

Brucelose em ruminantes

Programa de erradicação/vigilância 2025-2027

Portugal

Procedimento de investigação de Reações Serológicas Positivas suspeitas de não estarem relacionadas com infeção por *Brucella*

RPNB



Elaborado por

Data

Assinatura

DSPA/DESA Ana Caria Nunes / Lia Marques	02/07/2025	
--	------------	--

Aprovado por

DSPA / Yolanda Vaz	15/07/2025	
--------------------	------------	--

Homologado por

DG / Susana Guedes Pombo	15/09/2025	
--------------------------	------------	--

Índice

1. Introdução.....	3
2. Decisão de aplicação do Procedimento RPNB.....	4
3. Avaliação de risco de infeção por <i>Brucella</i> sp.....	5
4. Procedimentos a implementar em estabelecimentos de baixo risco.....	6
Fluxograma (pontos 2 e 3).....	8
Tabelas.....	9

Reações Positivas Não relacionadas com *Brucella* – RPNB 2025-2027

1. Introdução

Portugal implementa, desde 1991, as disposições regulamentares para dar cumprimento ao programa de erradicação da brucelose dos bovinos (PEBB) e dos pequenos ruminantes (PEBPR), cofinanciados até 2023 pela Comissão Europeia, o que resultou numa evolução favorável da doença, levando já ao reconhecimento de indemnidade de certas regiões.

O Regulamento Delegado (UE) 2020/689, de 17 de dezembro, estabelece as normas técnicas para a atribuição de estatutos sanitários, as quais são integradas nos programas de erradicação e de vigilância da brucelose. O referido Regulamento determina como **provas de rastreio** os testes serológicos de Rosa de Bengala (RB), de Fixação do Complemento (FC) e ainda os **testes complementares**, ELISA de competição (c-ELISA) e indireto (i-ELISA).

Em relação aos testes serológicos utilizados por rotina, reconhece-se o seguinte:

- Rosa de Bengala (RB): é um teste de elevada sensibilidade e especificidade, detetando geralmente os anticorpos nas primeiras fases da infeção (principalmente IgM).
- Fixação do Complemento (FC): é também um teste de elevada sensibilidade e de elevada especificidade e deteta geralmente os anticorpos induzidos por uma infeção mais antiga (principalmente IgG).

Estes testes, pelas suas características de especificidade elevada mas não atingindo os 100%, são suscetíveis de originar o aparecimento de reações serológicas não relacionadas com infeção com *Brucella* sp - estirpe de campo (adiante designadas abreviadamente como RPNB), mesmo quando utilizados em série.

A maior parte destas RPNB explicam-se pela existência de reações cruzadas com bactérias que apresentam antígenos comuns com *Brucella*, principalmente *Yersinia enterocolitica* O:9, mas também *Escherichia coli* O157:H7 ou mesmo certas salmonelas. Outras causas de serologia positiva não relacionada com infeção brucélica são os anticorpos vacinais persistentes, que ocorrem quando a vacinação é realizada em idade tardia (depois dos 6 meses).

Nesta fase do programa de erradicação, e decorrente do conhecimento da situação epidemiológica nacional, não se descarta a importância da interferência das RPNB na deteção da brucelose e na validação da classificação sanitária dos efetivos, nomeadamente em regiões de baixa prevalência da doença e nas regiões indemnes ou

em vias de adquirir o estatuto indemne. Estas reações são preocupantes e não são confirmadas pelas investigações epidemiológicas (IE), não evidenciando correlação com a origem dos animais, possíveis contatos com rebanhos infetados ou outras formas de infeção do estabelecimento.

Este documento tem por objetivo definir os critérios para investigação de reações serológicas positivas, na ausência de outras evidências de efetiva presença de doença, na sequência de avaliação epidemiológica inconclusiva quanto à possível origem da infeção realizada pelas DSAVR, sempre que estas considerem aplicável. Vem ainda reforçar as orientações relacionadas com a aplicação da prova complementar, e substitui o anterior procedimento divulgado em 2022.

Na evolução dos programas de erradicação da brucelose e de acordo com os resultados de investigação, constatam-se de forma geral, quanto ao perfil serológico, os seguintes parâmetros:

- Reduzido número de animais com resultados serológicos positivos por estabelecimento (1 a 2 animais);
- Títulos da FC geralmente baixos;
- Resultados serológicos positivos sobretudo em animais jovens;
- Resultados serológicos negativos nos controlos serológicos seguintes;
- Resultados serológicos diferentes sobre a mesma amostra;
- Elevada percentagem de discordância entre os diferentes testes serológicos; em alguns casos os animais podem ser negativos ao RB, reagindo só à FC.

2. Decisão de aplicação do Procedimento RPNB

Identificada uma situação elegível para aplicação do Procedimento RPNB, é elaborado um processo a submeter a despacho do Diretor de Serviços da Direção de Serviços de Alimentação e Veterinária (DSAVR), para decisão de aplicação.

O processo a submeter é constituído pelos elementos demonstrativos dos pontos 3.1 a 3.5 e respetivo enquadramento.

A decisão de aplicação requer sempre, além de avaliação epidemiológica, a avaliação prévia do risco de infeção brucélica, desencadeada e efetuada de acordo com o descrito em 3.

O despacho favorável exige sempre informação relativa aos seguintes itens:

2.1 Avaliação do conjunto dos resultados laboratoriais da intervenção em causa: número e proporção de animais com resultados serológicos positivos, padrão de resultados

- amostras em que se registaram RB e/ou FC positivos, resultados exclusivos ou não num dos testes, títulos da FC (UI/ml).

- 2.2 Caracterização dos animais com resultados serológicos positivos: jovens ou adultos, vacinados e não vacinados, positividade exclusiva em animais vacinados ou não.
- 2.3 Estabilidade do efetivo no que refere à entrada de animais.

3. Avaliação de risco de infeção por *Brucella sp*

A avaliação do risco de infeção brucélica é condição fundamental para a decisão de aplicação do presente plano. Esta avaliação é desencadeada independentemente da área de localização do efetivo, quando em efetivos com estatuto sanitário **indemne de infeção com ou sem vacinação (B3 ou B4)**, na sequência dos resultados serológicos positivos obtidos, o inquérito epidemiológico não permite o enquadramento dos resultados em infeção brucélica.

Face aos parâmetros descritos no ponto 2, integram avaliação prévia de risco os seguintes itens:

- 3.1 **Resultados laboratoriais**, conforme acima referido, quando o número de resultados serológicos positivos é baixo (até 3 bovinos ou pequenos ruminantes serologicamente positivos às duas provas), assim como os títulos da FC (inferior a 107 UI/ml), o padrão de positividade está associado a animais vacinados, ou a uma origem ou classe de idade específica, etc.
- 3.2 Resultado da verificação das **regras de identificação e de movimentação animal***.
- 3.3 Resultado da verificação do **cumprimento do programa sanitário**, nomeadamente dos prazos e metodologias estabelecidas nos planos de vigilância e erradicação da brucelose**.
- 3.4 **Histórico sanitário** do estabelecimento e da respetiva freguesia.
- 3.5 **Inquérito epidemiológico (IE)**.
 - 3.5.1. Entradas de animais no estabelecimento, do estatuto sanitário do estabelecimento de origem.
 - 3.5.2. Possibilidade de contacto com estabelecimentos infetados ao nível das pastagens e caminhos.
 - 3.5.3. Ocorrências de brucelose ou contacto com animais infetados nos últimos anos e existência de sinais clínicos.
 - 3.5.4. Condições de higiene e biossegurança do estabelecimento.

* Quando em sede de IE é detetado incumprimento relativo às regras de identificação animal e/ou de movimentação animal é, à partida, excluído baixo risco de infeção e como tal dispensada a restante avaliação de risco de infeção brucélica, sendo o efetivo encaminhado para as reinspeções regulares.

** Quando em sede de IE é detetado incumprimento dos prazos e metodologias estabelecidas no PEBB e PEBPR é à partida excluído baixo risco de infeção como tal dispensada a restante avaliação de risco de infeção brucélica, sendo o efetivo encaminhado para as reinspeções regulares.

A **conclusão** da avaliação prévia de risco de infeção brucélica será reportada como “reunidos indícios de baixo risco de infeção” ou contrariamente “não reunidos indícios de baixo risco de infeção”.

Da conclusão da avaliação prévia de risco de infeção brucélica e procedimentos a aplicar (ver Tabela 1), é sempre dado conhecimento à Organização de Produtores para a Sanidade Animal (OPSA).

Os procedimentos seguintes aplicam-se quando concluído **BAIXO RISCO DE INFEÇÃO** brucélica e são determinados de acordo com a prevalência na DSAVR da área de localização do estabelecimento, adiante designados Serviços Oficiais (SO), conforme consta da Tabela 1 e do Fluxograma.

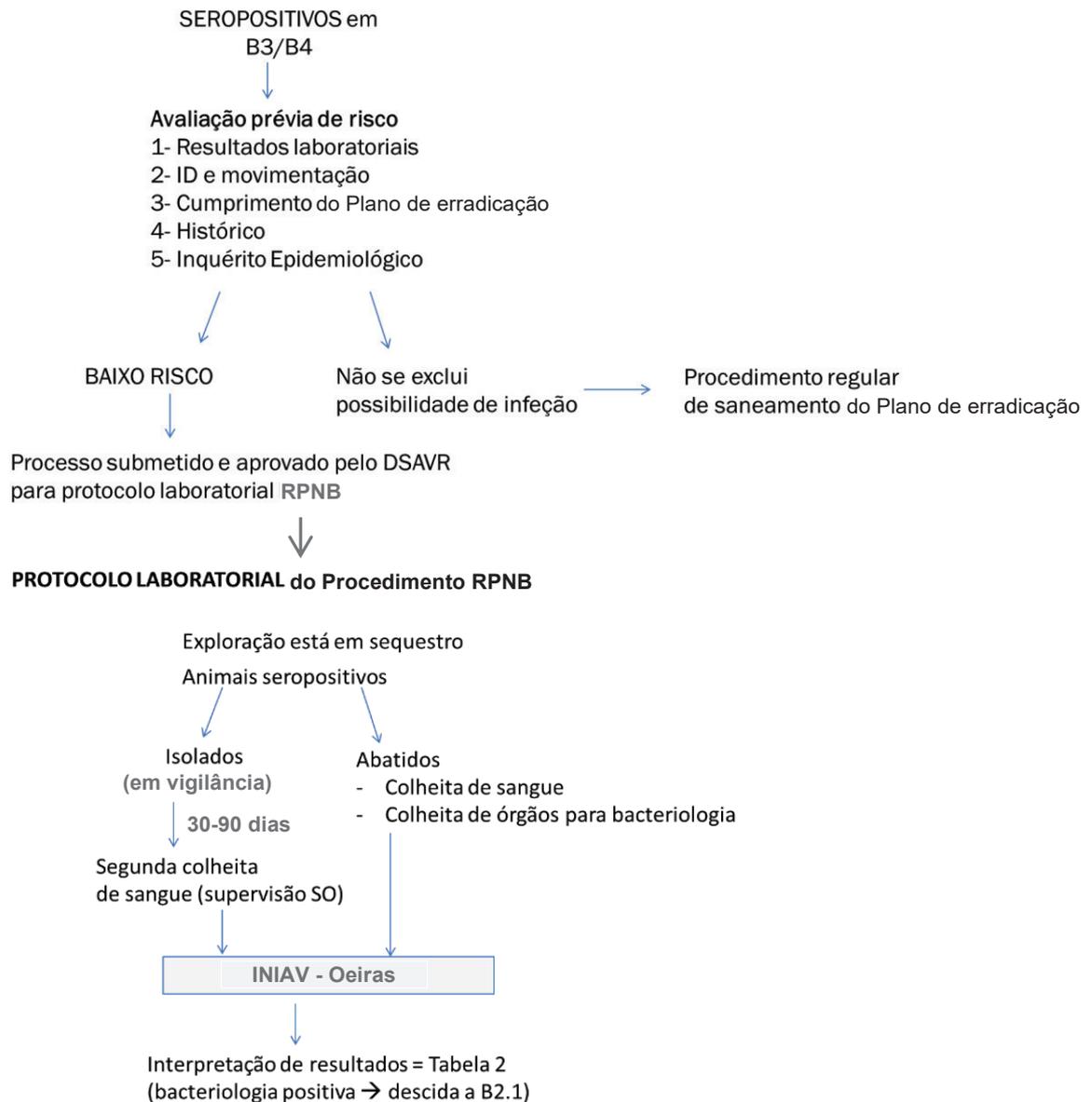
4. Procedimentos a implementar em estabelecimentos de baixo risco

Ao estabelecido designado de baixo risco de infeção brucélica, de acordo com a avaliação prevista no ponto n.º 3, aplica-se o seguinte:

- A amostra com resultado positivo é colocada “em vigilância” no PISA.net;
- O estabelecimento foi/é notificado de sequestro, para investigação de suspeita;
- O estabelecimento é colocado em sequestro no PISA.net. No caso dos efetivos leiteiros, devido ao impacto desproporcionado de uma suspensão no período de investigação de resultados serológicos positivos que podem não estar relacionados com infeção, o sequestro não é registado no PISA.net;
- Os animais serologicamente positivos são:
 - a) isolados do estabelecimento, ou
 - b) sujeitos a abate sanitário dentro de 30 dias, sob controlo oficial.

- Retestar os animais isolados **30-90 dias** após a data da colheita com resultados serológicos positivos. Estas colheitas são executadas pelos SO ou pelas OPSA com acompanhamento dos SO, e remetidas para o Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I. P. (INIAV) – Oeiras para realização dos testes de RB, FC e testes complementares, nomeadamente a prova ELISA no sangue, a indicar pelos SO nas folhas de requisição que acompanham as amostras.
- Os resultados serológicos obtidos na retestagem são interpretados e dão lugar às decisões sobre o animal e o estabelecimento conforme consta na Tabela 2.
- Os animais abatidos são submetidos a colheita de sangue e de órgãos pelos Inspectores Sanitários e as amostras remetidas para o INIAV – Oeiras para realização dos testes serológicos e bacteriológicos.
- Se na sequência do abate dos animais seropositivos existir isolamento bacteriológico, o estabelecimento é considerado infetado e o estatuto a atribuir será B2.1 remetendo para as normas já instituídas nos planos de vigilância e erradicação da brucelose.
- Se não existir isolamento bacteriológico a decisão sanitária que recai sobre o estabelecimento decorre dos resultados serológicos da retestagem dos animais positivos (Tabela 2).

Fluxograma



Tabelas

Tabela 1 – Decisão sobre os animais seropositivos				
Decisão	2ª colheita de sangue			
	Prazo	Entidade responsável	Lab. de destino	Teste a realizar
ISOLAR e marcar em vigilância para RETESTAR ou	30-90d* partir da colheita do teste positivo	OPSA e SO	INIAV Oeiras	RB, FC, e prova complementar
ABATER sob controlo oficial c/ colheita de sangue e órgãos	Em 30 dias	SO		

Tabela 2 – Resultados de retestagem (2ª colheita): decisão animal e estabelecimento				
RB	FC	Teste complementar	Decisão sobre o animal	Decisão sobre a exploração
–	–	(não se aplica)	Negativo Livre prática	Retirar sequestro (*) (estabelecimento não contabilizado como positivo)
+	–			
–	+	–	Negativo Livre prática	Retirar sequestro (*) (estabelecimento não contabilizado como positivo)
–	+	+	Positivo Abate c/ colheita de amostras	Reinspeção do efetivo após 30 dias
+	+	(não se aplica)	Positivo Abate c/ colheita de amostras	Reinspeção do efetivo após 30 dias

(*) A retirada de sequestro requer que todos os animais sejam considerados negativos e também que se conheça o resultado negativo de isolamento bacteriológico caso este tenha sido realizado; se existir isolamento bacteriológico, a classificação será B2.1. e remete para as normas já instituídas no PEB.

Na segunda colheita, aplica-se sempre as provas RB e FC. A prova complementar ELISA, só se aplica nas situações indicadas na tabela