycobacterium spp, PCR

Descripción de las demás pruebas empleadas: Intradermo-reacción.

Región	Pruebas serológicas		Pruebas microbiológicas o virológicas		Otras pruebas	
	Nº de muestras sometidas a pruebas	Nº de muestras positivas	Nº de muestras sometidas a pruebas	Nº de muestras positivas	Nº de muestras sometidas a pruebas	Nº de muestras positivas
ANDALUCIA	542		259	55	620082	5484
ARAGÓN	0		0		82107	158
ASTURIAS	230		198		426374	349
BALEARES	0		0		25417	15
CANARIAS	24	21	5	3	22594	147
CANTABRIA	138		649		367836	1237
CASTILLA-MANCHA	0		0		211075	2170
CASTILLA-LEON	863		143		1316657	4623
CATALUÑA	0		0		248143	462
EXTREMADURA	0		0		569891	2521
GALICIA	462		232		875408	1104
LA RIOJA	0		0		26081	36
MADRID	0		0		92270	111
MURCIA	0		0		23253	30
NAVARRA	0		0		87471	18
PAIS VASCO	0		0		117473	50
VALENCIA	0		0		35898	169
TOTAL						18684

6.2. Datos desglosados sobre la vigilancia y las pruebas de laboratorio

6.2.1. Datos desglosados sobre la vigilancia y las pruebas de laboratorio (un cuadro por año y enfermedad/especie)

Año: 2005 **Enfermedad[(a)]: Tuberculosis** **Especie animal/categoría[(b)]: Bovina**

Descripción de las pruebas serológicas empleadas: Gamma-Interferón A/P, ELISA
Descripción de las pruebas microbiológicas o virológicas empleadas: Toma de muestras en ganglios de animales positivos a la IDTB. Tinción Ziehl-Nielsen, cultivo, espoligotipado cuando se logra aislamiento de Mycobacterium spp, PCR
Descripción de las demás pruebas empleadas: Intradermo-reacción.

Región	Pruebas serológicas		Pruebas microbiológicas o virológicas		Otras pruebas	
	Nº de muestras sometidas a pruebas	Nº de muestras positivas	Nº de muestras sometidas a pruebas	Nº de muestras positivas	Nº de muestras sometidas a pruebas	Nº de muestras positivas
ANDALUCIA	90		146	38	537.777	3.759
ARAGÓN	0		13		65.672	62
ASTURIAS	485		332		383.535	202
BALEARES	0		0		30.343	6
CANARIAS	24		5		19.467	80
CANTABRIA	138		503		301.580	1.035
CASTILLA-MANCHA	0		0		211.141	1.568
CASTILLA-LEON	1097		1194		1.066.569	3.423
CATALUÑA	5962		251		364.442	795
EXTREMADURA	0		0		519.637	2.089
GALICIA	4531		1456		796.723	709
LA RIOJA	0		0		24.687	46
MADRID	0		0		97.184	210
MURCIA	1390		10		25.282	50
NAVARRA	0		0		88.170	211
PAIS VASCO	0		0		104.124	79
VALENCIA	0		0		54.376	258
TOTAL					4.690.709	14.582

6.3. Datos sobre infecciones

Año: 2002 **Enfermedad:TUBERCULOSIS** **Especie animal: BOVINA**

Región[b]	Número de rebaños infectados[c]	Número de animales infectados
ANDALUCÍA	766	
ARAGÓN	37	
ASTURIAS	86	
BALEARES	5	
CANARIAS	6	
CANTABRIA	113	
CASTILLA MANCHA	191	
CASTILLA Y LEÓN	1.148	
CATALUÑA	72	
EXTREMADURA	831	
GALICIA	340	
LA RIOJA	7	
MADRID	52	
MURCIA	7	
NAVARRA	13	
PAÍS VASCO	4	
VALENCIA	55	
Total	**3.733**	

6.3 Datos sobre infecciones (un cuadro por año y por enfermedad/especie)

Año: 2003 **Enfermedad:Tuberculosis** **Especie animal: Bovina**

CCAA	Número de rebaños infectados	Número de animales infectados
ANDALUCÍA	679	6215
ARAGÓN	32	292
ASTURIAS	56	267
BALEARES	5	8
CANARIAS	18	128
CANTABRIA	144	1126
CASTILLA LA MANCHA	152	1352
CASTILLA Y LEÓN	1193	7295
CATALUÑA	64	483
EXTREMADURA	196	2765
GALICIA	264	785
LA RIOJA	9	52
MADRID	63	531
MURCIA	3	19
NAVARRA	19	377
PAÍS VASCO	10	38
VALENCIA	25	454
TOTAL 2003	**2932**	**22187**

a) Enfermedad y especie animal, en caso necesario.
b) Se entenderá por región lo definido en el programa de erradicación aprobado del Estado miembro.
c) Rebaños, manadas o explotaciones, según corresponda

6.3 Datos sobre infección

Año 2004 **Enfermedad: tuberculosis** **Especie animal: bovina**

Comunidad Autónoma	Número de rebaños infectados	Número de animales infectados
ANDALUCÍA	509	5484
ARAGÓN	23	158
ASTURIAS	58	349
BALEARES	3	15
CANARIAS	43	147
CANTABRIA	145	1237
CASTILLA LA MANCHA	159	2170
CASTILLA Y LEÓN	768	4623
CATALUÑA	62	462
EXTREMADURA	606	2521
GALICIA	266	1104
LA RIOJA	9	36
MADRID	32	111
MURCIA	17	30
NAVARRA	7	18
PAÍS VASCO	16	50
VALENCIA	12	169
TOTAL	**2742**	**18652**

6.3 Datos sobre la infección Año 2005

	Datos de la infección	
	Nº de rebaños infectados	Nº de animales infectados
ANDALUCÍA	399	3.759,00
ARAGÓN	17	62
ASTURIAS	42	202
BALEARES	3	6
CANARIAS	15	80
CANTABRIA	113	1.035,00
CASTILLA LA MANCHA	153	1.568,00
CASTILLA Y LEÓN	640	3.423,00
CATALUÑA	80	795
EXTREMADURA	430	2.089,00
GALICIA	167	709
LA RIOJA	4	46
MADRID	40	210
MURCIA	10	50
NAVARRA	7	211
PAÍS VASCO	37	79
VALENCIA	11	258
TOTAL	**2.168,00**	**14.582,00**

6.3 Datos sobre la infección Año 2006

	Datos de la infección	
	Nº de rebaños infectados	Nº de animales infectados
ANDALUCÍA	412	4.003
ARAGÓN	20	253
ASTURIAS	38	144
BALEARES	1	8
CANARIAS	5	38
CANTABRIA	97	1.124
CASTILLA LA MANCHA	169	3.037
CASTILLA Y LEÓN	899	5.324
CATALUÑA	76	946
EXTREMADURA	504	2.701
GALICIA	101	400
LA RIOJA	2	34
MADRID	40	527
MURCIA	19	394
NAVARRA	5	39
PAÍS VASCO	11	54
VALENCIA	9	169
TOTAL	**2.408**	**19.195**

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

ANEXO V

DATOS DE LA CALIFICACIÓN DE LOS REBAÑOS AL FINAL DEL PERIODO

Estado miembro: España **Fecha:** 31/05/2007 **Año:** 2006

Enfermedad: Tuberculosis **Especie animal:** bovinos

CCAA	Calificación de los rebaños y animales incluidos en el programa													
	Número total de rebaños y animales incluidos en el programa		Desconocido		No libre o no oficialmente libre				Libre u oficialmente libre, suspendido		Libre		Oficialmente libre	
					Ultimo control positivo		Ultimo control negativo							
	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales
ANDALUCÍA	8.096	588.933	222	7.560	245	29.409	717	45.007	0	0	0	0	6.912	506.957
ARAGÓN	1.022	78.678	0	0	4	275	1	150	11	850	0	0	1.006	77.403
ASTURIAS	21.848	372.242	0	0	7	298	64	1.162	48	1.817	0	0	21.729	368.965
BALEARES	470	26.227	6	192	1	90	16	149	16	210	0	0	431	25.489
CANARIAS	1.386	19.050	0	0	3	580	1	1	0	0	0	0	1.382	18.469
CANTABRIA	9.206	282.477	1	46	49	2.506	9	802	0	0	0	0	8.847	271.688
CASTILLA LA MANCHA	2.191	220.012	6	221	89	16.663	120	14.252	6	962	0	0	1.970	187.914
CASTILLA Y LEÓN	17.610	1.011.824	13	661	146	23.054	428	56.278	213	15.988	0	0	16.810	915.843
CATALUÑA	4.695	302.337	0	0	44	4.566	44	3.167	106	6.166	0	0	4.500	288.483
EXTREMADURA	10.523	615.746	0	0	115	17.039	956	72.071	66	4.891	0	0	9.386	521.745
GALICIA	50.659	767.312	0	0	29	164	37	717	11	240	0	0	50.582	766.191
LA RIOJA	278	22.755	0	0	2	289	0	0	0	0	0	0	276	22.466
MADRID	1.547	100.857	8	221	18	763	19	1.451	0	0	0	0	1.502	98.422
MURCIA	383	36.001	0	0	4	587	15	131	6	611	0	0	358	34.672
NAVARRA	1.877	103.993	0	0	2	385	3	427	42	3.121	0	0	1.830	99.814
PAÍS VASCO	9.155	149.174	0	0	0	0	0	0	11	547	0	0	9.144	148.627
VALENCIA	564	47.442	4	36	5	401	35	1.584	1	63	0	0	519	45.358
TOTAL 2006	**141.510**	**4.745.060**	**260**	**8.937**	**763**	**97.069**	**2.465**	**197.349**	**537**	**35.466**	**0**	**0**	**137.184**	**4.398.506**
TOTAL 2005	**146.929**	**4.919.481**	**298**	**11.134**	**701**	**92.231**	**2.668**	**178.532**	**236**	**9.723**	**0**	**0**	**143.026**	**4.627.879**

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE
SANIDAD ANIMAL

ANEXO V

DATOS DE LA CALIFICACIÓN DE LOS REBAÑOS AL FINAL DEL PERIODO

Estado miembro: España **Fecha:** 31/05/2006 **Año:** 2005

Enfermedad: Tuberculosis **Especie animal:** bovinos

CCAA	Calificación de los rebaños y animales incluidos en el programa													
	Número total de rebaños y animales incluidos en el programa		Desconocido		No libre o no oficialmente libre				Libre u oficialmente libre, suspendido		Libre		Oficialmente libre	
					Ultimo control positivo		Ultimo control negativo							
	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales
ANDALUCÍA	8.015	553.294	220	6.717	248	28.285	726	43.348	0	0	0	0	6.821	474.944
ARAGÓN	1.092	65.672	0	0	1	800	6	300	7	1.060	0	0	1.078	63.512
ASTURIAS	22.823	383.535	0	0	16	677	173	1.403	56	1.743	0	0	22.578	379.712
BALEARES	541	37.184	5	182	0	0	89	1.456	3	261	0	0	444	35.285
CANARIAS	1.502	19.467	0	0	3	882	1	300	11	455	0	0	1.487	17.830
CANTABRIA	9.744	301.580	0	0	34	2.664	1	121	0	0	0	0	9.709	298.795
CASTILLA LA MANCHA	2.181	211.141	0	0	105	19.870	130	13.590	7	752	0	0	1.939	176.929
CASTILLA Y LEÓN	18.980	1.066.569	0	0	38	6.026	282	27.445	0	0	0	0	18.660	1.033.098
CATALUÑA	4.780	514.519	27	1.314	50	5.224	52	1.916	35	1.481	0	0	4.616	504.584
EXTREMADURA	10.615	519.637	0	0	137	23.312	1.012	78.419	32	919	0	0	9.434	416.987
GALICIA	53.019	796.723	0	0	29	1.179	124	3.508	14	366	0	0	52.852	791.670
LA RIOJA	306	24.687	0	0	1	416	3	749	1	112	0	0	301	23.410
MADRID	1.553	97.184	43	2.461	28	1.845	6	350	34	1.845	0	0	1.442	90.683
MURCIA	224	25.264	0	0	0	0	11	346	6	620	0	0	207	24.316
NAVARRA	1.886	98.985	0	0	1	209	2	1.111	0	0	0	0	1.883	97.665
PAÍS VASCO	9.155	149.174	0	0	1	181	1	280	27	39	0	0	9.126	148.674
VALENCIA	513	54.866	3	460	9	661	49	3.890	3	70	0	0	449	49.785
TOTAL 2005	**146.929**	**4.919.481**	**298**	**11.134**	**701**	**92.231**	**2.668**	**178.532**	**236**	**9.723**	**0**	**0**	**143.026**	**4.627.879**
TOTAL 2004	**153.813**	**4.785.238**	**57**	**1.177**	**851**	**112.507**	**4.183**	**297.896**	**219**	**16.710**	**0**	**0**	**148.503**	**4.356.948**

6.4. Datos sobre la calificación de los rebaños a finales de año

Año: 2002 **Enfermedad:** TUBERCULOSIS **Especie animal:** BOVINA

Región[(b)]	Calificación de los rebaños y animales incluidos en el programa													
	Número total de rebañ y anim incluidos en		Desconocida		No indemne/ no oficialmente indemne				Indemne u oficialmente indemne		Indemne		Oficialmente indemne	
					Último control +		Último control -							
	Rebañ	Anim	Rebañ	Anim	Rebañ	Anim	Rebañ	Anim	Rebañ	Anim	Rebañ	Anim	Rebañ	Anim
ANDALUCÍA	8.872	624167	97		690		1530		5677				5677	
ARAGÓN	1.177	62621	0		28		23		1126				1126	
ASTURIAS	26.955	427931	0		18		596		26341				26341	
BALEARES	633	35000	2		0		58		488				488	
CANARIAS	2.390	26463	0		0		0		2384				2384	
CANTABRIA	11.273	335307	0		128		63		11082				11082	
CASTILLA MANCHA	2.483	223520	0		191		141		2151				2151	
CASTILLA Y LEÓN	22.505	1117674	0		536		1538		20318				20318	
CATALUÑA	3.912	224271	8		56		175		3673				3673	
EXTREMADURA	11.205	487026			291		2186		8740				8740	
GALICIA	65.913	864936	0		89		300		65524				65524	
LA RIOJA	341	25576	0		6		8		327				327	
MADRID	1.807	78143	0		73		229		1505				1505	
MURCIA	125	9850	0		1		21		103				103	
NAVARRA	2.662	85480	29		26		32		2473				2473	
PAÍS VASCO	6.862	117183	0		1		2		6859				6859	
VALENCIA	450	28651	0		47		88		315				315	
Total	169.565	4773802	136		2181		6990		159086				159086	

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE
SANIDAD ANIMAL

ANEXO V

DATOS DE LA CALIFICACIÓN DE LOS REBAÑOS AL FINAL DEL PERIODO

Estado miembro: España **Fecha:** 29/03/2004 **Año:** 2003
Enfermedad: Tuberculosis bovina **Especie animal:** Bovinos

CCAA	Calificación de los rebaños y animales incluidos en el programa													
	Número total de rebaños y animales incluidos en el programa		Desconocido		No libre o no oficialmente libre				Libre u oficialmente libre, suspendido		Libre		Oficialmente libre	
					Ultimo control positivo		Ultimo control negativo							
	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales
ANDALUCÍA	8255	569755	339	1481	446	47460	1347	73371	0	0	0	0	6123	435193
ARAGÓN	1165	63556	0	0	15	1010	11	1165	7	459	0	0	1132	60922
ASTURIAS	25856	422301	0	0	25	857	365	1795	41	743	0	0	25425	418906
BALEARES	545	25417	53	848	5	484	0	0	3	301	0	0	489	24268
CANARIAS	1800	19700	86	106	0	0	0	0	18	128	0	0	1696	19466
CANTABRIA	10776	297388	0	0	90	5141	135	5141	0	0	0	0	10551	287879
CASTILLA LA MANCHA	2390	211075	0	0	1	88	151	2592	0	0	0	0	2238	208395
CASTILLA Y LEÓN	21060	1113143	0	0	341	49040	1162	85508	0	0	0	0	19557	978595
CATALUÑA	3776	255936	13	220	31	2172	150	6672	0	0	0	0	3582	246872
EXTREMADURA	11130	569891	1	5	196	35231	1553	102544	1181	153729	0	0	9380	432111
GALICIA	61751	851120	0	0	33	814	147	5120	0	0	0	0	60965	826166
LA RIOJA	333	24580	0	0	3	611	6	1064	0	0	0	0	324	22905
MADRID	1755	95179	0	0	40	3019	146	5084	0	0	0	0	1569	77068
MURCIA	203	23253	0	0	3	234	19	856	0	0	0	0	181	22163
NAVARRA	2309	87471	0	0	5	0	14	0	37	0	0	0	2253	0
PAÍS VASCO	5997	114685	0	0	3	115	0	0	4	285	0	0	7105	145377
VALENCIA	450	28651	0	0	18	1253	185	7741	0	0	0	0	247	19657
TOTAL 2003	**159551**	**4773101**	**492**	**2660**	**1255**	**147529**	**5391**	**298653**	**1291**	**155645**	**0**	**0**	**152817**	**4225943**
TOTAL 2002	**169565**	**4773799**	**136**		**2181**		**6990**				**0**		**159086**	

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE
SANIDAD ANIMAL

ANEXO V
DATOS DE LA CALIFICACIÓN DE LOS REBAÑOS AL FINAL DEL PERIODO

Estado miembro: España **ANEXO V** Calificación rebaños **Fecha:** 31/05/2005 **Año:** 2004

Enfermedad: Tuberculosis bovina **Especie animal:** Bovinos

Año 2004

CCAA	Calificación de los rebaños y animales incluidos en el programa													
	Número total de rebaños y animales incluidos en el programa		Desconocido		No libre o no oficialmente libre				Libre u oficialmente libre, suspendido		Libre		Oficialmente libre	
					Ultimo control positivo		Ultimo control negativo							
	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales
ANDALUCÍA	8648	594745	22	578	308	35273	1055	57508	0	0	0	0	7263	501386
ARAGÓN	1132	64074	0	0	8	954	15	1444	1	135	0	0	1108	61541
ASTURIAS	24212	412563	0	0	29	834	29	1048	16	381	0	0	24138	410300
BALEARES	463	26085	0	0	0	0	15	272	3	346	0	0	445	25467
CANARIAS	1795	21767	0	0	1	118	3	86	21	2921	0	0	1770	18642
CANTABRIA	10297	307208	0	0	50	2550	50	1850	0	0	0	0	10197	302808
CASTILLA LA MANCHA	2211	236564	3	167	133	33434	101	21338	2	162	0	0	1972	181463
CASTILLA Y LEÓN	20296	1085999	0	0	100	13689	1277	110236	11	1231	0	0	18908	960843
CATALUÑA	3560	257084	14	176	35	3351	112	2993	0	0	0	0	3399	250564
EXTREMADURA	10879	527045	0	0	135	19342	1240	89820	45	5807	0	0	9459	412076
GALICIA	56810	822698	0	0	34	1842	160	5384	8	197	0	0	56608	815275
LA RIOJA	326	25799	0	0	1	17	5	540	2	725	0	0	318	24517
MADRID	1681	93248	0	0	0	0	0	0	18	529	0	0	1663	92719
MURCIA	224	27380	0	0	2	224	18	137	1	185	0	0	203	26834
NAVARRA	1976	99521	0	0	2	176	3	76	87	3798	0	0	1884	95471
PAÍS VASCO	8829	147806	0	0	2	50	3	293	4	293	0	0	8820	147170
VALENCIA	474	35652	18	256	11	653	97	4871	0	0	0	0	348	29872
TOTAL 2004	**153813**	**4785238**	**57**	**1177**	**851**	**112507**	**4183**	**297896**	**219**	**16710**	**0**	**0**	**148503**	**4356948**
TOTAL 2003	**159551**	**4773101**	**492**	**2660**	**1255**	**147529**	**5391**	**298653**	**1291**	**155645**	**0**	**0**	**152817**	**4225943**

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE
SANIDAD ANIMAL

DATOS SOBRE ANIMALES SILVESTRES (Punto 6,6,1)

Año : 2006

Método de estimación[(a)]: para ciervo y jabalí, cupo de caza referido a 2003
http://www.mapa.es/estadistica/Anu_04/capitulos/AEA2004-C29.xls

Comunidad Autónoma	Estimación de la población de las especies de animales silvestres en cuestión					
	Especie: ciervo	Especie: jabalí	Especie: venado	Especie: gamo	Especie: rebeco	Especie: corzo
ANDALUCIA	17.644	10.355				
ARAGON	1.774	18.492				
ASTURIAS	451	2.443	6.200	1.300	6.000	
BALEARES	0	0				
CANARIAS	0	0	0	0	0	
CANTABRIA	395	782				
CAST-LEON	5.116	16.287				
CAST-LA MANCHA	20.454	19.876				
CATALUÑA	381	19.846				
EXTREMADURA	11.410	8.006				
GALICIA	44	4				
MADRID	842	1.858				
MURCIA	20	565				
NAVARRA	347	5.437				3.500
PAIS VASCO	155	2.887				
LA RIOJA	9.000	918				
VALENCIA	195	7.897				
TOTAL	68.228	115.653	6.200	1.300	6.000	3.500

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

Año : 2006 **Enfermedad :TUBERCULOSIS** **Especie Animal :**

CIERVO (1)
JABALÍ (2)
LOBO (3)
CORZO (4)
GAMO (5)

Descripción de las pruebas serológicas empleadas : IFN-GAMMA específico
Descripción de las pruebas microbiológicas o virológicas empleadas : aislamiento
Descripción de las demás pruebas empleadas : lesiones macroscópicas

Comunidad Autónoma	Pruebas microbiológicas o virológicas		Pruebas serológicas		Otras pruebas	
	Núm	Número de muestras positivas	Número de muestras sometidas a prueba	Número de muestras positivas	Número de muestras sometidas a prueba	Número de muestras positivas
ANDALUCIA	27(1), 14(5), 47(2)	pendiente de resultados			135(1), 78(5), 77(2)	27(1), 14(5), 47(2)
ARAGON						
ASTURIAS					51(1), 11(5), 24(2)	0
BALEARES						
CANARIAS	0	0	0	0	0	0
CANTABRIA	176(1), 55(2), 2(3), 1(4)	3(1), 11(2)	83 (1)	1		
CAST-LEON						
CAST-LA MANCHA	12(1), 75(2)	pendiente de resultados	0	0	263(1), 16(5), 264(2)	12(1), 75(2)
CATALUÑA	26 (4)	pendiente de resultados			34(4)	26
EXTREMADURA						
GALICIA						
MADRID	38(5), 15(1), 6(2)	37(5), 14(1), 3(2)				
MURCIA						
NAVARRA	100	20			25(2)	10
PAIS VASCO						
LA RIOJA						
VALENCIA						
TOTAL						

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE
SANIDAD ANIMAL

DATOS SOBRE LAS VACUNACIONES O TRATAMIENTOS DE ANIMALES SILVESTRES

(Punto 6,6,3)

Año : 2006 **Enfermedad :** **Especie Animal :**

Descripción de la vacuna, terapia u otro procedimiento utilizado

Comunidad Autónoma	Km cuadrados	Programa de vacunación o tratamiento		
		Número de dosis de vacunao tratamiento que estaba previsto administrar	Número de campañas	Número de dosis devacuna o tratamiento administradas
ANDALUCIA	87.268	0	0	0
ARAGON	47.669	0	0	0
ASTURIAS	10.564	0	0	0
BALEARES	5.014	0	0	0
CANARIAS	7.447	0	0	0
CANTABRIA	5.289	0	0	0
CAST-LEON	94.147	0	0	0
CAST-LA MANCHA	79.226	0	0	0
CATALUÑA	31.930	0	0	0
EXTREMADURA	41.602	0	0	0
GALICIA	29.434	0	0	0
MADRID	7.995	0	0	0
MURCIA	11.317	0	0	0
NAVARRA	10.421	0	0	0
PAIS VASCO	7.261	0	0	0
LA RIOJA	5.034	0	0	0
VALENCIA	23.305	0	0	0
TOTAL	**504.923**	0	0	0

7. OBJETIVOS

7.1. OBJETIVOS DE MUESTREO 2008-2010

7.1.1. OBJETIVOS DE LOS TEST DIAGNÓSTICOS 2008-2010
7.1.2. OBJETIVOS DE LAS PRUEBAS REALIZADAS A REBAÑOS Y ANIMALES 2008-2010

7.2. OBJETIVOS DE LAS CALIFICACIONES DE REBAÑOS Y ANIMALES 2008-2010
7.3. OBJETIVOS DE VACUNACIÓN O TRATAMIENTO

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE
SANIDAD ANIMAL

OBJETIVOS DE LAS PRUEBAS (Punto 7,1,1)

AÑO*:2008
Enfermedad : TUBERCULOSIS **Especie Animal :BOVINA**

Comunidad Autónoma	Tipo de Prueba	Población destinataria	Tipo de muestra	Objetivo	Número de pruebas previstas
ANDALUCIA	IDTB	Mayores de 6 semanas	Otras	DETECCIÓN	915.000
	Gamma interferón	Mayores de 6 meses	Sangre	COMPLEMENTARIA	30.000
	Aislamiento	Animales positivos	Ganglios, Tejido	Confirmación	1.000
ARAGON	IDTB	Mayores de 6 semanas	Otras	DETECCIÓN	160.000
ASTURIAS	IDTB	Mayores de 6 semanas	Otras	DETECCIÓN	402.000
	Gamma interferon	Mayores de 6 meses	Sangre	Prueba complementaria	1.500
	Aislamiento	Animales positivos	Ganglios, Tejido	Confirmación	2.000
	PCR	Animales positivos	Ganglios, Tejido	Confirmación	1.000
BALEARES	IDTB	Mayores de 6 semanas	Otras	DETECCIÓN	300.000
CANARIAS	IDTB	Mayores de 6 semanas	Otras	DETECCIÓN	20.270
CANTABRIA	IDTB	Mayores de 6 semanas	Otras	DETECCIÓN	350.000
	Gamma interferon	Mayores de 6 meses	Sangre	Prueba complementaria	5.000
	Aislamiento	Animales positivos	Ganglios, Tejido	Confirmación	1.000
CAST-LEON	IDTB	Mayores de 6 semanas	Otras	DETECCIÓN	1.210.000
	Gamma interferon	Mayores de 6 meses	Sangre	Prueba complementaria	7.000
	Aislamiento	Animales positivos	Ganglios, Tejido	Confirmación	800
CAST-LA MANCHA	IDTB	Mayores de 6 semanas	Otras	DETECCIÓN	300.000
	Gamma interferon	Mayores de 6 meses	Sangre	Prueba complementaria	5.000
	Aislamiento	Animales positivos	Ganglios, Tejido	Confirmación	100
CATALUÑA	IDTB	Mayores de 6 semanas	Otras	DETECCIÓN	320.000
	Gamma interferon	Mayores de 6 meses	Sangre	Prueba complementaria	10.150
	Aislamiento	Animales positivos	Ganglios, Tejido	Confirmación	700
	PCR	Animales positivos	Ganglios, Tejido	Confirmación	200
EXTREMADURA	IDTB	Mayores de 6 meses	Otras	DETECCIÓN	616000
	Gamma interferon	Mayores de 6 semanas	Sangre	Prueba complementaria	11000
GALICIA	IDTB	Mayores de 6 semanas	Otras	DETECCIÓN	1.500.000
	Gamma interferon	Mayores de 6 meses	Sangre	Prueba complementaria	15.000
MADRID	IDTB	Mayores de 6 semanas	Otras	DETECCION	95.000
	Aislamiento	Animales positivos	Ganglios, Tejido	Confirmación	250
	Gamma interferon	Mayores de 6 meses	Sangre	Prueba complementaria	2.000
MURCIA	IDTB	Mayores de 6 semanas	Otras	DETECCIÓN	38.000
	Gamma interferon	Mayores de 6 meses	Sangre	Prueba complementaria	1.500
NAVARRA	IDTB	Mayores de 6 semanas	Otras	DETECCIÓN	100.000
PAIS VASCO	IDTB	Mayores de 6 semanas	Otras	DETECCION	118.000
LA RIOJA	IDTB	Mayores de 6 semanas	Otras	DETECCIÓN	24.800
VALENCIA	IDTB	Mayores de 6 semanas	Otras	DETECCIÓN	79.252
	Gamma interferón	Mayores de 6 meses	Sangre	Prueba complementaria	200
TOTAL					6.643.722

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE
SANIDAD ANIMAL

OBJETIVOS DE LAS PRUEBAS (Punto 7,1,1)

AÑO*:2009
Enfermedad : TUBERCULOSIS **Especie Animal :BOVINA**

Comunidad Autónoma	Tipo de Prueba	Población destinataria	Tipo de muestra	Objetivo	Número de pruebas previstas
ANDALUCIA	IDTB	Mayores de 6 semanas	Otras	DETECCIÓN	915.000
	Gamma interferón	Mayores de 6 meses	Sangre	COMPLEMENTARIA	25.000
	Aislamiento	Animales positivos	Ganglios, Tejido	Confirmación	1.000
ARAGON	IDTB	Mayores de 6 semanas	Otras	DETECCIÓN	160.000
ASTURIAS	IDTB	Animales > 6 semanas	otras	DETECCIÓN	400.000
	IDTB COMPARADA	Animales > 6 semanas	otras	DETECCIÓN	2.000
	INTERFERON-gamma	Animales > 6 meses	sangre	COMPLEMENTARIA	2.000
	AISLAMIENTO	Animales positivos	lesión	CONFIRMACIÓN	1.500
	PCR	Animales positivos	lesión	CONFIRMACIÓN	800
BALEARES	IDTB	Animales > 6 semanas	otras	DETECCIÓN	300.000
CANARIAS	IDTB	Animales > 6 semanas	otras	DETECCIÓN	20.470
CANTABRIA	IDTB	Animales > 6 semanas	otras	DETECCIÓN	350.000
	INTERFERON-gamma	Animales > 6 meses	sangre	COMPLEMENTARIA	5.000
	AISLAMIENTO	Animales positivos	lesión	CONFIRMACIÓN	1.000
CAST-LEON	IDTB	Animales > 6 semanas	otras	DETECCIÓN	1.210.000
	INTERFERON-gamma	Animales > 6 meses	sangre	COMPLEMENTARIA	10.000
	AISLAMIENTO	Animales positivos	lesión	CONFIRMACIÓN	800
CAST-LA MANCHA	IDTB	Animales > 6 semanas	otras	DETECCIÓN	300.000
	INTERFERON-gamma	Animales > 6 meses	sangre	COMPLEMENTARIA	4.000
	AISLAMIENTO	Animales positivos	lesión	CONFIRMACIÓN	80
CATALUÑA	IDTB	Animales > 6 semanas	otras	DETECCIÓN	310.000
	IDTB COMPARADA	Animales > 6 semanas	otras	DETECCIÓN	9.000
	INTERFERON-gamma	Animales > 6 meses	sangre	COMPLEMENTARIA	9.125
	AISLAMIENTO	Animales positivos	lesión	CONFIRMACIÓN	400
	PCR	Animales positivos	lesión	CONFIRMACIÓN	150
EXTREMADURA	IDTB	Animales > 6 semanas	otras	DETECCIÓN	618.000
	INTERFERON-gamma	Animales >6 meses	Sangre	COMPLEMENTARIA	8.000
GALICIA	IDTB	Animales > 6 semanas	otras	DETECCIÓN	1.500.000
	IDTB COMPARADA	Animales > 6 semanas	otras	DETECCIÓN	130.000
	INTERFERON-gamma	Animales > 6 meses	sangre	COMPLEMENTARIA	15.000
	AISLAMIENTO	Animales positivos	lesión	CONFIRMACIÓN	4.000
MADRID	IDTB	Animales > 6 semanas	otras	DETECCIÓN	90.000
	INTERFERON-gamma	Animales > 6 meses	sangre	COMPLEMENTARIA	1.500
	AISLAMIENTO	Animales positivos	lesión	CONFIRMACIÓN	200
MURCIA	IDTB	Animales > 6 semanas	otras	DETECCIÓN	39.000
	INTERFERON-gamma	Animales > 6 meses	sangre	COMPLEMENTARIA	1.500
NAVARRA	IDTB	Animales > 6 semanas	otras	DETECCIÓN	100.000
PAIS VASCO	IDTB	Mayores de 6 semanas	Otras	DETECCION	118.000
LA RIOJA	IDTB	Animales > 6 semanas	otras	DETECCIÓN	24.000
VALENCIA	IDTB	Animales > 6 semanas	otras	DETECCIÓN	76.994
	INTERFERON-gamma	Animales > 6 meses	sangre	COMPLEMENTARIA	100
TOTAL					6.763.619

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE
SANIDAD ANIMAL

OBJETIVOS DE LAS PRUEBAS (Punto 7,1,1)

AÑO*:2010
Enfermedad : TUBERCULOSIS **Especie Animal :BOVINA**

Comunidad Autónoma	Tipo de Prueba	Población destinataria	Tipo de muestra	Objetivo	Número de pruebas previstas
ANDALUCIA	IDTB	Mayores de 6 semanas	Otras	DETECCIÓN	915.000
	Gamma interferón	Mayores de 6 meses	Sangre	COMPLEMENTARIA	25.000
	Aislamiento	Animales positivos	Ganglios, Tejido	Confirmación	1.000
ARAGON	IDTB	Mayores de 6 semanas	Otras	DETECCIÓN	160.000
ASTURIAS	IDTB	Animales >6 semanas	Otras	DETECCIÓN	390.000
	IDTB COMPARADA	Animales >6 semanas	Otras	DETECCIÓN	1.500
	INTERFERON-GAMMA	Animales >6 meses	Sangre	COMPLEMENTARIA	1.500
	AISLAMIENTO	Animales positivos	Lesión	CONFIRMACIÓN	1.000
	PCR	Animales positivos	Lesión	CONFIRMACIÓN	500
BALEARES	IDTB	Animales >6 semanas	Otras	DETECCIÓN	300000
CANARIAS	IDTB COMPARADA	Animales >6 semanas	Otras	DETECCIÓN	20700
CANTABRIA	IDTB	Animales >6 semanas	Otras	DETECCIÓN	350000
	INTERFERON-GAMMA	Animales >6 meses	Sangre	COMPLEMENTARIA	5000
	AISLAMIENTO	Animales positivos	Lesión	CONFIRMACIÓN	1000
CAST-LEON	IDTB	Animales >6 semanas	Otras	DETECCIÓN	1210000
	INTERFERON-GAMMA	Animales >6 meses	Sangre	COMPLEMENTARIA	8500
	AISLAMIENTO	Animales positivos	Lesión	CONFIRMACIÓN	800
CAST-LA MANCHA	IDTB	Animales >6 semanas	Otras	DETECCIÓN	300000
	INTERFERON-GAMMA	Animales >6 meses	Sangre	COMPLEMENTARIA	1000
	AISLAMIENTO	Animales positivos	Lesión	CONFIRMACIÓN	5
CATALUÑA	IDTB	Animales >6 semanas	Otras	DETECCIÓN	310000
	IDTB COMPARADA	Animales >6 semanas	Otras	DETECCIÓN	8000
	INTERFERON-GAMMA	Animales >6 meses	Sangre	COMPLEMENTARIA	8100
	AISLAMIENTO	Animales positivos	Lesión	CONFIRMACIÓN	200
	PCR	Animales positivos	Lesión	CONFIRMACIÓN	100
EXTREMADURA	IDTB	Animales >6 semanas	Otras	DETECCIÓN	620000
	INTERFERON-GAMMA	Animales > 6 meses	Sangre	COMPLEMENTARIA	5000
GALICIA	IDTB	Animales >6 semanas	Otras	DETECCIÓN	1500000
	IDTB COMPARADA	Animales >6 semanas	Otras	DETECCIÓN	130000
	INTERFERON-GAMMA	Animales >6 meses	Sangre	COMPLEMENTARIA	15000
	AISLAMIENTO	Animales positivos	Lesión	CONFIRMACIÓN	4000
MADRID	IDTB	Animales >6 semanas	Otras	DETECCIÓN	90000
	INTERFERON-GAMMA	Animales >6 meses	Sangre	COMPLEMENTARIA	1200
	AISLAMIENTO	Animales positivos	Lesión	CONFIRMACIÓN	150
MURCIA	IDTB	Animales >6 semanas	Otras	DETECCIÓN	40000
	INTERFERON-GAMMA	Animales >6 meses	Sangre	COMPLEMENTARIA	1500
NAVARRA	IDTB	Animales >6 semanas	Otras	DETECCIÓN	100000
PAIS VASCO	IDTB	Mayores de 6 semanas	Otras	DETECCION	118.000
LA RIOJA	IDTB	Animales >6 semanas	Otras	DETECCIÓN	23500
VALENCIA	IDTB	Animales >6 semanas	Otras	DETECCIÓN	74805
TOTAL					6.742.060

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE
SANIDAD ANIMAL

OBJETIVOS DE LAS PRUEBAS REALIZADAS A REBAÑOS Y ANIMALES (Punto 7.1.2.1)

AÑO*:2008 **REBAÑOS**

Enfermedad :TUBERCULOSIS **Especie Animal : BOVINA**

Comunidad Autónoma	Número total de rebaños	Número total de rebaños incluidos en el programa	Número de rebaños que esta previsto controlar	Número de rebaños positivos previstos	Número de nuevos rebaños positivos previstos	Números de rebaños en los que se prevé vacio sanitario	Porcentaje de rebaños positivos en los que se prevé vacio sanitario	INDICADORES DE OBJETIVOS		
								Porcentaje previsto de cobertura de los rebaños	Porcentaje previsto de rebaños positivos Prevalencia prevista en rebaños en el periodo	Porcentaje previsto de nuevos rebaños positivos Incidencia prevista en rebaños
ANDALUCIA	8.700	7.500	7.500	288	100	20	6,94	100,00	3,84	1,33
ARAGON	3.390	1.025	1.025	13	10	0	0,00	100,00	1,27	0,98
ASTURIAS	22.000	22.000	22.000	25	10	14	56,00	100,00	0,11	0,05
BALEARES	700	500	480	1	1	1	100,00	96,00	0,21	0,21
CANARIAS	1.386	1.386	1.386	3	0	1	33,33	100,00	0,22	0,00
CANTABRIA	9.228	9.206	9.206	66	56	30	45,45	100,00	0,72	0,61
CAST-LEON	18.000	18.000	18.000	550	304	158	28,73	100,00	3,06	1,69
CAST-LA MANCHA	3.600	2.200	2.200	111	40	15	13,51	100,00	5,05	1,82
CATALUÑA	6.350	4.650	4.650	53	30	6	11,32	100,00	1,14	0,65
EXTREMADURA	12200	10600	10600	340	75	15	4,41	100,00	3,21	0,71
GALICIA	49.000	49.000	49.000	80	58	50	62,50	100,00	0,16	0,12
MADRID	1.640	1.440	1.440	25	10	3	12,00	100,00	1,74	0,69
MURCIA	414	390	390	5	1	0	0,00	100,00	1,28	0,26
NAVARRA	1.900	1.850	1.850	4	3	3	75,00	100,00	0,22	0,16
PAIS VASCO	9.276	6.000	6.000	2	1	0	0,00	100,00	0,03	0,02
LA RIOJA	360	255	255	1	0	0	0,00	100,00	0,39	0,00
VALENCIA	682	682	682	7	5	0	0,00	100,00	1,03	0,73
TOTAL	**148.826**	**136.684**	**136.664**	**1.574**	**704**	**316**	**20,08**	**99,99**	**1,15**	**0,52**

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE
SANIDAD ANIMAL

OBJETIVOS DE LAS PRUEBAS REALIZADAS A REBAÑOS Y ANIMALES (Punto 7.1.2.1)

AÑO*:2009 **REBAÑOS**

Enfermedad :TUBERCULOSIS **Especie Animal :BOVINA**

Comunidad Autónoma	Número total de rebaños	Número total de rebaños incluidos en el programa	Número de rebaños que esta previsto controlar	Número de rebaños positivos previstos	Número de nuevos rebaños positivos previstos	Números de rebaños en los que se prevé vacio sanitario	Porcentaje de rebaños positivos en los que se prevé vacio sanitario	INDICADORES DE OBJETIVOS		
								Porcentaje previsto de cobertura de los rebaños	Porcentaje previsto de rebaños positivos Prevalencia prevista en rebaños en el periodo	Porcentaje previsto de nuevos rebaños positivos Incidencia prevista en rebaños
ANDALUCIA	8.600	7.500	7.500	144	70	30	20,83	100,00	1,92	0,93
ARAGON	3.000	1.025	1.025	7	6	0	0,00	100,00	0,68	0,59
ASTURIAS	22.000	22.000	22.000	10	5	7	70,00	100,00	0,05	0,02
BALEARES	700	500	485	0	0	0	0,00	97,00	0,00	0,00
CANARIAS	1.346	1.346	1.346	2	0	1	50,00	100,00	0,15	0,00
CANTABRIA	9.228	9.206	9.206	32	25	32	100,00	100,00	0,35	0,27
CAST-LEON	18.000	18.000	18.000	300	135	76	25,33	100,00	1,67	0,75
CAST-LA MANCHA	3.600	2.200	2.200	53	20	9	16,98	100,00	2,41	0,91
CATALUÑA	6.300	4.600	4.600	26	15	3	11,54	100,00	0,57	0,33
EXTREMADURA	12350	10800	10650	180	50	10	5,56	98,61	1,69	0,47
GALICIA	48.000	48.000	48.000	35	20	23	65,00	100,00	0,07	0,04
MADRID	1.500	1.300	1.300	10	5	3	30,00	100,00	0,77	0,38
MURCIA	414	400	400	3	1	0	0,00	100,00	0,75	0,25
NAVARRA	1.900	1.850	1.850	2	1	2	100,00	100,00	0,11	0,05
PAIS VASCO	9.276	6.000	6.000	1	1	0	0,00	100,00	0,02	0,02
LA RIOJA	350	251	251	0	0	0	0,00	100,00	0,00	0,00
VALENCIA	661	661	661	3	2	0	0,00	100,00	0,45	0,30
TOTAL	**135.625**	**127.114**	**126.949**	**657**	**280**	**166**	**25,23**	**99,87**	**0,52**	**0,22**

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE
SANIDAD ANIMAL

OBJETIVOS DE LAS PRUEBAS REALIZADAS A REBAÑOS Y ANIMALES (Punto 7.1.2.1)

AÑO*:2010 **REBAÑOS**

Enfermedad :TUBERCULOSIS **Especie Animal : BOVINA**

Comunidad Autónoma	Número total de rebaños	Número total de rebaños incluidos en el programa	Número de rebaños que esta previsto controlar	Número de rebaños positivos previstos	Número de nuevos rebaños positivos previstos	Números de rebaños en los que se prevé vacio sanitario	Porcentaje de rebaños positivos en los que se prevé vacio sanitario	INDICADORES DE OBJETIVOS		
								Porcentaje previsto de cobertura de los rebaños	Porcentaje previsto de rebaños positivos Prevalencia prevista en rebaños en el periodo	Porcentaje previsto de nuevos rebaños positivos Incidencia prevista en rebaños
ANDALUCIA	8.300	7.500	7.500	15	10	5	33,33	100,00	0,20	0,13
ARAGON	3.000	1.025	1.025	1	1	1	100,00	100,00	0,10	0,10
ASTURIAS	21.000	21.000	21.000	3	2	3	100,00	100,00	0,01	0,01
BALEARES	700	500	490	0	0	0	0,00	98,00	0,00	0,00
CANARIAS	1.340	1.340	1.340	0	0	0	0,00	100,00	0,00	0,00
CANTABRIA	9.228	9.206	9.206	5	4	5	100,00	100,00	0,05	0,04
CAST-LEON	18.000	18.000	18.000	15	13	7	46,67	100,00	0,08	0,07
CAST-LA MANCHA	3.600	2.200	2.200	1	1	1	0,00	100,00	0,05	0,05
CATALUÑA	6.250	4.550	4.550	1	1	1	100,00	100,00	0,02	0,02
EXTREMADURA	12.500	10.700	10.700	10	5	5	50,00	100,00	0,09	0,05
GALICIA	47.500	47.500	47.500	3	3	3	0,00	100,00	0,01	0,01
MADRID	1.450	1.300	1.300	3	2	2	66,67	100,00	0,23	0,15
MURCIA	414	400	400	1	0	1	100,00	100,00	0,25	0,00
NAVARRA	1.900	1.850	1.850	1	1	1	100,00	100,00	0,05	0,05
PAIS VASCO	9.276	6.000	6.000	0	0	0	0,00	100,00	0,00	0,00
LA RIOJA	345	249	249	0	0	0	0,00	100,00	0,00	0,00
VALENCIA	642	642	642	0	0	0	0,00	100,00	0,00	0,00
TOTAL	145.445	133.962	133.952	59	43	35	59,32	99,99	0,04	0,03

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE
SANIDAD ANIMAL

OBJETIVOS DE LAS PRUEBAS REALIZADAS A REBAÑOS Y ANIMALES (Punto 7.1.2.2)

AÑO*:2008 **ANIMALES**

Enfermedad :TUBERCULOSIS **Especie Animal :BOVINA**

Comunidad Autónoma	Número total de animales	Número de animales incluidos en el programa	Número de animales que se prevé someter a pruebas	Número de animales que se prevé someter a pruebas individualmente	Número de animales previsiblemente positivos	Sacrificio		INDICADORES	
						Número de animales positivos que se prevé sacrificar	Número total de animales que esta previsto sacrificar	Porcentaje de cobertura previsto de los animales	Porcentaje previsto de animales positivos (prevalencia de animales prevista)
ANDALUCIA	580.000	550.000	550.000	550.000	2.000	2.000	5.000	100,00	0,36
ARAGON	317.000	82.000	82.000	82.000	150	150	150	100,00	0,18
ASTURIAS	380.000	375.000	375.000	375.000	80	80	300	100,00	0,02
BALEARES	35.000	28.000	23.800	23.800	2	50	50	85,00	0,01
CANARIAS	19.270	19.270	19.270	19.270	35	35	120	100,00	0,18
CANTABRIA	283.435	282.478	282.748	282.748	1.000	1.000	2.500	100,10	0,35
CAST-LEON	1.100.000	800.000	800.000	800.000	5.500	5.500	9.625	100,00	0,69
CAST-LA MANCHA	400.000	220.000	220.000	220.000	2.000	2.000	4.000	100,00	0,91
CATALUÑA	662.000	302.000	302.000	302.000	550	550	700	100,00	0,18
EXTREMADURA	735642	616000	616000	616000	2200	2200	2350	100,00	0,36
GALICIA	770.000	770.000	770.000	770.000	308	308	1.450	100,00	0,04
MADRID	110.000	95.000	95.000	95.000	300	300	450	100,00	0,32
MURCIA	74.000	38.000	38.000	38.000	5	5	5	100,00	0,01
NAVARRA	105.000	90.000	90.000	90.000	200	200	200	100,00	0,22
PAIS VASCO	158.000	92.000	92.000	92.000	25	25	45	100,00	0,03
LA RIOJA	36.500	23.300	23.300	23.300	6	6	7	100,00	0,03
VALENCIA	59.091	59.091	59.091	59.091	30	30	30	100,00	0,05
TOTAL	**5.824.938**	**4.442.139**	**4.438.209**	**4.438.209**	**14.391**	**14.439**	**26.982**	**99,91**	**0,32**

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE
SANIDAD ANIMAL

OBJETIVOS DE LAS PRUEBAS REALIZADAS A REBAÑOS Y ANIMALES (Punto 7.1.2.2)

AÑO*:2009 **ANIMALES**

Enfermedad :TUBERCULOSIS **Especie Animal :BOVINA**

Comunidad Autónoma	Número total de animales	Número de animales incluidos en el programa	Número de animales que se prevé someter a pruebas	Número de animales que se prevé someter a pruebas individualmente	Número de animales previsiblemente positivos	Sacrificio		INDICADORES	
						Número de animales positivos que se prevé sacrificar	Número total de animales que esta previsto sacrificar	Porcentaje de cobertura previsto de los animales	Porcentaje previsto de animales positivos (prevalencia de animales prevista)
ANDALUCIA	580.000	550.000	550.000	550.000	780	780	3.000	100,00	0,14
ARAGON	300.000	82.000	82.000	82.000	72	72	72	100,00	0,09
ASTURIAS	380.000	375.000	375.000	375.000	40	40	200	100,00	0,01
BALEARES	35.000	28.000	24.080	24.080	0	0	2	86,00	0,00
CANARIAS	19.470	19.470	19.470	19.470	20	20	100	100,00	0,10
CANTABRIA	283.435	282.478	282.748	282.748	650	650	2.000	100,10	0,23
CAST-LEON	1.100.000	1.100.000	1.100.000	1.100.000	4.400	4.400	4.620	100,00	0,40
CAST-LA MANCHA	400.000	220.000	220.000	220.000	1.000	1.000	2.000	100,00	0,45
CATALUÑA	662.000	302.000	302.000	302.000	250	250	350	100,00	0,08
EXTREMADURA	736000	616250	616250	616250	1250	1250	1300	100,00	0,20
GALICIA	770.000	770.000	770.000	770.000	350	350	1.400	100,00	0,00
MADRID	100.000	90.000	90.000	90.000	250	250	350	100,00	0,28
MURCIA	74.000	39.000	39.000	39.000	3	3	3	100,00	0,01
NAVARRA	105.000	90.000	90.000	90.000	30	30	200	100,00	0,03
PAIS VASCO	158.000	92.000	92.000	92.000	25	25	45	100,00	0,03
LA RIOJA	36.000	22.700	22.700	22.700	0	0	0	100,00	0,00
VALENCIA	57.319	57.319	57.319	57.319	10	10	10	100,00	0,02
TOTAL	**4.916.224**	**4.104.217**	**4.100.567**	**4.100.567**	**8.278**	**8.278**	**12.580**	**99,91**	**0,20**

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE
SANIDAD ANIMAL

OBJETIVOS DE LAS PRUEBAS REALIZADAS A REBAÑOS Y ANIMALES (Punto 7.1.2.2)

AÑO*:2010 **ANIMALES**

Enfermedad :TUBERCULOSIS **Especie Animal :BOVINA**

Comunidad Autónoma	Número total de animales	Número de animales incluidos en el programa	Número de animales que se prevé someter a pruebas	Número de animales que se prevé someter a pruebas individualmente	Número de animales previsiblemente positivos	Sacrificio		INDICADORES	
						Número de animales positivos que se prevé sacrificar	Número total de animales que esta previsto sacrificar	Porcentaje de cobertura previsto de los animales	Porcentaje previsto de animales positivos (prevalencia de animales prevista)
ANDALUCIA	550.000	500.000	500.000	500.000	210	210	700	100,00	0,04
ARAGON	300.000	82.000	82.000	82.000	15	15	150	100,00	0,02
ASTURIAS	375.000	370.000	370.000	370.000	20	20	100	100,00	0,01
BALEARES	35.000	28.000	24.360	24.360	0	0	3	87,00	0,00
CANARIAS	19.700	19.700	19.700	19.700	0	0	50	100,00	0,00
CANTABRIA	283.435	282.478	282.748	282.748	200	200	600	100,10	0,07
CAST-LEON	1.100.000	1.100.000	1.100.000	1.100.000	200	200	1.100	100,00	0,02
CAST-LA MANCHA	400.000	220.000	220.000	220.000	10	10	100	100,00	0,00
CATALUÑA	662.000	302.000	302.000	302.000	20	20	150	100,00	0,01
EXTREMADURA	736.500	616.400	616.400	616.400	100	100	700	100,00	0,02
GALICIA	770.000	770.000	770.000	770.000	30	30	600	100,00	0,00
MADRID	100.000	90.000	90.000	90.000	200	200	350	100,00	0,22
MURCIA	74.000	40.000	40.000	40.000	2	2	2	100,00	0,01
NAVARRA	105.000	90.000	90.000	90.000	20	20	200	100,00	0,02
PAIS VASCO	158.000	92.000	92.000	92.000	0	0	20	100,00	0,00
LA RIOJA	35.700	22.400	22.400	22.400	0	0	4	100,00	0,00
VALENCIA	55.599	55.599	55.599	55.599	0	0	5	100,00	0,00
TOTAL	**5.759.934**	**4.680.577**	**4.677.207**	**4.677.207**	**1.027**	**1.027**	**4.834**	**99,93**	**0,02**

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE
SANIDAD ANIMAL

OBJETIVOS DE CALIFICACIÓN DE REBAÑOS Y ANIMALES (Punto 7.2)

Enfermedad :tuberculosis **Especie Animal :bovina**

AÑO*:2008

Comunidad Autónoma	Número total de rebaños y animales incluidos en el programa		Calificación de los rebaños y animales incluidos en el programa											
			Previsiblemente desconocida		Previsiblemente no indemne o no oficialmente indemne				Calificación previsible de indemne u oficialmente indemne suspendida		Calificación previsible de indemne		Calificación previsible de oficialmente indemne	
					Ultimo control positivo		Ultimo control negativo							
	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales
ANDALUCIA	7.500	580.000	0	0	40	4.800	402	62.000	0	0	1	500	6.459	482.700
ARAGON	1.025	82.000	0	0	5	1.000	0	0	10	2.000	0	0	1.010	79.000
ASTURIAS	22.000	375.000	0	0	5	150	40	200	20	600	0	0	21.935	374.050
BALEARES	500	28.000	6	192	1	48	33	500	3	100	0	0	460	27.160
CANARIAS	1.386	19.270	0	0	3	350	0	0	0	0	0	0	1.383	18.920
CANTABRIA	9.206	282.478	0	0	24	2.500	10	1.210	0	0	0	0	9.172	278.768
CAST-LEON	18.000	800.000	0	0	90	5.490	225	13.725	117	7.137	0	0	17.550	773.648
CAST-LA MANCHA	2.200	220.000	0	0	60	10.000	80	9.000	10	1.000	0	0	2.050	200.000
CATALUÑA	4.650	302.000	0	0	20	1.280	25	1.600	90	5.440	0	0	4.515	293.680
EXTREMADURA	10.600	616000	0	0	200	39.600	150	28.000	46	8.900	0	0	10.204	539.500
GALICIA	49.000	770.000	0	0	25	900	43	2.700	15	500	0	0	48.917	765.900
MADRID	1.440	95.000	0	0	5	130	10	300	10	300	0	0	1.415	94.270
MURCIA	414	38.000	0	0	2	200	1	100	2	100	0	0	409	37.600
NAVARRA	1.850	90.000	0	0	0	0	2	500	0	0	0	0	1.848	89.500
PAIS VASCO	6.000	92.000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6.000	92.000
LA RIOJA	255	23.300	0	0	1	60	0	0	0	0	0	0	254	23.240
VALENCIA	642	59.091	0	0	0	0	5	200	0	0	0	0	637	58.891
TOTAL	**136.668**	**4.472.139**	**6**	**192**	**481**	**66.508**	**1.026**	**120.035**	**323**	**26.077**	**1**	**500**	**134.218**	**4.228.827**

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE
SANIDAD ANIMAL

OBJETIVOS DE CALIFICACIÓN DE REBAÑOS Y ANIMALES (Punto 7.2)

Enfermedad :TUBERCULOSIS **Especie Animal : BOVINA**

AÑO*:2009

Comunidad Autónoma	Número total de rebaños y animales incluidos en el programa		Calificación de los rebaños y animales incluidos en el programa											
			Previsiblemente desconocida		Previsiblemente no indemne o no oficialmente indemne				Calificación previsible de indemne u oficialmente indemne suspendida		Calificación previsible de indemne		Calificación previsible de oficialmente indemne	
					Ultimo control positivo		Ultimo control negativo							
	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales
ANDALUCIA	7.500	550.000	0	0	40	4.800	100	15.000	100	18.000	0	0	7.260	512.200
ARAGON	1.025	82.000	0	0	5	1.000	0	0	5	1.000	0	0	1.015	80.000
ASTURIAS	21.500	380.000	0	0	3	100	28	150	15	450	0	0	21.454	379.300
BALEARES	500	28.000	6	192	1	50	26	278	2	40	0	0	465	27.440
CANARIAS	1.346	19.470	0	0	2	150	0	0	0	0	0	0	1.344	19.320
CANTABRIA	9.206	282.478	0	0	5	850	5	1.210	0	0	0	0	9.196	280.418
CAST-LEON	18.000	800.000	0	0	43	2.623	108	6.588	56	3.416	0	0	17.793	787.373
CAST-LA MANCHA	2.200	220.000	0	0	30	5.000	20	4.000	5	500	0	0	2.145	210.500
CATALUÑA	4.600	302.000	0	0	10	640	20	1.280	80	4.480	0	0	4.490	295.600
EXTREMADURA	10.800	616250	0	0	150	15.800	48	9.600	18	2.350	0		10.584	588.500
GALICIA	48.000	770.000	0	0	17	306	51	918	10	180	0	0	47.928	768.327
MADRID	1.300	90.000	0	0	5	130	5	200	5	200	0	0	1.285	89.470
MURCIA	400	39.000	0	0	1	300	1	100	1	100	0	0	397	38.500
NAVARRA	1.850	105.000	0	0	0	0	2	500	0	0	0	0	1.848	104.500
PAIS VASCO	6.000	92.000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6.000	92.000
LA RIOJA	251	22.700	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	251	22.700
VALENCIA	623	57.319	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	623	57.319
TOTAL	**126.576**	**3.824.217**	**6**	**192**	**267**	**25.949**	**314**	**24.824**	**192**	**11.716**	**0**	**0**	**125.803**	**3.761.266**

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE
SANIDAD ANIMAL

OBJETIVOS DE CALIFICACIÓN DE REBAÑOS Y ANIMALES (Punto 7.2)

Enfermedad :TUBERCULOSIS **Especie Animal :BOVINA**

AÑO*:2010

Comunidad Autónoma	Número total de rebaños y animales incluidos en el programa		Calificación de los rebaños y animales incluidos en el programa											
			Previsiblemente desconocida		Previsiblemente no indemne o no oficialmente indemne				Calificación previsible de indemne u oficialmente indemne suspendida		Calificación previsible de indemne		Calificación previsible de oficialmente indemne	
					Ultimo control positivo		Ultimo control negativo							
	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales
ANDALUCIA	7.500	500.000	0	0	12	2.000	3	300	8	1.300	0	0	7.477	496.400
ARAGON	1.025	82.000	0	0	1	120	1	130	4	500	0	0	1.019	81.250
ASTURIAS	21.000	375.000	0	0	0	0	15	100	8	300	0	0	20.977	374.600
BALEARES	500	28.000	6	192	0	0	22	200	2	28	0	0	470	27.580
CANARIAS	1.340	19.700	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.340	19.700
CANTABRIA	9.206	282.478	0	0	2	240	6	600	0	0	0	0	9.198	281.630
CAST-LEON	18.000	800.000	0	0	4	244	10	610	5	305	0	0	17.981	798.841
CAST-LA MANCHA	2.200	220.000	0	0	0	0	3	300	1	100	0	0	2.194	219.450
CATALUÑA	4.550	302.000	0	0	2	128	10	640	70	3.520	0	0	4.468	297.712
EXTREMADURA	10.700	616.400	0	0	8	1.750	15	3.620	18	4.000	0	0	10.659	607.030
GALICIA	47.500	770.000	0	0	14	252	44	789	8	144	0	0	47.438	768.584
MADRID	1.300	90.000	0	0	4	80	3	60	4	150	0	0	1.289	89.710
MURCIA	400	40.000	0	0	1	300	0	0	1	100	0	0	398	39.600
NAVARRA	1.850	105.000	0	0	0	0	2	500	0	0	0	0	1.848	104.500
PAIS VASCO	6.000	92.000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6.000	92.000
LA RIOJA	249	22.400	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	249	22.400
VALENCIA	604	55.599	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	604	55.599
TOTAL	**133.924**	**4.400.577**	**6**	**192**	**48**	**5.114**	**134**	**7.849**	**129**	**10.447**	**0**	**0**	**133.609**	**4.376.586**

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE
SANIDAD ANIMAL

OBJETIVOS DE LA VACUNACION O EL TRATAMIENTO (Punto 7.3.1)

Enfermedad : TUBERCULOSIS **Especie Animal :BOVINA** **AÑO*:2008-2010**

Comunidad Autónoma	Número total de rebaños sometidos a un programa de vacunación o tratamiento	Número total de animales sometidos a un programa de vacunación o tratamiento	Objetivos del programa de vacunación o tratamiento					
			Número de rebaños sometidos a un programa de vacunación o tratamiento	Número de rebaños que está previsto vacunar o tratar	Número de animales que está previsto vacunar o tratar	Número de dosis de vacuna o tratamiento que esta previsto administrar	Número de adultos que esta previsto vacunar	Número de animales jovenes que esta previsto vacunar
ANDALUCIA	0	0	0	0	0	0	0	0
ARAGON	0	0	0	0	0	0	0	0
ASTURIAS	0	0	0	0	0	0	0	0
BALEARES	0	0	0	0	0	0	0	0
CANARIAS	0	0	0	0	0	0	0	0
CANTABRIA	0	0	0	0	0	0	0	0
CAST-LEON	0	0	0	0	0	0	0	0
CAST-LA MANCHA	0	0	0	0	0	0	0	0
CATALUÑA	0	0	0	0	0	0	0	0
EXTREMADURA	0	0	0	0	0	0	0	0
GALICIA	0	0	0	0	0	0	0	0
MADRID	0	0	0	0	0	0	0	0
MURCIA	0	0	0	0	0	0	0	0
NAVARRA	0	0	0	0	0	0	0	0
PAIS VASCO	0	0	0	0	0	0	0	0
LA RIOJA	0	0	0	0	0	0	0	0
VALENCIA	0	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL	0	0	0	0	0	0	0	0

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE
SANIDAD ANIMAL

OBJETIVOS SOBRE LAS VACUNACIONES O TRATAMIENTOS DE ANIMALES SILVESTRES Punto 7.3.2

Enfermedad :TUBERCULOSIS **Especie Animal :BOVINA** 2008-2010

Comunidad Autónoma	Km cuadrados	Objetivos del programa de vacunación o tratamiento		
		Número de dosis de vacuna o tratamiento que estaba previsto administrar en la campaña	Número de campañas previstas	Número de dosis de vacunas o tratamiento que esta previsto administrar
ANDALUCIA	87.268	0	0	0
ARAGON	47.669	0	0	0
ASTURIAS	10.564	0	0	0
BALEARES	5.014	0	0	0
CANARIAS	7.447	0	0	0
CANTABRIA	5.289	0	0	0
CAST-LEON	94.147	0	0	0
CAST-LA MANCHA	79.226	0	0	0
CATALUÑA	31.930	0	0	0
EXTREMADURA	41.602	0	0	0
GALICIA	29.434	0	0	0
MADRID	7.995	0	0	0
MURCIA	11.317	0	0	0
NAVARRA	10.421	0	0	0
PAIS VASCO	7.261	0	0	0
LA RIOJA	5.034	0	0	0
VALENCIA	23.305	0	0	0
TOTAL	**504.923**	0	0	0

8. ANÁLISIS PORMENORIZADOS DE LOS COSTES DEL PROGRAMA 2008-2010

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE
SANIDAD ANIMAL

AÑO*:2008
Enfermedad:tuberculosis bovina

ANALISIS PORMENORIZADO DE LOS COSTES DEL PROGRAMA (Punto 8)

Costes relativos a	Especificación	Número de unidades	Coste por unidad en euros	Cuantia total en euros	Financiación comunitaria solicitada (Si/No)
1, Pruebas de detección					
1,1 Coste de los analisis	PPDb	7.432.322	0,09	668.909	si
	Gamma-Interferón	117550	4	470.200	si
	PPDa	181270	0,09	16.314	si
	Aislamiento	10850	10	108.500	si
	PCR	1200	10	12.000	si
1,2 Coste del muestreo					
Equipos de campo:	Tuberculinización			21.837.406	si
	Personal toma de muestras matadero			600.000	
1,3 Otros gastos					
2, Vacunación o tratamiento					
2,1 Adquisición de vacunas/tratamientos					
2,2 Gastos de distribución					
2,3 Gastos administrativos					
2,4 Gastos de control					
3, Sacrificio y eliminación					
3,1 Indemnización por animales perdidos	Indemnización	26982	400	10.792.800	si
3,2 Gastos de transporte		2500	100	250000	
3,3 Gastos de eliminación		2500	200	500000	
3,4 Perdidas en caso de sacrificio					
3.5. Gastos por tratamiento de productos (leche, huevos para incubar, etc)				10000	
4, Limpieza y desinfección					
	desinfectantes			302,94	
	pulverizadores			4808,1	
5, Salarios (Personal contratado exclusivamente para el programa)					
personal de laboratorio:	asistencia técnica laboratorio	8		521028,26	
otros				465000	
6, Bienes fungibles y equipamiento especifico					
	fotos identificación positivos	43500	1,38	60030	
	EPI		10	111047	si
	cutímetros, jeringas, peladoras, jeringas, marcadores			248996	si
	otro material			69860	
7, Otros gastos					
	gestion residuos			23138	
	otros gastos			7412	
	informatica			51086	
	bolos			5920	
TOTAL				**36.834.758**	**Si**

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE
SANIDAD ANIMAL

AÑO*:2009
Enfermedad:TUBERCULOSIS BOVINA

ANALISIS PORMENORIZADO DE LOS COSTES DEL PROGRAMA (Punto 8)

Costes relativos a	Especificación	Número de unidades	Coste por unidad en euros	Cuantia total en euros	Financiación comunitaria solicitada (Si/No)
1, Pruebas de detección					
1,1 Coste de los analisis	PPD-b	6547934	0,09	589.314,06	
	PPD-a	185940	0,09	16.734,60	
	gamma-interferón	81225	4	324.900,00	
	aislamiento	7980	10	79.800,00	
	PCR	950	10	9.500,00	
1,2 Coste del muestreo					
Equipos de campo:				22.119.538,00	
1,3 Otros gastos					
2, Vacunación o tratamiento					
2,1 Adquisición de vacunas/tratamientos					
2,2 Gastos de distribución					
2,3 Gastos administrativos					
2,4 Gastos de control					
3, Sacrificio y eliminación					
3,1 Indemnización por animales perdidos		12580	450	5.661.000,00	
				0,00	
3,2 Gastos de transporte		2200	100	220.000,00	
				0,00	
3,3 Gastos de eliminación		2200	200	440.000,00	
3,4 Perdidas en caso de sacrificio					
3.5. Gastos por tratamiento de productos (leche, huevos para incubar, etc)					
4, Limpieza y desinfección					
	desinfectantes			306,00	
	mochilas			4.808,00	
5, Salarios (Personal contratado exclusivamente para el programa)					
personal de laboratorio:	ASISTENCIA TÉCNICA			392.628,00	
	Otros			128.400,00	
6, Bienes fungibles y equipamiento especifico					
	jeringas, cutímetros, peladoras			268.893,00	
	EPI			111.116,00	
	frascos tomas de muestras			1.000,00	
7, Otros gastos					
	envíos, teléfono, desplazamientos			59.530,00	
	bolos			2.960,00	
	informática			51.086,00	
	gestión residuos			23.138,00	
	VARIOS			65.775,00	
	fotos			60.030,00	
TOTAL				**30.630.456,66**	

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE
SANIDAD ANIMAL

AÑO*:2010
Enfermedad:tuberculosis bovina

ANALISIS PORMENORIZADO DE LOS COSTES DEL PROGRAMA (Punto 8)

Costes relativos a	Especificación	Número de unidades	Coste por unidad en euros	Cuantia total en euros	Financiación comunitaria solicitada (Si/No)
1, Pruebas de detección					
1,1 Coste de los analisis	PPDb	6.364.005,00	0,09	572.760,45	
	PPDa	179.200,00	0,09	16.128,00	
	INTERFERON	71.400,00	4,00	285.600,00	
	AISLAMIENTO	7.200,00	10,00	72.000,00	
	PCR	600,00	10,00	6.000,00	
1,2 Coste del muestreo					
Equipos de campo:				23.325.731,00	
1,3 Otros gastos					
2, Vacunación o tratamiento					
2,1 Adquisición de vacunas/tratamientos					
2,2 Gastos de distribución					
2,3 Gastos administrativos					
2,4 Gastos de control					
3, Sacrificio y eliminación					
3,1 Indemnización por animales perdidos		4.834,00	450,00	2.175.300,00	
				0,00	
3,2 Gastos de transporte		2.000,00	100,00	200.000,00	
				0,00	
3,3 Gastos de eliminación		2.000,00	200,00	400.000,00	
3,4 Perdidas en caso de sacrificio					
3.5. Gastos por tratamiento de productos (leche, huevos para incubar, etc)					
4, Limpieza y desinfección					
	DESINFECTANTES			310,50	
	MOCHILAS			4.808,00	
5, Salarios (Personal contratado exclusivamente para el programa)					
personal de laboratorio:				392.628,00	
otros				628.400,00	
6, Bienes fungibles y equipamiento especifico					
	jeringas, cutímetros, peladoras			379.505,00	
	EPI			111.186,00	
7, Otros gastos					
	TELEFONO, ENVÍOS, DESPLAZAMIENTOS			59.928,00	
	GESTIÓN RESIDUOS			23.138,00	
	INFORMATICA			51.086,00	
	VARIOS			131.551,00	
	FOTOS			60.030,00	
	bolos			108,04	
TOTAL				**28.896.197,99**	

MINISTERIO DE
AGRICULTURA, PESCA Y
ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL
DE SANIDAD ANIMAL

PROGRAMA NACIONAL DE ERRADICACION DE TUBERCULOSIS BOVINA PRESENTADO POR ESPAÑA PARA EL 2006

Revisión final

1. IDENTIFICACIÓN DEL PROGRAMA

Estado miembro: España

Enfermedad: Tuberculosis Bovina

Año de ejecución: 2006

Referencia del presente documento: PN TB2006

Persona de contacto (nombre, nº de teléfono, nº de fax, correo electrónico): Sr. D. José Luís Paramio Lucas, nº de teléfono 91 347 3705, nº de fax 91 347 8299, jparamio@mapya.es

Fecha de envío a la Comisión: 31 de mayo de 2005

2. DATOS SOBRE LA EVOLUCIÓN EPIDEMIOLÓGICA DE LA ENFERMEDAD

La erradicación de la Tuberculosis Bovina, constituye una de las bases esenciales para el establecimiento del mercado intracomunitario de animales, sus carnes y productos, así como para el aumento de la productividad ganadera y por consiguiente de la mejora del nivel de renta de los ganaderos. Este programa se inició de forma sistemática a principios de los años 90, centrado fundamentalmente en el vacuno lechero, si bien se habían desarrollado anteriormente medidas de erradicación con un carácter más limitado.

La aplicación del programa en el ganado bovino de aptitud lechera refleja un avance significativo en este sector, caracterizado por la buena situación epidemiológica actual, que sitúa la prevalencia de rebaño en el 1% en 2004. En contraposición, la situación del ganado bovino de aptitud cárnica, exige la adopción de una serie de medidas complementarias derivadas de los condicionantes inherentes a este tipo de explotación. Este tipo de ganado engloba razas autóctonas, en su mayoría de montaña, sujetas a un régimen tradicional de pastoreo en común en zonas de difícil acceso. Este régimen de explotación está sometido a condiciones de manejo extremadamente difíciles, debido a las peculiaridades de las razas y a la inaccesibilidad del terreno. Como factor adicional, cabe reseñar la convivencia de estos animales con reservorios salvajes, con la repercusión negativa que esto conlleva en la lucha por la erradicación de la enfermedad.

En el caso del ganado de Lidia y espectáculos taurinos tradicionales, por sus especiales características, se establece un sistema diferenciado en la ejecución del programa, en función de su sistema de explotación o crianza y de la dificultad que entraña el manejo de estos animales. Este sistema se establece mediante el Real Decreto 1939/2004, de 27 de septiembre, por el que se regula la calificación sanitaria de las ganaderías de reses de lidia y el movimiento de animales pertenecientes a éstas. A través de este sistema diferenciado se pretende extender este programa a las explotaciones de raza brava de todo el territorio nacional.

Para proceder a la descripción de la situación epidemiológica de esta enfermedad, se toman como referencia las Campañas de Saneamiento Ganadero realizadas durante el período 2000-2004. La población destinataria de las medidas descritas en los Programas de Erradicación son todos los animales de la especie bovina destinados a reproducción, producción de carne, leche u otras

producciones, o a trabajo, certámenes o exposiciones. Según los últimos datos aportados por las Comunidades Autónomas, en el marco de desarrollo del Programa en el pasado año 2004, el número de rebaños censados ascendió a 171.190, de los cuales 154.610 están incluidos en programa y el número de animales fue de 6.328.241, con un total de 4.785.238 incluidos en programa.

El análisis de los datos resultantes del desarrollo del mencionado Programa Nacional de Erradicación de Tuberculosis Bovina en el año 2004, refleja de forma global un moderado pero sostenido descenso de la enfermedad en nuestro país. El número total de explotaciones investigadas fue de **151.723**, con un porcentaje de explotaciones oficialmente libres de enfermedad, calculado en base a las calificaciones a final de año comunicadas por las Comunidades Autónomas, del **96,54%**, frente a un 95,77% del año 2003, sobre un total de 158.850 explotaciones investigadas. Otros indicadores epidemiológicos de interés para valorar la evolución de la enfermedad son, por un lado, la prevalencia en rebaños durante el periodo considerado, que descendió del 2,14% en el año 2003 al **1,80%** en el año 2004; y por otro la prevalencia en animales o número de animales positivos, que igualmente descendió del 0,47% del año 2003 al **0,40%** del año 2004.

El control del diagnóstico de Tuberculosis Bovina se realiza en animales a partir de las 6 semanas de edad. Las principales medidas adoptadas se basan en pruebas de detección de animales positivos y sacrificio obligatorio de los mismos, estando prohibida la utilización de tratamientos y profilaxis vacunal frente a la enfermedad. Siempre que exista un grave riesgo para la salud o repercusiones para la salud pública u otra razón de índole sanitaria, a criterio de las autoridades competentes, se podrá ampliar el sacrificio, procediendo a realizar el vaciado sanitario de la explotación. Otras medidas implementadas, han consistido en instaurar medidas profilácticas sobre las explotaciones donde se han detectado bovinos reaccionantes positivos, implicando tanto a las instalaciones como a los pastos y un control exhaustivo de los movimientos y reposición de estas explotaciones, así como la intensificación de las pruebas diagnósticas para elevar con la mayor brevedad posible su calificación sanitaria.

Las pruebas de detección utilizadas son la intradermotuberculinización simple y la intradermotuberculinización comparada, así como el gamma-interferón en casos concretos como prueba complementaria. Los animales reaccionantes positivos son enviados a mataderos autorizados para este fin, y la utilización de las carnes para consumo humano se realizará de acuerdo con lo dispuesto en el Real Decreto 147/1993, de 29 de enero.

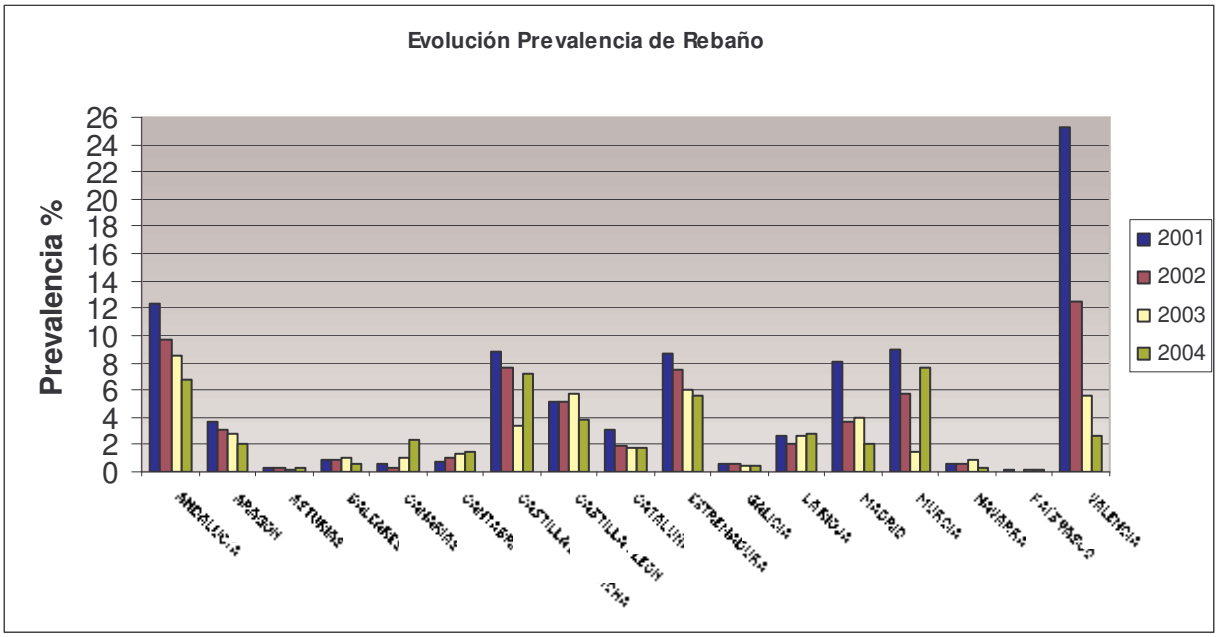
La calificación sanitaria de las explotaciones, provincias o regiones como oficialmente indemnes a esta enfermedad, se ha otorgado conforme al cumplimiento de los requisitos exigidos por la normativa comunitaria, Directivas 97/12/CE y 98/46/CE, incorporadas a nuestro ordenamiento jurídico por el Real Decreto 1716/2000.

La evolución de la prevalencia de la enfermedad en el periodo comprendido entre 2001 a 2004 se muestra en el siguiente gráfico y Anexo I. En el Anexo II se recoge la distribución de la prevalencia en las distintas regiones en el año 2004:

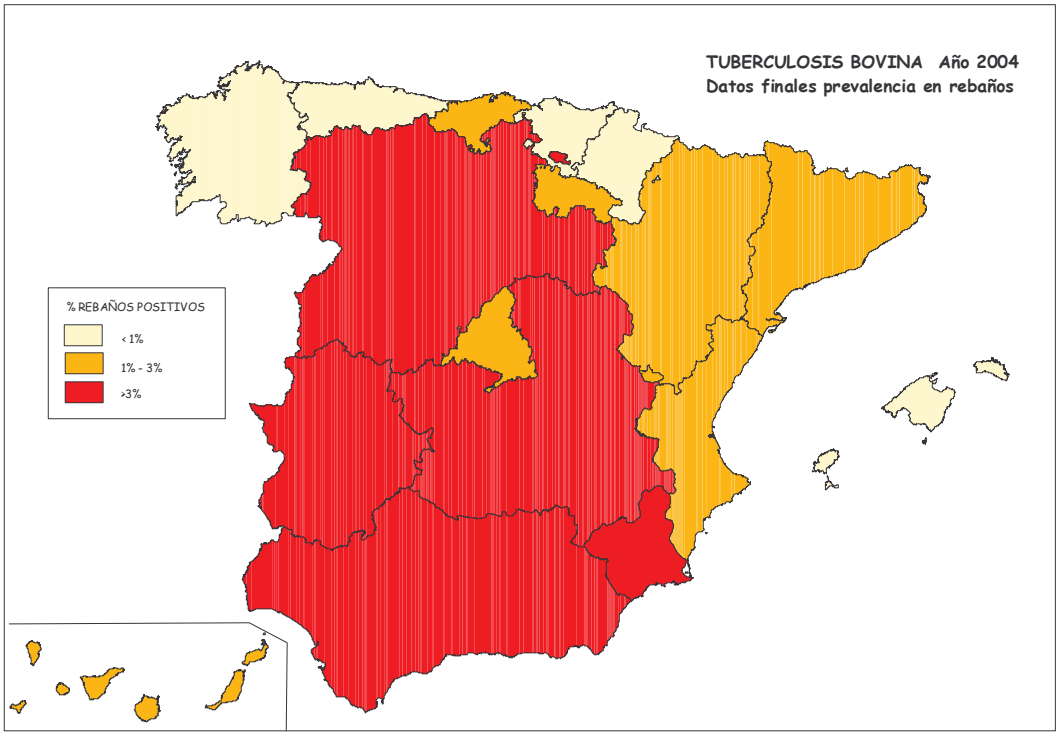
Anexo I: Evolución de la prevalencia

CCAA	Prev 2004	Prev. 2003	Prev 2002	Prev 2001
ANDALUCÍA	6.73	8.47	9.65	12.32
ARAGÓN	2.03	2.75	3.14	3.74
ASTURIAS	0.24	0.22	0.32	0.30
BALEARES	0.65	1.02	0.92	0.82
CANARIAS	2.40	1.05	0.34	0.53
CANTABRIA	1.41	1.34	1.00	0.73
CASTILLA LA MANCHA	7.19	3.36	7.69	8.80
CASTILLA Y LEÓN	3.78	5.66	5.10	5.21
CATALUÑA	1.78	1.74	1.93	3.09
EXTREMADURA	5.57	5.95	7.45	8.69
GALICIA	0.46	0.43	0.52	0.56
LA RIOJA	2.76	2.7	2.05	2.70
MADRID	1.99	3.92	3.69	8.04
MURCIA	7.59	1.48	5.79	9.02
NAVARRA	0.36	0.82	0.52	0.60
PAÍS VASCO	0.22	0.17	0.06	0.16
VALENCIA	2.63	5.56	12.47	25.22
TOTAL	**1.80**	**2.14**	**2.7**	**2.9**

Gráfico I: Evolución de la prevalencia



Anexo II: Distribución de la prevalencia por CCAA (en rebaños)

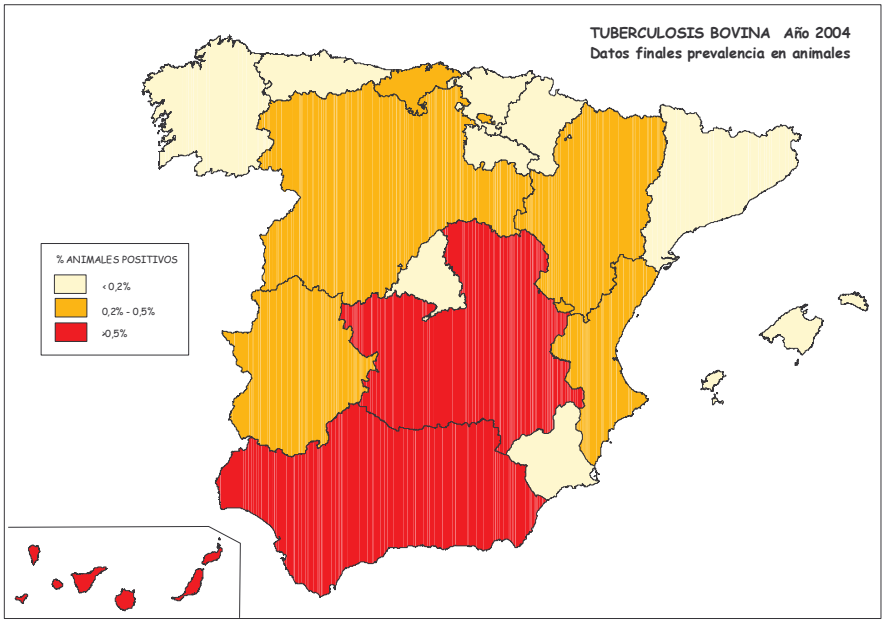


Estos datos reflejan una evolución favorable de la enfermedad, puesta de relieve con la disminución progresiva de los índices de prevalencia de la enfermedad en rebaños y animales con respecto a 2003.

Sin embargo, hay que destacar que existen diferencias importantes entre Comunidades Autónomas, pues mientras en las Comunidades Autónomas del norte de España, donde se concentra el ganado lechero, el porcentaje de establos libres supera el 99%, mientras que en otras este porcentaje es sensiblemente más bajo. Este hecho se debe a que las campañas de saneamiento se iniciaron más tarde en el vacuno de carne, por lo que la erradicación lleva un cierto retraso en las Comunidades Autónomas donde el porcentaje del vacuno de aptitud cárnica es mayor. A ello se une que el bovino de carne se explota en su mayoría en regiones en general caracterizadas por una orografía desfavorable que condiciona el sistema de explotación y de manejo de los animales, con explotaciones de ganado bovino en régimen extensivo constituido principalmente por razas autóctonas (incluida la lidia) sometidas a un régimen de pastoreo en común en zonas de difícil acceso y en determinadas zonas compartiendo explotación con otras especies (caprino). La convivencia con la fauna salvaje, reservorio

de la enfermedad, es otro factor condicionante que vulnera la óptima evolución del programa de erradicación.

Anexo II: Distribución de la prevalencia por CCAA (en animales)



3. DESCRIPCION DEL PROGRAMA PRESENTADO:

3.1 ÁREA DE APLICACIÓN

Comprende todo el territorio nacional, aunque siguiendo criterios del Comité FAO/OMS, al ser España un estado de gran extensión y con elementos y factores geográficos diversos, se plantean estrategias diferentes referidas a regiones u otras áreas que tienen características ecológicas y /o epidemiológicas similares y presentan una prevalencia de enfermedad homogénea

3.2 POBLACIÓN DIANA

Actualmente el programa se desarrolla para todos los bovinos que define la Directiva 64/432/CEE y modificaciones, incorporada al ordenamiento jurídico interno por el Real Decreto 1716/2000, por el que se establecen las normas sanitarias para el intercambio intracomunitario de animales de las especies bovina y porcina, incluidas todas aquellas unidades de cebo calificadas que realicen movimientos de animales a otros cebaderos calificados o a mercados de ganado.

3.3 OBJETIVOS DEL PROGRAMA

El análisis de los datos y de los objetivos propuestos en el Programa de Erradicación del año 2004 hace necesario continuar con la sectorización por Comunidades Autónomas en

función de la prevalencia actual de la enfermedad y con la segregación de objetivos según la situación real de la misma, intensificando en cada uno de los grupos considerados las medidas contempladas en programas anteriores para conseguir los objetivos propuestos en dichos programas a corto plazo, con el fin de poder avanzar hacia objetivos mas ambiciosos en programas posteriores:

a) **Comunidades Autónomas con una prevalencia de rebaño de 0%:** El objetivo es mantener este nivel de prevalencia de rebaño y alcanzar un porcentaje de rebaños oficialmente indemnes de al menos el 99,9% en un año.

b) **Comunidades Autónomas con un rango de prevalencia de rebaño inferior a 1%:** El objetivo es alcanzar un nivel de prevalencia de rebaño por debajo de 0,2% en un periodo de *dos años*, en aquellas CCAA cuya prevalencia en el año 2004 ha sido inferior a 1%.

c) **Comunidades Autónomas con un rango de prevalencia de rebaño superior al 1% :** El objetivo es la *erradicación de la enfermedad en cinco años.*

Como **medidas específicas** en función de la sectorización recogida en los *Objetivos del programa*, se aplicarán distintas medidas en cada grupo:

.a) Comunidades Autónomas con un rango de prevalencia de rebaño inferior a 1% o de "baja prevalencia":

a.1 Explotaciones bovinas T3:

- se realiza, como mínimo, un chequeo anual en todos los animales que, por su edad, sean susceptibles de ser investigados. *Además se realizan chequeos de los movimientos comerciales de animales, excepto los que tengan como destino un matadero o unidades de cebo cerradas cuyo destino posterior sea matadero*. Las pruebas se realizan dentro de los 30 días anteriores al movimiento.

- en aquellas explotaciones calificadas como T3 en que aparezca algún animal positivo se realiza una encuesta epidemiológica rigurosa para tratar de identificar la causa de dicha positividad. Se procede al sacrificio de el/los reaccionantes positivos para la toma de muestras según establece el apartado 1 del anexo I del Real Decreto 2611/1996, con el fin de confirmar o descartar Mycobacterium bovis. En el resto de animales de la explotación se procede a realizar una intradermotuberculinación comparativa, así como cualquier otra prueba complementaria que se considere necesaria para realizar un diagnóstico diferencial de la enfermedad, principalmente

con paratuberculosis y otras micobacterias aviares y ambientales que provocan reacciones cruzadas. Los criterios para la suspensión o retirada de la calificación T3 se realizarn según lo establecido en el anexo I del Real Decreto 1716/2000. Si los exámenes y toma de muestras post-mortem en los reaccionantes positivos no se realizan o bien no se completan según el protocolo establecido por cualquier causa, el estatuto T3 será, en cualquier caso, retirado. En los casos en que la enfermedad sea confirmada, se procede a comprobar las salidas de animales con destino reproducción que se hayan producido desde la explotación durante los 6 meses anteriores a la aparición de el/los animales positivos, con el fin de que puedan someterse a pruebas para comprobar si pueden haber actuado como fuentes de infección en las explotaciones de destino

a.2. Explotaciones bovinas T2:

• Se realizan, como mínimo, dos chequeos al año.

• Se realiza el seguimiento anatomopatológico, microbiológico y epidemiológico de los brotes, si la situación epidemiológica así lo requiere. Se valora especialmente en estas zonas la conveniencia de realizar vacíos sanitarios, principalmente en el caso de repetidas actuaciones positivas.

b) Comunidades Autónomas con un rango de prevalencia de rebaño mayor de 1% :

b.1. Explotaciones bovinas T3:

• se realizan mínimo un chequeo anual en todos los animales que, por su edad, sean susceptibles de ser investigados. *Además se realizan chequeos de los movimientos comerciales de animales, excepto los que tengan como destino un matadero o unidades de cebo cerradas cuyo destino posterior sea matadero*. Las pruebas se realizan dentro de los 30 días anteriores al movimiento.

• Ante la presencia de animales reaccionantes positivos, se procede al sacrificio y confirmación de la infección mediante las pruebas mencionadas en el grupo anterior. Sin esperar el resultado del análisis microbiológico, se realiza sin demora un nuevo saneamiento y una investigación epidemiológica. En aquellas comarcas veterinarias donde la prevalencia de rebaños se sitúe por debajo del 1% *se siguen los mismos criterios que los establecidos para CCAA de baja prevalencia (encuesta epidemiológica, confirmación, IDTB comparativa, uso de otros métodos diagnósticos complementarios)*.En los demás casos se utiliza, salvo en casos puntuales debidamente justificados, la IDTB simple. En todos los casos, si los exámenes y toma de muestras post-mortem en los reaccionantes positivos no se realizan o bien no se completan según el protocolo establecido por cualquier causa, el estatuto T3 es, en cualquier caso, retirado. En todos los casos en que la enfermedad sea confirmada, se procede a comprobar las salidas de animales con destino reproducción que se hayan producido desde la explotación durante los 6 meses anteriores a la aparición de el/los animales positivos, con el fin de que puedan someterse a pruebas para comprobar si pueden haber actuado como fuentes de infección en las explotaciones de destino.

• Además de los chequeos previstos, se realizan chequeos previos a los movimientos de animales sometidos a régimen de trashumancia y a pastos comunales de acuerdo con las recomendaciones de la Task.-Force (subgrupo de Tuberculosis bovina). Según lo previsto en la Ley de Sanidad Animal, sólo podrán efectuar la trashumancia aquellos rebaños que ostenten la calificación de T3. Las pruebas se realizan dentro de los 30 días anteriores al movimiento de ida y durante los 30días anteriores ó posteriores al movimiento de retorno, en este último caso, el animal o los animales deberán aislarse físicamente de los otros animales del rebaño, de tal modo que se evite el contacto directo o indirecto con los demás animales hasta que el resultado de las pruebas sea negativo.

Con carácter general, para todas las Comunidades Autónomas, si no se cumple con los objetivos previstos, se deberá remitir un informe anual con la exposición de motivos que lo justifique.

Como medidas de carácter general, se implantará un sistema de recogida de muestras de animales salvajes, para evaluar su posible papel como reservorio de la enfermedad.

Es necesario realizar una calificación de pastos y establecer un control riguroso del acceso a los mismos en todas las Comunidades Autónomas. Pueden acceder a pastos comunes calificados sanitariamente, únicamente los animales de explotaciones calificadas sanitariamente. Cada pasto comunal se considera una única unidad epizootiológica y ostenta una única calificación sanitaria que afecta a todas las explotaciones con animales en dicho pasto. Si se introduce ganado nuevo, automáticamente el pasto adquiere la calificación más baja del ganado ubicado en el mismo. Las pruebas para la recuperación de la calificación se realizan de acuerdo a lo establecido en la normativa comunitaria. En las zonas desprovistas de barreras físicas o naturales, se reforzará la prevención procediendo a la división artificial de los pastos. Con el fin de cumplir con lo dispuesto, los ayuntamientos con ordenanza de pastos, mantendrán actualizado el registro de los pastos comunes así como la ocupación de los mismos.

Se llevará a cabo un muestreo de los rebaños caprinos con la prueba de intradermotuberculinización comparativa, pudiendo aplicar adicionalmente la prueba de gamma-interferón, con el fin de detectar si esta especie puede actuar como reservorio de M. Bovis, contribuyendo al mantenimiento de la tuberculosis bovina. La población caprina objeto de esta medida son aquellos rebaños que conviven o aprovechan pastos comunes con el ganado bovino. En el caso de detectarse algún animal positivo, se sacrificará e indemnizará conforme a lo establecido en el Real Decreto 1328/2000, de 7 de julio.

b.2. Explotaciones bovinas T2:

• Se realizan, como mínimo, *tres chequeos al año (mayor frecuencia de chequeos)*

• Se realiza el seguimiento anatomopatológico, microbiológico y epidemiológico de los brotes, si la situación epidemiológica así lo requiere. Se valora especialmente en estas zonas la

conveniencia de realizar vacíos sanitarios, principalmente en el caso de repetidas actuaciones positivas.

3.4 MEDIDAS GENERALES EN LA EJECUCIÓN DEL PROGRAMA

Las pruebas diagnósticas utilizadas son las establecidas en el Real Decreto 2611/1996, de 20 de diciembre y su modificación posterior, el Real Decreto 1047/2003, de 1 de agosto.

Se consideran como pruebas de diagnóstico oficial:

a) Intradermotuberculinización simple: Comporta una única inyección de tuberculina bovina.

b) Intradermotuberculinización comparativa: Esta tuberculinización comporta una inyección de tuberculina bovina y una inyección de tuberculina aviar administradas simultáneamente.

c) Gamma-interferón: Según el Reglamento 1226/2002 de la Comisión, por el que se modifica el anexo B de la Directiva 64/432/CEE del Consejo, para permitir la detección del máximo número de animales infectados o enfermos de una explotación o una región, se podrá emplear, adicionalmente a la IDTB, la prueba del 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 OIE,* además de la tuberculinización.

d) Identificación del agente: según el Real Decreto 1047/2003

No obstante, cuando la situación epidemiológica así lo requiera a efectos de investigación se utilizarán otras técnicas de diagnóstico: ELISA, técnicas de PCR sobre tejidos infectados y los estudios adicionales que se consideren oportunos incluidos los anatomopatológicos, histológicos o microbiológicos, principalmente con el objetivo de confirmar la enfermedad y sobre todo en aquellas explotaciones calificadas como oficialmente indemnes en las que se suspenda la calificación. La colaboración y asesoramiento que realiza en este Programa Nacional el Departamento de Sanidad Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid, implica que se le puedan remitir desde los laboratorios de las distintas Comunidades Autónomas (en la medida de sus necesidades) muestras para el cultivo, aislamiento y caracterización molecular de M. Bovis. Así mismo, los laboratorios de las Comunidades Autónomas que realicen caracterización molecular

remitirán la información necesaria a dicho departamento para constituir una base de datos nacional que sirva de soporte a futuros estudios epizootiológicos.

Para el ganado caprino, se considera como prueba diagnóstica estándar la Intradermotuberculinización comparativa. En este sentido se intensificarán los estudios epidemiológicos para relacionar posibles focos de tuberculosis bovina asociados con brotes de tuberculosis caprina, así como la aplicación del programa el ganado caprino que conviva con el ganado vacuno.

En el caso de la aparición de animales reaccionantes positivos a esta enfermedad, se identificarán mediante bolo ruminal o sistemas de marcaje genético. En el ganado de lidia se considerará también como válido para esta identificación el método tradicional descrito en el Capítulo II de la Orden del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación de 12 de marzo de 1990, por la que se aprueba el Reglamento Específico del Libro Genealógico de la Raza Bovina de Lidia. Se procederá al sacrificio de los mismos, bajo control oficial, lo más rápidamente posible y a más tardar, quince días después de la notificación oficial al propietario o al poseedor de los resultados de las pruebas y se indemnizará al ganadero de acuerdo con los baremos oficialmente establecidos. Siempre que exista un grave riesgo para la salud animal o repercusiones para la salud pública, y con autorización expresa de las autoridades competentes, se podrá realizar un vaciado sanitario de la explotación. El sacrificio será realizado en un matadero autorizado de la Comunidad Autónoma donde radique la explotación de los animales positivos, y dentro de la Comunidad Autónoma, preferentemente en un matadero autorizado de la provincia donde se encuentre ubicada la explotación. Si no existiesen mataderos autorizados en la Comunidad Autónoma de origen, en el matadero más próximo. Ello facilitará tanto la toma de muestras para los posibles estudios anatomopatológicos como el seguimiento de los animales hasta su sacrificio. Los Servicios Veterinarios Oficiales de los mataderos autorizados remitirán, junto con la documentación contemplada en el artículo 16 del RD 2611/96, el bolo ruminal o el sistema de marcaje genético.

En el **ámbito de la ejecución**, la Campaña de Saneamiento Ganadero en una explotación, se inicia con la llegada a la misma del equipo de campo (técnicos veterinarios) que realizan las siguientes actuaciones:

Primero.- Identificación de la explotación y de los animales (libro de registro).

Segundo.- Realización de la prueba de intradermotuberculinización de los animales.

Tercero.- A las 72 horas se procederá a la lectura de resultados de la prueba de intradermotuberculinización.

Cuarto.- Marcaje de los animales reaccionantes positivos inmediatamente después de la lectura del resultado, utilizando un bolo ruminal o sistemas de marcaje genético. El ganadero será informado por escrito de que la leche procedente de su rebaño no puede ser destinada al consumo humano sin haber sido sometida a un tratamiento térmico autorizado.

Quinto.- Los animales positivos son sacrificados de forma obligatoria. Para ello, en el momento del marcado, se da al ganadero la documentación necesaria (conduce o conduce y Certificado Sanitario de Origen) para que puedan realizar su traslado al matadero.

El sacrificio de los animales no puede ser prorrogado en un plazo superior a 15 días, de la fecha indicada por la documentación sanitaria, salvo casos excepcionales y siempre por causa de fuerza mayor.

Sexto.- Una vez sacrificados los animales en los mataderos autorizados a tal fin, serán remitidas muestras de los órganos y/o tejidos diana para la confirmación de tuberculosis a los Laboratorios de Sanidad Animal autorizados. Ello mejorará la sensibilidad diagnóstica en la ejecución de la campaña, con la utilización de técnicas oficiales de identificación del agente sobre muestras del animal sacrificado (PCR, estudios anatomopatológicos, histológicos o microbiológicos), siguiendo el protocolo establecido en el anexo I del Real Decreto 1047/2003

Existe en los Servicios Veterinarios Oficiales de la Administración General del Estado, una relación de todos los mataderos autorizados en España para realizar el sacrificio de animales positivos en Campañas de Saneamiento Ganadero.

Se pondrá especial interés en las explotaciones en las que haya aparecido algún animal positivo en el correcto cumplimiento de las medidas profilácticas establecidas en el artículo 21 del Real Decreto 2611/1996. De forma concreta, los Servicios Veterinarios oficiales certificarán que se han

efectuado correctamente las medidas de limpieza y desinfección, que se ha respetado, en su caso, el periodo mínimo de 60 días de vacío sanitario para la reutilización de los pastos, y la correcta gestión del estiércol. Estos certificados podrán expedirse en base a otros que hayan sido cumplimentados por empresas acreditadas y debidamente homologadas, principalmente en lo referente a la gestión del estiércol y a la desinfección de las instalaciones.

3.5Definición de caso positivo

Un rebaño se considera positivo, de acuerdo con el RD 2611/1996 y modificaciones, si en él al menos un animal susceptible de ser examinado por su edad no ha superado las pruebas oficiales con resultado favorable ó no ha sido sometido a la totalidad de las pruebas de diagnóstico previstas en el Real Decreto 1716/2000.

Medidas del programa presentado:

4.1. Resumen de las medidas del programa

Duración del programa: anual

✔Control

✔ Pruebas de detección
✔Sacrificio para el consumo humano de animales positivos
□ Sacrificio para otros usos de animales +
□ Vacunación
□ Tratamiento
✔Eliminación de los productos

□ Seguimiento o vigilancia

□ Otras medidas *(especifíquense):*

✔Erradicación

✔Pruebas de detección

✔Sacrificio para el consumo humano de animales +
□ Sacrificio para otros usos de animales +
✔Ampliación del sacrificio
✔Eliminación de los productos

4.2. Designación de la autoridad central responsable de la supervisión y coordinación de los departamentos encargados de ejecutar el programa:

La Subdirección General de Sanidad Animal es la encargada de la coordinación del Programa de erradicación, y quien informa a la Comisión de la evolución de esta enfermedad.

Los responsables de la ejecución de este Programa son los Servicios competentes de las Comunidades Autónomas.

A través del Real Decreto 1440/2001, de 21 de diciembre, por el que se establece el sistema de alerta sanitaria veterinaria se creó el **"Comité Nacional del Sistema de Alerta Sanitaria Veterinaria"**, que asume competencias en materia de estudio y proposición de medidas para la erradicación de las enfermedades y seguimiento de la evolución de la situación epidemiológica para las enfermedades objeto de programas de erradicación, así como la aprobación de medidas excepcionales en el marco de dichos programas.

El citado Comité está adscrito al Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, y en él están representadas todas las Comunidades Autónomas. Es la Autoridad encargada de supervisar y coordinar en el marco de las funciones asignadas mediante el Real Decreto 1440/2001, de 21 de diciembre, por el que se establece el sistema de alerta sanitaria veterinaria.

4.3. Descripción y delimitación de las zonas geográficas y administrativas en la que vaya a aplicarse el programa:

El programa es de aplicación en todo el territorio nacional. La organización del desarrollo de las Campañas de Saneamiento Ganadero en cada Comunidad Autónoma, incluye los siguientes niveles:

1.- Nivel Regional, el Director Regional de Campañas que armoniza y controla las Campañas en todas las provincias de la región.

2.- Nivel Provincial, a través coordinador provincial que armoniza y controla las actuaciones de las distintas comarcas de la provincia.

3.- Nivel Comarcal, a través de los coordinadores especialistas en Campañas de Saneamiento y responsables de:

a) Supervisión de equipos, veterinarios colaboradores,...

b) Reuniones con ganaderos para preparar las campañas.

c) Coordinación con oficinas de las Consejerías a nivel comarcal.

d) Repetición de pruebas y actuación en casos dudosos, si es necesario.

4.- Nivel de campo : existen equipos encargados de efectuar las pruebas diagnósticas, bajo la dependencia directa de los coordinadores.

Este personal, dependiente de las Comunidades Autónomas, es el encargado del control, ejecución y desarrollo del programa.

Esta organización podrá sufrir modificaciones sobre la base de las adaptaciones que cada Comunidad Autónoma efectúe teniendo en cuenta su propia estructura administrativa.

En el Anexo VII, se relaciona el personal encargado del control y la ejecución del programa en cada Comunidad Autónoma, especificando los efectivos y el cargo que ocupan.

ANEXOVII

ORGANIGRAMA DE CAMPAÑAS DE SANEAMIENTO

C.A. ANDALUCIA

a) Servicios Centrales
- 1 Jefe del Servicio de Sanidad Animal
- 1 Jefe de Sección de Programas Sanitarios
- 1 Técnico Veterinario

Nivel provincial:
- 1 Jefe del Departamento de Sanidad Animal
- 1 Técnico Veterinario
- 2 veterinarios contratados por la administración autonómica

Nivel comarcal:
- 60 veterinarios de oficinas comarcales

b) Ejecución:
- 250 veterinarios de ADS

C.A. ARAGÓN
a) Servicios Centrales
- 1 Jefe de Servicio de Ordenación y Sanidad Animal
- 1 Jefe de Sección de Programas Ganaderos

b) Servicios Provinciales de Agricultura y Alimentación
- 1 Jefe de Sección de Producción y Sanidad Animal
- 1 Responsable Provincial de Programas de Erradicación

b) Ejecución:
- 92 técnicos veterinarios de campo contratados

C.A. ASTURIAS
a) Servicios Centrales
- 1 Jefe del Servicio de Producción y Sanidad Animal
- 6 coordinadores de campañas
- 1 técnico veterinario
- 1 técnico informático
- 1 auxiliar administrativo

b) Ejecución:
- 52 veterinarios de campo contratados

c) Laboratorio
- 1 Jefe de Sección
- 1 Técnico
- 7 Auxiliares de laboratorio
- 2 Auxiliares administrativos

C.A. ISLAS BALEARES

a) Servicios Centrales
- 1 Jefe del Servicio de Ganadería
- 1 Jefe de Sección de Prevención y Lucha
- 1 Técnico Veterinario
- 1 Auxiliar administrativo

b) Ejecución:
- 18 Veterinarios de ADS
- 7 Veterinarios contratados por la Administración Autonómica

C.A. de CANARIAS

a) Servicios Centrales
- 1 Jefe de Servicio de Laboratorio y Programas de Erradicación
- 1 Jefe de Sección de Sanidad, Registro e Industrias Ganaderas
- 1 Técnico Veterinario
- 1 Auxiliar Administrativo
- Personal de laboratorio contratado por la Administración Autonómica:

* 1 Técnico en serología
* 1 Analista de laboratorio
* 2 auxiliares de laboratorio

b) Ejecución: contratados por la Administración Autonómica
- 28 Veterinarios de campo
- 2 Coordinadores
- 4 Capataces agrícolas
- 1 Auxiliar administrativo

C.A. CANTABRIA

a) Servicios Centrales
- 1 Jefe de Servicio de Sanidad y Bienestar animal
- 1 Jefe de Sección de Epizootías y Zoonosis
- 2 técnicos veterinarios
- 4 Administrativos

Nivel comarcal:
- 32 veterinarios de oficinas comarcales

Laboratorio:
- 1 Jefe de Servicio de Laboratorio y Control
- 1 Coordinador del Area de Patología
- 1 Técnico de serología
- 2 Analistas técnicos
- 6 Auxiliares de laboratorio
- 1 Informático

b) Ejecución:
- 42 veterinarios de campo
- 1 equipo de vigilancia de pastos comunales compuesto por 1 veterinario y 5 operarios

C.A. CASTILLA LA MANCHA

a) Servicios Centrales
- 1 Jefe de Servicio de Ganadería
- 1 Jefe de Sección de Sanidad Animal
- 1 Jefe de Sección de Laboratorio
- 5 Técnicos veterinarios

b) Ejecución:
- 300 veterinarios de ADS

C.A. CASTILLA Y LEÓN

a) Servicios Centrales
- 1 Jefe de Servicio de Sanidad Animal
- 1 Jefe de Sección de Saneamiento ganadero
- 2 Técnicos veterinarios

b) Ejecución:
- 200 técnicos veterinarios de campo contratados
- 39 auxiliares de laboratorio contratados

- 6 analistas contratados
- 10 auxiliares contratados

C.A. CATALUÑA

1. Personal común para los programas de bovino, ovino y caprino:

- 5 Jefes de Sección de Ganadería y Sanidad Animal (1 por territorio con dedicación parcial)
- 5 Veterinarios de Sección (1 por territorio con dedicación parcial)
- 7 Jefes de laboratorio (1 por laboratorio oficial con dedicación parcial)
- 18 trabajadores de laboratorio (dedicación parcial)
- 40 Veterinarios oficiales de Oficinas comarcales (dedicación parcial)

2. Bovino:

- 74 veterinarios de Agrupaciones de Defensa Sanitaria (ADS), encargados de los trabajos de campo

3. Ovino y Caprino:

- 41 veterinarios contratados por la Administración Autonómica (1 por comarca)

C.A. EXTREMADURA

a) Servicios Centrales

- 1 Jefe del Servicio de Sanidad Animal
- 1 Director Regional de Programas de Sanidad Animal
- 2 Jefes de Sección de programas de Sanidad Animal (provinciales)
- 4 Técnicos veterinarios para diagnóstico y tramitación de actas
- 5 auxiliares administrativos
- 5 veterinarios de campo

b) Ejecución

Contratados por la administración autonómica:

- 109 veterinarios de campo
- 19 auxiliares administrativos
- 20 auxiliares de laboratorio
- 5 diplomados en informática
- 1 coordinador regional
- 1 técnico de proyecto
- 1 técnico de gestión

85 veterinarios de ADS

C.A. GALICIA

a) Servicios Centrales

Nivel provincial

- 4 Jefes de Servicio
- 4 Jefes de Area
- 7 Técnicos veterinarios

Nivel comarcal:
- 15 Jefes de Area
- 65 Veterinarios comarcales

b) Ejecución: Contratados por la administración autonómica
- 4 Coordinadores provinciales
- 26 Jefes de equipo
- 158 Técnicos veterinarios

C.A. LA RIOJA

a) Servicios Centrales
- 1 Jefe de Servicio
- 1 Jefe de Sección
- 1 Responsable de Area
- 2 Auxiliares Administrativos
- 1 Ayudante pecuario

b) Ejecución:
- 19 veterinarios de ADS
- 10 veterinarios contratados

C.A. MADRID

a) Servicios Centrales
- Jefe del Servicio de Ganadería y Protección Animal
- Director del laboratorio regional agrario
- Jefe de Sección de Vigilancia Sanitaria

- Jefe de Subsección de Programas de Erradicación
- 2 técnicos de apoyo contratados

b) Ejecución:

C.A. MURCIA

a) Servicios Centrales
- 1 Técnico responsable
- 1 Técnico de gestión
- 1 Inspector veterinario
- 2 Administrativos
- 8 inspectores comarcales

b) Ejecución:
- 23 veterinarios de ADS
- 6 administrativos de ADS
- 8 veterinarios contratados
- 1 administrativo contratado

C.A. NAVARRA

a) Servicios Centrales
- 1 Director del Servicio de Ganadería
- 1 Jefe de Sección de Sanidad Animal

- 1 Jefe de negociado de Epizootiología
- 3 veterinarios
- 4 Administrativos

b) Ejecución:

C.A. PAIS VASCO

- 4 Veterinarios Jefes de los Servicios de Ganadería (1 por Diputación Provincial y 1 del Departamento de Agricultura y Pesca del Gobierno Vasco)
- 30 Veterinarios clínicos de campo

C.A. VALENCIA

a) Servicios Centrales
- 1 Jefe de Servicio
- 1 Jefe de Sección

Nivel provincial
- 8 Técnicos veterinarios

Nivel comarcal:
- 48 veterinarios

b) Ejecución:
- 24 veterinarios de ADS

Anexo A: Zonas geográficas de aplicación del programa

4.4. Medidas aplicadas en el programa

4.4.1. Medidas y disposiciones legislativas con relación al registro de explotaciones pecuarias:

Todas las explotaciones de ganado bovino deberán estar registradas de acuerdo a lo establecido en el Real Decreto 205/96, de 9 de febrero, modificado por el Real Decreto 1980/1998 que recoge lo establecido en el Reglamento 820/97 del Consejo, derogado por el Reglamento 1760/2000.

La última modificación al respecto en la legislación nacional, lo constituye el Real Decreto 479/2004, de 26 de marzo, que establece y regula el Registro general de explotaciones ganaderas.

4.4.2. Medidas y disposiciones legislativas respecto a la identificación de los animales:

Las disposiciones legislativas en materia de identificación de los animales de la especie bovina están recogidas en el Real Decreto 205/1996, de 9 de febrero, por el que se establece un sistema de identificación y registro de las especies bovina, porcina, ovina y caprina, modificado por el Real Decreto 1980/1998, de 18 de septiembre, por el que se establece un sistema de identificación y registro de los animales de la especie bovina.

4.4.3. Medidas y disposiciones legislativas en lo relativo a la notificación de la enfermedad:

La declaración oficial de la enfermedad se efectuará de conformidad con lo dispuesto en el Real Decreto 2459/1996, de 2 de diciembre, por el que se establece la lista de las enfermedades de los animales de declaración obligatoria y se de la normativa para su comunicación.

4.4.4. Medidas y disposiciones legislativas referentes a los casos positivos:

Los casos positivos se tratarán según las disposiciones establecidas en la Directiva 64/432/CEE y sus modificaciones posteriores, la Directiva 97/12/CE y la Directiva 98/46/CE. A nivel nacional, las medidas adoptadas frente a casos positivos están descritas en el Capítulo II del Real Decreto 2611/1996.

Los bovinos en los que se haya comprobado oficialmente la existencia de tuberculosis, así como los animales considerados infectados por los órganos competentes de las Comunidades Autónomas, serán sacrificados bajo control oficial, lo más rápidamente posible, y, a más tardar, treinta días después de la notificación oficial al propietario o al poseedor de las pruebas. Si bien, se contemplan ciertas excepciones en situaciones muy concretas y siempre por causa de fuerza mayor. El sacrificio de los reaccionantes positivos podrá realizarse en mataderos autorizados para tal fin, en la propia explotación o en lugares expresamente autorizados para ello.

Si el sacrificio se realiza en matadero, se podrá proceder a la utilización de las carnes para el consumo humano, siempre de acuerdo con lo dispuesto en el Real Decreto 147/1993.

Si el sacrificio se realiza en cualquiera de los otros dos lugares autorizados para ello, después del sacrificio, se deberá proceder al traslado a centros de eliminación y transformación de animales muertos y subproductos de origen animal, regulados por el Reglamento 1774/2002, incorporado al ordenamiento jurídico español por el Real Decreto 1429/2003.

Finalizado el sacrificio de los animales positivos, se procederá a la limpieza y desinfección de las explotaciones y utensilios, bajo la supervisión de un Veterinario Oficial. Asimismo, serán sometidos a desinfección y control, los mataderos y medios de transporte.

La reposición de animales en aquellas explotaciones que hayan sido objeto de sacrificio obligatorio en aplicación de este Programa de Erradicación, sólo podrá realizarse después de que los bovinos de más de seis semanas que queden en la explotación hayan presentado un resultado favorable en, al menos un examen de investigación de tuberculosis.

4.4.5. Medidas y disposiciones legislativas respecto a las diversas calificaciones de los animales y los rebaños:

Las calificaciones de los animales y rebaños están recogidas en el Real Decreto 2611/1996 y sus modificaciones posteriores, el Real Decreto 1047/2003 y Real Decreto 51/2004.

La titulación sanitaria de las explotaciones, provincias o regiones como oficialmente indemnes a esta enfermedad, se irá otorgando conforme a los requisitos exigidos por la normativa comunitaria, Directivas 97/12/CE y 98/46/CE.

4.4.6. Procedimientos de control del programa y, en particular, las normas relativas a los desplazamientos de los animales susceptibles de estar afectados o contaminados por una enfermedad dada y a la inspección regular de las explotaciones o zonas afectadas:

Los movimientos de animales se realizan bajo control veterinario, tal como se establece en el Real Decreto 2611/96 y sus posteriores modificaciones.

Para el movimiento de bovinos en España, es necesaria la expedición por parte de los Servicios Veterinarios Oficiales de la "Guía de Origen y Sanidad Pecuaria", documento que ampara este traslado.

Asimismo a través del registro oficial de las explotaciones, establecido en el Real Decreto 205/96, de 9 de febrero, modificado por el Real Decreto 1980/98 por el que se establece un sistema de registro de los animales de las especies bovina, porcina, ovina y caprina, se controla la entrada y salida de los animales de las explotaciones.

En relación a los animales susceptibles de estar afectados o contaminados por tuberculosis, se aislarán dentro de la explotación y se prohibirán los movimientos de los mismos, salvo con destino a matadero para ser sacrificados sin demora.

4.4.7. Medidas y disposiciones legislativas en relación con el control (pruebas de detección, vacunación, etc.) de la enfermedad:

Están recogidas en el Anexo I del Real Decreto 1047/2003, de 1 de agosto.

4.4.8. Medidas y disposiciones legislativas en lo que respecta a la indemnización de los propietarios de animales sacrificados:

El Real Decreto 1328/2000, de 7 de julio, establece los baremos de indemnización por sacrificio obligatorio de los animales objeto de los programas nacionales de erradicación de enfermedades.

5. Descripción general de costes y beneficios:

En el inicio del programa los costes de indemnización por sacrificio de los animales fue muy elevado debido a la alta incidencia. Estos valores disminuyeron progresivamente debido a la favorable evolución del programa, por el contrario los gastos de ejecución se han incrementado, siendo necesario mantener el grado de financiación para alcanzar el objetivo final. Así mismo se ha producido un aumento de los costes en el ámbito laboratorial, por el uso de una mayor diversidad de pruebas diagnósticas con el objetivo de confirmar o, en su caso, realizar el diagnóstico diferencial de la enfermedad.

La inversión ha sido rentable, ya que se han reducido los establos infectados y se ha incrementado el número de de calificados como oficialmente indemnes, lo que facilita el comercio de animales y las garantías sanitarias que ello comporta al reducirse los riesgos de transmisión de la enfermedad. Así mismo el número de casos de tuberculosis humana debidos a *M. bovis* es muy bajo, como lo demuestra el descenso del número de enfermos por causa de este agente hasta valores prácticamente testimoniales.

Los principales beneficios para los ganaderos se derivan del incremento de renta al liberarse de las limitaciones del movimiento de animales impuestas en función calificación sanitaria. Este hecho les permite ampliar el número de operadores comerciales con los que poder realizar transacciones comerciales y reforzar su postura negociadora, así como la valorización de sus productos.

Los principales beneficios para la sociedad general se derivan, desde el punto de vista sanitario, de la eliminación de una importante zoonosis, así como la atención de las nuevas demandas sociales de incrementar la calidad y seguridad alimentaria mediante la obtención de productos sanos e inocuos procedentes de animales con un adecuado estatus sanitario.

6. Datos sobre la evolución epidemiológica en los últimos cinco años

6.1. Evolución de la enfermedad

6.1.1. Datos sobre la evolución de la enfermedad:

Se adjuntan los datos anteriores al año 2003 siguiendo el sistema de notificación que se realizaba mediante la Decisión 2000/322/CE, y los datos de 2003 y 2004 según la Decisión 2002/677/CE

6.1.1.1. Datos sobre rebaños 2001 a 2004: Anexo II

6.1.1.2. Datos sobre los animales 2001 a 2004: Anexo III

6.1. Evolución de la enfermedad

6.1.1.1. Datos sobre rebaños

Año: 2001 **Situación a fecha de:** 31/12/2001

Enfermedad: TUBERCULOSIS **Especie animal:** BOVINA

Región[c]	Número total de rebaños[d]	Número total de rebaños incluidos en el programa	Número de rebaños controlados[e]	Número de rebaños positivos[f]	Número de nuevos rebaños positivos[g]	Número de rebaños con vació sanitario	Porcentaje de rebaños positivos con vació sanitario	INDICADORES		
								Porcentaje de cobertura de los rebaños	Porcentaje de rebaños positivos Prevalencia en rebaños en el periodo	Porcentaje de nuevos rebaños positivos Incidencia en rebaños
1	2	3	4	5	6	7	8 = (7/5)x100	9 = (4/3)x100	10 = (5/4)x100	11 = (6/4)x100
ANDALUCÍA	11.406	8.987	6.986	861				77,73	12,32	
ARAGÓN	1.177	1.177	1.177	44				100,00	3,74	
ASTURIAS	28.702	28.702	28.702	87				100,00	0,30	
BALEARES	793	793	613	5				77,30	0,82	
CANARIAS	2.842	2.842	1.686	9				59,32	0,53	
CANTABRIA	12.718	12.718	11.984	88				94,23	0,73	
CASTILLA MANCH	2.634	2.634	2.534	223				96,20	8,80	
CASTILLA Y LEÓN	24.325	24.325	24.325	1.268				100,00	5,21	
CATALUÑA	4.072	4.072	3.594	111				88,26	3,09	
EXTREMADURA	12.496	11.590	11.173	971				96,40	8,69	
GALICIA	72.801	72.464	40.601	227				56,03	0,56	
LA RIOJA	370	370	370	10				100,00	2,70	
MADRID	1.729	1.729	1.542	124				89,18	8,04	
MURCIA	122	122	122	11				100,00	9,02	
NAVARRA	2.836	2.662	2.662	16				100,00	0,60	
PAÍS VASCO	6.396	6.396	6.364	10				99,50	0,16	
VALENCIA	559	559	559	141				100,00	25,22	
Total	**185.978**	**182.142**	**144.994**	4.206				79,60	2,90	

6.1. Evolución de la enfermedad

6.1.1.1. Datos sobre rebaños

Año: 2002 **Situación a fecha de:** 31/12/2002

Enfermedad: TUBERCULOSIS **Especie animal:** BOVINA

Región[c]	Número total de rebaños[d]	Número total de rebaños incluidos en el programa	Número de rebaños controlados[e]	Número de rebaños positivos[f]	Número de nuevos rebaños positivos[g]	Número de rebaños con vació sanitario	Porcentaje de rebaños positivos con vació sanitario	INDICADORES		
								Porcentaje de cobertura de los rebaños	Porcentaje de rebaños positivos Prevalencia en rebaños en el periodo	Porcentaje de nuevos rebaños positivos Incidencia en rebaños
1	2	3	4	5	6	7	8 = (7/5)x100	9 = (4/3)x100	10 = (5/4)x100	11 = (6/4)x100
ANDALUCÍA	13.504	8.872	7.940	766				89,50	9,65	
ARAGÓN	1.177	1.177	1.177	37				100,00	3,14	
ASTURIAS	30.019	26.955	26.955	86				100,00	0,32	
BALEARES	633	633	541	5				85,47	0,92	
CANARIAS	2.390	2.390	1.775	6				74,27	0,34	
CANTABRIA	11.273	11.273	11.273	113				100,00	1,00	
CASTILLA MANCH	2.706	2.483	2.483	191				100,00	7,69	
CASTILLA Y LEÓN	22.505	22.505	22.505	1.148				100,00	5,10	
CATALUÑA	3.912	3.912	3.739	72				95,58	1,93	
EXTREMADURA	12.220	11.205	11.155	831				99,55	7,45	
GALICIA	65.913	65.913	65.250	340				98,99	0,52	
LA RIOJA	341	341	341	7				100,00	2,05	
MADRID	1.807	1.807	1.410	52				78,03	3,69	
MURCIA	125	125	121	7				96,80	5,79	
NAVARRA	2.836	2.662	2.513	13				94,40	0,52	
PAÍS VASCO	9.887	6.862	6.790	4				98,95	0,06	
VALENCIA	450	450	441	55				98,00	12,47	
Total	181.698	169.565	166.409	3.733				98,14	2,24	

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE
SANIDAD ANIMAL

Datos sobre rebaños 2003 TUBERCULOSIS BOVINA

CCAA	Número total de rebaños	Número total de rebaños incluidos en el programa	Número de rebaños controlados	Número de rebaños positivos	Número de nuevos rebaños positivos	Número de rebaños diezmados	Rebaños positivos diezmados (%)	Indicadores		
								Cobertura de rebaños (%)	Rebaños positivos (%) Prevalencia del periodo en rebaños	Nuevos rebaños positivos (%) Incidencia en rebaños
ANDALUCÍA	9857	8255	8021	679	387	1	0,15	97,17	8,47	4,82
ARAGÓN	1165	1165	1165	32	11	0	0	100	2,75	0,94
ASTURIAS	26641	25856	25856	56	51	6	10,71	100	0,22	0,2
BALEARES	860	545	492	5	5	0	0	90,28	1,02	1,02
CANARIAS	1800	1800	1714	18	18	0	0	95,22	1,05	1,05
CANTABRIA	10776	10776	10776	144	101	18	12,5	100	1,34	0,94
CASTILLA LA MANCHA	2390	2390	2390	152	0	2	1,32	100	6,36	0
CASTILLA Y LEÓN	21060	21060	21060	1193	721	16	1,34	100	5,66	3,42
CATALUÑA	3776	3776	3674	64	54	7	10,94	97,3	1,74	1,47
EXTREMADURA	12404	11130	11050	663	64	8	4,08	99,28	5,95	0,58
GALICIA	61751	61751	61751	264	225	49	18,56	100	0,43	0,36
LA RIOJA	333	333	333	9	6	0	0	100	2,7	1,8
MADRID	1755	1755	1609	63	14	1	1,59	91,68	3,92	0,87
MURCIA	713	203	203	3	3	0	0	100	1,48	1,48
NAVARRA	2494	2309	2309	19	10	0	0	100	0,82	0,43
PAÍS VASCO	9276	5997	5997	10	9	0	0	100	0,17	0,15
VALENCIA	450	450	450	25	4	0	0	100	5,56	0,89
TOTAL 2003	**167501**	**159551**	**158850**	**3399**	**1683**	**108**	**3,68**	**99,56**	**2,14**	**1,06**
TOTAL 2002	**181698**	**169565**		**3733**					**2,7**	

ANEXO II

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE
SANIDAD ANIMAL

DATOS DE LOS REBAÑOS

Estado miembro: España **Fecha:31**/05/2005 **Año:**2004 **Periodo de información:** Informe Final

Enfermedad: Tuberculosis bovina **Especie animal**: Bovino

CCAA	Número total de rebaños	Número total de rebaños incluidos en el programa	Número de rebaños controlados	Número de rebaños positivos	Número de nuevos rebaños positivos	Número de rebaños diezmados	Rebaños positivos diezmados (%)	Indicadores		
								Cobertura de rebaños (%)	Rebaños positivos (%) Prevalencia del periodo en rebaños	Nuevos rebaños positivos (%) Incidencia en rebaños
ANDALUCÍA	9981	8670	7565	509	281	4	0,79	87,26	6,73	3,71
ARAGÓN	3729	1132	1132	23	8	1	4,35	100,00	2,03	0,71
ASTURIAS	25053	24212	24212	58	48	9	15,52	100,00	0,24	0,20
BALEARES	593	463	463	3	3	2	66,67	100,00	0,65	0,65
CANARIAS	1795	1795	1795	43	37	2	4,65	100,00	2,40	2,06
CANTABRIA	10318	10297	10297	145	105	26	17,93	100,00	1,41	1,02
CASTILLA LA MANCHA	2239	2211	2211	159	20	1	0,63	100,00	7,19	0,91
CASTILLA Y LEÓN	25042	20296	20296	768	519	18	2,34	100,00	3,78	2,56
CATALUÑA	6586	3560	3477	62	47	6	9,68	97,67	1,78	1,35
EXTREMADURA	12885	10879	10879	606	313	3	0,50	100,00	5,57	2,88
GALICIA	57690	57589	57589	266	240	57	21,43	100,00	0,46	0,42
LA RIOJA	451	326	326	9	7	1	11,11	100,00	2,76	2,15
MADRID	1681	1681	1612	32	18	0	0,00	95,90	1,99	1,12
MURCIA	464	224	224	17	15	0	0,00	100,00	7,59	6,70
NAVARRA	2066	1976	1939	7	5	0	0,00	98,13	0,36	0,26
PAÍS VASCO	9797	8825	7250	16	14	1	6,25	82,15	0,22	0,19
VALENCIA	830	474	456	12	3	0	0,00	96,20	2,63	0,66
TOTAL 2004	**171190**	**154610**	**151723**	**2735**	**1683**	**131**	**4,79**	**98,13**	**1,80**	**1,11**
TOTAL 2003	**167501**	**159551**	**158850**	**2932**	**1683**	**108**	**3,68**	**99,56**	**1,85**	**1,06**

6.1. Evolución de la enfermedad

6.1.1.2. Datos sobre animales

Año: 2001 **Situación a fecha de:** 31/12/2001

Enfermedad: TUBERCULOSIS **Especie animal:** BOVINA

Región[b]	Número total de animales[c]	Número de animales[d] que se van a someter a pruebas en virtud del programa	Número de animales[d] sometidos a pruebas	Número de animales sometidos a pruebas individual-mente[e]	Número de animales positivos	Sacrificio		INDICADORES	
						Número de animales que han dado resultados positivos sacrificados o desechados	Número total de animales sacrificados[f]	Cobertura de animales (%)	Animales positivos (%) Prevalencia en animales
1	2	3	4	5	6	7	8	9=(4/3)x100	10=(6/4)x100
ANDALUCÍA	574.956	536.242	516.187	516.187	7.525		6.463	96,26	1,46
ARAGÓN	62.621	62.621	62.621	76.613	702		807	100,00	1,12
ASTURIAS	447.521	447.521	447.521	452.548	420		479	100,00	0,09
BALEARES	39.800	22.600	21.382	21.382	8		6	94,61	0,04
CANARIAS	27.806	27.806	14.485	14.485	61		147	52,09	0,42
CANTABRIA	337.000	337.000	335.307	335.307	312		1.060	99,50	0,09
CASTILLA MANCHA	187.828	187.247	187.247	191.773	1.649		2.181	100,00	0,88
CASTILLA Y LEÓN	1.114.075	1.114.075	1.114.075	1.182.968	7.237		7.284	100,00	0,65
CATALUÑA	213.310	210.568	191.871	191.871	931		1.023	91,12	0,49
EXTREMADURA	677.836	466.024	466.024	499.636	2.854		3.148	100,00	0,61
GALICIA	865.464	865.464	531.084	531.084	958		942	61,36	0,18
LA RIOJA	25.444	25.444	25.444	26.825	160		176	100,00	0,63
MADRID	72.614	72.614	72.614	74.695	870		870	100,00	1,20
MURCIA	9.400	9.400	9.400	11.361	48		50	100,00	0,51
NAVARRA	132.398	85.480	81.565	81.565	476		445	95,42	0,58
PAÍS VASCO	114.828	114.828	114.828	131.540	150		218	100,00	0,13
VALENCIA	27.244	27.244	27.244	37.311	892		550	100,00	3,27
Total	**4.930.145**	**4.612.178**	4.218.903	4.377.156	25.259		25.857	91,47	0,60

6.1. Evolución de la enfermedad

6.1.1.2. Datos sobre animales

Año: 2002 **Situación a fecha de:** 31/12/2002

Enfermedad: TUBERCULOSIS **Especie animal:** BOVINA

Región[b]	Número total de animales[c]	Número de animales[d] que se van a someter a pruebas en virtud del	Número de animales[d] sometidos a pruebas	Número de animales sometidos a pruebas individual-mente[e]	Número de animales positivos	Sacrificio		INDICADORES	
						Número de animales positivos sacrificados o desechados	Número total de animales sacrificados[f]	Cobertura de animales (%)	Animales positivos (%) Prevalencia en animales
1	2	3	4	5	6	7	8	9=(4/3)x100	10=(6/4)x100
ANDALUCÍA	709.726	624.167	594.787	594.787	8.812		8.807	95,29	1,48
ARAGÓN	62.621	62.621	62.621	82.915	336		339	100,00	0,54
ASTURIAS	450.490	427.931	427.931	427.931	375		436	100,00	0,09
BALEARES	39.800	35.000	24.237	24.237	8		12	69,25	0,03
CANARIAS	26.463	26.463	17.749	17.749	20		25	67,07	0,11
CANTABRIA	335.307	335.307	335.307	371.060	996		1.247	100,00	0,30
CASTILLA MANCHA	223.520	223.520	223.520	223.520	1.632		2.817	100,00	0,73
CASTILLA Y LEÓN	1.117.674	1.117.674	1.117.674	1.117.674	5.549		5.798	100,00	0,50
CATALUÑA	224.293	224.271	224.271	228.073	1.309		1.481	100,00	0,58
EXTREMADURA	680.927	487.026	487.026	558.091	2.932		3.538	100,00	0,60
GALICIA	864.936	864.936	864.936	864.936	1.359		1.823	100,00	0,16
LA RIOJA	25.576	25.576	25.551	25.551	49		49	99,90	0,19
MADRID	78.143	78.143	78.143	80.212	528		528	100,00	0,68
MURCIA	9.850	9.850	9.850	12.133	15		15	100,00	0,15
NAVARRA	132.398	85.480	83.504	83.504	386		372	97,69	0,46
PAÍS VASCO	170.737	117.183	116.658	116.658	24		27	99,55	0,02
VALENCIA	28.651	28.651	28.651	39.322	892		884	100,00	3,11
Total	5.181.112	4.773.802	4.722.420	4.868.358	25.228		28.206	98,92	0,53

ANEXO III

DATOS DE LOS ANIMALES

Estado miembro: España **Fecha:** 29/03/2004 **Año:** 2003 **Periodo de información:** Informe Final

Enfermedad: Tuberculosis bovina **Especie animal:** Bovinos

CCAA	Número total de animales	Número de animales que se van a someter a pruebas en virtud del programa	Número de animales sometidos a pruebas	Número de animales sometidos a pruebas individualmente	Número de animales positivos	Sacrificio		Indicadores	
						Número de animales que han dado resultados positivos, sacrificados o desechados	Número total de animales sacrificados	Cobertura de animales (%)	Animales positivos (%) Prevalencia en animales
ANDALUCÍA	669113	569755	552768	552768	6215	6207	6243	97,02	1,12
ARAGÓN	63556	63556	63556	63556	292	200	200	100	0,46
ASTURIAS	437274	422301	422301	422301	267	267	473	100	0,06
BALEARES	39000	25500	25417	25417	8	8	8	99,67	0,03
CANARIAS	19700	19700	19594	19594	128	75	128	99,46	0,65
CANTABRIA	297388	318648	318648	318648	1126	1126	1540	100	0,35
CASTILLA LA MANCHA	211075	211075	211075	211075	1352	1352	2680	100	0,64
CASTILLA Y LEÓN	1113143	1113143	1113143	1113143	7295	7000	9493	100	0,66
CATALUÑA	261821	255936	248143	248143	483	420	930	96,96	0,19
EXTREMADURA	667018	569891	569891	569891	2765	2716	3085	100	0,49
GALICIA	851120	851120	851120	851120	785	785	1684	100	0,09
LA RIOJA	24580	24580	24580	24580	52	52	52	100	0,21
MADRID	95179	95179	92270	92270	531	460	465	96,94	0,58
MURCIA	90000	23253	23253	23253	19	19	19	100	0,08
NAVARRA	122871	87471	87471	87471	377	377	377	100	0,43
PAÍS VASCO	157003	114685	110497	110497	38	38	38	96,35	0,03
VALENCIA	28651	28651	28651	28651	454	454	420	100	1,58
TOTAL 2003	**5148492**	**4794444**	**4762378**	**4762378**	**22187**	**21556**	**27835**	**99,33**	**0,47**

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE
SANIDAD ANIMAL

ANEXO III
DATOS DE LOS ANIMALES

Estado miembro: España Fecha: 31/05/2005 **Año:** 2004 Periodo de información: Informe Final
Enfermedad: Tuberculosis bovina Especie animal: Bovinos

CCAA	Número total de animales	Número de animales que se van a someter a pruebas en virtud del programa	Número de animales sometidos a pruebas	Número de animales sometidos a pruebas individualmente	Número de animales positivos	Sacrificio	
						Número de animales que han dado resultados positivos, sacrificados o desechados	Número total de animales sacrificados
ANDALUCÍA	671628	594426	539879	539879	5484	5475	5503
ARAGÓN	280167	64074	64074	64074	158	153	321
ASTURIAS	417663	409135	409135	409135	349	349	635
BALEARES	33991	26085	25437	25437	15	15	53
CANARIAS	21767	21767	21767	21767	147	147	154
CANTABRIA	314775	307208	307208	307208	1237	1237	2028
CASTILLA LA MANCHA	236564	203438	236564	236564	2170	1566	1651
CASTILLA Y LEÓN	1296527	1085999	1085999	1085999	4623	4567	5156
CATALUÑA	812650	257084	238130	238130	462	382	542
EXTREMADURA	707927	527045	527045	527045	2521	2414	2490
GALICIA	968995	824362	824362	824362	1104	1104	2136
LA RIOJA	41012	25315	25315	25315	36	36	61
MADRID	106775	93248	91259	91259	111	111	111
MURCIA	73209	27380	27380	27380	30	28	28
NAVARRA	108732	100189	100189	100189	18	18	67
PAÍS VASCO	163887	117962	117962	117962	50	31	114
VALENCIA	71972	34996	34866	34866	169	169	169
TOTAL 2004	**6328241**	**4719713**	**4676571**	**4676571**	**18684**	**17802**	**21219**
TOTAL 2003	**5148492**	**4794444**	**4762378**	**4762378**	**22187**	**21556**	**27835**

6.2. Datos desglosados sobre la vigilancia y las pruebas de laboratorio

6.2.1. Datos desglosados sobre la vigilancia y las pruebas de laboratorio (un cuadro por año y enfermedad/especie)

Año: 2001 **Enfermedad[(a)]: Tuberculosis** **Especie animal/categoría[(b)]: Bovina**

Descripción de las pruebas serológicas empleadas: Gamma-Interferón A/P

Descripción de las pruebas microbiológicas o virológicas empleadas: Toma de muestras en ganglios de animales positivos a la IDTB. Tinción Ziehl-Nielsen, cultivo, espoligotipado cuando se logra aislamiento de Mycobacterium spp

Descripción de las demás pruebas empleadas: Intradermo-reacción.

Región	Pruebas serológicas		Pruebas microbiológicas o virológicas		Otras pruebas	
	Nº de muestras sometidas a pruebas	Nº de muestras positivas	Nº de muestras sometidas a pruebas	Nº de muestras positivas	Nº de muestras sometidas a pruebas	Nº de muestras positivas
ANDALUCIA	0	0	309	309	516.187	7.525
ARAGÓN	-	-	6	6	61.123	807
ASTURIAS	-	-	0	0	452.548	420
BALEARES	-	-	-	-	21.356	6
CANARIAS	0	0	0	0	-	-
CANTABRIA	0	0	-	-	335.307	312
CASTILLA-MANCHA	0	0	60	9	0	0
CASTILLA-LEON	2.085	530	40	35	3.429	152
CATALUÑA	0	0	0	0	194.032	951
EXTREMADURA	0	0	-	-	499.651	2.854
GALICIA	60	0	39	0	-	-
LA RIOJA	-	-	-	-	26.825	160
MADRID	0	0	117	27	0	0
MURCIA						
NAVARRA	0	0	25	25	92..676	483
PAIS VASCO						
VALENCIA						
TOTAL						

6.2. Datos desglosados sobre la vigilancia y las pruebas de laboratorio

6.2.1. Datos desglosados sobre la vigilancia y las pruebas de laboratorio (un cuadro por año y enfermedad/especie)

Año: 2002 **Enfermedad[a]: Tuberculosis** **Especie animal/categoría[b]: Bovina**

Descripción de las pruebas serológicas empleadas: Gamma-Interferón A/P

Descripción de las pruebas microbiológicas o virológicas empleadas: Toma de muestras en ganglios de animales positivos a la IDTB. Tinción Ziehl-Nielsen, cultivo, espoligotipado cuando se logra aislamiento de Mycobacterium spp

Descripción de las demás pruebas empleadas: Intradermo-reacción.

Región	Pruebas serológicas		Pruebas microbiológicas o virológicas		Otras pruebas	
	Nº de muestras sometidas a pruebas	Nº de muestras positivas	Nº de muestras sometidas a pruebas	Nº de muestras positivas	Nº de muestras sometidas a pruebas	Nº de muestras positivas
ANDALUCIA	0	0	16	16	735.255	8.812
ARAGÓN	-	-	5	5	62.627	339
ASTURIAS	-	-	6	2	428.194	373
BALEARES	-	-	-	-	32.136	4
CANARIAS	0	0	0	0	-	-
CANTABRIA	371.060	996	-	-	-	-
CASTILLA-MANCHA	-	-	80	26	-	-
CASTILLA-LEON	828	59	57	33	6.707	329
CATALUÑA	0	0	0	0	228.073	1.300
EXTREMADURA	558.149	2.932	-	-	-	-
GALICIA	79	0	170	0	-	-
LA RIOJA	-	-	-	-	26.335	49
MADRID	0	0	80	26	0	0
MURCIA						
NAVARRA	0	0	25	25	84.327	405
PAIS VASCO						
VALENCIA						
TOTAL						

6.2. Datos desglosados sobre la vigilancia y las pruebas de laboratorio

6.2.1. Datos desglosados sobre la vigilancia y las pruebas de laboratorio (un cuadro por año y enfermedad/especie)

Año: 2003 **Enfermedad[a]: Tuberculosis** **Especie animal/categoría[b]: Bovina**

Descripción de las pruebas serológicas empleadas: Gamma-Interferón A/P, ELISA

Descripción de las pruebas microbiológicas o virológicas empleadas: Toma de muestras en ganglios de animales positivos a la IDTB. Tinción Ziehl-Nielsen, cultivo, espoligotipado cuando se logra aislamiento de Mycobacterium spp, PCR

Descripción de las demás pruebas empleadas: Intradermo-reacción.

Región	Pruebas serológicas		Pruebas microbiológicas o virológicas		Otras pruebas	
	Nº de muestras sometidas a pruebas	Nº de muestras positivas	Nº de muestras sometidas a pruebas	Nº de muestras positivas	Nº de muestras sometidas a pruebas	Nº de muestras positivas
ANDALUCIA	408		0		613366	6215
ARAGÓN	2		2		84928	292
ASTURIAS	717		293		421301	267
BALEARES	0		0		25437	8
CANARIAS	0	0	0	0	29870	128
CANTABRIA	371.060		133		378121	1126
CASTILLA-MANCHA	0		0		251158	1352
CASTILLA-LEON	3040		462		1279100	7295
CATALUÑA	0		0		497858	483
EXTREMADURA	0		0		594034	2765
GALICIA	1784		3400		853647	785
LA RIOJA	0		6		26968	52
MADRID	0		0		91259	531
MURCIA	224		3		27314	19
NAVARRA	0		0		109220	377
PAIS VASCO	0		0		117962	38
VALENCIA	0		0		39176	454
TOTAL						22187

6.2. Datos desglosados sobre la vigilancia y las pruebas de laboratorio

6.2.1. Datos desglosados sobre la vigilancia y las pruebas de laboratorio (un cuadro por año y enfermedad/especie)

Año: 2004 **Enfermedad[(a)]: Tuberculosis** **Especie animal/categoría[(b)]: Bovina**

Descripción de las pruebas serológicas empleadas: Gamma-Interferón A/P, ELISA

Descripción de las pruebas microbiológicas o virológicas empleadas: Toma de muestras en ganglios de animales positivos a la IDTB. Tinción Ziehl-Nielsen, cultivo, espoligotipado cuando se logra aislamiento de Mycobacterium spp, PCR

Descripción de las demás pruebas empleadas: Intradermo-reacción.

Región	Pruebas serológicas		Pruebas microbiológicas o virológicas		Otras pruebas	
	Nº de muestras sometidas a pruebas	Nº de muestras positivas	Nº de muestras sometidas a pruebas	Nº de muestras positivas	Nº de muestras sometidas a pruebas	Nº de muestras positivas
ANDALUCIA	250		197		620082	5484
ARAGÓN	0		0		82107	158
ASTURIAS	230		198		426374	349
BALEARES	0		0		25417	15
CANARIAS	24	21	5	3	22594	147
CANTABRIA	138		649		367836	1237
CASTILLA-MANCHA	0		0		211075	2170
CASTILLA-LEON	863		143		1316657	4623
CATALUÑA	0		0		248143	462
EXTREMADURA	0		0		569891	2521
GALICIA	462		232		875408	1104
LA RIOJA	0		0		26081	36
MADRID	0		0		92270	111
MURCIA	0		0		23253	30
NAVARRA	0		0		87471	18
PAIS VASCO	0		0		117473	50
VALENCIA	0		0		35898	169
TOTAL						18684

6.3.	**Datos sobre infecciones**	
Año: 2002	**Enfermedad:TUBERCULOSIS**	**Especie animal: BOVINA**

Región[b]	Número de rebaños infectados[c]	Número de animales infectados
ANDALUCÍA	766	
ARAGÓN	37	
ASTURIAS	86	
BALEARES	5	
CANARIAS	6	
CANTABRIA	113	
CASTILLA MANCHA	191	
CASTILLA Y LEÓN	1.148	
CATALUÑA	72	
EXTREMADURA	831	
GALICIA	340	
LA RIOJA	7	
MADRID	52	
MURCIA	7	
NAVARRA	13	
PAÍS VASCO	4	
VALENCIA	55	
Total	**3.733**	

6.3.	**Datos sobre infecciones**	
Año: 2001	**Enfermedad:TUBERCULOSIS**	**Especie animal: BOVINA**

Región[b]	Número de rebaños infectados[c]	Número de animales infectados
ANDALUCÍA	861	
ARAGÓN	44	
ASTURIAS	87	
BALEARES	5	
CANARIAS	9	
CANTABRIA	88	
CASTILLA MANCHA	223	
CASTILLA Y LEÓN	1.268	
CATALUÑA	111	
EXTREMADURA	971	
GALICIA	227	
LA RIOJA	10	
MADRID	124	
MURCIA	11	
NAVARRA	16	
PAÍS VASCO	10	
VALENCIA	141	
Total	4.206	

6.3 Datos sobre infecciones (un cuadro por año y por enfermedad/especie)

Año: 2003 **Enfermedad:Tuberculosis** **Especie animal: Bovina**

CCAA	Número de rebaños infectados	Número de animales infectados
ANDALUCÍA	679	6215
ARAGÓN	32	292
ASTURIAS	56	267
BALEARES	5	8
CANARIAS	18	128
CANTABRIA	144	1126
CASTILLA LA MANCHA	152	1352
CASTILLA Y LEÓN	1193	7295
CATALUÑA	64	483
EXTREMADURA	196	2765
GALICIA	264	785
LA RIOJA	9	52
MADRID	63	531
MURCIA	3	19
NAVARRA	19	377
PAÍS VASCO	10	38
VALENCIA	25	454
TOTAL 2003	**2932**	**22187**

a) Enfermedad y especie animal, en caso necesario.
b) Se entenderá por región lo definido en el programa de erradicación aprobado del Estado miembro.
c) Rebaños, manadas o explotaciones, según corresponda

6.3 Datos sobre infección

Año 2004 **Enfermedad: tuberculosis** **Especie animal: bovina**

Comunidad Autónoma	Número de rebaños infectados	Número de animales infectados
ANDALUCÍA	509	5484
ARAGÓN	23	158
ASTURIAS	58	349
BALEARES	3	15
CANARIAS	43	147
CANTABRIA	145	1237
CASTILLA LA MANCHA	159	2170
CASTILLA Y LEÓN	768	4623
CATALUÑA	62	462
EXTREMADURA	606	2521
GALICIA	266	1104
LA RIOJA	9	36
MADRID	32	111
MURCIA	17	30
NAVARRA	7	18
PAÍS VASCO	16	50
VALENCIA	12	169
TOTAL	**2742**	**18652**

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE
SANIDAD ANIMAL

6.4. Datos sobre la calificación de los rebaños a finales de año

Año: 2001 **Enfermedad:** TUBERCULOSIS **Especie animal:** BOVINA

Región[(b)]	Calificación de los rebaños y animales incluidos en el programa													
	Número total de rebañ y anim incluidos en programa		Desconocida		No indemne/ no oficialmente indemne				Indemne u oficialmente indemne suspendido		Indemne		Oficialmente indemne	
					Último control +		Último control -							
	Rebañ	Anim	Rebañ	Anim	Rebañ	Anim	Rebañ	Anim	Rebañ	Anim	Re	Anim	Rebañ	Anim
ANDALUCÍA	8.987	536.242	371		1.036		2.198		5.382				5.382	
ARAGÓN	1.177	62.621	0		33		28		1.116				1.116	
ASTURIAS	28.702	447.521	0		48		726		27.928				27.928	
BALEARES	793	22.600	0		5		27		601				601	
CANARIAS	2.842	27.806	0		5		0		2.837				2.837	
CANTABRIA	12.718	337.000	0		52		74		11.849				11.849	
CASTILLA MANCHA	2.634	187.247	0		223		132		1.960				1.960	
CASTILLA Y LEÓN	24.325	1.114.075	0		903		1.559		21.492				21.492	
CATALUÑA	4.072	210.568	6		69		269		3.728				3.728	
EXTREMADURA	11.590	466.024	0		482		2.434		8.674				8.674	
GALICIA	72.464	865.464	0		131		160		40.310				40.310	
LA RIOJA	370	25.444	0		7		11		352				352	
MADRID	1.729	72.614	0		100		203		1.426				1.426	
MURCIA	122	9.400	0		2		34		86				86	
NAVARRA	2.662	85.480	0		16		17		2.629				2.629	
PAÍS VASCO	6.396	114.828	32		1		2		6.361				6.361	
VALENCIA	559	27.244	1		120		192		246				246	
Total	**182.142**	**4.612.178**	410		**3.233**		**8.066**		**136.977**				**136.977**	

6.4. Datos sobre la calificación de los rebaños a finales de año

Año: 2002 **Enfermedad:** TUBERCULOSIS **Especie animal:** BOVINA

Región[(b)]	Calificación de los rebaños y animales incluidos en el programa													
	Número total de rebañ y anim incluidos en		Desconocida		No indemne/ no oficialmente indemne				Indemne u oficialmente indemne		Indemne		Oficialmente indemne	
					Último control +		Último control -							
	Rebañ	Anim	Rebañ	Anim	Rebañ	Anim	Rebañ	Anim	Rebañ	Anim	Rebañ	Anim	Rebañ	Anim
ANDALUCÍA	8.872	624167	97		690		1530		5677				5677	
ARAGÓN	1.177	62621	0		28		23		1126				1126	
ASTURIAS	26.955	427931	0		18		596		26341				26341	
BALEARES	633	35000	2		0		58		488				488	
CANARIAS	2.390	26463	0		0		0		2384				2384	
CANTABRIA	11.273	335307	0		128		63		11082				11082	
CASTILLA MANCHA	2.483	223520	0		191		141		2151				2151	
CASTILLA Y LEÓN	22.505	1117674	0		536		1538		20318				20318	
CATALUÑA	3.912	224271	8		56		175		3673				3673	
EXTREMADURA	11.205	487026			291		2186		8740				8740	
GALICIA	65.913	864936	0		89		300		65524				65524	
LA RIOJA	341	25576	0		6		8		327				327	
MADRID	1.807	78143	0		73		229		1505				1505	
MURCIA	125	9850	0		1		21		103				103	
NAVARRA	2.662	85480	29		26		32		2473				2473	
PAÍS VASCO	6.862	117183	0		1		2		6859				6859	
VALENCIA	450	28651	0		47		88		315				315	
Total	169.565	4773802	136		2181		6990		159086				159086	

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE
SANIDAD ANIMAL

ANEXO V

DATOS DE LA CALIFICACIÓN DE LOS REBAÑOS AL FINAL DEL PERIODO

DATOS DE LA CALIFICACIÓN DE LOS REBAÑOS AL FINAL DEL PERIODO

Año:2003 Enfermedad: Tuberculosis bovina **Especie animal:** Bovinos

CCAA	Calificación de los rebaños y animales incluidos en el programa													
	Número total de rebaños y animales incluidos en el programa		Desconocido		No libre o no oficialmente libre				Libre u oficialmente libre, suspendido		Libre		Oficialmente libre	
					Ultimo control positivo		Ultimo control negativo							
	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales
ANDALUCÍA	8255	569755	339	1481	446	47460	1347	73371	0	0	0	0	6123	435193
ARAGÓN	1165	63556	0	0	15	1010	11	1165	7	459	0	0	1132	60922
ASTURIAS	25856	422301	0	0	25	857	365	1795	41	743	0	0	25425	418906
BALEARES	545	25417	53	848	5	484	0	0	3	301	0	0	489	24268
CANARIAS	1800	19700	86	106	0	0	0	0	18	128	0	0	1696	19466
CANTABRIA	10776	297388	0	0	90	5141	135	5141	0	0	0	0	10551	287879
CASTILLA LA MANCHA	2390	211075	0	0	1	88	151	2592	0	0	0	0	2238	208395
CASTILLA Y LEÓN	21060	1113143	0	0	341	49040	1162	85508	0	0	0	0	19557	978595
CATALUÑA	3776	255936	13	220	31	2172	150	6672	0	0	0	0	3582	246872
EXTREMADURA	11130	569891	1	5	196	35231	1553	102544	1181	153729	0	0	9380	432111
GALICIA	61751	851120	0	0	33	814	147	5120	0	0	0	0	60965	826166
LA RIOJA	333	24580	0	0	3	611	6	1064	0	0	0	0	324	22905
MADRID	1755	95179	0	0	40	3019	146	5084	0	0	0	0	1569	77068
MURCIA	203	23253	0	0	3	234	19	856	0	0	0	0	181	22163
NAVARRA	2309	87471	0	0	5	0	14	0	37	0	0	0	2253	0
PAÍS VASCO	5997	114685	0	0	3	115	0	0	4	285	0	0	7105	145377
VALENCIA	450	28651	0	0	18	1253	185	7741	0	0	0	0	247	19657
TOTAL 2003	**159551**	**4773101**	**492**	**2660**	**1255**	**147529**	**5391**	**298653**	**1291**	**155645**	**0**	**0**	**152817**	**4225943**

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE
SANIDAD ANIMAL

Estado miembro: España **ANEXO V** **Fecha:** 31/05/2005 **Año:** 2004

Enfermedad: Tuberculosis bovina Calificación rebaños **Especie animal:** Bovinos

Año 2004

CCAA	Calificación de los rebaños y animales incluidos en el programa													
	Número total de rebaños y animales incluidos en el programa		Desconocido		No libre o no oficialmente libre				Libre u oficialmente libre, suspendido		Libre		Oficialmente libre	
					Ultimo control positivo		Ultimo control negativo							
	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales
ANDALUCÍA	8648	594745	22	578	308	35273	1055	57508	0	0	0	0	7263	501386
ARAGÓN	1132	64074	0	0	8	954	15	1444	1	135	0	0	1108	61541
ASTURIAS	24212	412563	0	0	29	834	29	1048	16	381	0	0	24138	410300
BALEARES	463	26085	0	0	0	0	15	272	3	346	0	0	445	25467
CANARIAS	1795	21767	0	0	1	118	3	86	21	2921	0	0	1770	18642
CANTABRIA	10297	307208	0	0	50	2550	50	1850	0	0	0	0	10197	302808
CASTILLA LA MANCHA	2211	236564	3	167	133	33434	101	21338	2	162	0	0	1972	181463
CASTILLA Y LEÓN	20296	1085999	0	0	100	13689	1277	110236	11	1231	0	0	18908	960843
CATALUÑA	3560	257084	14	176	35	3351	112	2993	0	0	0	0	3399	250564
EXTREMADURA	10879	527045	0	0	135	19342	1240	89820	45	5807	0	0	9459	412076
GALICIA	56810	822698	0	0	34	1842	160	5384	8	197	0	0	56608	815275
LA RIOJA	326	25799	0	0	1	17	5	540	2	725	0	0	318	24517
MADRID	1681	93248	0	0	0	0	0	0	18	529	0	0	1663	92719
MURCIA	224	27380	0	0	2	224	18	137	1	185	0	0	203	26834
NAVARRA	1976	99521	0	0	2	176	3	76	87	3798	0	0	1884	95471
PAÍS VASCO	8829	147806	0	0	2	50	3	293	4	293	0	0	8820	147170
VALENCIA	474	35652	18	256	11	653	97	4871	0	0	0	0	348	29872
TOTAL 2004	**153813**	**4785238**	**57**	**1177**	**851**	**112507**	**4183**	**297896**	**219**	**16710**	**0**	**0**	**148503**	**4356948**
TOTAL 2003	**159551**	**4773101**	**492**	**2660**	**1255**	**147529**	**5391**	**298653**	**1291**	**155645**	**0**	**0**	**152817**	**4225943**

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE
SANIDAD ANIMAL

DATOS SOBRE ANIMALES SILVESTRES (Punto 6,6,1)

Año :2004 **Método de estimación[(a)]:**

Comunidad Autónoma	Estimación de la población de las especies de animales silvestres en cuestión									RUM. SILVESTRES
	CIERVO	CORZO	GAMO	LOBO	CABRA MONTES	MUFLÓN	REBECO	VENADO	JABALÍ	
ANDALUCIA										
ARAGON										
ASTURIAS			1270				5500	6250	5014	
BALEARES										
CANARIAS	5/Ha									400
CANTABRIA										
CAST-LEON	2253	5177	319	189	72	748	1311			
CAST-LA MANCHA										
CATALUÑA										
EXTREMADURA										
GALICIA										
MADRID										
MURCIA										
NAVARRA										
PAIS VASCO									850	
LA RIOJA	8900									
VALENCIA	3763									8000
TOTAL		5177	1589	189	72	748	6811	6250	5864	8400

(a)El cupo de caza se considera el método normalizado de estimación. Si se utiliza otro método, expliquese

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE
SANIDAD ANIMAL

VIGILANCIA DE LOS ANIMALES SILVESTRES (Un cuadro por año y por enfermedad/especie)

(Punto 6,6,2)

Año :2004 **Enfermedad :** **TUBERCULOSIS** **Especie Animal :** **JABALÍ(1)**
CIERVO(2)

Descripción de las pruebas serológicas empleadas : gamma-interferón

Descripción de las pruebas microbiológicas o virológicas empleadas : cultivo BACT EC R MGIT TM 960

Descripción de las demás pruebas empleadas : IDT

Comunidad Autónoma	Pruebas microbiológicas o virológicas		Pruebas serológicas		Otras pruebas	
	Núm	Número de muestras positivas	Número de muestras sometidas a prueba	Número de muestras positivas	Número de muestras sometidas a prueba	Número de muestras positivas
ANDALUCIA						
ARAGON						
ASTURIAS						
BALEARES						
CANARIAS						
CANTABRIA	173(2)	PTE. RESULTADO	173	PTE. RESULTADO		
CAST-LEON	17(1)	0				
CAST-LA MANCHA						
CATALUÑA						
EXTREMADURA						
GALICIA						
MADRID						
MURCIA						
NAVARRA	5(1)	3				
PAIS VASCO						
LA RIOJA						
VALENCIA					10(2)	1
TOTAL	195	3	173		10	1

OBJETIVOS DE LAS PRUEBAS (Punto 7,1,1)

Enfermedad : **TUBERCULOSIS** **Especie Animal : bovino**

Comunidad Autónoma	Tipo de Prueba	Población destinataria	Tipo de muestra	Objetivo	Número de pruebas previstas
ANDALUCIA	IDT	ANIMALES MAS DE 6 SEM.	otras	detección	650.000
	IDT comparada	ANIMALES MAS DE 6 SEM.	otras	confirmación	50.000
	gamma interferón	ANIMALES MAS DE 6 SEM.	sangre	confirmación	1.000
	aislamiento	ANIMALES MATADERO	lesiones	confirmación	500
ARAGON	IDT	ANIMALES MAS DE 6 SEM.	otras	detección	85.000
ASTURIAS	IDT	ANIMALES MAS DE 6 SEM.	otras	detección	430.000
	IDT comparada	ANIMALES MAS DE 6 SEM.	otras	confirmación	1.500
	gamma interferón	ANIMALES MAS DE 6 SEM.	sangre	confirmación	1.000
	aislamiento	ANIMALES MATADERO	lesiones	confirmación	500
	PCR	ANIMALES MATADERO	lesiones	confirmación	300
BALEARES	IDT	ANIMALES MAS DE 6 SEM.	otras	detección	29.000
CANARIAS	IDT	ANIMALES MAS DE 6 SEM.	otras	detección	24.767
	IDT comparada	ANIMALES MAS DE 6 SEM.	otras	confirmación	
CANTABRIA	IDT	ANIMALES MAS DE 6 SEM.	otras	detección	360.000
	gamma interferón	ANIMALES MAS DE 6 SEM.	sangre	confirmación	151
	aislamiento	ANIMALES MATADERO	órganos	confirmación	600
CASTILLA LEON	cultivo	FAUNA SILVESTRE	órganos	determinación tipo molecular	500
	análisis microbiológico	ANIMALES MATADERO	vísceras	confirmación	800
	gamma interferón	ANIMALES MAS DE 6 SEM.	sangre	confirmación	2500
	IDT	ANIMALES MAS DE 6 SEM.	otras	detección	1.210.000
CAST-LA MANCHA	IDT	ANIMALES MAS DE 6 SEM.	otras	detección	215.000
	aislamiento	ANIMALES MATADERO	lesiones	confirmación	
CATALUÑA	IDT	ANIMALES MAS DE 6 SEM.	otras	detección	270.000
EXTREMADURA	IDT	ANIMALES MAS DE 6 SEM.	otras	detección	595.000
GALICIA	IDT	ANIMALES MAS DE 6 SEM.	otras	detección	1.500.000
MADRID	IDT	ANIMALES MAS DE 6 SEM.	otras	detección	115.000
MURCIA	IDT	ANIMALES MAS DE 6 SEM.	otras	detección	30.000
NAVARRA	IDT	ANIMALES MAS DE 6 SEM.	otras	detección	110.000
PAIS VASCO	IDT	ANIMALES MAS DE 6 SEM.	otras	detección	160.000
LA RIOJA	IDT	ANIMALES MAS DE 6 SEM.	otras	detección	25.500
VALENCIA	IDT	ANIMALES MAS DE 6 SEM.	otras	detección	52.000
TOTAL					5.920.618

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE
SANIDAD ANIMAL

OBJETIVOS DE LAS PRUEBAS REALIZADAS A REBAÑOS Y ANIMALES (Punto 7.1.2.1)

REBAÑOS

Enfermedad : TUBERCULOSIS **Especie Animal :** BOVINA

Comunidad Autónoma	Número total de rebaños	Número total de rebaños incluidos en el programa	Número de rebaños que esta previsto controlar	Número de rebaños positivos previstos	Número de nuevos rebaños positivos previstos	Números de rebaños en los que se prevé vacio sanitario	Porcentaje de rebaños positivos en los que se prevé vacio sanitario	INDICADORES DE OBJETIVOS		
								Porcentaje previsto de cobertura de los rebaños	Porcentaje previsto de rebaños positivos Prevalencia prevista en rebaños en el periodo	Porcentaje previsto de nuevos rebaños positivos Incidencia prevista en rebaños
ANDALUCIA	9800	8500	8500	163	84	42	25,76%	100%	1,91%	0,98%
ARAGON	3730	1135	1135	11	8	0	0%	100%	0,97%	0,71%
ASTURIAS	25000	25000	25000	23	15	12	52,17%	100%	0,09%	0,06%
BALEARES	512	512	512	1	0	1	100%	100%	0,19%	0,00%
CANARIAS	1795	1795	1795	7	5	2	28,57%	100%	0,39%	0,28%
CANTABRIA	10320	10279	10279	90	50	30	33,33%	100%	0,88%	0,49%
CAST-LEON	20300	20300	20300	200	60	20	10%	100%	0,98%	0,29%
CAST-LA MANCHA	2300	2250	2250	44	11	11	25,00%	100%	1,95%	0,49%
CATALUÑA	5928	3914	3914	20	10	6	30%	100%	0,51%	0,26%
EXTREMADURA	12500	11000	11000	215	85	5	2,32%	100%	1,95%	0,77%
GALICIA	58000	58000	58000	140	100	90	64,28%	100%	0,24%	0,17%
MADRID	2054	2054	2054	19	5	1	5,26%	100%	0,92%	0,24%
MURCIA	713	300	300	2	1	1	50%	100%	0,66%	0,33%
NAVARRA	2066	1976	1976	4	1	0	0%	100%	0,20%	0,05%
PAIS VASCO	9800	7200	7200	8	4	1	12,50%	100%	0,11%	0,05%
LA RIOJA	450	300	300	2	1	0	0%	100%	0,66%	0,33%
VALENCIA	830	530	530	4	1	0	0%	100%	0,75%	0,18%
TOTAL	166.098	155.045	155.045	953	441	222	23,29%	100%	0,61%	0,28%

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE
SANIDAD ANIMAL

OBJETIVOS DE LAS PRUEBAS REALIZADAS A REBAÑOS Y ANIMALES (Punto 7.1.2.2)

ANIMALES

Enfermedad : TUBERCULOSIS **Especie Animal :** BOVINO

Comunidad Autónoma	Número total de animales	Número de animales incluidos en el programa	Número de animales que se prevé someter a pruebas	Número de animales que se prevé someter a pruebas individualmente	Número de animales previsiblemente positivos	Sacrificio		INDICADORES	
						Número de animales positivos que se prevé sacrificar	Número total de animales que esta previsto sacrificar	Porcentaje de cobertura previsto de los animales	Porcentaje previsto de animales positivos (prevalencia de animales prevista)
ANDALUCIA	650000	570000	570000	570000	3000	3000	3200	100%	0,53%
ARAGON	285000	65000	65000	65000	140	140	140	100%	0,22%
ASTURIAS	415000	415000	410000	410000	120	120	400	100%	0,03%
BALEARES	37100	29000	29000	29000	15	15	15	100%	0,06%
CANARIAS	21767	21767	20646	20646	100	100	100	100%	0,48%
CANTABRIA	314775	307208	307208	307208	900	900	1400	100%	0,29%
CAST-LEON	1100000	1100000	1100000	1100000	4000	4000	6000	100%	0,36%
CAST-LA MANCHA	240000	200000	200000	200000	1600	1600	2200	100%	0,80%
CATALUÑA	804564	270000	270000	270000	100	100	200	100%	0,40%
EXTREMADURA	710000	530000	530000	530000	2500	2500	3000	100%	0,47%
GALICIA	825000	825000	825000	825000	700	700	3000	100%	0,08%
MADRID	115000	115000	115000	115000	125	125	175	100%	0,11%
MURCIA	90000	30000	30000	30000	5	5	5	100%	0,01%
NAVARRA	108732	100189	100189	100189	20	20	60	100%	0,02%
PAIS VASCO	160000	117000	117000	117000	30	30	30	100%	0,02%
LA RIOJA	37500	25500	25500	25500	8	8	8	100%	0,03%
VALENCIA	71972	43000	43000	43000	105	105	105	100%	0,24%
TOTAL	5.986.410	4.763.664	4.757.543	4.757.543	13.468	13.468	20.038	100%	0,28%

MINISTERIO DE AGRICULTURA,
PESCA Y ALIMENTACIÓN

SECRETARÍA GENERAL DE AGRICULTURA
DIRECCIÓN GENERAL DE GANADERÍA

SUBDIRECCIÓN GENERAL DE
SANIDAD ANIMAL

OBJETIVOS DE CALIFICACIÓN DE REBAÑOS Y ANIMALES (Punto 7.2)

Enfermedad : TUBERCULOSIS **Especie Animal :** BOVINO

Comunidad Autónoma	Número total de rebaños y animales incluidos en el programa		Calificación de los rebaños y animales incluidos en el programa											
			Previsiblemente desconocida		Previsiblemente no indemne o no oficialmente indemne				Calificación previsible de indemne u oficialmente indemne suspendida		Calificación previsible de indemne		Calificación previsible de oficialmente indemne	
					Ultimo control positivo		Ultimo control negativo							
	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales	Rebaños	Animales
ANDALUCIA	8500	570000	0	0	200	2000	1200	70000	100	20000	0	0	7000	460000
ARAGON	1135	65000	0	0	4	230	5	275	2	155	0	0	1124	64340
ASTURIAS	25000	415000	0	0	6	118	15	250	4	59	0	0	24975	414573
BALEARES	512	29000	0	0	3	346	0	0	3	346	0	0	509	28654
CANARIAS	1795	21767	0	0	17	286	10	198	7	88	0	0	1768	21283
CANTABRIA	10279	307208	0	0	40	2500	90	5300	0	0	0	0	10149	299408
CAST-LEON	20300	1100000	0	0	100	12000	1000	80000	9	1000	0	0	19191	1007000
CAST-LA MANCHA	2250	200000	3	160	120	40000	90	20000	2	150	0	0	2035	139690
CATALUÑA	3914	270000	0	0	15	100	60	5200	0	0	0	0	1769	263800
EXTREMADURA	11000	530000	0	0	100	16000	1250	86000	50	6000	0	0	9600	422000
GALICIA	58000	825000	0	0	30	1000	70	3000	20	500	0	0	57880	820500
MADRID	2054	115000	0	0	0	0	0	0	15	350	0	0	2039	114650
MURCIA	300	30000	0	0	0	0	5	300	3	300	0	0	292	29400
NAVARRA	1976	100189	0	0	2	200	3	76	30	1500	0	0	1941	98413
PAIS VASCO	9800	9800	0	0	0	0	0	0	8	30	0	0	9792	159970
LA RIOJA	300	25500	0	0	2	95	1	110	2	200	0	0	295	25095
VALENCIA	530	43000	0	0	7	350	100	5100	0	0	0	0	423	423
TOTAL	157.645	4.656.464	3	160	646	75.225	3.899	275.809	255	30.678	0	0	150.782	4.369.199

ANALISIS PORMENORIZADO DE LOS COSTES DEL PROGRAMA (Punto 8)

Costes relativos a	Especificación	Número de unidades	Coste por unidad en euros	Cuantia total en euros	Financiación comunitaria solicitada (Si/No)
1, Pruebas de detección					
1,1 Coste de los analisis	IDT simple	5.500.000	0,07	380.647,26	SI
	IDT comparada	4000	0,06	240	SI
	gamma-IFN	49.151,00	*	72.906,00	*
	aislamiento	5.300,00	*	52.480,00	*
	PCR	300,00	*	9.000,00	*
1,2 Coste del muestreo	IDT	5.489.384,00	*	12.959.080,00	*
1,3 Otros gastos					
	KILOMETRAJE	32,00		120.000,00	
2, Vacunación o tratamiento					
2,1 Adquisición de vacunas/tratamientos					
2,2 Gastos de distribución					
2,3 Gastos administrativos					
2,4 Gastos de control					
3, Sacrificio y eliminación					
3,1 Indemnización por animales perdidos	SACRIFICIO	13.623,00	*	6.990.820,00	SI
3,2 Gastos de transporte		1.401,00	*	140.020,00	*
3,3 Gastos de eliminación		1.401,00	*	560.200,00	*
3,4 Perdidas en caso de sacrificio					

3,5 Gastos por tratamiento de productos (leche, huevos para incubar, etc)					
4, Limpieza y desinfección					
	EXPLOTACIONES	309,00	*	18.588,00	*
5, Salarios (Perosnal contratado exclusivamente para el programa					
	LABORATORIO	24,00	*	816.300,00	SI
	PERSONAL ADMVO./OTROS	48,00	*	439.133,10	SI
	PERSONAL CAMPO	197,00	*	3.652.233,96	SI
6, Bienes fungibles y equipamiento especifico					
	Fotos	43.500,00	*	60.030,00	*
	PELADORAS	355,00	*	9.213,00	*
	MARCADORES	50,00	*	2.704,50	*
	CUTÍMETROS	134,00	*	10.771,16	*
	JERINGAS	284,00	*	41.085,00	*
	OTROS		*	209.918,71	*
7, Otros gastos					
	BUZOS-CALZAS	26.060,00	*	110.254,00	*
BIOSEGURIDAD	PULVERIZADORES			4.808,10	*
	GESTIÓN RESIDUOS			23.138,96	*
VARIOS				295.085,40	*
INFORMÁTICA	PROGRAMAS			51.086,03	*
TOTAL		5.631.553,00		**27.029.743,18**	

* variable en función de la CCAA

Real Decreto 2459.1996 Normativa de enfermedades de declaración obligatoria

ANEXO I.

A. Enfermedades de declaración obligatoria en la Unión Europea:

Peste equina africana.

Peste porcina africana.

Influenza aviar (antes denominada peste aviar).

Lengua azul o fiebre catarral ovina.

Encefalopatía espongiforme bovina.

Peste porcina clásica.

Pleuroneumonía contagiosa de los bovinos.

Durina.

Encefalomielitis equina (todas las variedades, incluida la encefalomielitis equina venezolana).

Anemia infecciosa equina.

Fiebre aftosa.

Muermo.

Necrosis hematopoyética infecciosa.

Anemia infecciosa del salmón.

Dermatosis nodular contagiosa.

Enfermedad de Newcastle.

Peste de los pequeños rumiantes.

Encefalomielitis enterovírica porcina (antes denominada Parálisis contagiosa del cerdo o enfermedad de Teschen).

Fiebre del Valle del Rift.

Peste bovina.

Viruela ovina y viruela caprina.

Aethinosis (Pequeño escarabajo de la colmena. *Aethina tumida*).

Enfermedad vesicular del cerdo.

Tropilaelapsosis (*Tropilaelaps spp*).

Estomatitis vesicular.

Septicemia hemorrágica viral.

B. Otras enfermedades de declaración obligatoria en España:

Carbunco bacteriano.

Rabia.

Brucelosis.

Tuberculosis.

Leucosis enzoótica bovina.

Epididimitis contagiosa del carnero.

Agalaxia contagiosa.

Prurigo lumbar (scrapie).

Triquinelosis.

Mal rojo.

Psitacosis.

Enfermedad hemorrágica epizoótica de los ciervos.

Loque americana (Paenibacillus larvae).

Bonamiosis (*Bonamia ostrae*).

Marteiliosis (*Marteilia refringes y Marteilia sidneyi*).

Haplosporidiosis (*Haplosporidiumnelsoni, haplosporidium costale*).

Perkinsosis (*Perkinsus marinus, Perkinsus olseni*).

Microquitosis (*Mikrokytos mackini, Mikrokytos roughleyi*).

Irodivirosis (Oyster Velar Virus).

ANEXO II.
Declaración de enfermedad.

1. Comunidad Autónoma.

2. Provincia afectada.

3. Municipio afectado.

4. Enfermedad que se sospecha y, en su caso, tipo de virus.

5. Fecha de aparición del primer enfermo o sospechoso.

6. ¿Se trata de foco primario o secundario?

7. Número de foco.

8. Número de referencia correspondiente al foco.

9. Fecha de sospecha del foco (si se conoce).

10. Fecha estimada de la primera infección.

11. Número de explotaciones afectadas.

12. Especies afectadas.

13. Por cada foco o explotación, especificar los datos por explotación en el caso que existan varias afectadas en un mismo foco, por especies agrupados en bovinos, porcinos, ovinos, caprinos, aves de corral, équidos, peces, especies silvestres, otras especies.

Censo de la explotación. En el caso de las enfermedades de las abejas debe facilitarse el número de colmenas expuestas.

Número de animales clínicamente afectados. En el caso de las enfermedades de las abejas debe facilitarse el número de colmenas clínicamente afectadas.

Número de animales muertos.

Número de animales sacrificados.

Número de animales destruidos.

Número de canales destruidas.

14. Fecha (prevista) de finalización de las operaciones de sacrificio de animales.

15. Fecha (prevista) de finalización de las operaciones de destrucción.

16. Fecha de confirmación de la enfermedad.

17. Método diagnóstico usado.

18. Centro que realizó las pruebas y dio la conformidad.

19. Medidas de control adoptadas.

20. Distancias a otras explotaciones receptibles.

21. Origen de la enfermedad.

22. En caso de animales procedentes de otro Estado miembro o Comunidad Autónoma, fecha y hora de expedición, y Estado o Comunidad de origen.

23. En caso de que existan otras provincias (de la misma o distinta Comunidad Autónoma) afectadas por restricciones, especificar las mismas.

En caso de confirmarse en explotaciones o zonas autorizadas o exentas las infecciones de Necrosis hematopoyética infecciosa, Anemia infecciosa del salmón y Septicemia hemorrágica viral, deberán notificarse como focos primarios. El nombre y la descripción de la explotación o zona autorizada deberán incluirse en el texto libre.

ANEXO III.
Información semanal.

Semana de ..... a .....

Comunidad Autónoma:

Provincia:

Municipio:

Enfermedad diagnosticada:

Foco número:

Especies afectadas:

Evolución del foco:

Censo de las explotaciones/especies:

Número de animales afectados/especies:

Número de animales muertos/especies:

Número de animales sacrificados/especies:

Número de animales destruidos, por especies:

Número de canales destruidas, por especie:

Medidas de control adoptadas:

Pronóstico sobre la evolución del foco:

ANEXO IV.
Extinción del foco.

Comunidad Autónoma:

Provincia:

Municipio:

Enfermedad declarada:

Fecha de declaración:

Foco número:

Fecha de extinción:

Fecha del levantamiento de restricciones:

CAPÍTULO II.
DISPOSICIONES ESPECIALES RELATIVAS A LA TUBERCULOSIS BOVINA.

Artículo 23. Sospecha de la enfermedad.

1. Cuando en una explotación se encuentre un animal sospechoso de tuberculosis, los órganos competentes de las Comunidades Autónomas adoptarán las medidas oportunas para que en el plazo más breve posible se realicen las investigaciones oficiales encaminadas a confirmar la presencia o la ausencia de dicha enfermedad.

A la espera del resultado de estas investigaciones, las autoridades competentes ordenarán:

a. La puesta bajo vigilancia oficial de la explotación.
b. La prohibición de todo movimiento hacia dicha explotación o a partir de la misma, salvo autorización de los órganos competentes de las Comunidades Autónomas para la salida de dichos bovinos, destinados a ser sacrificados sin demora.
c. El aislamiento dentro de la explotación de los animales sospechosos.

2. Las medidas contempladas en el apartado anterior únicamente se levantarán cuando se confirme oficialmente la no existencia de tuberculosis en la explotación afectada.

Artículo 24. Confirmación de la enfermedad.

Cuando se confirme oficialmente la presencia de tuberculosis, los órganos competentes de las Comunidades Autónomas adoptarán las medidas apropiadas para evitar la propagación de dicha enfermedad y, en particular, para:

a. Prohibir todo movimiento hacia dicha explotación o a partir de la misma, salvo autorización de los órganos competentes de las Comunidades Autónomas para la salida de los bovinos destinados a ser sacrificados sin demora.
b. Aislar dentro de la explotación a los bovinos en los que se haya confirmado oficialmente la existencia de la enfermedad, así como los bovinos que puedan haber sido contagiados por aquéllos.
c. Proceder sin demora a los exámenes de investigación de la tuberculosis en la totalidad de los animales de la explotación.
d. Aislar y marcar, hasta el sacrificio previsto en el artículo 15, los bovinos en los que se haya confirmado oficialmente la existencia de la enfermedad, así como los bovinos reaccionantes positivos a uno de los exámenes previstos en el párrafo c.
e. Utilizar únicamente la leche procedente de los bovinos infectados y/o reaccionantes positivos, para la alimentación de los animales de la explotación afectada, después de un tratamiento térmico adecuado.
f. Entregar, únicamente y sin perjuicio de lo dispuesto en la normativa aplicable a la alimentación humana, la leche procedente de bovinos de una explotación infectada y/o con animales seropositivos, a una industria láctea para ser en ella objeto de tratamiento térmico adecuado.

g. Tratar, de acuerdo con lo establecido en el real Decreto 2224/1993, las canales, medias canales, cuartos, trozos y despojos procedentes de bovinos destinados a la alimentación de los animales y que no han sido declarados aptos para el consumo humano, de acuerdo con lo establecido en el apartado 1 del párrafo b del apartado 1 del artículo 5 del Real Decreto 147/1993.
h. Controlar las industrias para la transformación de animales muertos de acuerdo con lo establecido en el Real Decreto 2224/1993, de manera que se garantice que el producto fabricado no representa ningún peligro para la propagación de la tuberculosis bovina.
i. Almacenar y rociar con un desinfectante adecuado, y conservado por lo menos durante tres semanas, el estiércol procedente de los alojamientos o demás locales utilizados para los animales. No será necesario rociar el estiércol con desinfectante si se recubre de una capa de estiércol o de tierra no infectada. Los fluidos procedentes de los alojamientos o demás locales utilizados para el ganado deberán ser desinfectados si no han sido retirados al mismo tiempo que el estiércol.

Artículo 25. Sacrificio.

Los bovinos en los que se haya comprobado oficialmente la existencia de tuberculosis, como consecuencia de un examen bacteriológico, anatomopatológico, serológico o tuberculínico, así como los animales considerados infectados por los órganos competentes de las Comunidades Autónomas, serán sacrificados bajo control oficial, lo más rápidamente posible, y, a más tardar, treinta días después de la notificación oficial, al propietario o al poseedor, de los resultados de las pruebas y de la obligación que le incumbe en virtud del plan de erradicación, de sacrificar en dicho plazo a los bovinos afectados.

No obstante, para los animales que hayan presentado un resultado desfavorable a un examen de investigación de la tuberculosis sin presentar síntomas clínicos de tal enfermedad, las autoridades competentes podrán ampliar a tres meses como máximo el plazo previsto en el párrafo anterior para los siguientes supuestos:

a. El sacrificio de una hembra cuyo parto se espera para antes del final de dicho plazo de tres meses.
b. El sacrificio de todos los bovinos pertenecientes a una ganadería de más de veinte bovinos, en una región en la que por razones de orden técnico derivadas de las capacidades de sacrificio de los mataderos reservados a este uso, dicho sacrificio no pueda realizarse en el plazo de treinta días.

Artículo 26. Medidas profilácticas.

1. Después de la eliminación, mediante sacrifico, de los bovinos reaccionantes positivos, los alojamientos o demás locales en los que sean alojados los animales y el conjunto de los recipientes, instalaciones y demás objetos utilizados para el ganado, deberán ser limpiados y desinfectados bajo control oficial, con arreglo a las instrucciones dadas por los órganos competentes de las Comunidades Autónomas.

La ejecución y coste de estas acciones correrán a cargo del propietario de la explotación, propietario del ganado o tenedor del mismo.

2. Los medios de transporte, recipientes y utensilios deberán ser limpiados y desinfectados después del transporte de bovinos de una explotación infectada. Las áreas de carga de dichos animales deberán ser limpiadas y desinfectadas después de su utilización.

3. El desinfectante que deba utilizarse y las concentraciones del mismo serán oficialmente aprobadas por los órganos competentes de las Comunidades Autónomas.

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 T_1 y T_2, hasta que alcancen el estatuto sanitario de explotación del tipo T_3.

3. El movimiento de animales se regira por LO dispuesto en los apartados 3 a 7, ambos inclusive, del

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 ºC.

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. El nombre y volumen del líquido reconstituyente que debe añadirse.
    2. Que el producto debe utilizarse inmediatamente después de la reconstitución.

2.2 Procedimientos de prueba.

2.2.1 Se considerarán intradermotuberculinizaciones oficiales:

a. La intradermotuberculinización sencilla: esta prueba requiere una única inyección de tuberculina bovina.
b. La intradermotuberculinización 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:

c. Igual o superior a 2000 UI de tuberculina bovina.
d. 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 tuberculinizaciones 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 tuberculinización 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 palparse 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 intradermotuberculinizaciones oficiales será la siguiente:

2.2.5.3.1 Intradermotuberculinización 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 intradermotuberculinización sencilla haya dado resultados dudosos serán sometidos a otra tuberculinización 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 intradermotuberculinización sencilla dé resultados positivos podrán someterse a una intradermotuberculinización de comparación si se sospecha la existencia de una reacción positiva falsa o una reacción de interferencia.

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

d. Positiva: reacción bovina positiva que sea superior en más de 4 mm a la reacción aviar, o presencia de signos clínicos.
e. Dudosa: reacción bovina positiva o dudosa que sea de 1 a 4 mm superior a la reacción aviar, y ausencia de signos clínicos.
f. 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 intradermotuberculinización de comparación haya dado resultados dudosos deberán ser sometidos a otra tuberculinización 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:

g. Animales que se hayan considerado dudosos en la intradermotuberculinización sencilla.
h. Animales que se hayan considerado positivos en la intradermotuberculinización sencilla, pero que deban someterse de nuevo a una prueba por intradermotuberculinización de comparación.
i. 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.

Artículos

24/7/2008

Gran parte de la fauna silvestre de Doñana sufre tuberculosis bovina

La tasa de gamos, ciervos y jabalís infectados es de las más altas del mundo

EL PERIÓDIOCO
MADRID

Una alta proporción de los mamíferos silvestres que habitan en la reserva de Doñana (en la provincia de Huelva, aunque también se extiende por Cádiz y Sevilla) no gozan de muy buena salud. El 52% de los jabalís, el 27% de los ciervos y el 18% de los gamos es-
tán infectados por la bacteria *Mycobacterium bovis*, causante de la tuberculosis bovina. Así lo revela un estudio hecho con 300 ejemplares que investigadores del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), la Universidad de Castilla-La Mancha y la de Sevilla publicaron ayer *PLoS ONE*. Según el análisis, la tasa de infección --que se puede transmitir al ganado vacuno y a los humanos-- fue máxima en zonas del parque vedadas al ganado, cuya prevalencia no alcanza el 5%.
"La proporción de animales silvestres infectados se encuentra entre las mayores jamás descritas en la literatura científica", aseguró Christian Gortázar, investigador responsable del trabajo. "Estos elevados niveles --prosiguió-- ocurren sin que en Doñana exista caza a la que se suministre alimentación suplementaria, como hacen en otros cotos, y que representa un factor de riesgo para el contagio de enfermedades".

MEDIDAS DE CONTROL
Con tal de paliar la epidemia, los expertos realizarán un seguimiento periódico y extremarán las medidas para evitar traslados de animales infectados (silvestres y domésticos). De un modo más activo, tratarán de disminuir la tasa de animales infectados mediante la reducción de su densidad de población, principalmente de jabalís. Los científicos tampoco descartan el uso de las nuevas técnicas de diagnóstico y profilaxis para futuras campañas de vacunación.

Una "alta proporción" de la fauna silvestre del Parque Nacional de Doñana tiene tuberculosis bovina

Están afectados el 52% de los jabalís, el 27% de los ciervos y el 18% de los gamos

Los datos se extraen del estudio epidemiológico realizado por investigadores del CSIC, la Universidad de Castilla La Mancha y la Universidad de Sevilla. Así, se concluye que las proporciones de tuberculosis bovina --una enfermedad que la fauna silvestre comparte con el ganado bovino y los humanos-- son superiores a las halladas en la hacienda bovina, que sólo está afectada en un cinco por ciento de los casos. La muestra estudiada comprendió a un total de 300 ejemplares de fauna silvestre.

En ese sentido, el responsable del trabajo e investigador del Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos, Christian Gortázar, explicó que "curiosamente" la proporción de animales infectados "es máxima" en la zona del Parque de Doñana que está vedada al ganado bovino, lo que junto a la observación de los resultados positivos de la infección en animales jóvenes, "subraya la capacidad de los jabalís y los ciervos para mantener la prevalencia de la tuberculosis", incluso sin contacto directo con el ganado.

Gortázar agregó que esta proporción de infectados implica que en este estudio se encuentra "entre las mayores jamás descritas en la literatura científica". Además, precisó que estos niveles se registraron sin que en Doñana exista caza a la que se alimente de forma suplementaria, lo que supone un factor de riesgo para la transmisión de enfermedades".

Medidas de freno

Por su parte, el biólogo de la Estación Biológica de Doñana, perteneciente al CSIC Juan José Negro propuso una serie de medidas para paliar la infección. La primera sería limitar a las acciones de seguimiento epidemiológico periódico, lo que requeriría limitar las monitorizaciones de las prevalencias anuales en ungulados silvestres y en bovinos, además de realizar estudios puntuales para identificar los factores de riesgo. También, señaló que "deberán extremarse" las medidas para evitar traslados o movimientos de animales infectados, tanto domésticos como silvestres.

Negro explicó que el segundo bloque de acciones se dirigirían a reducir la proporción de infectados de forma progresiva en ungulados silvestres, y al menos estabilizar el número de ejemplares de ganado bovino infectados.

Por su parte, Gortázar consideró que "la opción de la disminución de infectados pasa por una intervención más activa, lo que incluiría una reducción significativa de las densidades de ungulados silvestres, principalmente de jabalís".

Finalmente, adelantó que con el desarrollo de nuevas técnicas de diagnóstico y de profilaxis, en el futuro será posible "plantear incluso" programas de testaje y eliminación de fauna silvestre, o bien campañas de vacunación. "Esta línea de investigación ya está en marcha y los resultados son prometedores", concluyó.

Cosas de la vida SOCIEDAD

La mitad de los alumnos de 15 años no dominan el inglés básico

Los resultados más pobres se observan en la expresión oral, según un informe de Educación

Claves para diseñar una estrategia contra el fracaso

UN ECOLOGISTA INTENTA PEGAR SU MANO A LA DE BROWN

Gran parte de la fauna silvestre de Doñana sufre tuberculosis bovina

La tasa de ganso, ciervos y jabalís infectados es de las más altas del mundo

ANUNCIOS OFICIALES

ENSEÑANZA

IDIOMAS

Intensivos de verano

Ultima hora

www.elperiodico.com