

32002R1226

9.7.2002

JURNALUL OFICIAL AL COMUNITĂȚILOR EUROPENE

L 179/13

**REGULAMENTUL (CE) NR. 1226/2002 AL COMISIEI
din 8 iulie 2002
de modificare a anexei B la Directiva 64/432/CEE a Consiliului**

COMISIA COMUNITĂȚILOR EUROPENE,

având în vedere Tratatul de instituire a Comunității Europene,

având în vedere Directiva 64/432/CEE a Consiliului din 26 iunie 1964 privind problemele de sănătate animală care afectează comerțul intracomunitar cu bovine și porcine ⁽¹⁾, astfel cum a fost modificată ultima dată prin Regulamentul (CE) nr. 535/2002 al Comisiei ⁽²⁾, în special articolul 16 alineatul (1) al doilea paragraf,

întrucât:

- (1) La 11 octombrie 1999, Comitetul științific pentru sănătatea și bunăstarea animalelor adoptă un raport ⁽³⁾ privind modificarea anexelor tehnice la Directiva 64/432/CEE, în scopul luării în considerare a progreselor științifice din domeniul tuberculozei, brucelozei și leucozei enzootice bovine.
- (2) Potrivit raportului respectiv, testele de cercetare a tuberculozei trebuie să se efectueze în conformitate cu manualul de norme referitoare la testele de diagnosticare și vaccinuri, ediția a treia (ediția 1996), al Oficiului Internațional de Epizootii (OIE).
- (3) În luna august 2001, OIE a publicat cea de-a patra ediție a manualului menționat (ediția 2000), care aduce unele modificări în ceea ce privește descrierea testelor care se aplică tuberculozei.

- (4) În luna ianuarie 2002, Direcția Europeană pentru Calitatea Medicamentelor a publicat cea de-a patra ediție (ediția 2002) a Farmacopeii europene, inclusiv monografiile 0535 și 0536 privind derivatul proteic purificat de tuberculină de tip aviar și bovin.
- (5) În consecință, este necesară modificarea anexei B la Directiva 64/432/CEE pentru a defini procedurile de testare care se aplică monitorizării și comerțului intracomunitar, ținându-se seama și de avizul Comitetului științific veterinar.
- (6) Măsurile prevăzute de prezentul regulament sunt în conformitate cu avizul Comitetului permanent pentru lanțul alimentară și sănătatea animală,

ADOPTĂ PREZENTUL REGULAMENT:

Articolul 1

Anexa B la Directiva 64/432/CEE se înlocuiește cu anexa la prezentul regulament.

Articolul 2

Prezentul regulament intră în vigoare în a douăzecea zi de la data publicării în *Jurnalul Oficial al Comunităților Europene*.

Prezentul regulament este obligatoriu în toate elementele sale și se aplică direct în toate statele membre.

Adoptat la Bruxelles, 8 iulie 2002.

Pentru Comisie

David BYRNE

Membru al Comisiei

⁽¹⁾ JO 121, 29.7.1964, p. 1977/64.

⁽²⁾ JO L 80, 23.3.2002, p. 22.

⁽³⁾ SANCO/B3/R10/1999.

ANEXĂ

„ANEXA B

TUBERCULOZA

1. IDENTIFICAREA AGENTULUI

Prezența *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*), agentul tuberculozei bovine, în probele clinice și post-mortem, poate fi stabilită prin examinarea froțiilor colorate sau a tehnicilor de imunoperoxidază și confirmată prin cultivarea organismului pe un mediu de izolare primară.

Țesutul patologic necesar pentru confirmarea prezenței *M. bovis* se prelevează din ganglioni anormali și organe parenchimotoase precum plămâni, ficatul, splina etc. În cazul în care animalul nu prezintă leziuni patologice, probele trebuie să se preleveze din ganglioni retrofaringieni, ganglioni pulmonari, ganglioni mediastinali, ganglioni limfatici supramamari, ganglioni submaxilari și anumiți ganglioni mezenterici și hepatici, în scopul examinării și cultivării.

Identificarea izolatelor se poate face, de regulă, prin stabilirea proprietăților biochimice și a specificităților culturii respective. Reacția în lanț a polimerazei (PCR) poate fi, de asemenea, utilizată pentru depistarea complexului tuberculozei *M. tuberculosis*. Tehnicile de analiză a ADN-ului se pot dovedi mai rapide și mai fiabile decât metodele biochimice de diferențiere a *Mycobacterium bovis* de alți membri ai complexului tuberculozei *M. tuberculosis*. Ampretele genetice permit stabilirea diferenței dintre diferitele tulpini de *Mycobacterium bovis*, precum și descrierea modelelor cauzelor și a modurilor de transmitere și de răspândire a *Mycobacterium bovis*.

Tehnicile și mijloacele utilizate, standardizarea acestora și interpretarea rezultatelor trebuie să fie în conformitate cu indicațiile care figurează în capitolul 2.3.3 (tuberculoza bovină) din manualul pentru teste de diagnosticare și vaccinuri (ediția a patra, 2000) al OIE.

2. TESTUL CUTANAT LA TUBERCULINĂ

Pentru realizarea testului cutanat oficial la tuberculină se utilizează derivatele proteice purificate de tuberculină care îndeplinesc condițiile stabilite la punctul 2.1, în conformitate cu procedurile menționate la punctul 2.2.

2.1. Norme care se aplică tuberculinei (de tip bovin și aviar)

2.1.1. Definiție

Derivatul proteic purificat (tuberculina PPD, de tip bovin sau aviar) este un preparat obținut prin aplicarea unui tratament termic unor produse de creștere și de liză a *Mycobacterium bovis* și a *Mycobacterium avium* (după caz) care au posibilitatea de a manifesta o hipersensibilitate întârziată la un animal sensibilizat la microorganisme din aceeași specie.

2.1.2. Producere

Tuberculina se obține din fracții solubile în apă, preparate prin încălzire în vapori liberi, urmată de filtrare, a culturilor de *M. bovis* și *M. avium* (după caz), cultivate într-un mediu sintetic lichid. Frația activă a filtratului, compusă în principal din proteine, este izolată prin precipitare, spălată și dizolvată încă o dată. Se poate adăuga un produs de protecție antimicrobian care nu provoacă false reacții pozitive, cum ar fi fenolul. Preparatul steril final, lipsit de micobacterii, este distribuit în condiții aseptice în recipiente de sticlă securizate, care sunt închise pentru a evita contaminarea. Preparatul poate fi liofilizat.

2.1.3. Identificarea produsului

Se procedează la injectarea intradermică a mai multor doze calibrate, în diferite puncte, a cobailor albinoși sensibilizați corect, în greutate de nu mai puțin de 250 grame fiecare. După o perioadă de 24 până la 28 de ore, apar reacții sub formă de edeme cu eritem, cu sau fără necroză în punctele de injectare. Amploarea și gravitatea reacțiilor variază în funcție de doza injectată. Cobaii care nu au fost sensibilizați nu prezintă nici o reacție la injectările de acest tip.

2.1.4. Teste

2.1.4.1. pH: pH-ul variază între 6,5 și 7,5.

- 2.1.4.2. Fenol: în cazul în care preparatul care trebuie examinat conține fenol, concentrația acestuia nu trebuie să fie mai mare de 5 g/l.
- 2.1.4.3. Efect de sensibilizare: se utilizează un grup de 3 cobai, care nu au fost tratați cu materiale care să interfereze cu testul. Fiecărui cobai i se injectează intradermic, de trei ori, în interval de cinci zile, o doză din preparatul care trebuie examinat echivalentă cu 500 UI la 0,1 ml. După 15 până la 21 de zile de la prima injecție, se injectează intradermic aceeași doză (500 UI) aceluiași animal, precum și unui grup de control format din trei cobai cu greutate similară și care nu au fost injectați în prealabil cu tuberculină. După 24 până la 48 de ore de la ultimele injecții, reacțiile celor două grupuri nu prezintă diferențe semnificative.
- 2.1.4.4. Toxicitate: se utilizează doi cobai, care cântăresc fiecare cel puțin 250 de grame și care nu au fost tratați în prealabil cu materiale care să interfereze cu testul. Fiecărui cobai i se injectează subcutanat 0,5 ml din preparatul care trebuie examinat. Animalele sunt observate timp de șapte zile. În cursul perioadei de observare nu se manifestă nici un efect anormal.
- 2.1.4.5. Sterilitate: este necesar să se efectueze testul de sterilitate prescris în monografia privind vaccinurile de uz veterinar, ediția a patra (2002), din Farmacopeea europeană.
- 2.1.5. **Puterea de reacție**
- Puterea de reacție a derivatului proteic purificat de tuberculină (de tip bovin și aviar) se determină prin compararea reacțiilor produse la cobaii sensibilizați prin injecția intradermică a unei serii de diluții ale preparatului care trebuie examinat cu cele produse de concentrațiile cunoscute ale unui preparat de referință al derivatului proteic purificat de tuberculină (de tip bovin și aviar, după caz), măsurat în unități internaționale.
- Pentru testarea puterii de reacție, se sensibilizează cel puțin nouă cobai albinoși, fiecare cântărind între 400 și 600 de grame, prin injecția intramusculară profundă a unei cantități de 0,0001 mg de masă umedă de tulpină AN5 de *M. bovis* viu, în suspensie în 0,5 ml de soluție de 9 g/l de clorură de sodiu R pentru tuberculina de tip bovin, sau a unei doze adecvate de *M. avium* dezactivat sau viu, pentru tuberculina de tip aviar. După cel puțin patru săptămâni de la sensibilizarea cobailor, se rade părul animalelor de pe părțile laterale ale corpului pentru a elibera spațiul necesar pentru cel puțin patru puncte de injecție, pe fiecare parte. Se prepară diluții ale preparatului care trebuie examinat și ale preparatului de referință, utilizându-se o soluție salină izotonică tamponată de fosfați (cu un pH cuprins între 6,5 și 7,5) care conține 0,005 g/l de polisorbit 80 R. Se utilizează cel puțin trei doze din preparatul de referință și aceeași cantitate din preparatul care trebuie examinat. Dozele se determină astfel încât leziunile produse să aibă un diametru de 8 până la 25 mm. Diluțiile se repartizează aleatoriu punctelor în conformitate cu un desen în pătrat latin. Fiecare doză se injectează intradermic, într-un volum constant de 0,1 sau 0,2 ml. După o perioadă de 24 până la 48 de ore, se măsoară diametrele leziunilor și se calculează rezultatul testului, prin utilizarea metodelor statistice uzuale și pe baza ipotezei că diametrele leziunilor sunt direct proporționale cu logaritmul concentrației tuberculinelor.
- Testul este valabil numai cu condiția ca marjele de eroare ($P = 0,95$) să fie mai mari de 50 % și mai mici de 200 % din puterea de reacție estimată. Puterea de reacție estimată este mai mare de 66 % și mai mică de 150 % din puterea declarată a tuberculinei de tip bovin. Puterea de reacție calculată trebuie să fie mai mare de 75 % și mai mică de 133 % din puterea declarată a tuberculinei de tip aviar. Puterea de reacție declarată trebuie să fie mai mare de 20 000 UI/ml pentru cele două tipuri de tuberculină (bovină și aviară).
- 2.1.6. **Depozitarea**
- Se depozitează în locuri ferite de lumină, la o temperatură de 5 ± 3 °C.
- 2.1.7. **Etichetarea**
- Eticheta trebuie să indice următoarele:
- puterea de reacție în unități internaționale pe mililitru;
 - denumirea și cantitatea substanțelor adăugate;
 - pentru preparatele liofilizate:
 - denumirea și volumul lichidului de reconstituire de adăugat;
 - faptul că produsul trebuie utilizat imediat după reconstituire.
- 2.2. **Procedurile de efectuare a testelor**
- 2.2.1. Sunt recunoscute ca teste oficiale de tuberculinare intradermică următoarele teste:
- testul intradermic simplu: acest test necesită o singură injecție cu tuberculină de tip bovin;
 - testul intradermic comparativ: acest test necesită o injecție cu tuberculină de tip bovin și o injecție cu tuberculină de tip aviar, administrate simultan.

- 2.2.2. Doza de tuberculină injectată trebuie să fie:
- egală sau mai mare de 2 000 UI de tuberculină de tip bovin;
 - egală sau mai mare de 2 000 UI de tuberculină de tip aviar.
- 2.2.3. Volumul fiecărei injectări nu trebuie să depășească 0,2 ml.
- 2.2.4. Testele de tuberculinare se efectuează prin injectarea tuberculinei în pielea gâtului. Punctele de injectare vor fi situate la limita dintre treimea anterioară și cea mijlocie a gâtului. În cazul în care se injectează aceluiași animal ambele tipuri de tuberculină, bovină și aviară, punctul de injectare a tuberculinei aviare trebuie să fie situat la 10 cm de linia superioară a gâtului, iar punctul de injectare a tuberculinei bovine va fi cu 12,5 cm mai jos, pe o linie aproximativ paralelă cu linia umărului sau pe părțile laterale ale gâtului; în cazul animalelor tinere la care nu există spațiu suficient pentru a separa punctele de injectare pe o singură parte a gâtului, se efectuează câte o injecție pe fiecare latură a gâtului, în puncte identice situate în centrul treimii mijlocii a gâtului.
- 2.2.5. Tehnica tuberculinării și interpretarea reacțiilor
- 2.2.5.1. Tehnica
- Punctele de injectare se tund și se dezinfectează. Se prinde un pliu de piele din interiorul fiecărei zone tunse între degetul mare și degetul arătător, se măsoară cu ajutorul unui șubler și se înregistrează rezultatul. Apoi se injectează doza de tuberculină printr-o metodă care să garanteze că este efectuată intradermic. În acest scop, se poate utiliza un ac scurt și steril, cu tăiat oblic cu marginea orientată către exterior, atașat la o seringă gradată, conținând tuberculină, care va fi introdus în straturile mai profunde ale pielii. Se verifică dacă injectarea a fost efectuată corect prin palparea unui mic nodul de mărimea unui bob de mazăre, în fiecare punct de injectare. Se măsoară din nou grosimea pliului de piele în fiecare punct de injectare după 72 de ore (+/- 4 ore) de la injectare și se înregistrează rezultatul.
- 2.2.5.2. Interpretarea reacțiilor
- Interpretarea rezultatelor se face pe baza observațiilor clinice și a constatării creșterii sau creșterilor grosimii înregistrate a pliului de piele în punctele de injectare, după o perioadă de 72 de ore de la injectarea tuberculinei sau tuberculinelor.
- (a) Reacție negativă: reacția este calificată drept negativă dacă se observă numai o inflamare limitată, cu o creștere a grosimii pliului de piele nu mai mare de 2 mm, fără semne clinice cum ar fi edem difuz sau extins, exsudație, necroză, durere sau inflamare a canalelor limfatice în zona respectivă sau a ganglionilor limfatici.
 - (b) Reacție neconcludentă: reacția este calificată drept neconcludentă în cazul în care nu se observă nici unul din semnele clinice menționate la litera (a) și în cazul în care creșterea grosimii pliului de piele este mai mare de 2 mm și mai mică de 4 mm.
 - (c) Reacție pozitivă: reacția este calificată drept pozitivă dacă se observă semnele clinice menționate la litera (a) sau o creștere a grosimii pliului de piele în punctul de injectare de 4 mm sau mai mare.
- 2.2.5.3. Interpretarea testelor oficiale de tuberculinare intradermică se face după cum urmează:
- 2.2.5.3.1. Test intradermic simplu:
- (a) pozitiv: reacție pozitivă la tuberculina de tip bovin, precum cea descrisă la litera (c) de la punctul 2.2.5.2;
 - (b) neconcludent: reacție neconcludentă, precum cea descrisă la litera (b) de la punctul 2.2.5.2;
 - (c) negativ: reacție negativă la tuberculina de tip bovin, precum cea descrisă la litera (a) de la punctul 2.2.5.2.
- Animalele la care testul intradermic simplu a dat rezultate neconcludente sunt supuse unui alt test de tuberculinare după o perioadă de cel puțin 42 de zile.
- Animalele la care al doilea test nu indică rezultate negative sunt considerate ca fiind pozitive la testare.
- Animalele la care testul intradermic simplu indică rezultate pozitive vor putea fi supuse unui test intradermic comparativ dacă se suspectează existența unei reacții pozitive false sau a unei reacții de interferență.
- 2.2.5.3.2. Testul intradermic comparativ pentru stabilirea și menținerea statutului de efectiv oficial indemn de tuberculoză:
- (a) pozitiv: se constată o reacție pozitivă la tuberculina de tip bovin dacă sunt prezente semne clinice sau dacă tuberculina de tip bovin duce la o creștere a grosimii pliului de piele mai mare cu 4 mm decât în cazul reacției la tuberculina de tip aviar;
 - (b) neconcludent: se constată o reacție pozitivă sau neconcludentă la tuberculina de tip bovin, dacă nu sunt prezente semne clinice și dacă tuberculina de tip bovin determină o reacție pozitivă sau neconcludentă, care duce la o creștere a grosimii pliului de piele cu 1 până la 4 mm mai mare decât în cazul reacției la tuberculina de tip aviar;
 - (c) negativ: se constată o reacție negativă la tuberculina de tip bovin dacă nu sunt prezente semne clinice și dacă tuberculina bovină determină o reacție negativă sau o reacție pozitivă sau neconcludentă, în urma căreia grosimea pliului de piele este egală sau mică decât în cazul unei reacții pozitive sau neconcludente la tuberculina de tip aviar.
- Animalele la care testele intradermice comparative au dat rezultate neconcludente trebuie să fie supuse unui alt test, după o perioadă de cel puțin 42 de zile. Animalele la care al doilea test nu indică rezultate negative sunt considerate ca fiind pozitive la testare.

- 2.2.5.3.3. Statutul de efectiv oficial indemn de tuberculoză poate fi suspendat și animalele din efectivul respectiv nu pot face obiectul comerțului intracomunitar până când nu se definitivează statutul următoarelor animale:
- (a) animalele care au reacționat neconcludent la testul intradermic simplu;
 - (b) animalele care au reacționat pozitiv la testul intradermic simplu dar care trebuie să fie supuse unei noi examinări sub forma unui test intradermic comparativ;
 - (c) animalele care au reacționat neconcludent la testul intradermic comparativ.
- 2.2.5.3.4. În cazul în care legislația comunitară prevede că animalele trebuie să fie supuse unui test intradermic înaintea unei deplasări, testul va fi interpretat astfel încât nici un animal care prezintă o creștere a pliului de piele mai mare de 2 mm sau care prezintă semne clinice nu poate face obiectul comerțului intracomunitar.
- 2.2.5.3.5. Pentru a facilita depistarea numărului maxim de animale infectate sau bolnave dintr-un efectiv sau dintr-o regiune, statele membre pot modifica criteriile de interpretare a testului în scopul ameliorării sensibilității la testare, considerând toate reacțiile neconcludente menționate la literele (b) de la punctele 2.2.5.3.1. și 2.2.5.3.2 ca fiind reacții pozitive.

3. TESTE SUPLIMENTARE

În scopul depistării numărului maxim de animale infectate sau bolnave dintr-un efectiv sau dintr-o regiune, statele membre pot autoriza, pe lângă tuberculinare, utilizarea dozării interferonului gama menționat la capitolul 2.3.3 (tuberculoza bovină) din manualul privind normele de efectuare a testelor de diagnosticare și a vaccinurilor, ediția a patra (2000), al Oficiului Internațional de Epizootii (OIE).

4. INSTITUTELE DE STAT ȘI LABORATOARELE NAȚIONALE DE REFERINȚĂ

4.1. Sarcini și responsabilități

Institutele de stat și laboratoarele de referință menționate la punctul 4.2 răspund de controlul oficial al tuberculinelor sau al reactivilor menționați la punctele 2 și 3 în țările lor respective, în scopul garantării conformității acestora cu normele amintite.

4.2. Lista institutelor de stat și a laboratoarelor naționale de referință

1. Germania
Paul-Ehrlich Institut (PEI), Bundesamt für Sera und Impfstoffe, D-23207 Langen; Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin – Bereich Jena – D-07743 Jena
2. Belgia
Institut scientifique de la santé publique – Louis Pasteur, rue Juliette Wytsman 14, B-1050 Bruxelles
3. Franța
Laboratoire national des médicaments vétérinaires, Fougères
4. Marele Ducat al Luxemburgului
Institutul din țara furnizoare
5. Italia
Istituto superiore di Sanità, Roma
6. Țările de Jos
Centraal Instituut voor Dierziekte Controle Lelystad (CIDC-Lelystad), Lelystad
7. Danemarca
Danmarks Veterinærinstitut, Bülowsvej 27, DK-1790, Copenhagen
8. Irlanda
Institutul din țara furnizoare
9. Regatul Unit
Veterinary Laboratory Agency, Addlestone, Weybridge
10. Grecia
Κέντρο Κτηνιατρικών Ιδρυμάτων, Νεαπόλεως 25, GR-153 10 Αθήνα

11. Spania
Laboratorio de Sanidad y Producción Animal de Granada
 12. Portugalia
Laboratório Nacional de Investigaçao Veterinária, Lisabona
 13. Austria
Bundesanstalt für veterinärmedizinische Untersuchungen, Mödling
 14. Finlanda
Eläinlääkintä- ja elintarviketutkimuslaitos – Forskningsanstalten för veterinärmedicin och livsmedel,
Helsinki
 15. Suedia
Statens veterinärmedicinska anstalt, Uppsala.”
-