

KOMISIJAS LĒMUMS

(2008. gada 10. decembris),

ar ko groza Padomes Direktīvas 64/432/EEK C pielikumu un Lēmumu 2004/226/EK attiecībā uz liellopu brucelozes diagnostikas testiem

(izziņots ar dokumenta numuru K(2008) 7642)

(Dokuments attiecas uz EEZ)

(2008/984/EK)

EIROPAS KOPIENU KOMISIJA,

(5) Turklāt Komisija lūdza EPNI noteikt FPA un Lēmuma 2004/226/EK 1. pantā uzskaitīto testu piemērotību liellopu sertifikācijai Kopienas iekšējās tirdzniecības vajadzībām.

ņemot vērā Eiropas Kopienas dibināšanas līgumu,

ņemot vērā Padomes 1964. gada 26. jūnija Direktīvu 64/432/EEK par dzīvnieku veselības problēmām, kas ietekmē liellopu un cūku tirdzniecību Kopienā⁽¹⁾, un jo īpaši tās 6. panta 2. punkta b) apakšpunktu un 16. panta 1. punkta otro daļu,

(6) Dzīvnieku veselības un labturības ekspertu grupa 2006. gada 11. decembrī pieņēma zinātnisku atzinumu par brucelozes diagnostikas metodēm liellopiem⁽³⁾, kurā tā secināja, ka, izņemot seruma aglutinācijas testu (SAT), liellopu brucelozes testi, kas iekļauti Direktīvas 64/432/EEK C pielikumā, joprojām ir piemēroti kā standarta testi atsevišķu liellopu sertificēšanai Kopienas iekšējā tirdzniecībā.

tā kā:

(1) Direktīvas 64/432/EEK C pielikumā izklāstītas liellopu brucelozes diagnostikas metodes, kas paredzētas šīs slimības kontrolei un izskaušanai, uzraudzībai un monitoringam, kā arī no brucelozes oficiāli brīva ganāmpulka statusa izveidošanai un saglabāšanai, un Kopienas iekšējās tirdzniecības sertifikāta izdošanai.

(7) Tomēr, ņemot vērā to, ka SAT ir pirms dzīvnieku pārvietošanas veicams tests, kas paredzēts Direktīvas 64/432/EEK 6. panta 2. punkta b) apakšpunktā, minētās direktīvas C pielikumā ir jāsniedz tehniskā specifikācija.

(2) Komisijas 2004. gada 4. marta Lēmumā 2004/226/EK, kas apstiprina testus, lai noteiktu antivielas pret liellopu brucelozi saskaņā ar Padomes Direktīvu 64/432/EEK⁽²⁾, apstiprināti konkrēti liellopu brucelozes testi, kurus var lietot kā alternatīvu obligātajam seruma aglutinācijas testam (SAT), lai sertificētu liellopus saskaņā ar Direktīvas 64/432/EEK 6. panta 2. punkta b) apakšpunktu.

(8) Turklāt 2006. gada 11. decembra zinātniskajā atzinumā ir secināts, ka FPA jutība un specifiskums ir salīdzināmi ar Direktīvas 64/432/EEK C pielikumā iekļauto testu jutību un specifiskumu un ka tas ir piemērots iekļaušanai minētajā pielikumā kā standarta tests šādu dzīvnieku brucelozes diagnozei Kopienas iekšējās tirdzniecības vajadzībām.

(3) Fluorescences polarizācijas mērījums (FPA) ir jauns diagnostikas tests, kas kā obligātais tests starptautiskajai tirdzniecībai ir iekļauts OIE Sauszemes dzīvnieku slimību diagnostikas testu un vakcīnu rokasgrāmatas sestā izdevuma (2008. gadā) 2.4.3. nodaļā (liellopu bruceloze).

(9) OIE Sauszemes dzīvnieku slimību diagnostikas testu un vakcīnu rokasgrāmatas sestā izdevuma (2008. gadā) 2.4.3. nodaļas 1. iedaļas d) apakšpunktā izklāstītas, nesen izstrādātās polimerāzes ķēdes reakcijas metodes sniedz papildu iespējas noteikt un identificēt *Brucella* spp., un tāpēc tās jāiekļauj Direktīvas 64/432/EEK C pielikumā.

(4) Komisija lūdza Eiropas Pārtikas nekaitīguma iestādi (EPNI) sniegt zinātnisku atzinumu par FPA piemērotību, lai to iekļautu Direktīvas 64/432/EEK C pielikumā.

(10) Tādēļ ir jāizdara attiecīgi grozījumi Direktīvas 64/432/EEK C pielikumā un Lēmumā 2004/226/EK.

(11) Šajā lēmumā paredzētie pasākumi ir saskaņā ar Pārtikas aprites un dzīvnieku veselības pastāvīgās komitejas atzinumu,

(1) OV L 21, 29.7.1964. 1977./64. lpp.

(2) OV L 68, 6.3.2004., 36. lpp.

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

IR PIEŅĒMUSI ŠO LĒMUMU.

3. pants

1. pants

Šis lēmums ir adresēts dalībvalstīm.

Direktīvas 64/432/EK C pielikumu aizstāj ar šā lēmuma pielikumu.

2. pants

Lēmuma 2004/226/EK 1. panta tekstu aizstāj ar šādu:

Briselē, 2008. gada 10. decembrī

“1. pants

Ar šo sertifikācijas nolūkā apstiprina komplementa saistīšanas testu, buferēto antigēna testu (Bengālijas rozes testu (RBT)), ELISA analīzes, fluorescences polarizācijas mērījumu (FPA), ko veic atbilstoši Direktīvas 64/432/EEK C pielikuma noteikumiem.”

Komisijas vārdā —
Komisijas locekle
Androulla VASSILIOU

PIELIKUMS

1) Direktīvas 64/432/EEK C pielikuma 1., 2. un 3. punktu aizstāj ar šādu tekstu:

"C PIELIKUMS

BRUCELOZE

1. SLIMĪBAS IEROSINĀTĀJA IDENTIFICĒŠANA

Ja aborta materiālā, vaginālajos izdalījumos vai pienā, izmantojot modificētu ātrdarbīgu skābi vai imunospēcīfisku organismu iekrāsošanos, parādās *Brucella* morfoloģija, tas sniedz prezumptīvu brucelezes pierādījumu, īpaši, ja to papildina ar seroloģiskiem testiem. Polimerāzes ķēdes reakcijas (PCR) metodes sniedz papildu līdzekļus noteikšanai.

Ja vien iespējams, *Brucella* spp. jāatdala, izmantojot vienkāršu vai selektīvu barotni ar kultivēšanu no dzemdes izdalījumiem, abortētiem embrijiem, tesmeņa sekrētiem vai selektīviem audiem, tādiem kā limfu mezgli un sievišķie un vīrišķie reproduktīvie orgāni.

Pēc atdalīšanas sugas un bioloģiskais variants ir jānosaka ar fāgu līzi un/vai oksidatīvā metabolisma pārbaudi, pēc kultivēšanas, bioķīmiskajiem un seroloģiskajiem kritērijiem. PCR dod iespēju izmantot papildu un biotipa noteikšanas metodi, kas balstās uz īpašām ģenētiskām kombinācijām.

Izmantotajiem paņēmieniem un barotnēm, to standartizēšanai un rezultātu interpretācijai jāatbilst tam, kas noteikts OIE Sauszemes dzīvnieku slimību diagnostikas testu un vakcīnu rokasgrāmatas sestā izdevuma (2008. gadā) 2.4.3. nodaļā (liellopu bruceleze), 2.7.2. nodaļā (kazu un aitu bruceleze) un 2.8.5. nodaļā (cūku bruceleze).

2. IMUNOLOĢISKIE TESTI

2.1. Standarti

2.1.1. Visu to antigēnu sagatavošanai, ko izmanto Bengālijas rozēs testā (RBT), seruma aglutinācijas testā (SAT), komplementa saistīšanas testā (CFT) un piena gredzena testā (MRT), jāizmanto *Brucella abortus* biovars 1, Veibridžas celms 99 un USDA celms 1119-3.

2.1.2. Atsauces standartserums Bengālijas rozēs testam (RBT), seruma aglutinācijas testam (SAT), komplementa saistīšanas testam (CFT) un piena gredzena testam (MRT) ir OIE starptautiskais atsauces standartserums (OIEISS), agrāk saukts par PVO otro starptautisko *Brucella abortus* antiserumu (ISAbS).

2.1.3. Atsauces standartserumi enzīmu imūnosorbcijas testiem (ELISA) ir:

— OIEISS,

— vāji pozitīvs OIE ELISA standartserums (OIEELISA_{WPSS}),

— izteikti pozitīvs OIE ELISA standartserums (OIEELISA_{SPSS}),

— negatīvs OIE ELISA standartserums (OIEELISA_{NSS}).

2.1.4. Atsauces standartserumi fluorescences polarizācijas mērījumam (FPA) ir:

— vāji pozitīvs OIE ELISA standartserums (OIEELISA_{WPSS}),

— izteikti pozitīvs OIE ELISA standartserums (OIEELISA_{SPSS}),

— negatīvs OIE ELISA standartserums (OIEELISA_{NSS}).

2.1.5. Pielikuma 2.1.3. un 2.1.4. punktā uzskaitītie standarti ir pieejami Kopienas references laboratorijā brucelezes noteikšanai vai Veibridžas *Veterinary Laboratory Agency* (VLA), Apvienotajā Karalistē.

- 2.1.6. OIEISS, OIEELISA_{WPSS}, OIEELISA_{SPSS} un OIEELISA_{NSS} ir starptautiskie primārie standarti, no kuriem katrai dalībvalstij visiem testiem, kas minēti 2.1.1. punktā, jānosaka valsts sekundārie atsauces standarti ("darba standarti").
- 2.2. **Enzīmu imūnosorbcijas testi (ELISA) vai citi saistoši testi, lai noteiktu liellopu brucelozi serumā vai pienā**
- 2.2.1. *Materiāli un reaģenti*
- Izmantotajiem parašiem un rezultātu interpretācijai jābūt apstiprinātiem saskaņā ar principiem, kas noteikti OIE Sauszemes dzīvnieku slimību diagnostikas testu un vakcīnu rokasgrāmatas sestā izdevumā (2008. gadā) 1.1.4. nodaļā, un to skaitā jābūt vismaz laboratoriskajiem un diagnostiskajiem pētījumiem.
- 2.2.2. *Testa standartizācija*
- 2.2.2.1. Atsevišķu seruma paraugu testa metodes standartizācija:
- a) 1/150 OIEISS sākotnējam atšķaidījumam ⁽¹⁾ vai 1/2 OIEELISA_{WPSS} sākotnējam atšķaidījumam, vai 1/16 OIEELISA_{SPSS} sākotnējam atšķaidījumam, kas pagatavots negatīvā serumā (vai negatīvu serumu bankā), ir jādod pozitīva reakcija;
- b) 1/600 OIEISS sākotnējam atšķaidījumam vai 1/8 OIEELISA_{WPSS} sākotnējam atšķaidījumam, vai 1/64 OIEELISA_{SPSS} sākotnējam atšķaidījumam, kas pagatavots negatīvā serumā (vai negatīvu serumu bankā), ir jādod negatīva reakcija;
- c) OIEELISA_{NSS} vienmēr ir jādod negatīva reakcija.
- 2.2.2.2. Serumu bankas paraugu testa metodes standartizācija:
- a) 1/150 OIEISS sākotnējam atšķaidījumam vai 1/2 OIEELISA_{WPSS} sākotnējam atšķaidījumam, vai 1/16 OIEELISA_{SPSS} sākotnējam atšķaidījumam, kas pagatavots negatīvā serumā (vai negatīvu serumu bankā) un atkal atšķaidīts negatīvā serumā ar vairākiem paraugiem, kuri kopā veido banku, ir jādod pozitīva reakcija;
- b) OIEELISA_{NSS} vienmēr ir jādod negatīva reakcija.
- c) testam jābūt piemērotam, lai noteiktu infekcijas pierādījumu vienam dzīvniekam no dzīvnieku grupas, seruma paraugi no kuras ir apvienoti kopējā bankā.
- 2.2.2.3. Bankas piena vai sūkalu paraugu testa metodes standartizācija:
- a) 1/1 000 OIEISS sākotnējam atšķaidījumam vai 1/16 OIEELISA_{WPSS} sākotnējam atšķaidījumam, vai 1/125 OIEELISA_{SPSS} sākotnējam atšķaidījumam, kas pagatavots negatīvā serumā (vai negatīvu serumu bankā) un atkal atšķaidīts 1/10 negatīvā pienā, ir jādod negatīva reakcija;
- b) OIEELISA_{NSS}, kas atšķaidīts 1/10 negatīvā pienā, vienmēr ir jādod negatīva reakcija;
- c) testam jābūt piemērotam, lai noteiktu infekcijas pierādījumu vienam dzīvniekam no dzīvnieku grupas, no kuras piena vai sūkalu paraugi ir apvienoti kopējā bankā.
- 2.2.3. *Nosacījumi ELISA testu izmantošanai, lai noteiktu liellopu brucelozi*
- 2.2.3.1. Izmantojot 2.2.2.1. un 2.2.2.2. punktā izklāstītos kalibrēšanas nosacījumus ELISA testu serumu paraugiem, ELISA testa diagnostiskā jutība ir tikpat liela vai lielāka nekā Bengālijas rozes testa (RBT) vai komplementa saistīšanās testa (CFT) diagnostiskā jutība, ņemot vērā epidemioloģisko situāciju, kurā tas ir veikts.
- 2.2.3.2. Izmantojot 2.2.2.3. punktā izklāstītos ELISA testu bankas piena paraugu kalibrēšanas nosacījumus, ELISA testa diagnostiskā jutība ir tikpat liela vai lielāka nekā piena gredzena raudzei (MRT), ņemot vērā ne tikai epidemioloģisko situāciju, bet arī vidējo un paredzamo ārkārtējo zootehnikas sistēmu.
- 2.2.3.3. Ja ELISA testus izmanto sertificēšanas nolūkā saskaņā ar 6. panta 1. punktu vai lai izveidotu un uzturētu ganāmpulka statusu saskaņā ar A pielikuma II nodaļas 10. punktu, paraugu apvienošana bankā jāveic tā, lai testa rezultātus var neapšaubāmi attiecināt uz atsevišķiem dzīvniekiem, uz kuriem attiecas banka. Visi apstiprinājuma testi jāveic seruma paraugiem, kas ņemti no atsevišķiem dzīvniekiem.

(1) Šajā pielikumā minētie atšķaidījumi, lai pagatavotu šķidros reaģentus, ir izteikti kā, piemēram, 1/150 nozīmē 1 vienība 150 atšķaidījumos.

2.2.3.4. *ELISA* testus var izmantot piena paraugam, kas ir savākts saimniecībā, kurā ir vismaz 30 % slaucamu piena govju. Ja izmanto šo metodi, jāveic pasākumi, lai nodrošinātu to, ka paraugus, kas ņemti pārbaudei, var neapšaubāmi attiecināt uz atsevišķiem dzīvniekiem, no kuriem piens ņemts. Visi apstiprinājuma testi jāveic seruma paraugiem, kas ņemti no atsevišķiem dzīvniekiem.

2.3. **Komplementa saistīšanas tests (CFT)**

2.3.1. Antigēns ir bakteriāla suspensija fenola sāls šķīdumā (0,85 % NaCl (m/v) un 0,5 % fenola (v/v)) vai veronāla bufersķīdumā. Antigēnus var piegādāt koncentrētā formā, ja uz pudeles etiķetes norāda lietojamo atšķaidījuma koeficientu. Antigēns jāuzglabā 4 °C temperatūrā un nesasaldēts.

2.3.2. Serumu inaktivē šādi:

— liellopu serumu: 30 līdz 50 minūtes 56–60 °C temperatūrā,

— cūku serumu: 30 līdz 50 minūtes 60 °C temperatūrā.

2.3.3. Lai veiktu patiesu reakciju saskaņā ar testa metodi, izmanto komplementa devu, kas pārsniedz pilnīgai hemolīzei nepieciešamo devu.

2.3.4. Izdarot komplementa saistīšanas testu, katru reizi ir jāveic šādas kontroles:

- a) seruma antikomplementārās iedarbības kontrole;
- b) antigēna kontrole;
- c) sensitivizēto sarkano asinsķermenīšu kontrole;
- d) komplementa kontrole;
- e) jutības kontrole, reakcijas sākumā izmantojot pozitīvu serumu;
- f) reakcijas specifiskuma kontrole, izmantojot negatīvu serumu.

2.3.5. *Rezultātu aprēķināšana*

OIEISS satur 1 000 starptautisko CFT vienību (ICFTU) mililitrā. Ja OIEISS pārbauda pēc minētās metodes, rezultātu izsaka kā titru (t. i., augstākais tiešais OIEISS atšķaidījums, kas dod 50 % hemolīzi, T_{OIEISS}). Testa rezultāts seruma testam, kas izteikts kā titrs ($T_{\text{TESTSERUM}}$), jāizsaka ICFTU mililitrā. Lai pārveidotu titra izteiksmi ICFTU, koeficientu (F), kas vajadzīgs, lai pārvērstu ICFTU izteiksmē nezināma testa seruma titru ($T_{\text{TESTSERUM}}$), kas pārbaudīts ar šo metodi, var atrast, izmantojot formulu:

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

un starptautisko CFT vienību saturu testa seruma mililitrā ($\text{ICFTU}_{\text{TESTSERUM}}$), izmantojot formulu:

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

2.3.6. *Rezultātu interpretēšana*

Serumu, kas satur 20 vai vairāk ICFTU mililitrā, atzīst par pozitīvu.

2.4. **Piena gredzena tests (MRT)**

2.4.1. Antigēns ir bakteriāla suspensija fenola sāls šķīdumā (0,85 % NaCl (m/v) un 0,5 % fenola (v/v)), kas iezīmēta ar hematoksilīnu. Antigēns jāuzglabā 4 °C temperatūrā un nesasaldēts.

2.4.2. Antigēna jutība jāstandartizē attiecībā pret OIEISS tā, lai antigēns dotu pozitīvu reakciju ar 1/500 OIEISS atšķaidījumu negatīvā pienā, bet 1/1 000 atšķaidījumam jābūt negatīvam.

- 2.4.3. Gredzena tests ir jāveic paraugiem, kas ir reprezentatīvi attiecībā uz visu saimniecības piena kannu vai tvertņu saturu.
- 2.4.4. Piena paraugi nedrīkst būt sasaluši, sakarsuši vai pakļauti stiprai kratīšanai.
- 2.4.5. Reakcija ir jāveic, izmantojot kādu no šīm metodēm:
- vismaz 25 mm augstai piena kolonnai un 1 ml piena pievieno vai nu 0,03 ml, vai 0,05 ml kāda no standartizētajiem iezīmētajiem antigēniem,
 - vismaz 25 mm augstai piena kolonnai un 2 ml piena pievieno 0,05 ml kāda no standartizētajiem iezīmētajiem antigēniem,
 - 8 ml piena pievieno 0,08 ml kāda no standartizētajiem iezīmētajiem antigēniem.
- 2.4.6. Piena un antigēnu maisījums 60 minūtes jāinkubē 37 °C temperatūrā kopā ar pozitīvajiem un negatīvajiem darba standartiem. Turpmāka 16 līdz 24 stundu inkubācija 4 °C temperatūrā palielina testa jutību.
- 2.4.7. Rezultātu interpretācija.
- a) negatīva reakcija: iekrāsots piens, bezkrāsains krējums;
 - b) pozitīva reakcija:
 - identiski iekrāsots piens un krējums vai
 - bezkrāsains piens un iekrāsots krējums.
- 2.5. **Bufērēts antigēna tests (Bengālijas rozēs tests (RBT))**
- 2.5.1. Antigēns ir bakteriāla suspensija antigēnu buferšķīdumā ar pH $3,65 \pm 0,05$, kas iekrāsota, izmantojot Bengālijas rozēs krāsvielu. Antigēnu piegādā gatavu lietošanai, un tas jāuzglabā 4 °C temperatūrā un nesasaldēts.
- 2.5.2. Antigēnu sagatavo, neņemot vērā šūnu koncentrāciju, bet tā jutība jāstandartizē attiecībā pret OIEISS tā, lai antigēns dotu pozitīvu reakciju seruma atšķaidījumā 1/45 un negatīvu reakciju – atšķaidījumā 1/55.
- 2.5.3. Bengālijas rozēs testu (RTB) veic šādi:
- a) serumu (20–30 µl) samaisa ar tādu pašu daudzumu antigēna uz baltas plāksnītes vai emaljas plātnes, lai rastos zona aptuveni 2 cm diametrā. Maisījumu 4 minūtes viegli krata apkārtējās vides temperatūrā un tad apskata labā apgaismojumā, lai noteiktu aglutināciju;
 - b) automātisko metodi var izmantot, bet tai jābūt vismaz tikpat jutīgai un precīzai kā manuālajai metodei.
- 2.5.4. *Rezultātu interpretēšana*
- Jebkādu redzamu reakciju atzīst par pozitīvu, ja vien malās nav vērojama pārmērīga izžūšana.
- Pozitīvus un negatīvus darba standartus ietver katrā testu sērijā.
- 2.6. **Seruma aglutinācijas tests (SAT)**
- 2.6.1. Antigēns ir bakteriāla suspensija fenola sāls šķīdumā (0,85 % NaCl (m/v) un 0,5 % fenola (v/v)).
- Nedrīkst izmantot formaldehīdu.
- Antigēnus var piegādāt koncentrētā formā, ja uz pudeles etiķetes norāda lietojamo atšķaidījuma koeficientu.
- Antigēna suspensijai var pievienot EDTA līdz 5 mM gala testa atšķaidījumam, lai samazinātu kļūdainu pozitīvo rezultātu risku seruma aglutinācijas testā. Tātad pH 7,2 ir jāpielāgo antigēna suspensijai.

- 2.6.2. OIEISS satur 1 000 starptautisko aglutinācijas vienību.
- 2.6.3. Antigēnu sagatavo, neņemot vērā šūnu koncentrāciju, bet tā jutība jāstandartizē attiecībā pret OIEISS tā, lai antigēns dotu vai nu 50 % aglutināciju ar gala seruma atšķaidījumu 1/600 līdz 1/1 000, vai 75 % aglutināciju ar gala seruma atšķaidījumu 1/500 līdz 1/750.
- Var arī ieteikt salīdzināt jaunu un iepriekš standartizētu antigēnu partiju reaģētspēju, izmantojot noteiktu serumu grupu.
- 2.6.4. Testu veic vai nu mēģenēs, vai mikroplatēs. Antigēna un seruma atšķaidījuma maisījumu inkubē uz 16 līdz 24 stundām 37 °C temperatūrā.
- Katram serumam jāgatavo vismaz trīs atšķaidījumi. Aizdomīgā seruma atšķaidījumi jāgatavo tā, lai reakciju pozitivitātes robežās varētu nolasīt vidējā mēģenē (vai vidējā padziļinājumā mikroplates metodes gadījumā).
- 2.6.5. *Rezultātu interpretācija.*
- Brucella* aglutinācijas līmenis serumā jāizsaka IU/ml.
- Serumu, kas satur 30 vai vairāk IU mililitrā, atzīst par pozitīvu.
- 2.7. **Fluorescences polarizācijas mērījums (FPA)**
- 2.7.1. FPA var veikt mēģenēs vai uz mikroplatēm ar 96 padziļinājumiem. Izmantotajiem paņēmieniem, to standartizēšanai un rezultātu interpretācijai jāatbilst tam, kas noteikts OIE Sauszemes dzīvnieku slimību diagnostikas testu un vakcīnu rokasgrāmatas, sestā izdevuma (2008. gadā) 2.4.3. nodaļā (liellopu bruceloze).
- 2.7.2. *Testa standartizācija*
- FPA standartizē tā, lai
- OIEELISA_{Sp}SS un OIEELISA_{Wp}SS pastāvīgi dotu pozitīvu rezultātu;
 - 1/8 OIEELISA_{Wp}SS sākotnējais atšķaidījums, vai 1/64 OIEELISA_{Sp}SS sākotnējais atšķaidījums, kas pagatavots negatīvā serumā (vai negatīvu serumu bankā), vienmēr dotu negatīvu reakciju;
 - OIEELISA_NSS vienmēr dotu negatīvu reakciju.
- Katrā testu partijā jāiekļauj izteikti pozitīvs, vāji pozitīvs, negatīvs darba standartserums (kas kalibrēti, salīdzinot ar OIE ELISA standartserumiem).
3. PĀPILDU TESTI
- 3.1. **Brucelozes ādas raudzes tests (BST)**
- 3.1.1. *Nosacījumi BST testa izmantošanai*
- brucelozes ādas raudzes testu neizmanto sertificēšanai Kopienas iekšējai tirdzniecībai;
 - brucelozes ādas raudzes tests ir viens no specifiskākajiem testiem, lai noteiktu brucelozi nevakcinētiem dzīvniekiem; tomēr diagnozi nevajadzētu uzstādīt, pamatojoties tikai uz pozitīvām intradermālām reakcijām;
 - liellopus, kas pārbaudīti ar negatīvu rezultātu vienā no seroloģiskajiem testiem, kuri noteikti šajā pielikumā, un kas reaģē pozitīvi uz BST testu, uzskata par inficētiem vai par iespējami inficētiem;
 - liellopus, kas pārbaudīti ar pozitīvu rezultātu vienā no seroloģiskajiem testiem, kuri noteikti šajā pielikumā, var pakļaut BST testam, lai iegūtu apstiprinājumu seroloģiskā testa rezultātu interpretācijai, īpaši, kad no brucelozes brīvos vai no brucelozes oficiāli brīvos ganāmpulkos nevar izslēgt reakciju ar antivielām pret citām baktērijām.

- 3.1.2. Tests jāveic, izmantojot standartizētu un noteiktu brucelozes alergēnu sagatavi, kas nesatur atbilstošu lipopolisaharīdu (LPS) antigēnu, jo tas var izraisīt nespecifiskas iekaisuma reakcijas vai traucēt turpmākiem seroloģiskiem testiem.

Prasības brucelīna izgatavošanai ir sīki izklāstītas OIE Sauszemes dzīvnieku slimību diagnostikas testu un vakcīnu rokasgrāmatas sestā izdevuma (2008. gadā) 2.4.3. nodaļas C1. iedaļā.

3.1.3. *Testa procedūra*

- 3.1.3.1. Astes krokā, sānu ādā vai kakla pusē intradermāli injicē 0,1 ml brucelozes alergēna.

- 3.1.3.2. Testu nolasa pēc 48 līdz 72 stundām.

- 3.1.3.3. Ādas biezumu injekcijas vietā mēra ar bīdmēru pirms injekcijas un atkārtotā apskatē.

- 3.1.3.4. Rezultātu interpretācija

Pastiprinātas reakcijas var viegli atpazīt pēc lokāla pietūkuma un sacetējuma.

Ādas sabiezējumu no 1,5 līdz 2 mm uzskata par pozitīvu reakciju uz BST testu.

3.2. **Salīdzinošs enzīmu imūnosorbcijas tests (cELISA)**

- 3.2.1. *Nosacījumi cELISA testa izmantošanai*

cELISA testu neizmanto sertifikācijai Kopienas iekšējai tirdzniecībai.

Liellopus, kam vienā no pārējiem seroloģiskajiem testiem, kuri noteikti šajā pielikumā, ir konstatēts pozitīvs rezultāts, var pakļaut cELISA testam, lai iegūtu apstiprinājumu pārējo seroloģisko testu rezultātu interpretācijai, īpaši, kad no brucelozes oficiāli brīvos vai no brucelozes brīvos liellopu ganāmpulkos nevar izslēgt antivielu savstarpēju reakciju ar citām baktērijām, vai lai izslēgtu tādu reziduālu antivielu izraisītas reakcijas, kas radušās vakcinācijas ar S19 rezultātā.

3.2.2. *Testa metode*

Testu veic saskaņā ar OIE Sauszemes dzīvnieku slimību diagnostikas testu un vakcīnu rokasgrāmatas sestā izdevuma (2008. gadā) 2.4.3. nodaļas B iedaļas 2. punkta prasībām.”

- 2) Direktīvas 64/432/EEK C pielikuma 4.1. punktu aizstāj ar šādu:

“4.1. **Uzdevumi un pienākumi**

Valsts references laboratorijas, kas noteiktas atbilstīgi 6.a punktam, atbild:

- a) par to izvērtēšanas pētījumu, kas parāda dalībvalstī izmantotās testa metodes ticamību, rezultātu apstiprināšanu;
 - b) par maksimālā paraugu skaita noteikšanu, ko apvieno bankā ELISA komplektos;
 - c) par darba standartu kalibrēšanu, kā noteikts 2.1.6. punktā;
 - d) par visu antigēnu un dalībvalstī izmantoto ELISA komplektu partiju kvalitātes pārbaudēm;
 - e) par ieteikumu ievērošanu, ko sniegusi Kopienas references laboratorija brucelozes noteikšanai, un par sadarbību ar to.”
-