

VERORDENING (EG) Nr. 1226/2002 VAN DE COMMISSIE
van 8 juli 2002
tot wijziging van bijlage B bij Richtlijn 64/432/EEG van de Raad

DE COMMISSIE VAN DE EUROPESE GEMEENSCHAPPEN,

Gelet op het Verdrag tot oprichting van de Europese Gemeenschap,

Gelet op Richtlijn 64/432/EEG van de Raad van 26 juni 1964 inzake veterinaire rechtelijke vraagstukken op het gebied van het intracommunautaire handelsverkeer in runderen en varkens⁽¹⁾, laatstelijk gewijzigd bij Verordening (EG) nr. 535/2002 van de Commissie⁽²⁾, en met name op artikel 16, lid 1, tweede alinea,

Overwegende hetgeen volgt:

- (1) Op 11 oktober 1999 heeft het Wetenschappelijk Comité voor de gezondheid en het welzijn van dieren een verslag⁽³⁾ goedgekeurd inzake de wijziging van de technische bijlagen bij Richtlijn 64/432/EEG in verband met de meest recente wetenschappelijke ontwikkelingen op het gebied van tuberculose, brucellose en enzoötische bovine leukose.
- (2) Overeenkomstig bovengenoemd verslag moeten diagnostische tests op tuberculose worden uitgevoerd volgens het „Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines” (Handboek inzake normen voor diagnostische tests en vaccins), derde editie 1996, van het Internationaal Bureau voor Besmettelijke Veeziekten (OIE).
- (3) In augustus 2001 heeft het OIE de vierde editie 2000 van dat handboek gepubliceerd, waarin onder andere enkele wijzigingen zijn opgenomen in de beschrijving van de tests op tuberculose.

- (4) In januari 2002 heeft de Europese Dienst voor de Kwaliteit van Geneesmiddelen (EDQM) de vierde editie 2002 gepubliceerd van de Europese Farmacopee, waarin onder andere de monografieën 0535 en 0536 inzake „Tuberculin Purified Protein Derivative, Avian and Bovine” (aviaire en bovine PPD-tuberculinen) zijn opgenomen.
- (5) Bijlage B bij Richtlijn 64/432/EEG moet bijgevolg worden gewijzigd teneinde testprocedures voor gebruik in het kader van de bewaking en de handel in de Gemeenschap vast te stellen die rekening houden met het advies van het Wetenschappelijk Veterinair Comité.
- (6) De in deze verordening vervatte maatregelen zijn in overeenstemming met het advies van het Permanent Comité voor de voedselketen en de diergezondheid,

HEEFT DE VOLGENDE VERORDENING VASTGESTELD:

Artikel 1

Bijlage B bij Richtlijn 64/432/EEG wordt vervangen door de bijlage bij deze verordening.

Artikel 2

Deze verordening treedt in werking op de twintigste dag volgende op die van haar bekendmaking in het *Publicatieblad van de Europese Gemeenschappen*.

Deze verordening is verbindend in al haar onderdelen en is rechtstreeks toepasselijk in elke lidstaat.

Gedaan te Brussel, 8 juli 2002.

Voor de Commissie

David BYRNE

Lid van de Commissie

⁽¹⁾ PB 121 van 29.7.1964, blz. 1977/64.

⁽²⁾ PB L 80 van 23.3.2002, blz. 22.

⁽³⁾ SANCO/B3/R10/1999.

BIJLAGE

„BIJLAGE B

TUBERCULOSE

1. IDENTIFICATIE VAN HET AGENS

De aanwezigheid van *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*), het agens van bovine tuberculose, bij zieke en gestorven dieren kan worden aangetoond door onderzoek van gekleurde uitstrijkjes of door toepassing van immunoperoxidasetechnieken en bevestigd door het kweken van het organisme op een primair isolatiemedium.

Pathologisch materiaal voor de bevestiging van *M. bovis* moet worden genomen van abnormale lymfeklieren en van parenchymateuze organen zoals de longen, de lever, de milt, enz. Wanneer het dier geen pathologische laesies vertoont, moeten van de retrofaryngeale, de bronchiale, de mediastinale, de supramammaire, de mandibulaire en enkele mesenteriale lymfeklieren en van de levermonsters worden genomen voor onderzoek en voor kweekdoeleinden.

Om de isolaten te identificeren worden gewoonlijk de eigenschappen bepaald die relevant zijn uit een oogpunt van kweek en van biochemie. Het *M. tuberculosis* complex kan ook worden opgespoord met behulp van de „polymerase chain reaction” (PCR). Voor de differentiatie tussen *M. bovis* en andere delen van het *M. tuberculosis* complex zouden technieken op basis van DNA-analyse sneller kunnen blijken dan biochemische methoden. Aan de hand van de genetische „fingerprinting” kunnen de verschillende stammen van *M. bovis* van elkaar worden onderscheiden en kunnen de patronen met betrekking tot herkomst, overdracht en verspreiding van *M. bovis* worden beschreven.

De gebruikte technieken en kweekbodems, de standaardisatie daarvan en de interpretatie van de resultaten moeten in overeenstemming zijn met de desbetreffende voorschriften van het „Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines” (Handboek inzake normen voor diagnostische tests en vaccins) van het OIE, vierde editie 2000, hoofdstuk 2.3.3 (bovine tuberculose).

2. DE TUBERCULINETEST

De officiële tuberculinaties moeten worden verricht volgens de in punt 2.2 beschreven procedures met PPD-tuberculinen die voldoen aan de in punt 2.1 vastgestelde normen.

2.1. Normen voor aviaire en bovine tuberculinen

2.1.1. Definitie

Bovine of aviaire PPD-tuberculine is een preparaat dat is verkregen van verhitte groei- en lysisproducten van *Mycobacterium bovis* of *Mycobacterium avium* (naar gelang van het geval), aan de hand waarvan vertraagde hypersensitiviteit kan worden aangetoond bij een dier dat is gesensibiliseerd voor micro-organismen van dezelfde soort.

2.1.2. Productie

Tuberculine wordt verkregen uit de in water oplosbare fracties, die zijn bereid door cultures van *M. bovis* of *M. avium* (naar gelang van het geval), gekweekt in een vloeibaar synthetisch medium, te verhitten in vrij uitstromende stoom en vervolgens te filtreren. De werkzame fractie van het filtraat, dat hoofdzakelijk bestaat uit eiwitten, wordt geïsoleerd door precipitatie, gewassen en opnieuw opgelost. Een antibacterieel bewaarmiddel dat geen vals positieve reactie veroorzaakt, bijvoorbeeld fenol, mag worden toegevoegd. Het steriele eindpreparaat, dat vrij is van mycobacteriën, wordt aseptisch verdeeld over steriele glazen recipiënten waarmee niet kan worden geknoeid; die recipiënten worden gesloten om verontreiniging te voorkomen. Het preparaat mag worden gevriesdroogd.

2.1.3. Identificatie van het product

Naar behoren gesensibiliseerde albinocavia's, elk met een gewicht van ten minste 250 g, worden intradermaal op verschillende plaatsen geïnjecteerd met tuberculine in verschillende vooraf bepaalde doses. Na 24 tot 28 uur ontstaan oedemateuze reactiezwellingen met erythem en met of zonder necrose op de plaats van injectie. Omvang en ernst van de reactie verschillen naar gelang van de dosis. Niet-gesensibiliseerde cavia's reageren niet op soortgelijke injecties.

2.1.4. Tests

2.1.4.1. pH: De pH bedraagt 6,5 tot 7,5.

- 2.1.4.2. Fenol: Indien het te onderzoeken preparaat fenol bevat, mag de concentratie daarvan niet meer bedragen dan 5 g/l.
- 2.1.4.3. Sensibiliseringsvermogen: Gebruik een groep van drie cavia's die niet zijn behandeld met enig materiaal dat de test kan beïnvloeden. Injecteer elke cavia driemaal, met een tussenpoos van vijf dagen, intradermaal met een dosis van het te onderzoeken preparaat die overeenkomt met 500 IE in 0,1 ml. Injecteer de betrokken dieren, alsmede een controlegroep van drie cavia's uit dezelfde troep, die van tevoren niet zijn getuberculineerd, intradermaal met dezelfde dosis (500 IE) 15 tot 21 dagen na de derde injectie. 24 tot 28 uur na de laatste injecties zijn de reacties in de twee groepen niet wezenlijk verschillend.
- 2.1.4.4. Toxiciteit: Gebruik twee cavia's, elk met een gewicht van ten minste 250 g, die niet zijn behandeld met enig materiaal dat de test kan beïnvloeden. Injecteer elke cavia subcutaan met 0,5 ml van het te onderzoeken preparaat. Observeer de dieren gedurende zeven dagen. Tijdens deze observatieperiode worden geen abnormale effecten geconstateerd.
- 2.1.4.5. Steriliteit: De test op de steriliteit moet worden uitgevoerd overeenkomstig de bepalingen in de monografie inzake vaccins voor diergeneeskundig gebruik, vierde editie 2002, van de Europese Farmacopee.

2.1.5. *Werkzaamheid*

De werkzaamheid van boviene en aviaire PPD-tuberculinen wordt bepaald door de reacties die bij gesensibiliseerde cavia's worden opgewekt door intradermale injectie van een serie verdunningen van het te onderzoeken preparaat, te vergelijken met die welke worden opgewekt door bekende concentraties van een referentiepreparaat van (boviene of aviaire, naar gelang van het geval) PPD-tuberculine, dat is gecalibreerd in internationale eenheden.

Om de werkzaamheid te testen moeten ten minste negen albinocavia's, elk met een gewicht van 400 tot 600 g, worden gesensibiliseerd door 0,0001 mg vochtige massa van levend *M. bovis* van stam AN5, gesuspendeerd in 0,5 ml van een 9 g/l oplossing natriumchloride R wanneer het gaat om boviene tuberculine, of een geschikte dosis geïnactiveerd of levend *M. avium* wanneer het gaat om aviaire tuberculine, diep intramusculair te injecteren. Ten minste vier weken na de sensibilisatie van de cavia's wordt op de beide flanken van de dieren voldoende haar weggeschoren om aan elke kant ten hoogste vier injecties te geven. Bereid verdunningen van het te onderzoeken preparaat en van het referentiepreparaat met een isotone PBS (pH 6,5-7,5) die 0,005 g/l polysorbaat 80 R bevat. Gebruik ten minste drie doses van het referentiepreparaat en ten minste drie doses van het te onderzoeken preparaat. Kies de doses zo dat de opgewekte laesies een diameter hebben van ten minste 8 en ten hoogste 25 mm. Verdeel de verdunningen willekeurig over de injectieplaatsen in de vorm van een Latijns vierkant. Injecteer elke dosis intradermaal in een constant volume van 0,1 of 0,2 ml. Meet de diameter van de laesies na 24 tot 28 uur en bereken het resultaat van de test volgens de gebruikelijke statistische methoden, ervan uitgaande dat de laesies recht evenredig zijn aan het logaritme van de concentratie van de tuberculines.

De test is slechts geldig indien de 95 %-betrouwbaarheidsgrenzen ($P = 0,95$) ten minste 50 % en ten hoogste 200 % bedragen van de geraamde werkzaamheid. De geraamde werkzaamheid bedraagt ten minste 66 % en ten hoogste 150 % van de opgegeven werkzaamheid voor boviene tuberculine. De geraamde werkzaamheid bedraagt ten minste 75 % en ten hoogste 133 % van de opgegeven werkzaamheid voor aviaire tuberculine. De opgegeven werkzaamheid bedraagt ten minste 20 000 IE/ml voor zowel boviene als aviaire tuberculine.

2.1.6. *Opslag*

Opslaan bij $5 \pm 3^\circ\text{C}$, afgeschermd van het licht.

2.1.7. *Etikettering*

Op het etiket worden vermeld:

- de werkzaamheid in internationale eenheden (IE) per milliliter;
- de naam en de hoeveelheid van elke toegevoegde stof;
- voor gevriesdroogde preparaten:
 - de naam en het volume van de toe te voegen reconstitutievloeistof;
 - dat het product direct na reconstitutie moet worden gebruikt.

2.2. **Testprocedures**

2.2.1. Als officiële intradermale tuberculinetest worden erkend:

- de enkelvoudige intradermale test: bij deze test volstaat één enkele injectie met boviene tuberculine;
- de intradermale vergelijkende test: bij deze test moeten gelijktijdig één injectie met aviaire tuberculine en één injectie met boviene tuberculine worden toegediend.

- 2.2.2. De geïnjecteerde dosis tuberculine mag niet lager zijn dan:
- 2 000 IE bovine tuberculine;
 - 2 000 IE aviaire tuberculine.
- 2.2.3. Het volume van een injectiedosis mag niet meer bedragen dan 0,2 ml.
- 2.2.4. Bij de tuberculinetests wordt de tuberculine geïnjecteerd in de nekhuid. De injectieplaatsen liggen op de grens tussen het voorste en het middelste derde van de nek. Wanneer bij hetzelfde dier zowel aviaire als bovine tuberculine wordt geïnjecteerd, ligt de injectieplaats voor de aviaire tuberculine ongeveer 10 cm van de kruin van de nek en die voor de bovine tuberculine ongeveer 12,5 cm lager op een lijn die ongeveer evenwijdig loopt met de schouderlijn; er mag ook geïnjecteerd worden aan weerszijden van de nek; bij jonge dieren, waarbij geen plaats is om de injectiepunten op één zijde van de nek voldoende van elkaar te scheiden, wordt één injectie gegeven aan elke zijde van de nek op dezelfde plaats, namelijk in het midden van het middelste derde van de nek.
- 2.2.5. Bij het uitvoeren van de tuberculinaties en het interpreteren van de reacties wordt als volgt te werk gegaan.
- 2.2.5.1. Werkwijze
- De injectieplaatsen worden geschoren en gereinigd. Binnen elke geschoren zone wordt tussen duim en wijsvinger een huidplooi genomen, waarvan de dikte wordt gemeten met een krompasser; het resultaat wordt genoteerd. De injectiemethode moet garanderen dat de tuberculine intradermaal vrijkomt. Een korte steriele naald met een geïmpregneerde, met tuberculine gevulde spuit wordt, met de schuine kant naar buiten, schuin in de diepste huidlagen ingebracht. Bij een correcte injectie kan aan elke kant van de injectieplaats een kleine zwelling ter grootte van een erwtenkorrel worden gepalpeerd. De dikte van de huidplooi op elke injectieplaats wordt na 72 uur ($\pm$ vier uur) opnieuw gemeten en genoteerd.
- 2.2.5.2. Interpretatie van de reacties
- De interpretatie van de reacties dient te steunen op klinische observaties en op de genoteerde verdikkingen van de huidplooi op de injectieplaatsen, 72 uur na injectie van de tuberculine.
- a) Negatieve reactie: wanneer slechts een beperkte zwelling wordt geconstateerd, met een toename van de dikte van de huidplooi met maximaal 2 mm, zonder klinische symptomen, zoals diffuus of extensief oedeem, exudatie, necrose, pijn of ontsteking van de lymfevaten in die omgeving of van de lymfeknopen.
 - b) Twijfelachtige reactie: wanneer geen klinische symptomen zoals genoemd onder a) worden geconstateerd en de verdikking van de huidplooi meer dan 2 doch minder dan 4 mm bedraagt.
 - c) Positieve reactie: wanneer klinische symptomen zoals genoemd onder a) worden geconstateerd of als de verdikking van de huidplooi op de injectieplaats 4 mm of meer bedraagt.
- 2.2.5.3. De officiële intradermale tuberculinaties worden als volgt geïnterpreteerd.
- 2.2.5.3.1. De enkelvoudige intradermale test:
- a) positief: een positieve bovine reactie zoals omschreven in punt 2.2.5.2, onder c);
 - b) twijfelachtig: een twijfelachtige reactie zoals omschreven in punt 2.2.5.2, onder b);
 - c) negatief: een negatieve bovine reactie zoals omschreven in punt 2.2.5.2, onder a).
- Bij dieren waarbij de reactie op de enkelvoudige intradermale test twijfelachtig is, wordt ten minste 42 dagen later opnieuw een tuberculinatie uitgevoerd.
- Van dieren die niet negatief reageren op deze tweede test, wordt aangenomen dat zij positief hebben gereageerd op de test.
- Bij dieren die positief reageren op de enkelvoudige intradermale test, kan een intradermale vergelijkende test worden uitgevoerd wanneer wordt vermoed dat het om een vals positieve reactie gaat of dat de reactie is toe te schrijven aan interferentie.
- 2.2.5.3.2. De intradermale vergelijkende test om te bepalen of een beslag officieel tuberculosevrij is en blijft:
- a) positief: een positieve bovine reactie die meer dan 4 mm groter is dan de aviaire reactie, of klinische symptomen;
 - b) twijfelachtig: een positieve of twijfelachtige bovine reactie die 1 tot 4 mm groter is dan de aviaire reactie, zonder klinische symptomen;
 - c) negatief: een negatieve bovine reactie, dan wel een positieve of twijfelachtige bovine reactie die evenwel gelijk is aan of kleiner is dan een positieve of twijfelachtige aviaire reactie, in beide gevallen zonder klinische symptomen.
- Bij dieren die twijfelachtig reageren op de intradermale vergelijkende test, wordt ten minste 42 dagen later een nieuwe test uitgevoerd. Van dieren die niet negatief reageren op deze tweede test, wordt aangenomen dat zij positief hebben gereageerd op de test.

2.2.5.3.3. De officieel tuberculosevrije status van een beslag kan worden opgeschort en dieren van dat beslag mogen niet in het intracommunautaire handelsverkeer worden gebracht, totdat uitsluitel is verkregen over de status van de volgende dieren:

- a) dieren die geacht worden twijfelachtig te hebben gereageerd op de enkelvoudige intradermale tuberculinetest;
- b) dieren die geacht worden positief te hebben gereageerd op de enkelvoudige intradermale tuberculinetest, maar die wachten op een nieuwe, intradermale vergelijkende test;
- c) dieren die geacht worden twijfelachtig te hebben gereageerd op de intradermale vergelijkende test.

2.2.5.3.4. Wanneer dieren krachtens de communautaire wetgeving een intradermale test moeten ondergaan voordat ze mogen worden verplaatst, mogen dieren waarbij een verdikking van de huidplooi van meer dan 2 mm of klinische symptomen worden geconstateerd, niet in het intracommunautaire handelsverkeer worden gebracht.

2.2.5.3.5. Teneinde zo veel mogelijk besmette en zieke dieren in een beslag of een gebied op te sporen, mogen de lidstaten de criteria voor het interpreteren van de test zo wijzigen dat de gevoeligheid van de test groter wordt, in die zin dat de in de punten 2.2.5.3.1, onder b), en 2.2.5.3.2, onder b), bedoelde twijfelachtige resultaten als positief worden aangemerkt.

3. AANVULLENDE TESTS

Teneinde zo veel mogelijk besmette en zieke dieren in een beslag of een gebied op te sporen, mogen de lidstaten toestaan dat, naast de tuberculinetest, gebruik wordt gemaakt van de gamma-interferontest zoals bedoeld in het „Handboek inzake normen voor diagnostische tests en vaccins” van het OIE, vierde editie, 2000, hoofdstuk 2.3.3. (bovine tuberculose).

4. RIJKSINSTITUTEN EN NATIONALE REFERENTIELABORATORIA

4.1. **Taken en bevoegdheden**

De in punt 4.2 genoemde rijksinstituten en referentielaboratoria zijn verantwoordelijk voor de officiële toetsing in hun lidstaat van de in de punten 2 en 3 opgenomen tuberculinen en reagentia, teneinde te garanderen dat de betrokken tuberculinen en reagentia aan de hierboven bedoelde normen voldoen.

4.2. **Lijst van rijksinstituten en nationale referentielaboratoria**

1. Duitsland:
Paul-Ehrlich Institut (PEI), Bundesamt für Sera und Impfstoffe, D-23207 Langen; Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin, Bereich Jena, D-07743 Jena
2. België:
Institut Scientifique de la Santé Publique — Louis Pasteur, 14, rue Juliette Wytsman, B-1050 Brussel
3. Frankrijk:
Laboratoire national des médicaments vétérinaires, Fougères
4. Groothertogdom Luxemburg:
Instelling van het land van herkomst
5. Italië:
Istituto superiore di sanità, Rome
6. Nederland:
Centraal Instituut voor Dierziektecontrole Lelystad (CIDC-Lelystad), Lelystad
7. Denemarken:
Danmarks Veterinærinstitut, Bülowsvej 27, DK-1790 København
8. Ierland:
Instelling van het land van herkomst
9. Verenigd Koninkrijk:
Veterinary Laboratory Agency, Addlestone, Weybridge, England
10. Griekenland:
Κέντρο Κτηνιατρικών Ιδρυμάτων Αθηνών, Νεαπόλεως 25, 153 10 Αθήνα

11. Spanje:
Laboratorio de Sanidad y Producción Animal de Granada
 12. Portugal:
Laboratório Nacional de Investigação Veterinária, Lissabon
 13. Oostenrijk:
Bundesanstalt für veterinärmedizinische Untersuchungen, Mödling
 14. Finland:
Eläinlääkintä - ja elintarviketutkimus laitos/Forskningsanstalten för veterinärmedicin och livsmedel,
Helsinki
 15. Zweden:
Statens veterinärmedicinska anstalt, Uppsala.”
-