

Edición  
en lengua española

## Comunicaciones e informaciones

---

<u>Número de información</u>	Sumario	Página
	<i>I Comunicaciones</i>	
	<b>Comisión</b>	
91/C 231/01	ECU.....	1
91/C 231/02	Precios medios y precios representativos de los tipos de vinos de mesa en los diferentes centros de comercialización.....	2
91/C 231/03	Comunicación de la Comisión con arreglo a las disposiciones del Reglamento (CEE) nº 3832/90 del Consejo, de 20 de diciembre de 1990, relativo a la aplicación de preferencias arancelarias generalizadas para el año 1991 a los productos textiles originarios de los países en vías de desarrollo.....	3
	<i>II Actos jurídicos preparatorios</i>	
	<b>Comisión</b>	
91/C 231/04	Propuesta de Reglamento (CEE) del Consejo por el que se establecen medidas comunitarias para la lucha contra la influenza aviar.....	4

## I

(Comunicaciones)

## COMISIÓN

ECU (\*)

4 de septiembre de 1991

(91/C 231/01)

Importe en moneda nacional por una unidad:

Franco belga y franco luxemburgués	42,2806	Escudo portugués	175,658
Marco alemán	2,05382	Dólar USA	1,18342
Florín holandés	2,31346	Franco suizo	1,79939
Libra esterlina	0,697770	Corona sueca	7,45376
Corona danesa	7,92653	Corona noruega	8,02298
Franco francés	6,97980	Dólar canadiense	1,35146
Lira italiana	1532,53	Chelín austriaco	14,4507
Libra irlandesa	0,768004	Marco finlandés	5,00231
Dracma griega	226,908	Yen japonés	160,649
Peseta española	127,962	Dólar australiano	1,50754
		Dólar neozelandés	2,05812

La Comisión dispone de un télex con contestador automático que proporciona, por medio de una simple llamada de télex, los tipos de conversión de las principales monedas. Este servicio funciona todos los días de bolsa desde las 15.30 hasta las 13.00 del día siguiente.

El usuario debe proceder del siguiente modo:

- marcar el número de télex 23789 de Bruselas,
- indicar su número de télex,
- componer el código «cccc» que pone en funcionamiento el sistema de respuesta automática que imprime en el télex los tipos de conversión del ecu,
- no interrumpir la transmisión; el fin de la comunicación se indica mediante el código «ffff».

*Observación:* La Comisión dispone también de un télex con contestador automático (nº 21791) que proporciona diariamente los datos para el cálculo de los montantes compensatorios monetarios en el marco de aplicación de la política agraria común.

(\*) Reglamento (CEE) nº 3180/78 del Consejo, de 18 de diciembre de 1978 (DO nº L 379 de 30. 12. 1978, p. 1), modificado en último lugar por el Reglamento (CEE) nº 1971/89 (DO nº L 189 de 4. 7. 1989, p. 1).

Decisión 80/1184/CEE del Consejo, de 18 de diciembre de 1980 (Convenio de Lomé), (DO nº L 349 de 23. 12. 1980, p. 34).

Decisión nº 3334/80/CECA de la Comisión, de 19 de diciembre de 1980 (DO nº L 349 de 23. 12. 1980, p. 27).

Reglamento financiero de 16 de diciembre de 1980 referente al presupuesto general de las Comunidades Europeas (DO nº L 345 de 20. 12. 1980, p. 23).

Reglamento (CEE) nº 3308/80 del Consejo, de 16 de diciembre de 1980 (DO nº L 345 de 20. 12. 1980, p. 1).

Decisión del Consejo de Gobernadores del Banco Europeo de Inversiones, de 13 de mayo de 1981 (DO nº L 311 de 30. 10. 1981, p. 1).

**Precios medios y precios representativos de los tipos de vinos de mesa en los diferentes centros de comercialización (\*)**

(91/C 231/02)

[Establecidos el 3 de septiembre de 1991, en aplicación del apartado 1 del artículo 30 del Reglamento (CEE) nº 822/87]

Centros de comercialización	Ecus por % vol/hl	Centros de comercialización	Ecus por % vol/hl
<b>R I</b>		<b>A I</b>	
Heraklion	Sin cotización	Atenas	Sin cotización
Patras	Sin cotización	Heraklion	Sin cotización
Requena	Sin cotización	Patras	Sin cotización
Reus	Sin cotización	Alcázar de San Juan	Sin cotización
Villafranca del Bierzo	Sin cotización (*)	Almendralejo	Sin cotización
Bastia	Sin cotización	Medina del Campo	Sin cotización (*)
Béziers	Sin cotización	Ribadavia	Sin cotización
Montpellier	Sin cotización	Vilafranca del Penedès	Sin cotización
Narbona	Sin cotización	Villar del Arzobispo	Sin cotización (*)
Nîmes	Sin cotización	Villarrobledo	Sin cotización (*)
Perpiñán	Sin cotización	Burdeos	Sin cotización (*)
Asti	Sin cotización (*)	Nantes	Sin cotización
Florenzia	2,157	Bari	Sin cotización
Lecce	Sin cotización	Cagliari	Sin cotización
Pescara	Sin cotización	Chieti	Sin cotización
Reggio Emilia	Sin cotización (*)	Rávena (Lugo, Faenza)	2,867
Treviso	2,895	Trapani (Alcamo)	2,271
Verona (para los vinos locales)	Sin cotización	Treviso	3,009
Precio representativo	2,608	Precio representativo	2,571
<b>R II</b>			Ecus/hl
Heraklion	Sin cotización	<b>A II</b>	
Patras	Sin cotización	Rheinpfalz (Oberhaardt)	56,482
Calatayud	Sin cotización	Rheinhessen (Hügelland)	59,044
Falset	Sin cotización	La región vitícola del Mosela luxemburgués	Sin cotización (*)
Jumilla	Sin cotización	Precio representativo	57,300
Navalcarnero	Sin cotización (*)	<b>A III</b>	
Requena	Sin cotización	Mosel-Rheingau	Sin cotización (*)
Toro	Sin cotización	La región vitícola del Mosela luxemburgués	Sin cotización (*)
Villena	Sin cotización (*)	Precio representativo	Sin cotización
Bastia	Sin cotización		
Brignoles	Sin cotización		
Bari	Sin cotización		
Barletta	Sin cotización		
Cagliari	Sin cotización		
Lecce	Sin cotización		
Taranto	Sin cotización		
Precio representativo	Ecus/hl		
<b>R III</b>			
Rheinpfalz-Rheinhessen (Hügelland)	59,469		

(\*) A partir del 1 de septiembre de 1990, a las cotizaciones españolas publicadas les será aplicado un coeficiente de 1,14, correspondiente a la relación entre los precios de orientación comunitarios y españoles, de conformidad con el Reglamento (CEE) nº 481/86, de 25 de febrero de 1986.

(†) Cotización no tomada en consideración de conformidad con el artículo 10 del Reglamento (CEE) nº 2682/77.

**Comunicación de la Comisión con arreglo a las disposiciones del Reglamento (CEE) nº 3832/90 del Consejo, de 20 de diciembre de 1990, relativo a la aplicación de preferencias arancelarias generalizadas para el año 1991 a los productos textiles originarios de los países en vías de desarrollo**

(91/C 231/03)

En el marco de las disposiciones del Reglamento (CEE) nº 3832/90 del Consejo, de 20 de diciembre de 1990 (DO nº L 370 de 31. 12. 1990), la Comisión comunica que los contingentes indicados a continuación están agotados una vez que las transferencias obligatorias han sido efectuadas:

Número de orden	Categoría	Origen	Cantidad del contingente	Fecha de agotamiento
40.0033 (1. 7—31. 12. 1991)	3	Polonia	94,5 toneladas	8. 8. 1991
40.0050 (1. 7—31. 12. 1991)	5	Polonia	227 000 piezas	9. 8. 1991
40.0730	73	Hungría	90 000 piezas	7. 8. 1991

Cuando las importaciones sobrepasen estas cantidades, se exigirá el pago de los derechos normales del arancel aduanero común.

---

## II

(Actos jurídicos preparatorios)

## COMISIÓN

**Propuesta de Reglamento (CEE) del Consejo por el que se establecen medidas comunitarias para la lucha contra la influenza aviar**

(91/C 231/04)

COM(91) 304 final

(Presentada por la Comisión el 9 de agosto de 1991)

EL CONSEJO DE LAS COMUNIDADES EUROPEAS,

Visto el Tratado constitutivo de la Comunidad Económica Europea y, en particular, su artículo 43,

Vista la propuesta de la Comisión,

Visto el dictamen del Parlamento Europeo,

Visto el dictamen del Comité Económico y Social,

Considerando que el sector de las aves de corral figura en el Anexo II del Tratado; que la comercialización de aves de corral constituye una importante fuente de ingresos de la población agraria;

Considerando que, si se presentan brotes de influenza aviar de gran patogenicidad, enfermedad producida por un virus de la influenza de características especiales y que en lo sucesivo se denominará influenza aviar, es necesario establecer a escala comunitaria medidas de lucha contra la misma con objeto de garantizar el desarrollo nacional del sector de las aves de corral y de contribuir a la protección de la salud animal en la Comunidad;

Considerando que los brotes de influenza aviar pueden adquirir rápidamente un carácter epizootico y provocar una mortalidad y unas perturbaciones tales que comprometan seriamente la rentabilidad de las explotaciones avícolas en su conjunto;

Considerando que es necesario tomar medidas en cuanto existan indicios de esta enfermedad de manera que, si se confirma, sea posible adoptar inmediatamente medidas eficaces de lucha contra la misma;

Considerando que, tan pronto como se declare un brote de esta enfermedad, es necesario impedir su propagación controlando de modo estricto el transporte de animales y la utilización de productos que puedan estar contaminados y, en su caso, recurriendo a la vacunación;

Considerando que el diagnóstico de la enfermedad debe efectuarse bajo los auspicios de los laboratorios responsables, que deberán estar coordinados por un laboratorio comunitario de referencia;

Considerando que las medidas comunitarias de lucha contra la influenza aviar constituyen la base para el mantenimiento de un nivel uniforme de salud animal;

Considerando que es conveniente encomendar a la Comisión la tarea de adoptar las disposiciones de aplicación necesarias,

HA ADOPTADO EL PRESENTE REGLAMENTO:

*Artículo 1*

1. El presente Reglamento establece las medidas comunitarias para la lucha contra la influenza aviar aplicables en caso de que esta enfermedad se declare en aves de corral, sin perjuicio de las disposiciones comunitarias que regulan el comercio intracomunitario.

2. El presente Reglamento no se aplicará en caso de que se detecte la influenza aviar en otras aves. Sin embargo, los Estados miembros deberán informar a la Comisión de las medidas que hayan adoptado.

*Artículo 2*

A efectos del presente Reglamento, se utilizarán como proceda las definiciones del artículo 2 de la Directiva 90/539/CEE del Consejo, de 15 de octubre de 1990, relativa a las condiciones de policía sanitaria que regulan los intercambios intracomunitarios y las importaciones de aves de corral y de huevos para incubar procedentes de países terceros (\*).

(\* DO nº L 303 de 31. 10. 1990, p. 6.

Además, se entenderá por:

a) «ave de corral infectada»:

- toda ave de corral en la que un examen de laboratorio haya permitido comprobar oficialmente la influenza aviar tal como se define en el Anexo I, o
- tratándose de un segundo brote o de brotes subsiguientes, toda ave de corral en la que se hayan encontrado signos clínicos o lesiones *post mortem* propios de la influenza aviar;

b) «ave de corral sospechosa de estar infectada»: toda ave de corral con signos clínicos o lesiones *post mortem* tales que se pueda sospechar justificadamente la presencia de la influenza aviar o en la que se haya comprobado la presencia del subtipo H 5 o H 7 del virus de la influenza A;

c) «ave de corral sospechosa de estar contaminada»: toda ave de corral que haya podido estar, directa o indirectamente, en contacto con el virus de la influenza aviar o con el subtipo H 5 o H 7 del virus de la influenza A;

d) «autoridad competente»: autoridad veterinaria designada al efecto por la administración nacional del país de que se trate, ante la cual será directamente responsable en la materia regulada por el presente Reglamento y a través de la cual transmitirá la información obtenida;

e) «veterinario oficial»: el veterinario designado por la autoridad competente del Estado miembro en cuestión.

### Artículo 3

Toda sospecha de influenza aviar deberá ser notificada inmediatamente a la autoridad competente.

### Artículo 4

1. Cuando en una explotación haya aves de corral sospechosas de estar infectadas o contaminadas por la influenza aviar, el veterinario oficial deberá realizar inmediatamente una investigación para confirmar o descartar la presencia de esta enfermedad; la investigación deberá incluir tomas de muestras adecuadas para analizarlas en el laboratorio.

2. En cuanto se le notifique la sospecha de infección, la autoridad competente pondrá la explotación bajo vigilancia oficial y ordenará, en particular:

a) la realización de un censo de todas las aves de corral de la explotación en el que se precise, por categorías, el número de aves de corral muertas, cuántas presentan síntomas clínicos y cuántas no. Este censo deberá mantenerse al día y presentarse cuando se solicite, y podrá controlarse en cada visita;

b) la reclusión de todas las aves de corral de la explotación dentro de sus locales habituales o de cualquier otro lugar en el que queden aisladas, sin ningún contacto con otras aves;

c) la prohibición tanto de la entrada de aves de corral en la explotación como de la salida de las que se encuentren en ésta;

d) la prohibición de todo movimiento:

— de personas, animales o vehículos cuyo destino u origen sea la explotación,

— de carne o canales de aves de corral, piensos, material, desechos, cama de paja o cualquier otro elemento procedente de la explotación capaz de transmitir la influenza aviar,

salvo autorización expedida por el veterinario oficial;

e) la prohibición de la salida de la explotación de huevos que no estén destinados al consumo y que no hayan sido desinfectados a satisfacción del veterinario oficial;

f) la utilización de medios de desinfección apropiados en las entradas y salidas de la explotación y de los edificios en que se hallen las aves de corral;

g) una investigación epizootológica con arreglo a lo dispuesto en el artículo 7.

3. Hasta que entren en vigor las medidas oficiales contempladas en el apartado 2, el propietario o avicultor de toda explotación en la que se sospeche la presencia de la enfermedad adoptará todas las medidas apropiadas que garanticen el cumplimiento de las disposiciones contempladas en dicho apartado, en particular las de las letras b), c), d) y e).

4. La autoridad competente podrá hacer extensivas las medidas previstas en el apartado 2 a otras explotaciones cuando su ubicación, configuración o los contactos con la explotación en que se sospeche la existencia de la enfermedad permitan sospechar una posible contaminación.

5. Las medidas contempladas en los apartados 2, 3 y 4 dejarán de aplicarse únicamente cuando el veterinario oficial descarte cualquier sospecha de influenza aviar.

### Artículo 5

1. En cuanto se confirme oficialmente que en una explotación se ha declarado la influenza aviar, la autoridad competente, además de las medidas enumeradas en el apartado 2 del artículo 4, ordenará que se lleven a cabo inmediatamente las siguientes operaciones:

a) el sacrificio inmediato de todas las aves de corral que se hallen en la explotación y la destrucción de las aves de corral muertas o sacrificadas y de todos los huevos. Estas operaciones se efectuarán de manera que se limite al máximo el riesgo de propagación de la enfermedad;

- b) la destrucción o el tratamiento de todas las materias o desechos, como piensos, camas o estiércol, que puedan estar contaminados. El tratamiento deberá realizarse ateniéndose a las instrucciones del veterinario oficial y deberá garantizar la destrucción total del virus de la influenza aviar;
- c) en lo posible, la búsqueda y destrucción de la carne de las aves de corral que hayan sido sacrificadas durante el supuesto período de incubación de la enfermedad;
- d) la búsqueda y destrucción de los huevos para incubar puestos durante el supuesto período de incubación que hayan salido de la explotación; en cualquier caso la sumisión a vigilancia oficial de las aves de corral que hayan nacido de esos huevos; en lo posible, la búsqueda y destrucción de los huevos destinados al consumo puestos durante el supuesto período de incubación que hayan salido de la explotación;
- e) después de haberse llevado a cabo las operaciones indicadas en la letra a), la limpieza y desinfección, con arreglo a lo dispuesto en el artículo 11, de los edificios en que vivan las aves de corral y de sus alrededores, de los vehículos de transporte y de todo el material que pueda estar contaminado;
- f) después de realizar las operaciones indicadas en la letra e), la interposición de un período mínimo de veintiún días antes de volver a introducir aves de corral en la explotación;
- g) la realización de una investigación epizootiológica con arreglo a lo dispuesto en el artículo 7.

2. La autoridad competente podrá aplicar las medidas previstas en el apartado 1 a otras explotaciones cuando su ubicación, su configuración o los contactos con la explotación infectada permitan sospechar una posible contaminación.

#### Artículo 6

1. Cuando las explotaciones estén formadas por dos o más manadas independientes, la autoridad competente podrá eximir de las medidas enunciadas en la letra a) del apartado 1 del artículo 5 a las manadas sanas de una explotación infectada, siempre que el veterinario oficial haya confirmado que las operaciones que se realicen en ella reúnen unas características tales que hacen que las manadas permanezcan completamente independientes desde el punto de vista de su alojamiento, mantenimiento y alimentación, de modo que no hay peligro de que el virus se contagie de una manada a otra.

2. De conformidad con el procedimiento del artículo 21, la Comisión fijará los criterios por los que se regirá la exención mencionada en el apartado 1.

#### Artículo 7

1. La investigación epizootiológica estudiará los siguientes aspectos:

- período de la posible presencia de la influenza aviar en la explotación;
- posible origen de la enfermedad en la explotación y localización de las demás explotaciones en las que se encuentren aves de corral que hayan podido infectarse o contaminarse a partir del mismo foco;
- movimientos de personas, aves de corral u otros animales, vehículos, huevos, carne, canales y cualquier utensilio o materia que haya podido transmitir el virus de la influenza aviar a la explotación afectada o propagarlo a partir de ella.

2. A fin de coordinar todas las medidas necesarias para erradicar la influenza aviar lo más rápidamente posible y con objeto de realizar la investigación epizootiológica, se creará un centro de crisis.

Las disposiciones generales sobre los centros de crisis nacionales y comunitarios se establecen en el Reglamento (CEE) nº ... del Consejo.

#### Artículo 8

1. Cuando el veterinario oficial disponga de indicios de contaminación de aves de corral de una explotación debida a movimientos de personas, animales o vehículos o a cualquier otra circunstancia, las explotaciones afectadas se someterán a control oficial con arreglo a lo dispuesto en el apartado 2.

2. El control oficial tendrá como finalidad detectar inmediatamente cualquier indicio de influenza aviar, llevar a cabo el censo de las aves de corral, controlar sus movimientos y, en su caso, aplicar las medidas establecidas en el apartado 3.

3. Cuando una explotación esté sometida al control oficial establecido en las disposiciones del apartado 2, la autoridad competente prohibirá la salida de las aves de corral de la explotación cuando no sea para su transporte directo a un matadero bajo control oficial para su sacrificio inmediato. Antes de que pueda autorizarse tal salida, el veterinario oficial deberá haber efectuado un examen clínico de todas las aves de corral que demuestre que la explotación está libre de influenza aviar. Las restricciones de movimientos antes mencionadas se aplicarán durante un período de veintiún días a partir de la última fecha en que pueda haberse producido la contaminación; en cualquier caso, estas restricciones se aplicarán durante un período mínimo de siete días.

4. Cuando considere que las condiciones lo permiten, la autoridad competente podrá limitar la aplicación de las medidas establecidas en el presente artículo a una parte de la explotación y a las aves de corral que se hallen en ésta, siempre que hayan sido alojadas, mantenidas y alimentadas de forma totalmente separada y por diferente personal.

### Artículo 9

1 Cuando el diagnóstico de la influenza aviar se haya confirmado oficialmente, la autoridad competente delimitará, alrededor de la explotación infectada, una zona compuesta por una zona de protección de un radio mínimo de 3 kilómetros y una zona de vigilancia de un radio mínimo de 10 kilómetros. Para la delimitación de estas zonas deberán tenerse en cuenta las barreras naturales y las características epizootológicas del brote.

2 En la zona de protección se aplicarán las siguientes medidas:

- a) localización de todas las explotaciones de la zona con aves de corral,
- b) visitas periódicas a todas las explotaciones con aves de corral, con exámenes clínicos de estas y, en su caso, toma de muestras para su examen en laboratorio, se llevará un registro de visitas y resultados de los exámenes,
- c) mantenimiento de todas las aves de corral en su alojamiento habitual o en cualquier otro lugar que permita aislarlas,
- d) utilización de sistemas de desinfección apropiados en las entradas y salidas de las explotaciones,
- e) control de los desplazamientos dentro de la zona de las personas que manipulen aves de corral, sus canales y huevos, así como de los vehículos utilizados para su transporte, en general, se prohibirá el transporte de las aves, exceptuando el tránsito por las carreteras y líneas férreas más importantes,
- f) prohibición de sacar aves de corral y huevos para incubar de la explotación en que se encuentren, salvo que la autoridad competente haya autorizado el transporte:
  - i) de aves para su sacrificio inmediato, preferentemente a un matadero situado en la zona infectada o, de no ser posible, a uno situado fuera de esta y designado por la autoridad competente. La carne resultante deberá llevar la marca sanitaria especial establecida en el apartado 1 del artículo 6 del Reglamento (CEE) nº / del Consejo, de , sobre las condiciones de policía sanitaria a las que deben ajustarse los intercambios intracomunitarios y las importaciones de carnes frescas de aves de corral y de aves de caza de cría procedentes de terceros países <sup>(1)</sup>,
  - ii) de pollitos de un día de edad o de pollitas maduras para la puesta a una explotación situada dentro de la zona infectada y que no tenga otras aves de corral. Esta explotación estará sometida al control oficial establecido en el apartado 2 del artículo 8,

- iii) de huevos para incubar bien a una incubadora situada dentro de la zona de protección o, si esta fuera de ella, a una incubadora designada por la autoridad competente, los huevos y sus envases deberán desinfectarse antes de ser enviados.

Los desplazamientos indicados en los incisos i), ii) y iii) deberán ser realizados directamente bajo control oficial y únicamente se autorizarán después de que el veterinario oficial haya efectuado una inspección sanitaria de la explotación. Los medios de transporte empleados deberán limpiarse y desinfectarse antes y después de su utilización,

- g) prohibición de retirar o esparcir sin autorización el estiércol de las aves de corral o sus camas de paja,
- h) prohibición de celebrar ferias, mercados, exposiciones y demás concentraciones de aves de corral o de cualquier otro tipo de aves.

3 Las medidas aplicadas en la zona de protección se mantendrán al menos durante veintiún días después de que se hayan efectuado en la explotación infectada las operaciones preliminares de limpieza y desinfección con arreglo a lo dispuesto en el artículo 11. Cuando se levanten esas medidas, la zona de protección pasará a formar parte de la zona de vigilancia.

4 En la zona de vigilancia se aplicarán las siguientes medidas:

- a) localización de todas las explotaciones de la zona con aves de corral,
- b) control de los desplazamientos de las aves de corral y de los huevos para incubar dentro de la zona,
- c) prohibición de sacar aves de corral fuera de la zona durante los quince primeros días, excepto para enviarlas directamente a un matadero situado fuera de la zona de vigilancia y designado por la autoridad competente, en cuyo caso la carne de estas aves deberá llevar la marca sanitaria especial establecida en el artículo 6 del Reglamento (CEE) nº / del Consejo sobre las condiciones de policía sanitaria a las que deben ajustarse los intercambios intracomunitarios y las importaciones de carnes frescas de aves de corral y de aves de caza de cría procedentes de terceros países,
- d) prohibición de sacar huevos para incubar fuera de la zona de vigilancia, salvo que se envíen a un local designado por la autoridad competente. Antes de ser enviados, los huevos y sus envases deberán ser desinfectados,
- e) prohibición de sacar estiércol de aves de corral o sus camas de paja fuera de la zona,
- f) prohibición de celebrar ferias, mercados, exposiciones y demás concentraciones de aves de corral o de cualquier otro tipo de aves,

<sup>(1)</sup> COM(89) 507 final

g) sin perjuicio de las disposiciones contempladas en las letras b) y c), prohibición de transportar aves de corral, exceptuando el tránsito por las carreteras y líneas férreas más importantes.

5. Las medidas aplicadas en la zona de vigilancia se mantendrán al menos durante treinta días después de haberse realizado en la explotación infectada las operaciones preliminares de limpieza y desinfección con arreglo a lo dispuesto en el artículo 11.

#### *Artículo 10*

1. La autoridad competente establecerá las normas que le permitan seguir los desplazamientos de huevos y de aves de corral.

2. A petición de la autoridad competente, el propietario o el avicultor deberá facilitarle los datos sobre las entradas y salidas de su explotación de aves y huevos.

3. Toda persona que se dedique al transporte o al comercio de aves de corral y de huevos deberá poder informar a la autoridad competente sobre los desplazamientos de aves y huevos que haya transportado o comercializado y aportar documentación detallada al respecto.

#### *Artículo 11*

1. Los desinfectantes que se vayan a utilizar así como su concentración deberán estar autorizados por la autoridad competente.

2. Las operaciones de limpieza y desinfección deberán efectuarse bajo la supervisión oficial y con arreglo a las instrucciones del veterinario oficial.

#### *Artículo 12*

Las tomas de muestras y los análisis de laboratorio que se efectúen para detectar el virus de la influenza aviar deberán realizarse con arreglo a las disposiciones del Anexo I.

#### *Artículo 13*

1. Los Estados miembros designarán:

- a) uno o varios laboratorios nacionales, que se mantendrán dotados de las instalaciones y el personal especializado necesarios, para realizar la evaluación de la patogenicidad de los virus de la influenza que se hayan aislado (capítulo 7 del Anexo I) y la identificación de los subtipos H 5 o H 7 del virus de la influenza A;
- b) uno o varios laboratorios nacionales encargados de controlar los reactivos utilizados por los laboratorios regionales;
- c) uno o varios institutos o laboratorios nacionales en los cuales las vacunas autorizadas puedan ser contro-

ladas para verificar su conformidad con las especificaciones contempladas en la autorización de comercialización.

2. Los laboratorios nacionales enumerados en el Anexo II se encargarán de la coordinación de las normas y los métodos de diagnóstico, el uso de reactivos y el control de vacunas.

3. Los laboratorios nacionales a los que hace referencia el apartado 2 se encargarán de la coordinación de las normas y los métodos de diagnóstico establecidos en cada laboratorio de diagnóstico de la influenza aviar en el Estado miembro. A tal fin:

- a) podrán proporcionar a los laboratorios regionales reactivos para el diagnóstico;
- b) controlarán la calidad de todos los reactivos de diagnóstico utilizados en ese Estado miembro;
- c) organizarán periódicamente pruebas comparativas;
- d) mantendrán aislados virus de la influenza aviar recogidos de casos confirmados en ese Estado miembro;
- e) confirmarán los resultados positivos obtenidos en los laboratorios de diagnóstico regionales.

4. Habrá una conexión entre los laboratorios nacionales enumerados en el Anexo II y el laboratorio comunitario de referencia mencionado en el artículo 14.

#### *Artículo 14*

En el Anexo III figura el laboratorio comunitario de referencia para la influenza aviar. Sus competencias y obligaciones se establecerán con arreglo al procedimiento contemplado en el artículo 21, en la medida en que no estén regulados ya por el artículo 28 de la Decisión 90/424/CEE del Consejo, de 26 de junio de 1990, relativa a determinados gastos del sector veterinario (\*).

#### *Artículo 15*

1. La vacunación contra la influenza aviar con vacunas autorizadas por la autoridad competente podrá realizarse únicamente como complemento de las medidas de control que se adopten cuando se declare la enfermedad.

2. La Comisión, en colaboración con el Estado miembro afectado, tomará la decisión de realizar la vacunación como complemento de las medidas de control, de conformidad con el procedimiento establecido en el artículo 21. Tal decisión atenderá principalmente a los siguientes elementos:

- la concentración de aves de corral en la zona afectada;
- las características y composición de la vacuna utilizada,

(\*) DO nº L 224 de 18. 8. 1990, p. 19.

- los procedimientos de supervisión de la distribución, el almacenamiento y la utilización de las vacunas,
- las especies y categorías de aves de corral que vayan a ser vacunadas,
- las zonas en que se vaya a efectuar la vacunación.

3. Cuando, de acuerdo con las disposiciones del apartado 2, un Estado miembro esté autorizado para recurrir a la vacunación de emergencia en una parte limitada de su territorio, el estatuto del resto del territorio no se verá afectado, siempre que se apliquen las normas de inmovilización de los animales vacunados durante un período de tres meses a partir del final de las operaciones de vacunación.

#### Artículo 16

1. Cuando, en una determinada región, una epizootia de influenza aviar presente un carácter excepcionalmente grave y una tendencia a propagarse, el Estado miembro afectado deberá:

- declarar «zona de alto riesgo sanitario» una zona delimitada territorialmente que abarque como mínimo todas las zonas de protección y vigilancia que se encuentren dentro de la zona en cuestión;
- aplicar las medidas establecidas en el apartado 3 del artículo 9 en la «zona de alto riesgo sanitario»;
- prohibir la salida de toda ave de corral viva y todo huevo para incubar de la «zona de alto riesgo sanitario»;
- informar a la Comisión y a los Estados miembros a través del Comité veterinario permanente sobre la situación de la enfermedad y las medidas de control aplicadas.

2. Los límites de la «zona de alto riesgo sanitario» podrán modificarse eliminando progresivamente las zonas de vigilancia. Las disposiciones del apartado 1 dejarán de aplicarse cuando se haya suprimido la última zona de vigilancia.

3. En caso de que persista la situación alarmante, las medidas que deba adoptar el Estado miembro afectado, en particular, la determinación de la «zona de alto riesgo sanitario» y la aplicación de las disposiciones del artículo 15, deberán decidirse con arreglo al procedimiento establecido en el artículo 21.

#### Artículo 17

1. Cada Estado miembro preparará un plan de alerta en el que se especifiquen las medidas que deberán aplicarse a escala nacional en caso de que se registren brotes de influenza aviar.

Este plan deberá permitir el acceso a las instalaciones, equipo, personal y cualquier otro material adecuado necesario para la rápida y eficaz erradicación del brote. Cada Estado miembro hará figurar en el plan de manera precisa sus cálculos en cuanto a las vacunas necesarias en caso de vacunación de emergencia.

2. Los criterios que deberán aplicarse para la elaboración de los planes de alerta serán los que se establecen en la Decisión 91/42/CEE de la Comisión, de 8 de enero de 1991, por la que se establecen los criterios que se deberán aplicar cuando se elaboren los planes de alerta para controlar la fiebre aftosa, en aplicación de lo dispuesto en el artículo 5 de la Directiva 90/423/CEE del Consejo <sup>(1)</sup>, que se aplicarán *mutatis mutandis*.

Con arreglo al artículo 21, la Comisión podrá modificar o completar dichos criterios habida cuenta de las características específicas de la influenza aviar.

3. Los planes elaborados con arreglo a los criterios a los que se refiere el apartado 2 serán sometidos a la Comisión, a más tardar doce meses después de la entrada en vigor del presente Reglamento.

4. La Comisión examinará los planes para determinar si permiten alcanzar el objetivo perseguido y sugerirá a los Estados miembros cualquier modificación que sea necesario introducir, en particular para que resulten compatibles con los de los demás Estados miembros.

La Comisión aprobará los planes, modificados si fuera necesario, con arreglo al procedimiento establecido en el artículo 21.

Posteriormente, con arreglo al mismo procedimiento, podrán modificarse o ampliarse según lo aconseje la evolución de la situación.

#### Artículo 18

En la medida en que sea necesario para garantizar la aplicación uniforme del presente Reglamento, los veterinarios especializados de la Comisión podrán realizar inspecciones sobre el terreno en colaboración con las autoridades del Estado miembro de que se trate. La Comisión comunicará a los Estados miembros los resultados de la investigación.

Los Estados miembros en cuyo territorio se esté realizando una inspección facilitarán la necesaria asistencia a los expertos para el desempeño de sus funciones.

Las disposiciones generales de aplicación del presente artículo se determinarán con arreglo al procedimiento establecido en el artículo 21.

#### Artículo 19

En la Decisión 90/424/CEE del Consejo, relativa a determinados gastos en el sector veterinario, se fijan las normas que regulan la participación financiera de la Comunidad en las medidas resultantes de la aplicación del presente Reglamento.

#### Artículo 20

Los Anexos del presente Reglamento podrán ser modificados por la Comisión, con arreglo al procedimiento establecido en el artículo 21, en particular para adaptarlos a la evolución de los procedimientos de diagnóstico.

<sup>(1)</sup> DO n° L 23 de 29. 1. 1991, p. 29.

*Artículo 21*

1. La Comisión estará asistida por el Comité veterinario permanente, creado mediante la Decisión 68/361/CEE<sup>(1)</sup>, en adelante denominado «el Comité».

2. Cuando se recurra al procedimiento definido en el presente artículo, se aplicarán las siguientes disposiciones:

El representante de la Comisión someterá al Comité un proyecto de las medidas que deban adoptarse. El Comité emitirá su dictamen sobre dicho proyecto en un plazo que el presidente podrá fijar en función de la urgencia del asunto, procediendo, en su caso, a una votación.

<sup>(1)</sup> DO nº L 255 de 18. 10. 1968, p. 23.

El dictamen se incluirá en el acta; además, cada Estado miembro tendrá derecho a solicitar que su posición conste en acta.

La Comisión tendrá en cuenta, en la mayor medida posible, el dictamen emitido por el Comité y le informará del modo en que lo haya tenido en cuenta.

*Artículo 22*

El presente Reglamento entrará en vigor el 1 de julio de 1991.

El presente Reglamento será obligatorio en todos sus elementos y directamente aplicable en cada Estado miembro.

*ANEXO I***PROCEDIMIENTOS PARA LA CONFIRMACIÓN Y DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DE LA INFLUENZA AVIAR**

Los siguientes procedimientos de aislamiento y caracterización de los virus de la influenza aviar han de considerarse como directrices y constituyen los requisitos mínimos que deben aplicarse en el diagnóstico de dicha enfermedad.

A los efectos de los procedimientos de diagnóstico para la confirmación y el diagnóstico diferencial de la influenza aviar, se empleará la siguiente definición:

Por «influenza aviar» se entiende una infección de las aves de corral producida por cualquier virus de la influenza aviar A cuyo índice de patogenicidad intravenosa sea superior a 1,2 en pollitos de seis semanas de edad, o cualquier infección provocada por virus del subtipo H 5 o H 7 de la influenza A cuya secuenciación de nucleótidos haya demostrado la presencia de múltiples aminoácidos básicos en el punto de corte de la hemaglutinina.

**CAPÍTULO 1****Toma de muestras y tratamiento de las mismas****1. Muestras**

Hisopos de cloaca (o materias fecales) e hisopos traqueales de aves enfermas; materias fecales o contenido intestinal, tejido cerebral, tráquea, pulmones, hígado, bazo y otros órganos manifiestamente afectados procedentes de aves recién fallecidas.

**2. Tratamiento de las muestras**

Aunque los órganos y los tejidos arriba mencionados pueden mezclarse, las materias fecales deberán tratarse por separado. Se sumergirán completamente los hisopos en una cantidad suficiente de medio con antibióticos. A su vez, las muestras de materias fecales y de órganos deberán homogeneizarse (en un mezclador cerrado o utilizando un mortero y arena esterilizada) en un medio con antibióticos para convertirlas en suspensiones en ese medio al 10-20 % p/v. Posteriormente, esas suspensiones se dejarán a temperatura ambiente durante dos horas aproximadamente (o durante más tiempo a una temperatura de 4° C) y se clarificarán por centrifugación (por ejemplo de 800 a 1 000 g durante 10 minutos).

### 3. Medio con antibióticos

Diferentes laboratorios han utilizado distintos medios con antibióticos, obteniendo buenos resultados. En cada país, los laboratorios nacionales podrán asesorar al respecto. Para las muestras de materias fecales es necesaria una fuerte concentración de antibióticos; una mezcla típica es la siguiente:

10 000 unidades/ml de penicilina, 10 mg/ml de estreptomina, 0,25 mg/ml de gentamicina y 5 000 unidades/ml de micostatina en una solución salina amortiguadora de fosfato. Estos niveles pueden reducirse hasta cinco veces cuando se trabaja con tejidos e hisopos traqueales. Para evitar el crecimiento de *Chlamydia*, pueden añadirse 50 mg/ml de oxitetraciclina. Al elaborar el medio, es imprescindible comprobar el pH después de añadir los antibióticos y corregirlo hasta que fluctúe entre 7,0 y 7,4.

## CAPÍTULO 2

### Aislamiento del virus

#### *Aislamiento del virus en huevos embrionados de aves de corral*

Deberán inocularse dosis de 0,1 a 0,2 ml del líquido sobrenadante clarificado dentro de la cavidad alantoidea de al menos cuatro huevos embrionados que hayan sido incubados de ocho a diez días. Es preferible que los huevos procedan de una manada exenta de patógenos específicos, aunque, si ello no fuera posible, podrán utilizarse huevos de una manada exenta de anticuerpos del virus de la influenza aviar. Los huevos inoculados deberán mantenerse a 37 °C y se examinarán al trasluz diariamente. Los huevos que contengan embriones muertos o moribundos serán refrigerados a 4 °C a medida que se vayan comprobando. Los demás lo serán a la misma temperatura seis días después de la inoculación. Los fluidos alantoideos o amnióticos se someterán además a la prueba de hemaglutinación. Si ésta resultase negativa, deberá repetirse el procedimiento anterior utilizando fluido alantoideo o amniótico como inóculo.

Cuando la hemaglutinación sea positiva, deberá descartarse la posible presencia de bacterias mediante la realización de un cultivo. Si se confirma la presencia de bacterias, podrán filtrarse los fluidos con un filtro de membrana de 450 nm, añadirse más antibióticos e inocularse en huevos embrionados como ya se explicó anteriormente.

## CAPÍTULO 3

### Diagnóstico diferencial

#### 1. Diferenciación preliminar

Teniendo en cuenta que es fundamental que se adopten medidas para limitar la propagación del virus lo antes posible, cada laboratorio regional deberá estar en condiciones de detectar cualquier virus hemaglutinante aislado, tales como los del subtipo H 5 o H 7 de la influenza, además de los de la enfermedad de Newcastle. Los fluidos hemaglutinantes deberán someterse a las pruebas de inhibición de la hemaglutinación descritas en los capítulos 5 y 6. Una inhibición positiva, es decir de 2<sup>4</sup> o más, con antisuero policlonal específico para los subtipos H 5 o H 7 de la influenza A (con un título de al menos 2<sup>2</sup>), se considerará una identificación preliminar suficiente para imponer medidas provisionales de control.

#### 2. Confirmación de la identificación

Dado que hay 13 subtipos de hemaglutinina y 9 subtipos de neuraminidasa del virus de la influenza y que en cada uno de ellos se presentan variaciones, no es viable ni rentable que cada laboratorio nacional tenga antisueros que posibiliten una caracterización antigénica completa del virus de la influenza. No obstante, cada laboratorio nacional deberá:

- i) confirmar que el microorganismo es un virus de la influenza A utilizando una prueba de inmunodifusión doble para detectar el antígeno de grupo, efectuada de acuerdo con el capítulo 9 del presente Anexo (si así lo prefieren, los laboratorios nacionales podrán emplear técnicas de inmunofluorescencia o ELISA para la detección de los antígenos de grupo);
- ii) determinar si el virus aislado es o no del subtipo H 5 o H 7;
- iii) realizar pruebas del índice de patogenicidad intravenosa en pollitos de seis semanas de edad, efectuadas de acuerdo con el capítulo 7 del presente Anexo. Un índice de patogenicidad intravenosa superior a 1,2 es la señal de que hay virus y de que es necesario aplicar a fondo las medidas de control (sería útil que los laboratorios nacionales realizaran también pruebas de determinación de la capacidad del virus para producir placas en cultivos de células, efectuadas de acuerdo con el capítulo 8).

Los laboratorios nacionales deberán enviar inmediatamente todo el material de la influenza aviar y de los subtipos H 5 o H 7 al laboratorio comunitario de referencia para su caracterización total.

### 3. *Tipificación y caracterización adicional del material*

Los laboratorios nacionales enviarán al laboratorio comunitario de referencia todos los virus hemaglutinantes y éste, en consonancia con las funciones y cometidos que le han sido asignados, someterá esos virus a estudios antigénicos y genéticos adicionales para llegar a un mejor conocimiento de la epizootiología de la enfermedad o enfermedades en la Comunidad Europea.

Además de esos cometidos, el laboratorio comunitario de referencia llevará a cabo una tipificación antigénica completa de todos los virus de la influenza que haya recibido. En cuanto a los virus H 5 o H 7 cuyos índices de patogenicidad intravenosa no sean superiores a 1,2 deberá realizarse también la secuenciación de nucleótidos del gen de hemaglutinina para determinar si hay abundancia o no de aminoácidos básicos en el punto de corte de la proteína de hemaglutinina.

## CAPÍTULO 4

### **Pruebas serológicas para la detección de anticuerpos del virus de la influenza aviar**

1. Tratándose de programas de erradicación en los que el subtipo H del virus ya se conoce, el control serológico para poner de manifiesto la infección puede llevarse a cabo mediante pruebas de inhibición de la hemaglutinación realizadas de acuerdo con los capítulos 5 y 6, o utilizando el virus homólogo como antígeno.

Si el subtipo de hemaglutinina no se conoce, la prueba de que la infección es producida por virus de la influenza A podrá obtenerse detectando anticuerpos dirigidos a los antígenos específicos de grupo. Con ese fin podrá emplearse una prueba de inmunodifusión doble (tal como se describe en el capítulo 9 del presente Anexo) o una prueba ELISA (ésta presenta el inconveniente de la especificidad del hospedador de la prueba ya que depende de la detección de las inmunoglobulinas del hospedador). Las aves acuáticas raras veces dan resultados positivos al practicarse pruebas de inmunodifusión doble y, a menos que se conozca el subtipo, es probable que tales aves sólo puedan examinarse para comprobar la presencia de anticuerpos contra los subtipos H 5 y H 7.

#### 2. a) Muestras

Deberán tomarse muestras de sangre de todas las aves cuando la manada esté compuesta de menos de 20 animales y muestras de 20 aves cuando la manada sea mayor (de este modo, la probabilidad de detectar al menos un suero positivo será superior al 99 % si el 25 % o más de la manada es positivo, independientemente del tamaño de ésta). Deberá dejarse que la sangre se coagule y se extraerá el suero para la prueba.

#### b) Examen de los anticuerpos

Se probará la capacidad de las muestras individuales de suero para inhibir el antígeno hemaglutinante del virus de la influenza aviar en pruebas estándar de inhibición de la hemaglutinación efectuadas de acuerdo con el capítulo 6.

Dado que las opiniones difieren en cuanto a la utilización de 4 u 8 unidades de hemaglutinina en la prueba de inhibición de la hemaglutinación, y como al parecer ambas dosis son válidas, la elección debería dejarse al arbitrio de los laboratorios nacionales. Téngase en cuenta, sin embargo, que del antígeno utilizado dependerá el nivel en el que un suero sea considerado positivo: con 4 unidades de hemaglutinina un suero se considerará positivo cuando presente un título superior o igual a 2<sup>4</sup>, mientras que con 8 unidades el título deberá ser igual o superior a 2<sup>3</sup>.

## CAPÍTULO 5

### **Prueba de hemaglutinación (HA)**

#### *Reactivos*

1) Solución salina isotónica amortiguadora de fosfato (0,05 M) de pH 7,0 a 7,4.

- 2) Hematíes extraídos de un mínimo de tres pollitos exentos de patógenos específicos (a falta de éstos, podrá utilizarse sangre de aves que hayan estado bajo control regular y que estén exentas de anticuerpos del virus de la influenza aviar) reunidos y mezclados a partes iguales con solución de Alsever. Antes de utilizarlos, los hematíes deberán lavarse tres veces en la solución salina isotónica amortiguadora de fosfato (SSIAF). Para la prueba, se recomienda una suspensión en SSIAF al 1 % (hematíes empaquetados v/v).
- 3) El laboratorio comunitario de referencia suministrará virus H 5 o H 7 de bajo poder patógeno o recomendará su utilización como antígeno estándar.

#### *Procedimiento*

- 1) Distribuir 0,025 ml de SSIAF en cada uno de los pocillos de una placa de microtitulación (utilizar pocillos con fondo en V).
- 2) Introducir 0,025 ml de suspensión de virus (es decir, fluido alantoideo) en el primer pocillo.
- 3) Utilícese una micropipeta para hacer diluciones del virus a la mitad (de 1:2 a 1:4096) en toda la placa.
- 4) Distribuir otros 0,025 ml de SSIAF en cada pocillo.
- 5) Añadir 0,025 ml de una suspensión al 1 % de hematíes a cada pocillo.
- 6) Homogeneizar golpeando ligeramente la placa y refrigerarla a 4° C.
- 7) Examinar las placas después de 30 o 40 minutos cuando se hayan sedimentado los hematíes de control. El examen se efectuará inclinando la placa y observando la presencia o ausencia de un movimiento de los hematíes en forma de lágrima. Los pocillos en los que no se haya producido la hemaglutinación deberán presentar un movimiento similar al de los pocillos de control que no contengan virus.
- 8) El título de hemaglutinación será la mayor dilución que produzca la aglutinación de los hematíes. Puede considerarse que tal dilución contiene una unidad de hemaglutinación. Otro método más preciso para determinar el título de hemaglutinación consiste en realizar pruebas de hemaglutinación con virus en una gama de diluciones iniciales muy cercanas entre sí, por ejemplo, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, etc. Este método se recomienda para preparar con gran precisión antígenos para las pruebas de inhibición de la hemaglutinación (capítulo 6).

## CAPÍTULO 6

### **Prueba de inhibición de la hemaglutinación (IH)**

#### *Reactivos*

- 1) Solución amortiguadora de fosfato (SSIAF).
- 2) Fluido alantoideo que contenga el virus, diluido con SSIAF hasta que contenga 4 u 8 unidades de hemaglutinación por cada 0,025 ml.
- 3) Suspensión de hematíes de pollito al 1 %.
- 4) Suero de pollito de control negativo.
- 5) Suero de control positivo.

#### *Procedimiento*

- 1) Distribuir 0,025 ml de SSIAF en cada uno de los pocillos de una placa de microtitulación de plástico (utilizar pocillos con fondo en V).

- 2) Introducir 0,025 ml de suero en el primer pocillo de la placa.
- 3) Utilizar una micropipeta para hacer diluciones a la mitad del suero en toda la placa.
- 4) Añadir 0,025 ml de fluido alantoideo diluido que contenga 4 u 8 unidades de hemaglutinación.
- 5) Homogeneizar golpeando ligeramente la placa y refrigerarla a 4 °C durante al menos 60 minutos o dejarla a temperatura ambiente durante 30 minutos como mínimo.
- 6) Añadir 0,025 ml de suspensión de hematíes al 1 % a todos los pocillos.
- 7) Homogeneizar golpeando ligeramente las placas y refrigerarlas a 4 °C.
- 8) Examinar las placas después de 30 a 40 minutos cuando se hayan sedimentado los hematíes de control. El examen se efectuará inclinando las placas y observando la presencia o ausencia de un movimiento en forma de lágrima similar al de los pocillos de control que contengan hematíes (0,025 ml) y SSIAF (0,05 ml) solamente.
- 9) El título de inhibición de la hemaglutinación será la mayor dilución del antisuero que produzca una inhibición completa de 4 u 8 unidades de virus (en todas las pruebas deberá incluirse una titulación de hemaglutinación para confirmar la presencia de las unidades de hemaglutinación necesarias).
- 10) La validez de los resultados dependerá de la obtención de un título de menos de 2<sup>3</sup> para 4 unidades de hemaglutinación o de 2<sup>2</sup> para 8 unidades de hemaglutinación con el suero de control negativo y de un título que esté entre el doble y la mitad (un orden de dilución) del título conocido del suero de control positivo.

## CAPÍTULO 7

### Índice de patogenicidad intravenosa (IPIV)

- 1) Diluir a 10<sup>-1</sup> fluido alantoideo infeccioso del pase más bajo posible, preferentemente del aislamiento inicial y sin selección alguna, en una solución salina isotónica esterilizada.
- 2) Inyectar por vía intravenosa en cada uno de los diez pollitos de seis semanas de edad (deberán utilizarse aves libres de patógenos específicos) 0,1 ml de virus diluido.
- 3) Examinar las aves cada 24 horas durante diez días.
- 4) Puntuar todas las aves en cada examen: 0 = normal, 1 = enferma, 2 = gravemente enferma y 3 = muerta.
- 5) Anotar los resultados y calcular el índice del siguiente modo:

Síntomas clínicos	Días después de la inoculación										Puntuación	total
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
normal	10	2	0	0	0	0	0	0	0	0	12 × 0	= 0
enferma	0	4	2	0	0	0	0	0	0	0	6 × 1	= 6
gravemente enferma (*)	0	2	2	2	0	0	0	0	0	0	6 × 2	= 12
muerta	0	2	6	8	10	10	10	10	10	10	76 × 3	= 228
											Total	= 246

El índice será la puntuación media por ave y por observación =  $\frac{246}{100} = 2,46$ .

(\*) Se trata de un diagnóstico subjetivo que en general se aplicará a las aves que presenten más de uno de los síntomas siguientes: problemas respiratorios, depresión, diarrea, cianosis en la piel no recubierta o en las barbillas, edema en la cara o en la cabeza o signos nerviosos.

## CAPÍTULO 8

**Evaluación de la capacidad de formación de placas**

- 1) Normalmente, lo más conveniente es utilizar una serie de diluciones del virus a fin de obtener un número adecuado de placas en el cultivo. Bastará con diluciones decimales hasta llegar a una concentración de  $10^{-7}$  en SSIAF.
- 2) Preparar capas monocelulares confluentes de células de embrión de pollo o una línea celular apropiada (por ejemplo, la línea de riñón de bovino de Madin-Darby) en placas de Petri de 5 cm de diámetro.
- 3) Introducir 0,2 ml de cada dilución de virus en dos placas de Petri y esperar 30 minutos para que el virus se absorba.
- 4) Tras lavar tres veces con SSIAF las células infectadas, se cubrirán con un medio apropiado que contenga agar al 1 % p/v (también puede añadirse 0,01 mg/ml de tripsina). Es importante no añadir suero al medio de recubrimiento.
- 5) Tras 72 horas de incubación a 37 °C, las placas habrán alcanzado un tamaño adecuado. Para observarlas, conviene retirar la capa de agar y teñir la capa monocelular con violeta cristal (0,5 % p/v) en etanol al 25 % (v/v).
- 6) Todos los virus incubados con tripsina en el medio producirán placas claras. Por el contrario, a falta de tripsina, sólo producirán placas los virus que resulten virulentos para los pollitos.

## CAPÍTULO 9

**Inmunodifusión doble**

El método preferido para determinar la presencia del virus de la influenza A consiste en demostrar la existencia de antígenos de la nucleocápsida o de la matriz, que se hallan presentes en todos los virus de la influenza A. Tal demostración se realiza generalmente mediante pruebas de inmunodifusión doble, para las que se necesitan preparaciones de virus concentrados o extractos de membranas corioalantoideas infectadas.

Una preparación adecuada de virus concentrados puede conseguirse sencillamente centrifugando a alta velocidad fluido alantoideo infeccioso y disgregando los virus con detergente de laurilsarcosinato sódico para liberar los antígenos internos de la nucleocápsida y de la matriz. También puede recurrirse a la precipitación ácida añadiendo CIH 1N al fluido alantoideo infeccioso hasta obtener un pH final comprendido entre 3,5 y 4,0; se enfría luego durante al menos una hora a 0 °C y se centrifuga a baja velocidad (1 000 g) durante diez minutos. Se puede retirar el sobrenadante y resuspender el precipitado que contiene los virus en un volumen mínimo de solución amortiguadora de glicinasarcosilo (laurilsarcosinato sódico al 1 % ajustado a pH 9,0 con glicina 0,5 M). Esta preparación contiene antígenos de la nucleocápsida y de la matriz.

En 1970, Beard describió la preparación de un producto enriquecido en antígenos de nucleocápsida a partir de membranas corioalantoideas procedentes de huevos infectados. Este método comprende los siguientes pasos: retirar las membranas corioalantoideas de huevos infectados que den positivo a la prueba de hemaglutinina, triturar u homogeneizar las membranas, congelar y descongelar tres veces y centrifugar a continuación a 1 000 g durante diez minutos. Se retira el precipitado y se trata el sobrenadante con formol al 0,1 % para utilizarlo como antígeno.

Cualquiera de estos dos antígenos puede utilizarse en las pruebas de inmunodifusión doble empleando geles de agarosa o agar al 1 % que contengan un 8,0 % de cloruro sódico en una solución amortiguadora de fosfato 0,1 M de pH 7,2. La presencia del virus de la influenza A queda confirmada cuando las líneas de precipitación formadas por el antígeno problema y el antígeno positivo conocido frente al antisuero positivo conocido se unen para dar una línea de identidad.

## ANEXO II

## Lista de laboratorios nacionales para la influenza aviar

Bélgica	Institut national de recherches vétérinaires, Groeselenberg 99, B-1180 Bruxelles
Dinamarca	National Veterinary Laboratory, Poultry Disease Division, Høngøvej 2, DK-8200 Århus N.
Alemania	Institut für Kleintierzucht der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft, Braunschweig-Völkenrode, Postfach 280, D-3100 Celle
Grecia	
España	
Francia	Centre national d'études vétérinaires et alimentation — Laboratoire central de recherches agricoles et porcines, BP 53, F-22440 Ploufragan
Irlanda	Veterinary Research Laboratory, Abbotstown, Castleknock, IRL-Dublin 15
Italia	Istituto patologia Aviaria, Facoltà di medicina veterinaria, Università di Napoli, Via Aniezzo Falcone 394, I-80127 Napoli F Delpino 1
Luxemburgo	Institut national de recherches vétérinaires, Groeselenberg 99, B-1180 Bruxelles
Países Bajos	Centraal Diergeneeskundig Instituut, Vestiging Virologie, Hourtribweg 39, NL-8221 RA Lelystad
Portugal	Laboratório Nacional de Investigação Veterinária (LNIV), Estrada de Benfica 701, P-1500 Lisboa
Reino Unido	Central Veterinary Laboratory, New Haw, Weybridge, UK-Surrey KT15 3NB

## ANEXO III

## Nombre del laboratorio comunitario de referencia para la influenza aviar

Central Veterinary Laboratory  
 New Haw  
 Weybridge  
 UK-Surrey KT15 3NB.

## ¿Qué es el Taric?

- La nomenclatura combinada (NC) que constituye la base del Taric es el resultado de la fusión de los reglamentos anuales que modifican el arancel aduanero común (AAC) [Reglamento (CEE) nº 950/68] y la nomenclatura de las mercancías para las estadísticas del comercio exterior de la Comunidad y del comercio entre sus Estados miembros (Nimexe) [Reglamento (CEE) nº 1445/72]
- El Taric contiene además subdivisiones debidas en su mayor parte a
  - los contingentes y las suspensiones arancelarias
  - las preferencias arancelarias
  - los derechos antidumping y los derechos compensadores
  - los elementos variables
  - los montantes compensatorios monetarios y de adhesión
  - los precios de referencia del vino
  - las medidas de vigilancia las restricciones y los límites cuantitativos
- El Taric también servirá de base para
  - todas las medidas sobre importación de la Comunidad y
  - los aranceles de uso y los archivos arancelarios de los Estados miembros
- Efectivamente la única manera de asegurar una presentación y una aplicación de la legislación comunitaria es que la Comisión realice el trabajo de integración y codificación de las medidas anteriormente mencionadas. Esto permitirá recoger estadísticas a nivel comunitario relativas a dichas medidas eliminando de esa forma la necesidad actual de informar por medio de estadísticas separadas
- El Taric se ha creado para desempeñar las funciones de integración y codificación anteriormente mencionadas. Los frecuentes cambios que se producen en la legislación comunitaria se registran en una base de datos que se actualiza continuamente. La Oficina de Publicaciones Oficiales de las Comunidades Europeas publicará el Taric. Las modificaciones se comunicarán con la mayor brevedad posible a los Estados miembros que de esa forma podrán realizar las modificaciones necesarias en sus respectivos aranceles de uso y archivos arancelarios. El Taric al igual que los aranceles de uso nacional no tiene carácter de documento legal pero sus códigos habrán de utilizarse en las declaraciones en aduana y en la declaración estadística [véase el artículo 5 del Reglamento (CEE) nº 2658/87]

### HOJA DE PEDIDO

**Remítase a:**

**Oficina de Publicaciones Oficiales de las Comunidades Europeas**  
**L-2985 Luxembourg**  
**Tel. 49 92 81**

Deseo obtener el Taric (4 volúmenes)

Nº de catálogo CQ-67-91-000-ES-C

ISBN 927 772 0050

*Precio de los 4 volúmenes 160,00 ecus*

*a título indicativo*

*20 800 pta (IVA y gastos de envío excluidos)*

Pago a la recepción de la factura

Apellidos

Nombre

Calle

Nº

Código postal

Ciudad

Tel

Fecha



OFICINA DE PUBLICACIONES OFICIALES  
DE LAS COMUNIDADES EUROPEAS

L-2985 Luxembourg

(Firma)