

KOMISIJOS SPRENDIMAS

2008 m. gruodžio 10 d.

iš dalies keičiantis Tarybos direktyvos 64/432/EEB C priedą ir Sprendimo 2004/226/EB nuostatas dėl galvijų bruceliozės diagnostinių tyrimų

(pranešta dokumentu Nr. C(2008) 7642)

(Tekstas svarbus EEE)

(2008/984/EB)

EUROPOS BENDRIJŲ KOMISIJA,

atsižvelgdama į Europos bendrijos steigimo sutartį,

atsižvelgdama į 1964 m. birželio 26 d. Tarybos direktyvą 64/432/EEB dėl gyvūnų sveikatos problemų, turinčių įtakos Bendrijos vidaus prekybai galvijais ir kiaulėmis⁽¹⁾, ypač į jos 6 straipsnio 2 dalies b punktą ir 16 straipsnio 1 dalies antrą pastraipą,

kadangi:

- (1) Direktyvos 64/432/EEB C priede nustatyti galvijų bruceliozės diagnostikos metodai, naudotini šiai ligai kontroliuoti, naikinti ir stebėti bei jos stebėsenai vykdyti, taip pat norint nustatyti ir išlaikyti oficialiai brucelioze neužkrėstos bandos statusą bei sertifikuojant Bendrijos vidaus prekybos galvijais reikmėms.
- (2) 2004 m. kovo 4 d. Komisijos sprendimu 2004/226/EB dėl galvijų bruceliozės antikūnų nustatymo tyrimų patvirtinimo pagal Tarybos direktyvą 64/432/EEB⁽²⁾ patvirtinti tam tikri galvijų bruceliozės diagnostiniai tyrimai, kuriuos galima atlikti vietoje privalomojo serumo agliutinacijos tyrimo (SAT), atliekamo galvijams sertifikuoti pagal Direktyvos 64/432/EEB 6 straipsnio 2 dalies b punktą.
- (3) Fluorescencijos poliarizacijos analizė (FPA) – tai naujas diagnostinis tyrimas, įtrauktas į Tarptautinio epizootijų biuro (TEB) Sausumos gyvūnų diagnostinių tyrimų ir vakcinų vadovo 2008 m. šeštojo leidimo 2.4.3 skyrių (galvijų bruceliozė) tarptautinės prekybos reikmėms atliekamų tyrimų sąrašą.
- (4) Komisija pateikė prašymą Europos maisto saugos tarnybai (EMST), kad ši tarnyba pateiktų mokslinę nuomonę dėl to, ar FPA yra tinkamas įtraukti į Direktyvos 64/432/EEB C priedą.

(5) Be to, Komisija pateikė EMST prašymą įvertinti, ar FPA ir Sprendimo 2004/226/EB 1 straipsnyje išvardyti tyrimai yra tinkami galvijams sertifikuoti Bendrijos vidaus prekybos reikmėms.

(6) 2006 m. gruodžio 11 d. Gyvūnų sveikatos ir gerovės grupė patvirtino mokslinę nuomonę dėl galvijų bruceliozės diagnostikos metodų⁽³⁾ ir šioje nuomonėje nurodė, kad visi į Direktyvos 64/432/EEB C priedą įtraukti galvijų bruceliozės diagnostiniai tyrimai, išskyrus SAT, yra tinkami toliau naudoti kaip standartiniai tyrimai, sertifikuojant atskirus galvijus Bendrijos vidaus prekybos reikmėms.

(7) Tačiau atsižvelgiant į tai, kad Direktyvos 64/432/EEB 6 straipsnio 2 dalies b punkte nurodyta, kad prieš išvežant prekybai skirtus galvijus atliekamas SAT tyrimas, tos direktyvos C priede turi būti išdėstytos techninės šio tyrimo specifikacijos.

(8) Be to, 2006 m. gruodžio 11 d. mokslinėje nuomonėje nurodyta, kad FPA jautris ir specifiškumas yra palyginami su į Direktyvos 64/432/EEB C priedą įtrauktų tyrimų jautriu ir specifiškumu, todėl FPA yra tinkamas būti įtrauktas į šį priedą kaip standartinis bruceliozės diagnostinis tyrimas, naudojamas Bendrijos vidaus prekybos šiais gyvūnais reikmėms.

(9) Neseniai sukurtais polimerazės grandininės reakcijos metodais, apibūdintais TEB Sausumos gyvūnų diagnostinių tyrimų ir vakcinų vadovo 2008 m. šeštojo leidimo 2.4.3 skyriaus 1 skirsnio d punkte, taip pat galima nustatyti ir identifikuoti *Brucella* spp., todėl juos taip pat reikėtų įtraukti į Direktyvos 64/432/EEB C priedą.

(10) Todėl Direktyvos 64/432/EEB C priedą ir Sprendimą 2004/226/EB reikėtų iš dalies atitinkamai pakeisti.

(11) Šiame sprendime numatytos priemonės atitinka Maisto grandinės ir gyvūnų sveikatos nuolatinio komiteto nuomonę,

(1) OL L 121, 1964 7 29, p. 1977/64.

(2) OL L 68, 2004 3 6, p. 36.

(3) http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1178620727231.htm

PRIĖMĖ ŠĮ SPRENDIMĄ:

1 straipsnis

Direktyvos 64/432/EEB C priedas pakeičiamas šio sprendimo priedo tekstu.

2 straipsnis

Sprendimo 2004/226/EB 1 straipsnis pakeičiamas taip:

„1 straipsnis

Komplemento sujungimo tyrimas, buferizuotas *Brucella* antigeno tyrimas (*Rose bengal* tyrimas (RBT)), imunofermentinės

analizės (IFA) ir fluorescencijos polimerizacijos analizės (FPA) tyrimai, atliekami laikantis Direktyvos 64/432/EEB C priedo nuostatų, yra tvirtinami sertifikavimo reikmėms.“

3 straipsnis

Šis sprendimas skirtas valstybėms narėms.

Priimta Briuselyje, 2008 m. gruodžio 10 d.

Komisijos vardu

Androulla VASSILIOU

Komisijos narė

PRIEDAS

1. Direktyvos 64/432/EEB C priedas pakeičiamas taip:

„C PRIEDAS

BRUCELIOZĖ**1. LIGOS SUKĖLĖJO IDENTIFIKACIJA**

Brucella sukėlėjo morfologija aborto medžiagoje, makšties išskyrose ar piene, kurią rodo modifikuotas greitas rūgštinis arba imunospacificinis nusidažymas, ypač jei tai patvirtinama serologiniais tyrimais, yra spėjamas bruceliozės įrodymas. Polimerazės grandininės reakcijos (PGR) metodai gali būti naudojami kaip papildomi būdai.

Kai įmanoma, *Brucella* spp. turėtų būti atskirti, naudojant paprastas arba selektyvines terpes pagal kultūras, gautas iš gimdos išskyry, aborto metu pašalintų vaisių, tešmens išskyry ar pasirinktų audinių, pvz., limfmazgių ir vyriškų bei moteriškų reprodukcinų organų.

Po sukėlėjo išskyrimo, rūšis ir biologinė rūšis identifikuojama fagolize ir (arba) kultūros oksidacinio metabolizmo tyrimais, pagal kultūrų, biocheminius ir serologinius kriterijus. PGR galima naudoti kaip papildomą metodą ir kaip biotipų nustatymo metodą, pagrįstą specifinėmis genomo sekomis.

Naudojami tyrimai ir terpės, jų standartizavimas ir rezultatų aiškinimas turi atitikti TEB Sausumos gyvūnų diagnostinių tyrimų ir vakcinų vadovo 2008 m. šeštojo leidimo 2.4.3. (galvijų bruceliozė), 2.7.2 (avių ir ožkų bruceliozė) ir 2.8.5 (kiaulių bruceliozė) skyrius.

2. IMUNOLOGINIAI TYRIMAI**2.1. Etalonai**

2.1.1. *Brucella abortus* biologinės rūšies 1 *Weybridge* padermė Nr. 99 arba USDA padermė 1119–3 turi būti naudojami ruošiant visus antigenus *Rose bengal* tyrimui (RBT), serumo agliutinacijos tyrimui (SAT), komplemento sujungimo tyrimui (KST) ir pieno žiedo tyrimui (PŽT).

2.1.2. TEB tarptautinis pamatinis etaloniškas serumas (TEBTES), anksčiau vadintas PSO antruoju tarptautiniu *anti-Brucella abortus* serumu (TAABS), yra pamatinis etaloniškas serumas RBT, SAT, KST ir PŽT tyrimams.

2.1.3. Pamatiniai etaloniški serumai imunofermentinės analizės (IFA) tyrimams:

— TEBTES,

— silpnai teigiamas TEB IFA etaloniškas serumas (TEBIFAMTES),

— aiškiai teigiamas TEB IFA etaloniškas serumas (TEBIFASTES),

— neigiamas TEB IFA etaloniškas serumas (TEBIFANES).

2.1.4. Pamatiniai etaloniški serumai fluorescencijos poliarizacijos analizės (FPA) tyrimams:

— silpnai teigiamas TEB IFA etaloniškas serumas (TEBIFAMTES),

— aiškiai teigiamas TEB IFA etaloniškas serumas (TEBIFASTES),

— neigiamas TEB IFA etaloniškas serumas (TEBIFANES).

2.1.5. 2.1.3 ir 2.1.4 punktuose išvardytus etaloniškus serumus galima gauti iš Bendrijos bruceliozės etaloniškos laboratorijos arba Veterinarijų laboratorijų agentūros (VLA) Veibridže, Jungtinėje Karalystėje.

- 2.1.6. TEBTES, TEBIFAMTES, TEBIFASTES ir TEBIFANES yra tarptautiniai pamatiniai etaloniniai serumai, kurių pagrindu kiekvienoje valstybėje narėje kiekvienam 2.1.1 punkte nurodytam tyrimui turi būti sukurti antriniai pamatiniai nacionaliniai etaloniniai serumai (vadinamieji darbiniai etaloniniai serumai).
- 2.2. **Imun fermentinė analizė (IFA) ar kita rišamoji analizė galvijų bruceliozei serume ar piene nustatyti**
- 2.2.1. *Medžiagos ir reagentai*
- Naudojama technika ir rezultatų aiškinimas turi būti patvirtinti pagal principus, nustatytus TEB Sausumo gyvūnų diagnostinių tyrimų ir vakcinų vadovo 2008 m. šeštojo leidimo 1.1.4 skyriuje, turi būti atliekami bent laboratoriniai ir diagnostiniai tyrimai.
- 2.2.2. *Tyrimo standartizavimas*
- 2.2.2.1. Atskirų serumo mėginių tyrimo procedūros standartizavimas:
- teigiama reakcija turi būti TEBTES skiedžiant 1/150 ⁽¹⁾, arba TEBIFAMTES skiedžiant 1/2, arba TEBIFASTES skiedžiant 1/16 neigiamame serume (ar neigiamuose jungtiniuose serumuose);
 - neigiama reakcija turi būti TEBTES skiedžiant 1/600, arba TEBIFAMTES skiedžiant 1/8, arba TEBIFASTES skiedžiant 1/64 neigiamame serume (ar neigiamuose jungtiniuose serumuose);
 - TEBIFANES reakcija visada turi būti neigiama.
- 2.2.2.2. Tyrimo procedūros standartizavimas jungtiniuose serumo mėginiuose:
- teigiama reakcija turi būti TEBTES skiedžiant 1/150, arba TEBIFAMTES skiedžiant 1/2, arba TEBIFASTES skiedžiant 1/16 neigiamame serume (ar neigiamuose jungtiniuose serumuose) ir dar kartą skiedžiant jungtinių mėginių neigiamame serume skaičiumi;
 - TEBIFANES reakcija visada turi būti neigiama;
 - tyrimas turi būti tinkamas infekcijos įrodymui nustatyti atskirame galvijuje iš galvijų grupės, iš kurios buvo paimti serumo mėginiai.
- 2.2.2.3. Tyrimo procedūros standartizavimas jungtiniame pieno arba išrūgų mėginiui:
- teigiama reakcija turi būti TEBTES skiedžiant 1/1 000, arba TEBIFAMTES skiedžiant 1/16, arba TEBIFASTES skiedžiant 1/125 neigiamame serume (arba jungtiniuose neigiamuose serumuose) ir dar kartą skiedžiant 1/10 neigiamame piene;
 - TEBIFANES, atskiesto 1/10 neigiamame piene, reakcija visada turi būti neigiama;
 - tyrimas turi būti tinkamas infekcijos įrodymui nustatyti atskirame galvijuje iš galvijų grupės, iš kurios buvo paimti pieno mėginiai.
- 2.2.3. *IFA naudojimo sąlygos galvijų bruceliozei diagnozuoti:*
- 2.2.3.1. Esant 2.2.2.1 ir 2.2.2.2 punktuose nurodytoms kalibravimo sąlygoms IFA serumo mėginiuose, diagnostinis IFA jautris turi būti lygus arba didesnis negu RBT arba KST, atsižvelgiant į epidemiologinę padėtį tyrimo metu.
- 2.2.3.2. Esant 2.2.2.3 punkte nurodytoms kalibravimo sąlygoms IFA jungtiniame pieno mėginyje, diagnostinis IFA jautris turi būti lygus ar didesnis negu PŽT, atsižvelgiant ne tik į epidemiologinę padėtį, bet taip pat į gyvulininkystės sistemas – vidutines ir, galbūt, ypač dideles.
- 2.2.3.3. Jei IFA yra naudojama sertifikavimo tikslais pagal 6 straipsnio 1 dalį arba siekiant nustatyti ir išlaikyti bandos statusą pagal A priedo II dalies 10 punktą, jungtiniai serumo mėginiai turi būti tiriami taip, kad tyrimo rezultatai būtų neabejotinai susiję su atskiro galvijo mėginiu, įtrauktu į jungtinį mėginį. Atskiro galvijo serumo mėginiai turi būti ištirti patvirtinančiu tyrimu.

⁽¹⁾ Šiame priede skysti reagentai gaunami skiedžiant, pvz., 1/150 – t. y. santykiu 1:150.

2.2.3.4. IFA galima naudoti tiriant pieno mėginį, paimtą iš pieno, surinkto iš ūkio, kuriame yra ne mažiau 30 % melžiamų karvių. Naudojant šį metodą turi būti imamos priemonės, skirtos užtikrinti, kad tyrimui paimtas mėginys yra neabejotinai susijęs su atskiru galviju, iš kurio pienas gautas. Atskiro galvijo serumo mėginiai turi būti ištirti patvirtinančiu tyrimu.

2.3. Komplemento sujungimo tyrimas (KST)

2.3.1. Antigenas – tai bakterijų suspensija buferiniame fenolio ir druskos (NaCl 0,85 % (v/v) ir fenolio 0,5 % (v/v)) arba veronalio tirpale. Galima tiekti antigeno koncentratą, tačiau tokiu atveju ant buteliuko etiketės nurodomas skiedimo koeficientas. Antigenas turi būti laikomas 4 °C temperatūroje ir neužšaldomas.

2.3.2. Serumai yra inaktyvinami taip:

— galvijo serumas: 56–60 °C temperatūroje 30–50 minučių,

— kiaulės serumas: 60 °C temperatūroje 30–50 minučių.

2.3.3. Nustatant grynaveslių galvijų reakciją taikant šią tyrimo procedūrą, komplemento dozė turi būti didesnė nei mažiausia dozė, reikalinga hemolizei atlikti.

2.3.4. Atliekant tyrimą komplemento sujungimo metodu, kiekvienu tyrimu tikrinama:

- a) antikomplementinis serumo poveikis;
- b) antigenas;
- c) sensibilizuoti raudonieji kraujo kūneliai;
- d) komplementas;
- e) naudojant teigiamą serumą, jautris reakcijos pradžioje;
- f) reakcijos specifiskumas, naudojant neigiamą serumą.

2.3.5. Rezultatų skaičiavimas

TEBTES turi 1 000 tarptautinių KST vienetų (TKSTV)/ml. TEBTES tiriant tam tikru metodu, rezultatas nurodomas titru (t. y. didžiausias tiesioginis TEBTES tirpalas, esant 50 % hemolizei, TEBTES). Tiriamojo serumo tyrimo rezultatas, nurodomas titru (TTESTSERUM), turi būti išreiškiamas TKSTV/ml. Koeficientas (K), būtinas nežinomo tiriamojo serumui (TTESTSERUM) pakeisti į TKSTV, apskaičiuojamas pagal formulę:

$$K = 1\,000 \times 1/TTEBTES$$

Tarptautiniai KST vienetai tiriamo serumo mililitre (TKSTVTTESTSERUM) apskaičiuojami pagal formulę:

$$TKSTVTTESTSERUM = K \times TTESTSERUM.$$

2.3.6. Rezultatų aiškinimas

Serumas, kuriame 20 ir daugiau TKSTV/ml, yra laikomas teigiamu.

2.4. Pieno žiedo tyrimas (PŽT)

2.4.1. Antigenas – tai fenolio ir druskos (NaCl 0,85 % (v/v) ir fenolio 0,5 % (v/v)) bakterijų suspensija, nudažyta hematoksilinu. Antigenas turi būti laikomas 4 °C temperatūroje ir neužšaldomas.

2.4.2. Antigeno jautrumas turi būti standartizuotas pagal TEBTES, kad reakcija neigiamame piene būtų teigiama TEBTES skiedžiant 1/500 ir neigiama skiedžiant 1/1 000.

- 2.4.3. Pieno žiedo tyrimas turi būti atliekamas su mėginiais, paimtais iš visų ūkio pieno bidonų ar pieno rezervuarų.
- 2.4.4. Pieno mėginiai neturi būti užšaldyti, kaitinti ar stipriai kratyti.
- 2.4.5. Reakcija yra atliekama, naudojant vieną iš šių metodų:
- ne mažesnio kaip 25 mm aukščio pieno stulpelyje imant 1 ml pieno, į kurį įdedama 0,03 ml arba 0,05 ml vieno iš dažytų standartizuotų antigenų,
 - ne mažesnio kaip 25 mm aukščio pieno stulpelyje imant 2 ml pieno, į kurį įdedama 0,05 ml vieno iš dažytų standartizuotų antigenų,
 - 8 ml pieno, į kurį įdedama 0,08 ml vieno iš dažytų standartizuotų antigenų.
- 2.4.6. Pieno ir antigeno mišinys turi būti inkubuojamas 37 °C temperatūroje 60 minučių kartu su darbiniais teigiamu ir neigiamu etaloniniais serumais. Tyrimo jautrį padidina paskesnis 16–24 val. trukmės inkubavimas 4 °C temperatūroje.
- 2.4.7. Rezultatų aiškinimas
- a) neigiama reakcija: nusidažęs pienas, bespalvė grietinėlė;
 - b) teigiama reakcija:
 - tolygiai nusidažęs pienas ir grietinėlė arba
 - bespalvis pienas ir nusidažiusi grietinėlė.
- 2.5. **Buferizuotas *Brucella* antigeno tyrimas (*Rose bengal* tyrimas (RBT))**
- 2.5.1. Antigenas – tai bakterijų suspensija buferiniame *Brucella* antigenų skiediklyje, $3,65 \pm 0,05$ pH, dažytas *Rose bengal* dažais. Antigenas tiekiamas paruoštas naudoti, saugomas 4 °C temperatūroje ir neužšaldomas.
- 2.5.2. Antigenas ruošiamas nenurodant ląstelių koncentracijos, bet jautris turi būti standartizuotas pagal TEBTES taip, kad naudojant antigeną reakcija būtų teigiama serumą skiedžiant 1/45 ir neigiama – skiedžiant 1/55.
- 2.5.3. RBT atliekamas taip:
- a) serumas (20–30 µl) sumaišomas lygiomis dalimis su antigenu ant baltos plokštelės ar emalinės lėkštelės, kad susidarytų apie 2 cm skersmens skritulys. Mišinys aplinkos temperatūroje keturias minutes atsargiai kratomas ir esant geram apšvietimui stebima agliutinacija;
 - b) gali būti naudojamas automatizuotas metodas, tačiau jis turi būti toks pat jautrus ir tikslus kaip rankinis metodas.
- 2.5.4. *Rezultatų aiškinimas*
- Bet kuri matoma reakcija yra laikoma teigiama, išskyrus atvejus, kai pakraščiai būna pernelyg išdžiūvę.
- Teigiamas ir neigiamas darbiniai etaloniniai serumai turėtų būti naudojami kiekvienoje tyrimų serijoje.
- 2.6. **Serumo agliutinacijos tyrimas (SAT)**
- 2.6.1. Antigenas – bakterijų suspensija fenolio ir druskos (NaCl 0,85 % (v/v) ir fenolio 0,5 % (v/v)) tirpale.
- Formaldehidus nenaudojamas.
- Galima tiekti antigeno koncentratą, tačiau tokiu atveju ant buteliuko etiketės nurodomas skiedimo koeficientas.
- Į antigeno suspensiją gali būti įdėta EDTA iki 5 mM galutinio atskiesto tiriamo tirpalo žymos, kad sumažėtų apgaulingų teigiamų serumo agliutinacijos tyrimo rezultatų skaičius. Po to antigeno suspensijos pH turi vėl būti 7,2.

- 2.6.2. TEBTES yra 1 000 tarptautinių agliutinacijos vienetų.
- 2.6.3. Antigenas ruošiamas nenurodant ląstelių koncentracijos, bet jo jautris turi būti standartizuotas pagal TEBTES taip, kad naudojant antigeną agliutinacija sudarytų 50 %, serumą skiedžiant 1/600–1/1 000, arba 75 %, serumą skiedžiant 1/500–1/750.
- Rekomenduojama palyginti naujo ir ankstesnio standartizuotos antigeno partijos reakciją naudojant nustatyto serumo plokšteles.
- 2.6.4. Tyrimas atliekamas mėgintuvėliuose arba ant mikroplokštelių. Antigeno mišinys ir atskiesto serumo tirpalai inkubuojami 16–24 valandas 37 °C temperatūroje.
- Iš kiekvieno serumo paruošiami ne mažiau kaip trys atskiesti tirpalai. Įtartinas serumas skiedžiamas taip, kad teigiamos reakcijos ribos rodmuo būtų viduriniajame mėgintuvėlyje (arba mikroplokštelės šulinėlyje).
- 2.6.5. *Rezultatų aiškinimas*
- Brucella* agliutinacijos serume laipsnis išreiškiamas tarptautiniais vienetais (TV) mililitre.
- Serumas, kurio TV/ml yra 30 ir daugiau, laikomas teigiamu.
- 2.7. **Fluorescencijos poliarizacijos analizė (FPA)**
- 2.7.1. FPA gali būti atliekamas stikliniuose mėgintuvėliuose arba 96 duobučių lėkštelėse. Naudojami tyrimai ir terpės, jų standartizavimas ir rezultatų aiškinimas turi atitikti TEB Sausumos gyvūnų diagnostinių tyrimų ir vakcinų vadovo 2008 m. šeštojo leidimo 2.4.3 skyrių (galvijų bruceliozė).
- 2.7.2. *Tyrimo standartizavimas*
- FPA atliekamas taip, kad:
- TEBIFASTES ir TEBIFAMTES nuosekliai duotų teigiamus rezultatus;
 - TEBIFAMTES skiedžiant 1/8 arba TEBIFASTES skiedžiant 1/64 neigiamame serume (ar neigiamuose jungtiniuose serumuose) reakcija visada neigiama;
 - TEBIFANES reakcija visada neigiama.
- Atliekant visas tyrimų serijas naudojami: aiškiai teigiamas, silpnai teigiamas ir neigiamas darbiniai etaloniniai serumai (kalibruojami pagal TEB IFA etaloninius serumus).
3. PAPILDOMI TYRIMAI
- 3.1. **Bruceliozės odos tyrimas (BOT)**
- 3.1.1. *BOT atlikimo sąlygos:*
- bruceliozės odos tyrimas nėra atliekamas sertifikuojant gyvūnus Bendrijos vidaus prekybos reikmėms;
 - bruceliozės odos tyrimas yra vienas iš labiausiai specifinių tyrimų nevakcinuotų gyvūnų bruceliozei nustatyti; tačiau diagnozė neturi remtis vien tik teigiamais intrakutaninio tyrimo rezultatais;
 - galvijai, kurių vieno iš serologinių tyrimų, apibrėžtų šiame priede, tyrimo rezultatai yra neigiami, o BOT tyrimo rezultatai yra teigiami, laikomi užkrėstais galvijais arba galimai užkrėstais galvijais;
 - galvijai, kurių vieno iš serologinių tyrimų, apibrėžtų šiame priede, rezultatas yra teigiamas, gali būti tiriami BOT tyrimu, kad būtų lengviau aiškinti serologinių tyrimų rezultatus; visų pirma tais atvejais, kai oficialiai brucelioze neužkrėstose bandose arba brucelioze neužkrėstose bandose gali būti kryžminių reakcijų su kitų bakterijų antikūnais.

- 3.1.2. Tyrimas turi būti atliekamas naudojant standartizuotą ir nustatytą bruceliozės alergeno preparatą, paruoštą taip, kad jame nebūtų grynų lipopolisacharido (LPS) antigenų, dėl kurių gali kilti nebūdingos uždegiminės reakcijos arba kurie gali pakenkti vėlesniems serologiniams tyrimams.

Brucelino produkcijos reikalavimai atitinka TEB Sausumos gyvūnų diagnostinių tyrimų ir vakcinų vadovo 2008 m. šeštojo leidimo 2.4.3. skyriaus C skirsnio 1 dalies nuostatas.

3.1.3. *Tyrimo procedūra*

- 3.1.3.1. 0,1 ml bruceliozės alergeno suleidžiama į paslėpsnio arba sprando kaudalinę odos raukšlę.

- 3.1.3.2. Tyrimo rodmenys tikrinami po 48–72 valandų.

- 3.1.3.3. Injekcijos vietoje odos storis yra matuojamas slankmačiu prieš injekciją ir pakartotinai tiriama.

- 3.1.3.4. Rezultatų aiškinimas

Stipri reakcija yra lengvai nustatoma pagal atitinkamos vietos patinimą ir sukietėjimą.

Odos sustorėjimas nuo 1,5 iki 2 mm reiškia teigiamus BOT tyrimo rezultatus.

3.2. **Konkurencinė imunofermentinė analizė (kIFA)**

- 3.2.1. *kIFA naudojimo sąlygos:*

kIFA nenaudojama sertifikuojant gyvūnus Bendrijos vidaus prekybos reikmėms.

Galvijai, kurių vieno iš serologinių tyrimų, apibrėžtų šiame priede, rezultatas yra teigiamas, gali būti tiriami kIFA tyrimu, kad būtų lengviau aiškinti kitų serologinių tyrimų rezultatus; visų pirma tais atvejais, kai oficialiai brucelioze neužkrėstose bandose arba brucelioze neužkrėstose bandose gali būti kryžminių reakcijų su kitų bakterijų antikūnais arba norint atmesti reakcijas, kilusias dėl likutinių antikūnų, susiformavusių po vakcinacijos S19.

3.2.2. *Tyrimo procedūra*

Tyrimas atliekamas pagal TEB Sausumos gyvūnų diagnostinių tyrimų ir vakcinų vadovo 2008 m. šeštojo leidimo 2.4.3. skyriaus B skirsnio 2 dalies nuostatas.“

2. Direktyvos 64/432/EEB C priedas 4.1 punkte pakeičiamas taip:

„4.1. **Uždaviniai ir pareigos**

Nacionalinės etaloninės laboratorijos, paskirtos pagal 6a straipsnį, įsipareigoja:

- a) tvirtinti patikros tyrimų rezultatus, patvirtinančius valstybėje narėje taikyto metodo patikimumą;
 - b) nustatyti didžiausią mėginių, tirtinų IFA rinkinyje, skaičių;
 - c) kalibruoti darbinis etalonus, kaip nurodyta 2.1.6 punkte;
 - d) tikrinti visų antigenų ir IFA rinkinių, naudojamų valstybėje narėje, kokybę;
 - e) laikytis Bendrijos etaloninės bruceliozės laboratorijų rekomendacijų ir bendradarbiauti su ja.“
-