

32002R1226

9.7.2002.

SLUŽBENI LIST EUROPSKIH ZAJEDNICA

L 179/13

UREDBA KOMISIJE (EZ) br. 1226/2002
od 8. srpnja 2002.
o izmjeni Priloga B Direktivi Vijeća 64/432/EEZ

KOMISIJA EUROPSKIH ZAJEDNICA,

uzimajući u obzir Ugovor o osnivanju Europske zajednice,

uzimajući u obzir Direktivu Vijeća 64/432/EEZ ⁽¹⁾ od 26. lipnja 1964. o zdravstvenim problemima životinja koji utječu na trgovinu govedima i svinjama unutar Zajednice, kako je zadnje izmijenjena Uredbom Komisije (EZ) br. 535/2002 ⁽²⁾, a posebno drugu alineju njezinog članka 16. stavka 1.,

budući da:

- (1) Znanstveni odbor za zdravlje i dobrobit životinja donio je 11. listopada 1999. izvješće ⁽³⁾ o izmjeni tehničkih priloga Direktivi Vijeća 64/432/EEZ kako bi se uzeo u obzir znanstveni razvoj u pogledu tuberkuloze, bruceloze i enzooske leukoze goveda.
- (2) U skladu s gore navedenim izvješćem, testovi za tuberkulozu trebaju se provoditi u skladu s Priručnikom za norme dijagnostičkih testova i cjepiva, treće izdanje, 1996., Svjetske organizacije za zdravlje životinja (OIE).
- (3) U kolovozu 2001. OIE je objavio Četvrto izdanje 2000. navedenog Priručnika, uključujući određene izmjene u opisu testova za tuberkulozu.

(4) U siječnju 2002. Europska uprava za kakvoću lijekova objavila je četvrto izdanje 2002. Europske farmakopeje uključujući monografije 0535 i 0536 za avijarni i goveđi tuberkulinski pročišćeni proteinski derivat.

(5) Stoga je nužno izmijeniti Prilog B Direktivi 64/432/EEZ da bi se utvrdili postupci testiranja koji se primjenjuju u svrhu nadziranja i trgovine unutar Zajednice uzimajući u obzir mišljenje Znanstvenog veterinarskog odbora.

(6) Mjere predviđene ovom Uredbom u skladu su s mišljenjem Stalnog odbora za prehrambeni lanac i zdravlje životinja,

DONIJELA JE OVU UREDBU:

Članak 1.

Prilog B Direktivi 64/432/EEZ zamjenjuje se Prilogom ovoj Uredbi.

Članak 2.

Ova Uredba stupa na snagu dvadesetog dana od dana objave u *Službenom listu Europskih zajednica*.

Ova je Uredba u cijelosti obvezujuća i izravno se primjenjuje u svim državama članicama.

Sastavljeno u Bruxellesu 8. srpnja 2002.

Za Komisiju
David BYRNE
Član Komisije

⁽¹⁾ SL 121, 29.7.1964., str. 1977/64.

⁽²⁾ SL L 80, 23.3.2002., str. 22.

⁽³⁾ SANCO/B3/R10/1999.

PRILOG

„PRILOG B

TUBERKULOZA

1. IDENTIFIKACIJA UZROČNIKA

Prisutnost *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*), uzročnika tuberkuloze goveda, u kliničkim i *post mortem* uzorcima može se dokazati pregledom obojenih razmaza ili tehnikama imunoperoksidaze i potvrditi uzgajanjem organizma na mediju za primarnu izolaciju.

Patološki materijal za potvrdu prisutnosti *M. bovis* treba uzimati iz abnormalnih limfnih čvorova i parenhimskih organa kao što su pluća, jetra, slezena itd. U slučajevima u kojima kod životinje nema patoloških lezija, za pretrage i uzgajanje trebaju se prikupiti uzorci iz retrofaringealnih, bronhijalnih, medijastinalnih, supramarnih, mandibularnih i nekih mezenterijskih limfnih čvorova i jetre.

Identifikacija izoliranih uzročnika može se uobičajeno izvršiti određivanjem svojstva kulture i biokemijskih svojstava. Lančana reakcija polimeraze (PCR) može se također koristiti za detekciju *M. tuberculosis* complex. Tehnike analize DNA mogu se pokazati bržim i pouzdanijim od biokemijskih metoda za diferencijaciju *M. bovis* od ostalih članova kompleksa *M. tuberculosis*. Analiza genetskim otiskom prsta omogućuje razlikovanje između različitih sojeva *M. bovis* i omogućit će opis obrasca podrijetla, prijenosa i širenja *M. bovis*.

Korištene tehnike, mediji, njihova normizacija i interpretacija rezultata moraju udovoljavati onima navedenim u Priručniku normi za dijagnostičke testove i cjeviva OIE-a, četvrto izdanje, 2000., poglavlje 2.3.3. (tuberkuloza goveda).

2. TUBERKULINSKI KOŽNI TEST

Tuberkuli PPD (Pročišćeni proteinski derivat) koji ispunjava norme utvrđene stavkom 2.1. koristi se za provođenje službenog tuberkulinskog kožnog testa nakon postupaka iz stavka 2.2.

2.1. Norme za tuberkulin (goveđi i avijarni)

2.1.1. Definicija

Tuberkulinski pročišćeni proteinski derivat (tuberkulinski PPD, goveđi ili avijarni) je pripravak koji se dobiva termičkom obradom proizvoda rasta i lize *Mycobacterium bovis* ili *Mycobacterium avium* (prema potrebi) koji može otkriti odgođenu hipersenzitivnost kod životinje senzibilizirane na mikroorganizme iste vrste.

2.1.2. Proizvodnja

Dobiva se od u vodi topljivih frakcija pripremljenih grijanjem na slobodno strujećoj pari i naknadnim filtriranjem kultura *M. bovis* ili *M. avium* (prema potrebi) uzgajanim u tekućem sintetskom mediju. Aktivna frakcija filtrata, koja se sastoji uglavnom od bjelančevina, izolira se precipitacijom, ispire i ponovno otapa. Može se dodati antimikrobni konzervans koji ne izaziva pojavu lažno pozitivnih reakcija, poput fenola. Konačan sterilni pripravak, slobodan od mikobakterija, aseptički se raspoređuje u sterilne postojeće staklene spremnike i potom se zatvara radi sprečavanja kontaminacije. Pripravak se može osušiti u smrznutom stanju.

2.1.3. Identifikacija proizvoda

Ubrizgati intradermalno nekoliko stupnjevanih doza na više mjesta odgovarajući senzibiliziranih albino zamoraca, od kojih svaki teži najmanje 250 g. Nakon 24 do 28 sati, javljaju se reakcije u obliku edema s crvenilom sa ili bez nekroze na mjestu injekcije. Veličina i intenzitet reakcija varira ovisno o dozi. Nesenzibilizirani zamorci ne pokazuju reakciju na slične injekcije.

2.1.4. Testovi

2.1.4.1. pH: pH je od 6,5 do 7,5.

- 2.1.4.2. Fenol: Ako pripravak koji se treba ispitati sadrži fenol, njegova koncentracija nije veća od 5 g/l.
- 2.1.4.3. Učinak senzibilizacije: Koristiti skupinu od triju zamoraca koji nisu bili tretirani nikakvim materijalom koji bi mogao interferirati s testom. Tri puta u razmacima od pet dana intradermalno ubrizgati u svakog zamorca dozu pripravka koji se ispituje koji je ekvivalentan 500 IU u 0,1 ml. Nakon 15 do 21 dana poslije treće injekcije, ubrizgati istu dozu (500 IU) intradermalno tim životinjama i u kontrolnu skupinu od triju zamoraca iste mase i koji nisu prethodno primili injekcije tuberkulina. Nakon 24 do 28 sati poslije zadnje injekcije, reakcije dviju skupina nisu značajno različite.
- 2.1.4.4. Toksičnost: Koristiti dva zamorca od kojih svaki teži najmanje 250 g i koji nisu bili tretirani nikakvim materijalom koji bi mogao interferirati s testom. Ubrizgati supkutano svakom zamorcu 0,5 ml pripravka koji se ispituje. Promatrati životinje tijekom sedam dana. Tijekom razdoblja promatranja ne dolazi no abnormalnih pojava.
- 2.1.4.5. Sterilnost: Ovaj je test u skladu s s testom za sterilnost koji je propisan u monografiji o Cjepivima za veterinarsku uporabu, četvrto izdanje Europske farmakopeje, 2002.

2.1.5. *Intenzitet*

Intenzitet tuberkulinskog pročišćenog proteinskog derivata (govedeg i avijarnog) određuje se usporedbom reakcija dobivenih kod senzibiliziranih zamoraca intradermalnim injekcijama serije otopine pripravka koji se ispituje s onima proizvedenim kod poznatih koncentracija referentnog pripravka tuberkulinskog (govedeg ili avijarnog, prema potrebi) pročišćenog proteinskog derivata kalibriranog u internacionalnim jedinicama (IU).

Da bi testirali intenzitet, potrebno je senzibilizirati najmanje devet albino zamoraca, od kojih svaki teži 400 do 600 g, dubokom intramuskularnom injekcijom od 0,0001 mg mase u vlažnom stanju živog *M. bovis* soja AN5 suspendiranog u 0,5 ml otopine natrijevog klorida 9 g/l R za goveđi tuberkulin, ili odgovarajućom dozom inaktiviranog ili živog *M. avium* za avijarni tuberkulin. Nakon najmanje četiri tjedna nakon senzibilizacije zamoraca, obrijati njihove površine slabina kako bi se napravilo prostora za najviše četiri injekcije na svakoj strani. Pripremiti otopinu pripravka koji se ispituje i referencijalnog pripravka koristeći izotoničku fiziološku otopinu puferiranu fosfatom (pH 6,5-7,5) koja sadrži 0,005 g/l polisorbata 80 R. Koristiti najmanje tri doze referencijalnog pripravka i najmanje tri doze pripravka koji se ispituje. Izabrati doze tako da nastale lezije imaju promjer od najmanje 8 mm a najviše 25 mm. Rasporedite otopine nasumično za mjesta ubrizgavanja koristeći *Latin Square Design*. Ubrizgati svaku dozu intradermalno u postojanoj zapremini od 0,1 ml ili 0,2 ml. Izmjeriti promjere lezija nakon 24 do 28 sati i izračunati rezultat testa korištenjem uobičajenih statističkih metoda i uz pretpostavku da su promjeri lezija proporcionalni logaritmu koncentracije tuberkulina.

Test nije valjan dok referentna granica pogreške ($P = 0,95$) nije manja od 50 % ni veća od 200 % procijenjenog intenziteta. Procijenjeni intenzitet nije manji od 66 % ni već od 150 % utvrđenog intenziteta za goveđi tuberkulin. Procijenjeni intenzitet nije manji od 75 % ni veći od 133 % utvrđenog intenziteta za avijarni tuberkulin. Utvrđeni intenzitet nije manji od 20 000 IU/ml za oba tuberkulina (goveđi i avijarni).

2.1.6. *Skladištenje*

Skladištiti zaštićeno od svjetla, na temperaturi od 5 ± 3 °C.

2.1.7. *Označivanje*

Na oznaci su sljedeći podaci:

- intenzitet u internacionalnim jedinicama po mililitru,
- naziv i količina svake dodane tvari,
- za pripravke sušene u smrznutom stanju:
 - naziv i količinu tekućine koju treba dodati za rekonstituciju,
 - da će se proizvod upotrijebiti odmah nakon rekonstitucije.

2.2. **Postupak testa**

2.2.1. Sljedeći se testovi priznaju kao službeni intradermalni tuberkulinski testovi:

- pojedinačni intradermalni test: ovaj test zahtijeva jedno ubrizgavanje govedeg tuberkulina.
- intradermalni usporedni test: ovaj test zahtijeva jedno ubrizgavanje govedeg tuberkulina i jedno istodobno ubrizgavanje ptičjeg tuberkulina.

- 2.2.2. Ubrizgana doza tuberkulina je:
- najmanje 2 000 IU goveđeg tuberkulina,
 - najmanje 2 000 IU avijarnog tuberkulina.
- 2.2.3. Količina svake injekcijske doze ne smije prelaziti 0,2 ml.
- 2.2.4. Tuberkulinski testovi provode se ubrizgavanjem tuberkulina u kožu vrata. Mjesta ubrizgavanja trebaju biti na granici prednje i srednje trećine vrata. Kada se avijarni i goveđi tuberkulin ubrizgavaju istoj životinji, mjesto ubrizgavanja avijarnog tuberkulina treba biti oko 10 cm udaljeno od grebena vrata, dok mjesto ubrizgavanja goveđeg tuberkulina treba biti oko 125 cm niže na liniji otprilike paralelnoj s linijom ramena ili na suprotnim stranama vrata; kod mladih životinja na kojima nema dovoljno prostora za odvajanje mjesta ubrizgavanja na jednoj strani vrata, po jedna se injekcija ubrizgava na svakoj strani vrata, i to na identičnim mjestima u središtu srednje trećine vrata.
- 2.2.5. Tehnika tuberkulinskog testiranja i interpretacija rezultata trebaju biti kako slijedi:
- 2.2.5.1. Tehnika:
- Mjesto ubrizgavanja zahvati se prstima i očisti. Nabor kože u svakom zahvaćenom području uzima se između kažiprsta i palca, mjeri pomičnom mjerkom i bilježi. Potom se ubrizgava doza tuberkulina metodom koja osigurava davanje tuberkulina intradermalno. Može se koristiti kratka sterilna igla s koso izbrušenim rubom prema van, i s gradiranom špricom napunjenom tuberkulinom, koja se uvodi ukoso u dublje slojeve kože. Ispravno ubrizgavanje provjerava se palpacijom otekline veličine graška na svakom mjestu ubrizgavanja. Debljina kožnog nabora svakog mjesta ubrizgavanja mjeri se 72 sata (\pm 4 sata) nakon ubrizgavanja, te se nalaz treba zabilježiti.
- 2.2.5.2. Interpretacija reakcija
- Interpretacija reakcija temelji se na kliničkim promatranjima i zabilježenim povećanjem(-ima) debljine kožnih nabora na mjestima ubrizgavanja 72 sata nakon ubrizgavanja tuberkulina.
- (a) Negativna reakcija: ako se uoči samo ograničena oteklina, s povećanjem koje nije veće od 2 mm debljine kožnog nabora bez kliničkih znakova poput difuznog ili jakog edema, eksudacije, nekroze, boli ili upale limfnih kanala u toj regiji ili u limfnim čvorovima.
 - (b) Sumnjiva reakcija: ako se ne uoče klinički znakovi poput onih spomenutih u točki (a), te ako je povećanje zadebljanja kožnog nabora veće od 2 mm a manje od 4 mm.
 - (c) Pozitivna reakcija: ako se uoče klinički znakovi poput onih spomenutih u točki (a), ili ako je povećanje zadebljanja kožnog nabora na mjestu ubrizgavanja od 4 mm ili veće.
- 2.2.5.3. Interpretacija službenih intradermalnih tuberkulinskih testova jest, kako slijedi:
- 2.2.5.3.1. Pojedinačni intradermalni test:
- (a) pozitivan: pozitivna reakcija na goveđi tuberkulin kako je definirana u stavku 2.2.5.2. točki (c);
 - (b) sumnjiv: sumnjiva reakcija kako je definirana u stavku 2.2.5.2. točki (b);
 - (c) negativan: negativna reakcija na goveđi tuberkulin kako je definirana u stavku 2.2.5.2. točki (a).
- Životinje sa sumnjivom reakcijom na pojedinačni intradermalni test podvrgavaju se još jednom testu nakon najmanje 42 dana.
- Životinje koje nisu negativne na ovaj drugi test smatraju se pozitivnima na test.
- Životinje koje na pojedinačnom intradermalnom testu imaju pozitivan rezultat mogu se podvrgnuti intradermalnom usporednom testu ako se sumnja na lažno pozitivnu reakciju ili na interferenciju.
- 2.2.5.3.2. Intradermalni usporedni test za uspostavljanje i održavanje statusa stada službeno slobodnog od tuberkuloze:
- (a) pozitivan: pozitivna reakcija na goveđi tuberkulin koja je više od 4 mm veća od reakcije na avijarni tuberkulin, ili prisutnost kliničkih znakova;
 - (b) sumnjiv: pozitivna ili sumnjiva reakcija na goveđi tuberkulin koja je od 1 do 4 mm veća od reakcije na avijarni tuberkulin, te bez kliničkih znakova;
 - (c) negativan: negativna reakcija na goveđi tuberkulin, ili pozitivna ili sumnjiva reakcija na goveđi tuberkulin, međutim koja je jednaka ili manja od pozitivne ili sumnjive reakcije na avijarni tuberkulin i bez kliničkih znakova u oba slučaja.
- Životinje sa sumnjivim rezultatom na intradermalnom usporednom testu podvrgavaju se još jednom testu nakon najmanje 42 dana. Životinje koje nisu negativne na taj drugi test smatraju se pozitivnima na test.

- 2.2.5.3.3. Status stada službeno slobodnog od tuberkuloze može se privremeno ukinuti a životinjama iz stada neće se dopustiti stavljanje u trgovinu unutar Zajednice dok se ne razriješi status sljedećih životinja:
- (a) životinje za koje se smatra da su imale sumnjiv rezultat na pojedinačnom intradermalnom tuberkulinskom testu;
 - (b) životinje za koje se smatra da su imale pozitivan rezultat na pojedinačnom intradermalnom tuberkulinskom testu, ali koje čekaju ponovno testiranje intradermalnim usporednim testom;
 - (c) životinje za koje se smatra da su imale sumnjiv rezultat na intradermalnom usporednom testu.
- 2.2.5.3.4. Kad se za životinje prema zakonodavstvu Zajednice zahtijeva podvrgavanje intradermalnom testu prije premještanja, test se mora interpretirati tako da nijedna životinja koja pokaže povećanje debljine kožnog nabora veće od 2 mm ili prisutnost kliničkih znakova ne uđe u trgovinu unutar Zajednice.
- 2.2.5.3.5. Kako bi se omogućilo otkrivanje maksimalnog broja zaraženih i oboljelih životinja u stadu ili regiji, države članice mogu izmijeniti kriterije za interpretaciju testa radi postizanja poboljšane osjetljivosti testa uzimajući u obzir sve sumnjive reakcije koje se spominju u stavku 2.2.5.3.1. točki (b) i stavku 2.2.5.3.2. točki (b) kao pozitivne reakcije.

3. DOPUNSKO TESTIRANJE

Kako bi se omogućilo otkrivanje maksimalnog broja zaraženih i oboljelih životinja u stadu ili regiji, države članice mogu odobriti korištenje testa s gama-interferonom koji se spominje u Priručniku za norme dijagnostičkih testova i cjepiva OIE-a, četvrto izdanje, 2000., poglavlje 2.3.3. (tuberkuloza goveda), kao dopunu tuberkulinskom testu.

4. DRŽAVNI INSTITUTI I NACIONALNI REFERENTNI LABORATORIJI

4.1. Zadaće i odgovornosti

Državni instituti i referentni laboratoriji uključeni u stavak 3.2. odgovorni su za službeno testiranje tuberkulina ili reagensa uključenih u stavak 2. i 3. u njihovim odgovarajućim državama kako bi se osiguralo da je svaki od tih tuberkulina ili reagenasa primjeren u odnosu na gore navedene norme.

4.2. Popis državnih instituta i nacionalnih referentnih laboratorija:

1. Njemačka:
Paul-Ehrlich Institut (PEI), Bundesamt für Sera und Impfstoffe, D-23207 Langen; Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin — Bereich Jena — D-07743 Jena;
2. Belgija:
Institut Scientifique de la Santé Publique — Louis Pasteur, 14 Rue Juliette Wytsman — B 1050 Bruxelles— Belgique;
3. Francuska:
Laboratoire national des médicaments vétérinaires, Fougeres;
4. Veliko Vojvodstvo Luksemburg:
Institut države koja dostavlja;
5. Italija:
Istituto superiore di sanità, Rome;
6. Nizozemska:
Centraal Instituut voor Dierziekte Controle Lelystad (CIDC-Lelystad), Lelystad;
7. Danska:
Danmarks Veterinærinstitut, Bülowsvej 27, DK-1790 København;
8. Irska:
Institut države koja dostavlja;
9. Ujedinjena kraljevina:
Veterinary Laboratory Agency, Addlestone, Weybridge;
10. Grčka:
Κέντρο Κτηνιατρικών Ιδρυμάτων, Νεαπόλεως 25, 153 10 Αθήνα;

11. Španjolska:
Laboratorio de Sanidad y producción animal de Granada;
 12. Portugal:
Laboratorio Nacional de Investigaçao Veterinária, Lisbon;
 13. Austrija:
Bundesanstalt für veterinärmedizinische Untersuchungen, Mödling;
 14. Finska:
Eläinlääkintä — ja elintarviketutkimus — laitos — Forskningsanstalten för veterinärmedicin och livsmedel, Helsinki;
 15. Švedska:
Statens veterinärmedicinska anstalt, Uppsala.”
-