

KOMISJONI OTSUS,

10. detsember 2008,

millega muudetakse nõukogu direktiivi 64/432/EMÜ C lisa ja otsust 2004/226/EÜ veiste brutselloosi diagnostiliste testide osas

(teatavaks tehtud numbri K(2008) 7642 all)

(EMPs kohaldatav tekst)

(2008/984/EÜ)

EUROOPA ÜHENDUSTE KOMISJON,

võttes arvesse Euroopa Ühenduse asutamislepingut,

võttes arvesse nõukogu 26. juuni 1964. aasta direktiivi 64/432/EMÜ ühendusesisest veiste ja sigadega kauplemist mõjutavate loomatervishoiu probleemide kohta, ⁽¹⁾ eriti selle artikli 6 lõike 2 punkti b ja artikli 16 lõike 1 teist lõiku,

ning arvestades järgmist:

- (1) Direktiivi 64/432/EMÜ C lisa on sätestatud diagnostikameetodid, mis reguleerivad veiste brutselloosi tõrjet ja likvideerimist, järelvalvet ja seiret ning ametlikult brutselloosivaba karja staatuse rajamist ja säilitamist, aga ka ühendusesiseseks veistega kauplemiseks nõutavat sertifitseerimist.
- (2) Komisjoni 4. märtsi 2004. aasta otsusega 2004/226/EÜ, millega kiidetakse nõukogu direktiivi 64/432/EMÜ raames heaks testid veiste brutselloosi antikehade avastamiseks, ⁽²⁾ on heaks kiidetud teatavad testid veiste brutselloosi kindlakstegemiseks, mida võib kasutada alternatiivina kohustuslikule seerumi aglutinatsiooni testile (SAT), mis on kasutusel veiste sertifitseerimiseks vastavalt direktiivi 64/432/EMÜ artikli 6 lõike 2 punktile b.
- (3) Fluorestsentspolarisatsioon-analüüs (FPA) on uus diagnostiline test, mis on lisatud rahvusvahelise kauplemise raames ettenähtud testina Maailma Loomatervishoiu Organisatsiooni maismaaloomade diagnostiliste testide ja vaktsiinide käsiraamatu „Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals” kuuenda väljaande (2008) peatükki 2.4.3 (veiste brutselloos).
- (4) Komisjon palus Euroopa Toiduohutusameti (EFSA) teaduslikku arvamust FPA sobilikkuse kohta direktiivi 64/432/EMÜ C lissasse kandmiseks.

- (5) Lisaks palus komisjon Euroopa Toiduohutusametil (EFSA) hinnata FPA ja otsuse 2004/226/EÜ artiklis 1 loetletud testide sobivust veiste sertifitseerimiseks ühendusesisese kauplemise raames.

- (6) Loomatervishoiu ja loomade heaolu komisjon võttis 11. detsembril 2006. aastal vastu veiste brutselloosi diagnostikameetodeid käsitleva teadusliku arvamuse, ⁽³⁾ milles järeldati, et direktiivi 64/432/EMÜ C lisa kirjeldatud veiste brutselloosi diagnostilisi teste, välja arvatud SAT, sobib jätkuvalt kasutada standardsete testidena üksikute veiste sertifitseerimiseks ühendusesisese kauplemise raames.

- (7) Direktiivi 64/432/EMÜ artikli 6 lõike 2 punktiga b on aga otseselt ette nähtud, et kariloomadega kauplemisel on transportimisele eelneva testina kasutusel SAT; seepärast tuleb kõnealuse direktiivi C lisa esitada selle tehniline kirjeldus.

- (8) Lisaks järeldati 11. detsembri 2006. aasta teaduslikus arvamuses, et FPA tundlikkus ja spetsiifilisus on võrreldavad direktiivi 64/432/EMÜ C lisa kirjeldatud testide vastavate näitajatega ning leiti, et ka FPA sobib kandmiseks eespool nimetatud lissasse kõnealustel loomadel brutselloosi diagnoosimise standardse testina ühendusesisese kauplemise raames.

- (9) Rahvusvahelise Loomatervishoiu Organisatsiooni maismaaloomade diagnostiliste testide ja vaktsiinide käsiraamatu „Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals” kuuenda väljaande (2008) peatüki 2.4.3 punkti 1 alapunktis d on kirjeldatud hiljuti välja töötatud polümeraasi ahelreaktsiooni meetodeid, mis pakuvad lisavõimalusi *Brucella* spp. avastamiseks ja identifitseerimiseks ning seetõttu tuleks need kanda direktiivi 64/432/EMÜ C lissasse.

- (10) Direktiivi 64/432/EMÜ C lisa ja otsust 2004/226/EÜ tuleks seepärast vastavalt muuta.

- (11) Käesoleva otsusega ette nähtud meetmed on kooskõlas toiduahela ja loomatervishoiu alalise komitee arvamusega,

⁽¹⁾ EÜT 121, 29.7.1964, lk 1977/64.

⁽²⁾ ELT L 68, 6.3.2004, lk 36.

⁽³⁾ http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1178620772731.htm

ON VASTU VÕTNUD KÄESOLEVA OTSUSE:

Artikkel 1

Direktiivi 64/432/EMÜ C lisa muudetakse vastavalt käesoleva otsuse lisale.

Artikkel 2

Otsuse 2004/226/EÜ artikkel 1 asendatakse järgmisega:

„Artikkel 1

Sertifitseerimise eesmärgil kiidetakse heaks direktiivi 64/432/EMÜ C lisa kohaselt läbiviidud komplemendi sidu-

mise test, puhverdatud *brutsella*-antigeeni test (Rose Bengali test (RBT)), ELISA testid ja fluorestsentspolarisatsioon-analüüs (FPA).”

Artikkel 3

Käesolev otsus on adresseeritud liikmesriikidele.

Brüssel, 10. detsember 2008

Komisjoni nimel
komisjoni liige
Androulla VASSILIOU

LISA

1) Direktiivi 64/432/EMÜ C lisa punktid 1, 2 ja 3 asendatakse järgmisega:

„C LISA

BRUTSELLOOS**1. NAKKUSETEKITAJA IDENTIFITSEERIMINE**

Kui aborteerunud loodetes ja lootekestades, tupest väljuvates eritistes või piimas tehakse modifitseeritud happekindlate bakterite kiirvärvimise või organismide immunospetsiifilise värvimise teel kindlaks *Brucella* morfoloogiaga organisme, on tõenäoliselt tegemist brutselloosiga, eriti kui seda kinnitavad seroloogilised testid. Polümeraasi ahelreaktsiooni (PCR) meetodid pakuvad lisavõimalusi nende organismide avastamiseks.

Võimaluse korral tuleks *Brucella* spp. eraldada emakast väljuvate eritiste, aborteerunud loodete, udarast väljuvate eritiste või lümfisõlmedest, isas- ja emassuguelunditest võetud proovi külviga põhi- või selektiivsöötmetele.

Pärast eraldamist tuleb liigid ja biotüübid identifitseerida fagotüüpiseerimise ja/või oksüdatiivsete metabolismi-testide ning kasvuomaduste, biokeemiliste ja seroloogiliste kriteeriumide alusel. Polümeraasi ahelreaktsioon (PCR) võimaldab kasutada nii komplementaarset meetodit kui ka konkreetsest genoomsest järjestusest lähtuvat biotüüpiseerimist.

Kasutatavad meetodid ja söötmed, nende standardimine ja tulemuste tõlgendamine peavad vastama Rahvusvahelise Loomatervishoiu Organisatsiooni maismaaloomade diagnostiliste testide ja vaktsiinide käsiraamatu „Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals” kuuenda väljaande (2008) peatükis 2.4.3 (veiste brutselloos), peatükis 2.7.2 (kitsede ja lammaste brutselloos) ja peatükis 2.8.5 (sigade brutselloos) kindlaksmääratule.

2. IMMUNOLOOGILISED TESTID**2.1. Standardid**

2.1.1. Köikide Rose Bengali testis (RBT), seerumi aglutinatsiooni testis (SAT), komplemendi sidumise testis (CFT) ja piima ringtestis (MRT) kasutatud antigeenide valmistamisel tuleb kasutada *Brucella abortus*’e biotüübi 1 Weybridge-tüve nr 99 või USDA-tüve 1119-3.

2.1.2. RBT, SAT, CFT ja MRT standardne võrdlusseerum on Rahvusvahelise Loomatervishoiu Organisatsiooni rahvusvaheline standardne võrdlusseerum (OIEISS), mida varem nimetati Maailma Tervishoiuorganisatsiooni (WHO) teiseks rahvusvaheliseks brutselloosse abordi vastaseks seerumiks (ISAbs).

2.1.3. ELISA testide (ensüümsete immunosorbenttestide) standardsed võrdlusseerumid on:

— OIEISS;

— nõrk positiivne OIE ELISA standardseerum (OIEELISA_{WP}SS);

— tugev positiivne OIE ELISA standardseerum (OIEELISA_{SP}SS);

— negatiivne OIE ELISA standardseerum (OIEELISA_NSS).

2.1.4. Fluorestsentspolarisatsioon-analüüsi (FPA) standardsed võrdlusseerumid on:

— nõrk positiivne OIE ELISA standardseerum (OIEELISA_{WP}SS);

— tugev positiivne OIE ELISA standardseerum (OIEELISA_{SP}SS);

— negatiivne OIE ELISA standardseerum (OIEELISA_NSS).

2.1.5. Punktides 2.1.3 ja 2.1.4 loetletud standardseerumid on kättesaadavad ühenduse brutselloosi tugilaboris või Ühendkuningriigis Weybridge’is asuvas Veterinary Laboratories Agency’s (VLA).

- 2.1.6. OIEISS, OIEELISA_{WP}SS, OIEELISA_{SP}SS ja OIEELISA_NSS on rahvusvahelised esmased standardid, mille põhjal luuakse liikmesriikides iga punktis 2.1.1 nimetatud testi jaoks teised riiklikud standardseerumid („tööstandardid“).
- 2.2. **Ensüümsed immunosorbenttestid (ELISA) või muud seondumistestid veiste brutselloosi määramiseks seerumis või piimas.**
- 2.2.1. *Materjal ja reagentid*
- Kasutatud meetod ja tulemuste tõlgendamine peavad olema kinnitatud vastavalt Rahvusvahelise Loomatervis-
hoiu Organisatsiooni maismaaloomade diagnostiliste testide ja vaktsiinide käsiraamatu „Manual of Diagnostic
Tests and Vaccines for Terrestrial Animals” kuuenda väljaande (2008) peatükis 1.1.4 sätestatud põhimõtetele
ning sisaldama vähemalt laboratoorseid ja diagnostilisi uuringuid.
- 2.2.2. *Testi standardimine*
- 2.2.2.1. Üksikute seerumiproovide katsemenetluse standardimine:
- a) positiivne: 1/150 OIEISS eellahjendus⁽¹⁾ või 1/2 OIEELISA_{WP}SS või 1/16 OIEELISA_{SP}SS eellahjendus
negatiivses seerumis (või negatiivsete seerumite koondproovis) peab andma positiivse reaktsiooni;
- b) ebaselge: 1/600 OIEISS või 1/8 OIEELISA_{WP}SS või 1/64 OIEELISA_{SP}SS eellahjendus negatiivses seerumis
(või negatiivsete seerumite koondproovis) peab andma negatiivse reaktsiooni;
- c) negatiivne: OIEELISA_NSS peab alati andma negatiivse reaktsiooni.
- 2.2.2.2. Seerumi koondproovide katsemenetluse standardimine:
- a) positiivne: 1/150 OIEISS või 1/2 OIEELISA_{WP}SS või 1/16 OIEELISA_{SP}SS eellahjendus negatiivses seerumis
(või negatiivsete seerumite koondproovis), negatiivses seerumis edasi lahjendatud nii mitu korda, kui
koondproovis on proove, peab andma positiivse reaktsiooni;
- b) ebaselge: OIEELISA_NSS peab alati andma negatiivse reaktsiooni;
- c) negatiivne: test peab võimaldama tuvastada ühe looma nakatumist loomade hulgas, kelle seerumiproovid
on kokku pandud.
- 2.2.2.3. Piima või vadaku koondproovide katsemenetluse standardimine:
- a) positiivne: 1/1 000 OIEISS või 1/16 OIEELISA_{WP}SS või 1/125 OIEELISA_{SP}SS eellahjendus negatiivses
seerumis (või negatiivsete seerumite koondproovis), uuesti lahjendatud 1/10 negatiivses piimas, peab
andma positiivse reaktsiooni;
- b) OIEELISA_NSS lahjendus 1/10 negatiivses piimas peab alati andma negatiivse reaktsiooni;
- c) test peab võimaldama tuvastada ühe looma nakatumist loomade hulgas, kelle piimaproovid on kokku pandud.
- 2.2.3. *ELISA kasutustingimused veiste brutselloosi diagnoosimisel:*
- 2.2.3.1. Kasutades punktides 2.2.2.1 ja 2.2.2.2 nimetatud kaliibrimistingimusi seerumiproovidega läbiviidava ELISA
puhul, peab ELISA diagnostiline tundlikkus olema sama suur või suurem kui RBT või CFT puhul, võttes
arvesse epidemioloogilist olukorda, milles teste kasutatakse.
- 2.2.3.2. Kasutades punktis 2.2.2.3 nimetatud ELISA kaliibrimistingimusi piima koondproovi puhul, peab ELISA diag-
nostiline tundlikkus olema sama suur või suurem kui MRT-l, võttes lisaks epidemioloogilisele olukorrale
arvesse ka keskmisi ja eeldatavaid äärmuslikke loomakasvatussüsteeme.
- 2.2.3.3. Kui ELISA-d kasutatakse vastavalt artikli 6 lõikele 1 sertifitseerimiseks või vastavalt A lisa II osa punktile 10
karja staatuse määramiseks ja säilitamiseks, tuleb seerumi proovid kokku panna nii, et testi tulemusi on
võimalik kindlalt seostada konkreetse loomaga, kelle proov on kogumisse lisatud. Tulemuse kinnitamise testid
tuleb läbi viia konkreetsetelt loomadelt võetud seerumiga.

⁽¹⁾ Käesolevas lisas on lahjendused vedela reaktiivi saamiseks väljendatud näiteks selliselt, 1/150 tähistab lahjendusastet 1: 150.

2.2.3.4. ELISAd võib kasutada piimaproovide puhul, mis on kogutud põllumajandusettevõttest, kus vähemalt 30 % lehmadest on lüpsilehmad. Sellise meetodi puhul tuleb võtta vajalikud meetmed tagamaks, et kontrollitavaid proove on võimalik kindlalt seostada üksikute loomadega, kellelt on pärit konkreetsetes testis kasutatud piim. Tulemuse kinnitamise testid tuleb läbi viia konkreetsetelt loomadelt võetud seerumiga.

2.3. **Komplemendi sidumise test (CFT)**

2.3.1. Antigeen on baktersistensioon fenooli soolalahuses (NaCl 0,85 % (mass/maht) ja fenooli 0,5 % (mahuprotsent)) või veronaali puhverlahuses. Antigeene võib tarnida kontsentreeritult, tingimusel et pudeli etiketile on märgitud kasutatav lahendusaste. Antigeen peab olema ladustatud temperatuuril 4 °C ning seda ei tohi külmutada.

2.3.2. Seerumeid tuleb inaktiveerida järgmiselt:

— veiseseerum: 30–50 minutit temperatuuril 56–60 °C;

— seaseerum: 30–50 minutit temperatuuril 60 °C.

2.3.3. Katsemenetluse raames tegeliku reaktsiooni saamiseks tuleb kasutada komplemendi doosi, mis on suurem kui kogu hemolüüsi jaoks vajaminev miinimumdoos.

2.3.4. Komplemendi sidumise testi tegemisel tuleb teha iga kord järgmised kontrollid:

- a) seerumi antikomplementaarse toime kontroll;
- b) antigeeni kontroll;
- c) sensibiliseeritud erütrotsüütide kontroll;
- d) komplemendi kontroll;
- e) kontroll, mis tehakse positiivse seerumiga, et kontrollida tundlikkust reaktsiooni alguses;
- f) reaktsiooni spetsiifilisuse kontroll negatiivse seerumi abil.

2.3.5. *Tulemuste arvutamine*

OIEISS sisaldab 1 000 rahvusvahelist aglutinatsiooniühikut (ICFTU) milliliitri kohta. Kui OIEISSi testitakse teatava meetodiga, esitatakse tulemus tiitrina (s.o OIEISSi kõrgeim otsene lahus, mis annab tulemuseks 50 % hemolüüsi, T_{OIEISS}). Testseerumi tiitrina ($T_{\text{TESTSEERUM}}$) esitatud testitulemus peab olema esitatud ühikutes ICFTU/ml. Tiiter tuleb ümber arvestada ICFTUks. Selle meetodiga testitud tundmatu testseerumi ($T_{\text{TESTSEERUM}}$) tiitri ümberarvestamiseks ICFTUks on vaja faktorit (F), mis leitakse järgmise valemi abil:

$$F = 1\,000 \times 1/T_{\text{OIEISS}}$$

ning rahvusvaheliste CFT ühikute kogus testseerumi ($\text{ICFTU}_{\text{TESTSEERUM}}$) milliliitri kohta valemiga:

$$\text{ICFTU}_{\text{TESTSEERUM}} = F \times T_{\text{TESTSEERUM}}$$

2.3.6. *Tulemuste tõlgendamine*

Positiivsena käsitatakse seerumit, mis sisaldab vähemalt 20 ICFTU/ml.

2.4. **Piima ringtest (MRT)**

2.4.1. Antigeen on baktersistensioon fenooli soolalahuses (NaCl 0,85 % (m/v) ja fenool 0,5 % (v/v)), mida on värvitud hematoksyliiniga. Antigeen peab olema ladustatud temperatuuril 4 °C ning seda ei tohi külmutada.

2.4.2. Antigeeni tundlikkus peab olema OIEISS suhtes standarditud sellisel, et antigeen annab OIEISS lahjendusega 1/500 negatiivses piimas positiivse reaktsiooni ja lahjendusega 1/1 000 negatiivse reaktsiooni.

- 2.4.3. Piima ringtest viiakse läbi proovidega, mis esindavad põllumajandusettevõtte iga piimanõu ja piimatsisterni sisu.
- 2.4.4. Piimaproovid ei tohi olla külmutatud, kuumutatud ega tugevasti raputatud.
- 2.4.5. Reaktsioon viiakse läbi ühega järgmistest meetoditest:
- vähemalt 25 mm kõrgusel piimasambal ja 1 ml piimal, millele on lisatud 0,03 ml või 0,05 ml ühte standarditud värvitud antigeeni;
 - vähemalt 25 mm kõrgusel piimasambal ja 2 ml piimal, millele on lisatud 0,05 ml ühte standarditud värvitud antigeeni;
 - 8 ml piimal, millele on lisatud 0,08 ml ühte standarditud värvitud antigeeni.
- 2.4.6. Piima ja antigeeni segu tuleb inkubeerida 60 minutit temperatuuril 37 °C koos positiivsete ja negatiivsete tööstandarditega. Sellele järgnev 16–24tunnine inkubeerimine temperatuuril 4 °C suurendab testi tundlikkust.
- 2.4.7. Tulemuste tõlgendamine:
- a) negatiivne reaktsioon: värvunud piim, värvitu koor;
 - b) positiivne reaktsioon:
 - piim ja koor värvuvad ühtemoodi või
 - värvitu piim ja värvunud koor.
- 2.5. **Puhverdatud *Brucella* antigeeni test (Rose Bengali test (RBT))**
- 2.5.1. Antigeen on Rose Bengali värvainega värvitud baktersistensioon puhverdatud *Brucella* antigeeni lahjendusvedelikus pHga $3,65 \pm 0,05$. Antigeen toimetatakse kohale kasutamiskvaliteetina ning seda tuleb hoida temperatuuril 4 °C ning seda ei tohi külmutada.
- 2.5.2. Antigeeni valmistamisel ei võeta arvesse rakukontsentratsiooni, kuid selle tundlikkus tuleb OIEISS suhtes standardida nii, et antigeen annab positiivse reaktsiooni seerumi lahjenduse 1/45 juures ja negatiivse reaktsiooni lahjenduse 1/55 juures.
- 2.5.3. RBT viiakse läbi järgmiselt:
- a) seerum (20–30 µl) segatakse sama koguse antigeeniga valgel plaadil või emailitud alusel ligikaudu 2 cm diameetriga täpiks. Segu loksutatakse õrnalt 4 minutit ümbritseva õhu temperatuuril ning seejärel vaadeldakse aglutinatsiooni heas valguses;
 - b) võib kasutada automatiseeritud meetodit, kuid see peab olema sama tundlik ja täpne kui manuaalne meetod.
- 2.5.4. *Tulemuste tõlgendamine*
- Igasugust nähtavat reaktsiooni käsitatakse positiivseks, välja arvatud juhul, kui servad on ülemäära kuivanud.
- Iga testiseeria peaks hõlmama positiivseid ja negatiivseid tööstandardeid.
- 2.6. **Seerumi aglutinatsiooni test (SAT)**
- 2.6.1. Antigeen on baktersistensioon fenooli soolalahuses (NaCl 0,85 % (mass/maht) ja fenool 0,5 % (mahuprotsent)).
- Ei tohi kasutada formaldehüüdi.
- Antigene võib tarnida kontsentreeritult, tingimusel et pudeli etiketile on märgitud kasutatav lahjendusaste.
- Seerumi aglutinatsiooni testi valepositiivse taseme vähendamiseks võib antigeenilahusele lisada EDTAd nii, et tekib 5 mM lõpplahjendust. Seejärel tuleb antigeenilahuse pH-d uuesti kohandada, et see oleks 7,2.

- 2.6.2. OIEISS sisaldab 1 000 rahvusvahelist aglutinatsiooniühikut.
- 2.6.3. Antigeeni valmistamisel ei võeta arvesse rakukontsentratsiooni, kuid selle tundlikkus tuleb OIEISS suhtes standardida nii, et antigeen annab 50 % aglutinatsiooni lõpplahjenduse 1/600–1/1 000 juures ja 75 % aglutinatsiooni lõpplahjenduse 1/500–1/750 juures.

Samuti võib olla soovitatav võrrelda määratletud seerumite abil uute ja varem standarditud antigeenipartiide reaktsioonivõimet.

- 2.6.4. Test viiakse läbi katseklaasides või mikrotiiterplaatidel. Antigeeni ja seerumilahjenduse segu tuleb inkubeerida 16–24 tundi temperatuuril 37 °C.

Iga seerumi kohta tuleb valmistada vähemalt kolm lahjendust. Kahtlusalune seerum tuleb lahjendada nii, et nakatumispiiril oleva reaktsiooni näitu vaadatakse keskmisest katseklaasist (või august mikrotiiterplaadi puhul).

- 2.6.5. *Tulemuste tõlgendamine:*

Brucella aglutinatsiooni taset seerumis tuleb väljendada rahvusvahelistes ühikutes milliliitri kohta.

Positiivsena käsitatakse seerumit, mis sisaldab vähemalt 30 rahvusvahelist ühikut milliliitri kohta.

- 2.7. **Fluorestsentspolarisatsioon-analüüs (FPA)**

- 2.7.1. FPA viiakse läbi katseklaasides või 96 süvendiga plaadil. Kasutatavad meetodid, nende standardimine ja tulemuste tõlgendamine peavad vastama Rahvusvahelise Loomatervishoiu Organisatsiooni maismaaloomade diagnostiliste testide ja vaktsiinide käsiraamatu „Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals” kuuenda väljaande (2008) peatükis 2.4.3 (veiste brutselloos) kindlaksmääratule.

- 2.7.2. *Testi standardimine*

FPA standarditakse selliselt, et:

- a) OIEELISA_{Sp}SS ja OIEELISA_{Wp}SS annavad pidevalt positiivseid tulemusi;
- b) ebasele: 1/8 OIEELISA_{Wp}SS või 1/64 OIEELISA_{Sp}SS eellahjendus negatiivses seerumis (või negatiivsete seerumite koondproovis) annab alati negatiivse reaktsiooni;
- c) negatiivne: OIEELISA_NSS annab alati negatiivse reaktsiooni.

Iga testiseeria sisaldab järgmist: tugev positiivne, nõrk positiivne, negatiivne standardseerum (kaliibritud vastavalt OIE ELISA standardseerumitele).

3. TÄIENDAVALD TESTID

- 3.1. **Brutselloosi nahatest (BST)**

- 3.1.1. *BST kasutamise tingimused*

- a) Brutselloosi nahatesti ei kasutata sertifitseerimiseks ühendusesisese kaubanduse puhul.
- b) Brutselloosi nahatest on üks spetsiifilisemaid vaktsineerimata loomade brutselloosi tuvastamise teste, kuid siiski ei tohiks diagnoosida üksnes positiivse nahareaktsiooni põhjal.
- c) Veiseid, kelle puhul oli üks käesolevas lisas määratletud seroloogiline test negatiivne ja BST test positiivne, käsitletakse nakatununa või tõenäoliselt nakatununa.
- d) Veiste suhtes, kelle puhul oli üks käesolevas lisas määratletud seroloogiline test positiivne, võib seroloogilise testi tulemuste tõlgendamise toena kohaldada brutselloosi nahatesti, eelkõige juhul, kui ametlikult brutselloosist vabade või brutselloosist vabade karjade puhul ei ole võimalik välistada ristuvaid reaktsioone teiste bakterite antikehadega.

- 3.1.2. Test tuleb läbi viia kasutades standarditud ja määratletud brutselloosi allergeenpreparaati, mis ei sisalda siledapinnalist lipopolüsahhariidi (LPS) antigeeni, kuna see võib kutsuda esile mittespetsiifilise põletikulise reaktsiooni või mõjutada hiljem seroloogilisi katseid.

Brutselliini valmistamise tingimused on sätestatud Rahvusvahelise Loomatervishoiu Organisatsiooni maismaaloomade diagnostiliste testide ja vaktsiinide käsiraamatu „Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals” kuuenda väljaande (2008) peatüki 2.4.3 C1 jaos.

3.1.3. *Katsemenetlus*

- 3.1.3.1. 0,1 ml brutselloosi allergeeni süstitakse looma saba all asuvasse nahakurdu, kubemetükki või kaela.

- 3.1.3.2. Testi tulemusi kontrollitakse 48–72 tunni pärast.

- 3.1.3.3. Süstimiskoha nahapaksust mõõdetakse enne süstimist ja tulemuste kontrollimisel nihikuga.

- 3.1.3.4. Tulemuste tõlgendamine:

Tugeva reaktsiooni tunnuseks on süstimiskoha paisumine ja kõvaks muutumine.

BST reaktsiooni käsitatakse positiivsena, kui nahk pakseneb 1,5–2 mm.

3.2. **Võistlev ensüümne immunosorbenttest (cELISA)**

- 3.2.1. *cELISA kasutamise tingimused*

cELISAt ei kasutata sertifitseerimiseks ühendusesisese kaubanduse puhul.

Veiste suhtes, kelle puhul oli üks käesolevas lisas määratletud seroloogiline test positiivne, võib teiste seroloogiliste testide tulemuste tõlgendamise toena kohaldada cELISAt, eelkõige juhul, kui ametlikult brutselloosist vabade või brutselloosist vabade karjade puhul ei ole võimalik välistada ristuvaid reaktsioone teiste bakterite antikehadega või selleks, et välistada need reaktsioonid, mille on põhjustanud S19ga vaktsineerimise tagajärjel tekkinud antikehade jäägid.

3.2.2. *Katsemenetlus*

Test viiakse läbi vastavalt Rahvusvahelise Loomatervishoiu Organisatsiooni maismaaloomade diagnostiliste testide ja vaktsiinide käsiraamatu „Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals” kuuenda väljaande (2008) peatüki 2.4.3 B(2) jaos esitatud ettekirjutusele.”

- 2) Direktiivi 64/432/EMÜ C lisa punkt 4.1 asendatakse järgmisega:

„4.1. **Ülesanded ja kohustused**

Riikide tugilaborid vastutavad:

- a) liikmesriigis kasutatud katsemetodi usaldusväärsust kinnitavate valideerimise tulemuste heakskiitmise eest;
 - b) kasutatavatesse ELISA komplektidesse kogutavate proovide maksimumarvu kindlaksmääramise eest;
 - c) punktis 2.1.6 viidatud tööstandardite kalibreerimise eest;
 - d) liikmesriigis kasutatavate antigeenide ja ELISA komplektide partiide kvaliteedikontrolli eest;
 - e) ühenduse brutselloosi tugilabori soovitude järgimise ja laboriga tehtava koostöö eest.”
-