

32002R1226

9.7.2002

ÚRADNÝ VESTNÍK EURÓPSKÝCH SPOLOČENSTIEV

L 179/13

NARIADENIE KOMISIE (ES) č. 1226/2002**z 8. júla 2002,****ktorým sa mení a dopĺňa príloha B k smernici Rady 64/432/EHS**

KOMISIA EURÓPSKÝCH SPOLOČENSTIEV,

so zreteľom na Zmluvu o založení Európskeho spoločenstva,

so zreteľom na smernicu Rady 64/432/EHS⁽¹⁾ z 26. júna 1964 o veterinárnych problémoch, ktoré ovplyvňujú obchod v rámci spoločenstva s hovädzím dobytkom a ošípanými, naposledy zmenenú a doplnenú nariadením Komisie (ES) č. 535/2002⁽²⁾, najmä na druhý odsek jej článku 16 ods. 1,

keďže:

- (1) 11. októbra 1999 Vedecký výbor pre zdravie zvierat a blaho zvierat schválil správu⁽³⁾ o modifikácii technických príloh smernice Rady 64/432/EHS s cieľom zohľadniť vedecký pokrok týkajúci sa tuberkulózy, brucelózy a enzootickej bovinnej leukózy.
- (2) V súlade s vyššie uvedenou správou by sa testy na tuberkulózu mali vykonávať v súlade s Príručkou štandardov pre diagnostické testy a vakcíny, tretie vydanie, 1996 Medzinárodného úradu pre nákazy (OIE).
- (3) V auguste 2001 OIE vydal štvrté vydanie 2000 danej príručky, vrátane určitých modifikácií týkajúcich sa popisu testov na tuberkulózu.

- (4) V januári 2002 Európsky direktoriát pre kvalitu liekov vydal štvrté vydanie 2002 Európskeho zoznamu liečiv vrátane monografií 0535 a 0536 o čistených proteínových derivátoch aviárneho a bovinného tuberkulózu.
- (5) Z tohto dôvodu je nevyhnutné zmeniť a doplniť prílohu B k smernici 64/432/EHS s cieľom stanoviť testovacie postupy uplatniteľné na účely dozoru a obchodu v rámci spoločenstva, berúc pritom do úvahy stanovisko Vedeckého veterinárneho výboru.
- (6) Opatrenia uvedené v tomto nariadení sú v súlade so stanoviskom Stáleho výboru pre potravinové reťazce a zdravie zvierat,

PRIJALA TOTO NARIADENIE

Článok 1

Príloha B k smernici 64/432/EHS sa nahrádza prílohou k súčasnému nariadeniu.

Článok 2

Toto nariadenie nadobúda účinnosť dvadsiaty deň nasledujúci po jeho uverejnení v Úradnom vestníku Európskych spoločenstiev.

Toto nariadenie je záväzné vo svojej celistvosti a priamo uplatniteľné vo všetkých členských štátoch.

V Bruseli 8. júla 2002

Za Komisiu

David BYRNE

člen Komisie

⁽¹⁾ Ú. v. ES L 121, 29.7.1964, s. 1977/64.

⁽²⁾ Ú. v. ES L 80, 23.3.2002, s. 22.

⁽³⁾ SANCO/B3/R10/1999.

PRÍLOHA

„PRÍLOHA B

TUBERKULÓZA

1. IDENTIFIKÁCIA PŮVODCU

Prítomnosť *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*) pôvodcu bovinnej tuberkulózy v klinických vzorkách a vzorkách odobratých post-mortem sa dá dokázať vyšetrením farebných zmien alebo imunoperoxidázovými technikami a potvrdiť kultiváciou organizmu na primárnom izolačnom médiu.

Patologický materiál pre potvrdenie *M. bovis* by sa mal odobrať z nadmerných (abnormálnych) lymfatických uzlín a parenchymatických orgánov ako sú pľúca, pečeň, slezina atď. V prípadoch, keď zvieratá nevykazujú patologické lézie, na vyšetrenie a kultiváciu by sa mali zozbierať vzorky z retrofaryngálnych, bronchiálnych, mediastinálnych, supramamárnych, mandibulárnych a niektorých mezenterických lymfatických uzlín a pečene.

Identifikácia izolátov sa môže obvykle vykonať stanovením vlastností kultúr a biochemických vlastností. Polymerázová reťazová reakcia (PCR) sa môže taktiež použiť na preukázanie komplexu *M. tuberculosis*. Techniky analyzovania DNA sa môžu ukázať rýchlejšie a spoľahlivejšie ako sú biochemické metódy, pokiaľ ide o rozlišovanie *M. bovis* od ostatných členov komplexu *M. tuberculosis*. Genetické otačky prstov umožňujú rozlišovať medzi rôznymi kmeňmi *M. bovis* a umožnia popísať typické príklady pôvodu, prenosu a šírenia *M. bovis*.

Použitie techniky a prostriedky, ich štandardizácia a interpretácia výsledkov musia byť v súlade s tým, čo je špecifikované v OIE Príručke štandardov pre diagnostické testy a vakcíny, štvrté vydanie, 2000, kapitola 2.3.3 (bovinná tuberkulóza).

2. TUBERKULÍNOVÝ KOŽNÝ TEST

Na vykonanie úradného tuberkulínového kožného testu v súlade s postupmi uvedenými v odseku 2.2 sa použije tuberkulín PPD (čistené proteínové deriváty), ktorý vyhovuje štandardom uvedeným v odseku 2.1.

2.1. Štandardy pre tuberkulín (bovinný a vtáčí)

2.1.1. Definícia

Čistený proteínový derivát tuberkulínu (tuberkulín PPD, bovinný alebo vtáčí) je prípravok získaný z tepelne spracovaných produktov rastu a rozpadu *Mycobacterium bovis* alebo *Mycobacterium avium* (podľa toho, ktorý pripadá do úvahy) schopný odhaliť oneskorenú hypersenzitivitu vo zvierati citlivom na mikroorganizmy toho istého druhu.

2.1.2. Produkcia

Získava sa z vo vode rozpustných frakcií pripravených zahrievaním vo voľne pretekajúcej vodnej pare a následným odfiltrovaním kultúr *M. bovis* alebo *M. avium* (podľa toho, čo pripadá do úvahy) vypestovaných v kvapalnom syntetickom médiu. Aktívna frakcia filtrátu pozostávajúca hlavne z proteínu sa izoluje precipitáciou, premytím a opätovným rozpustením. Môže sa pridať antimikrobiálny ochranný prostriedok, ktorý nebude spôsobovať nepravé pozitívne reakcie, ako napr. fenol. Finálny sterilný prípravok, ktorý neobsahuje mikobaktérie, sa asepticky preniesie do sterilných sklenených bezpečnostných nádob, ktoré sa potom uzatvoria tak, aby sa zamedzilo kontaminácii. Prípravok sa môže lyofilizovať.

2.1.3. Identifikácia produktu

Vstreknite škálu odstupňovaných dávok do kože na rôznych miestach do vhodne senzibilizovaných albínových morčiat, pričom žiadne z nich nesmie vážiť menej ako 250 g. Po uplynutí 24 až 28 hodín sa objavia reakcie vo forme edémových opuchov s erytémom s alebo bez nekrózy v bodoch vstreknutia. Veľkosť a intenzita reakcií sa mení v závislosti od dávky. Nesenzibilizované morčatá nevykazujú na podobné vstreknutia žiadne reakcie.

2.1.4. Testy

2.1.4.1. pH: pH sa pohybuje od 6,5 do 7,5.

- 2.1.4.2. Fenol: Ak prípravok, ktorý sa má preskúmať, obsahuje fenol, jeho koncentrácia nie je vyššia ako 5 g/l.
- 2.1.4.3. Senzibilizujúci účinok: Použite skupinu troch morčiat, ktoré neboli ošetrené žiadnym materiálom, ktorý interferuje s testom. Pri 3 príležitostiach v intervaloch po piatich dňoch vstreknite podkožne do každého morčáťa dávku prípravku, ktorý sa má skúmať, ekvivalentnú 500 IU v 0,1 ml. 15 až 21 dní po treťom vstreknutí vstreknite rovnakú dávku (500 IU) do kože týchto zvierat a do kontrolnej skupiny troch morčiat s rovnakou hmotnosťou, ktoré predtým nedostali injekcie tuberkulínu. 24 až 28 hodín po posledných injekciách reakcie týchto dvoch skupín nie sú podstatne rozdielne.
- 2.1.4.4. Toxicita: Použite dve morčatá, každé s hmotnosťou najmenej 250 g, ktoré neboli predtým ošetrené žiadnym materiálom, ktorý interferuje s testom. Vstreknite podkožne do každého morčáťa 0,5 ml prípravku, ktorý sa má skúmať. Zvieratá pozorujte sedem dní. Počas doby pozorovania sa nevyskytnú žiadne abnormálne účinky.
- 2.1.4.5. Sterilita: Je v súlade s testom na sterilitu predpísaným v monografii o Vakcínach určených na veterinárne použitie, 4. vydanie, 2002 Európskeho liekopisu.

2.1.5. Účinnosť

Účinnosť čisteného proteínového derivátu tuberkulínu (bovinného a vtáčieho) sa stanoví porovnaním reakcií dosiahnutých na senzibilizovaných morčatách vnútrokožným vstreknutím série zriedení prípravku, ktorý sa má preskúmať s reakciami dosiahnutými známymi koncentraciami referenčného prípravku čisteného proteínového derivátu tuberkulínu (bovinného alebo vtáčieho, podľa toho, ktorý pripadá do úvahy), kalibrovaného v medzinárodných jednotkách.

S cieľom testovania účinnosti senzibilizujte nie menej ako deväť albínskych morčiat, každé s hmotnosťou 400 g až 600 g, hlbokým intramuskulárnym vstreknutím 0,0001 mg mokrej masy živých *M. bovis* kmeňa AN5 suspendovaného v 0,5 ml roztoku chloridu sodného R o koncentrácii 9 g/l pre boviný tuberkulín alebo vhodné dávky inaktivovaného alebo živého *M. avium* v prípade vtáčieho tuberkulínu. Najskôr štyri týždne po senzibilizácii morčiat oholte ich boky tak, aby ste získali priestor pre najviac štyri injekčné miesta na každej strane. Pripravte zriedenia prípravku, ktorý sa má skúmať, a referenčného prípravku s použitím fosfátom tlmeneho izotonického fyziologického roztoku (pH 6,5 – 7,5) obsahujúceho 0,005 g/l polysorbátu 80 R. Použite nie menej ako tri dávky referenčného prípravku a nie menej ako tri dávky prípravku, ktorý sa má skúmať. Dávky zvolte tak, aby vytvorené lézie mali priemer nie menší ako 8 mm a nie väčší ako 25 mm. Zriedenie aplikujte náhodne na jednotlivé miesta metódou latinských štvorcov. Vstreknite každú dávku vnútrokožne s konštantným objemom 0,1 ml alebo 0,2 ml. Zmerajte priemery lézií po 24 až 28 hodinách a výsledok testu vypočítajte pomocou bežných štatistických metód, pričom sa predpokladá, že priemery lézií sú priamo úmerné logaritmu koncentrácie tuberkulínov.

Test nie je platný dovtedy, kým predpokladané limity chyby ($P = 0,95$) nebudú menšie ako 50 % a väčšie ako 200 % odhadovanej účinnosti. Odhadovaná účinnosť nie je v prípade bovinného tuberkulínu menšia ako 66 % a väčšia ako 150 % deklarovanej účinnosti. Odhadovaná účinnosť nie je v prípade vtáčieho tuberkulínu menšia ako 75 % a väčšia ako 133 % deklarovanej účinnosti. Deklarovaná účinnosť nie je menšia ako 20 000 IU/ml pre žiadny z oboch uvedených tuberkulínov (boviný a vtáčí).

2.1.6. Skladovanie

Skladujte pri teplote 5 ± 3 °C a chráňte pred svetlom.

2.1.7. Etiketovanie

Na etikete je uvedené:

- účinnosť v medzinárodných jednotkách na mililiter,
- názov a množstvo každej pridanej látky,
- v prípade lyofilizovaných prípravkov:
 - názov a objem rekonštrukčnej kvapaliny, ktorá sa musí prijať,
 - použitie produktu následne po rekonštrukcii.

2.2. Skúšobné postupy

2.2.1. Za úradné vnútrokožné tuberkulínové testy sa uznávajú nasledujúce:

- jednoduchý vnútrokožný test: tento test si vyžaduje jediné vstreknutie bovinného tuberkulínu,
- porovnávací vnútrokožný test: tento test si vyžaduje jedno vstreknutie bovinného tuberkulínu a jedno vstreknutie vtáčieho tuberkulínu aplikované súčasne.

- 2.2.2. Dávka vstreknutého tuberkulínu je:
- najmenej 2 000 IU bovinného tuberkulínu,
 - najmenej 2 000 IU vtáčieho tuberkulínu.
- 2.2.3. Objem žiadnej vstreknutej dávky neprekročí hodnotu 0,2 ml.
- 2.2.4. Tuberkulínové testy sa vykonávajú vstrekaním tuberkulínu (tuberkulínov) do kože na krku. Miesta vstreknutia sa musia nachádzať na rozhraní medzi prednou a strednou tretinou krku. Pokiaľ sa vstreknú do toho istého zvierata, tak vtáci, ako aj bovinný tuberkulín, lokalita vstreknutia vtáčích tuberkulínov sa nachádza približne 10 cm od šije krku a lokalita vstreknutia bovinného tuberkulínu približne o 12,5 cm nižšie na línii prebiehajúcej paralelne s líniou pleca alebo na iných stranách krku; v prípade mladých zvierat, kde nie je priestor na dostatočné oddelenie lokalít na jednej strane krku, jedna injekcia sa aplikuje na každej strane krku v rovnakých lokalitách v strede strednej tretiny krku.
- 2.2.5. Technika tuberkulinácie a interpretácia reakcií je takáto:
- 2.2.5.1. Technika:
- Lokality vstrekovania sa vystrihajú a očistia. Prehyb kože na každej ostrihanej ploche sa uchopí medzi ukazovák a palec, odmeria sa pomocou posuvných meradiel a zaznamená sa. Dávka tuberkulínu sa potom vstreknú takým spôsobom, ktorý zabezpečí vnútrokožnú distribúciu tuberkulínu. Môže sa použiť krátka sterilná ihla so skosenou hranou smerujúcou smerom von, s delenou striekačkou naplnenou tuberkulínom pichnutou šikmo do hlbších vrstiev kože. Správne vstreknutie sa dá potvrdiť nahmataním malého hráškovitého opuchu na každej strane vstreknutia. Hrúbka záhybu kože v každom mieste vstreknutia sa opätovne premeria 72 hodín (\pm 4 hodiny) po vstreknutí a zaznamená sa.
- 2.2.5.2. Interpretácia reakcií
- Pri interpretácii reakcií sa vychádza z klinických pozorovaní a zo zaznamenaného nárastu (nárastov) hrúbky kožného záhybu v miestach vstreknutia 72 hodín po vstreknutí tuberkulínu (tuberkulínov).
- a) Negatívna reakcia: ak sa pozoruje iba obmedzené opuchnutie so zväčšením hrúbky kožného záhybu najviac 2 mm bez klinických príznakov ako je difúzny alebo extenzívny edém, výpotok, nekróza, bolesť alebo zápal lymfatických kanálikov v danej oblasti alebo lymfatických uzlín.
 - b) Nepresvedčivá reakcia: ak sa nepozorujú žiadne klinické príznaky uvedené v a) alebo ak zväčšenie hrúbky kožného záhybu je väčšie ako 2 mm a menšie ako 4 mm.
 - c) Pozitívna reakcia: ak sa pozorujú klinické príznaky uvedené v bode a) alebo ak sa v mieste vstreknutia zaznamená zväčšenie hrúbky kožného záhybu 4 mm alebo väčšie.
- 2.2.5.3. Interpretácia úradných vnútrokožných tuberkulínových testov je takáto:
- 2.2.5.3.1. Jednoduchý vnútrokožný test:
- a) pozitívny: pozitívna bovinná reakcia ako bola definovaná v odseku 2.2.5.2 písm. c);
 - b) nepresvedčivý: nepresvedčivá reakcia tak ako bola definovaná v odseku 2.2.5.2 písm. b);
 - c) negatívny: negatívna bovinná reakcia ako bola definovaná v odseku 2.2.5.2 písm. a).
- Zvieratá reagujúce nepresvedčivo na jednoduchý vnútrokožný test sa podrobia ďalšiemu testu po uplynutí najmenej 42 dní.
- Zvieratá, ktoré nereagujú negatívne na tento druhý test, sa považujú za zvieratá, ktoré reagujú na test pozitívne.
- Zvieratá reagujúce pozitívne na jednoduchý vnútrokožný test môžu byť podrobené porovnávaciemu vnútrokožnému testu vtedy, ak existuje podozrenie na nepravú pozitívnu reakciu alebo interferenčnú reakciu.
- 2.2.5.3.2. Porovnávaci vnútrokožný test na potvrdenie a udržanie štatútu stáda úradne bez výskytu tuberkulózy:
- a) pozitívny: pozitívna bovinná reakcia, ktorá je o viac ako 4 mm väčšia ako vtáčia reakcia, alebo prítomnosť klinických znakov;
 - b) nepresvedčivý: pozitívna alebo nepresvedčivá bovinná reakcia, ktorá je o 1 až 4 mm väčšia ako vtáčia reakcia, a neprítomnosť klinických príznakov;
 - c) negatívny: negatívna bovinná reakcia alebo pozitívna alebo nepresvedčivá bovinná reakcia, ktorá je však rovnaká alebo menšia ako pozitívna alebo nepresvedčivá vtáčia reakcia a neprítomnosť klinických príznakov v oboch prípadoch.
- Zvieratá reagujúce nepresvedčivo na porovnávaci vnútrokožný test sa podrobia ďalšiemu testu po uplynutí najmenej 42 dní. Zvieratá, ktoré nereagujú negatívne na tento druhý test, sa považujú za zvieratá, ktoré reagujú na test pozitívne.

- 2.2.5.3.3. Štatút stáda úradne bez výskytu tuberkulózy môže byť pozastavený a zvieratám zo stáda nie je povolené vstúpiť do obchodu vo vnútri spoločenstva dovtedy, kým nebude obnovený štatút nasledujúcich zvierat:
- zvieratá, ktoré sa považovali za reagujúce nepresvedčivo na jednoduchý vnútrokožný tuberkulínový test;
 - zvieratá, ktoré sa považovali za reagujúce pozitívne na jednoduchý vnútrokožný tuberkulínový test, avšak čaká ich opakované testovanie formou porovnávacieho vnútrokožného testu;
 - zvieratá, ktoré sa považovali za reagujúce nepresvedčivo na porovnávací vnútrokožný test.
- 2.2.5.3.4. Tam, kde legislatíva spoločenstva vyžaduje od zvierat podrobiť sa vnútrokožnému testu ešte pred premiestnením, test sa interpretuje tak, že žiadne zviera, ktoré vykazuje zvýšenie hrúbky kožného záhybu väčšie ako 2 mm alebo prítomnosť klinických príznakov, sa nezačlení do obchodu vo vnútri spoločenstva.
- 2.2.5.3.5. S cieľom umožniť preukázanie maximálneho počtu infikovaných a chorých zvierat v stáde alebo v určitom regióne môžu členské štáty modifikovať kritériá interpretácie testu s cieľom dosiahnuť zlepšenú citlivosť na test, pričom všetky nepresvedčivé reakcie uvedené v 2.2.5.3.1 písm. b) a 2.2.5.3.2. písm. b) sa považujú za pozitívne reakcie.

3. DODATOČNÉ TESTOVANIE

S cieľom umožniť preukázanie maximálneho počtu infikovaných a chorých zvierat v stáde alebo v určitom regióne, členské štáty môžu povoliť používanie gama-interferonovej skúšky uvedenej v OIE Príručke štandardov pre diagnostické testy a vakcíny, 4. vydanie, 2000, kapitola 2.3.3. (bovinná tuberkulóza), navyše k tuberkulínovému testu.

4. ŠTÁTNE ÚSTAVY A NÁRODNÉ REFERENČNÉ LABORATÓRIÁ

4.1. Úlohy a zodpovednosť

Štátne ústavy a referenčné laboratóriá zahrnuté v odseku 3.2. sú zodpovedné za úradné testovanie tuberkulínov alebo činidiel zahrnutých v odseku 2 a 3 vo svojich vlastných štátoch s cieľom zabezpečiť, aby každý z týchto tuberkulínov alebo činidiel bol adekvátny vzhľadom na vyššie uvedené štandardy.

4.2. Zoznam štátnych ústavov a národných referenčných laboratórií

- Germany:
Paul-Ehrlich Institut (PEI), Bundesamt für Sera und Impfstoffe, D-23207 Langen; Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin – Bereich Jena – D-07743 Jena;
- Belgium:
Institut Scientifique de la Santé Publique – Louis Pasteur, 14 Rue Juliette Wytsman – B 1050 Bruxelles – Belgique;
- France:
Laboratoire national des médicaments vétérinaires, Fougères;
- Grand Duchy of Luxembourg:
Institute of the supplying country;
- Italy:
Istituto superiore di sanità, Rome;
- Netherlands:
Centraal Instituut voor Dierziekte Controle Lelystad (CIDC-Lelystad), Lelystad;
- Denmark:
Danmarks Veterinærinstitut, Bülowsvej 27, DK-1790 København;
- Ireland:
Institute of the supplying country;
- United Kingdom:
Veterinary Laboratory Agency, Addlestone, Weybridge;
- Greece:
Κέντρο Κτηνιατρικών Ιδρυμάτων, Νεαπόλεως 25, 153 10 Αθήνα;

11. Spain:
Laboratorio de Sanidad y producción animal de Granada;
 12. Portugal:
Laboratorio Nacional de Investigação Veterinária, Lisbon;
 13. Austria:
Bundesanstalt für veterinärmedizinische Untersuchungen, Mödling;
 14. Finland:
Eläinlääkintä – ja elintarviketutkimus – laitos – Forskningsanstalten för veterinärmedicin och livsmedel,
Helsinki;
 15. Sweden:
Statens veterinärmedicinska anstalt, Uppsala.“
-