

РЕГЛАМЕНТ (ЕО) № 1226/2002 НА КОМИСИЯТА

от 8 юли 2002 година

за изменение на приложение Б към Директива 64/432/ЕИО на Съвета

КОМИСИЯТА НА ЕВРОПЕЙСКИТЕ ОБЩНОСТИ,

като взе предвид Договора за създаване на Европейската общност,

като взе предвид Директива 64/432/ЕИО на Съвета¹ от 26 юни 1964 г. относно проблемите, свързани със здравето на животните, засягащи търговията с говеда и свине в рамките на Общността, последно изменена с Регламент (ЕО) № 535/2002 на Комисията², и по-специално член 16, параграф 1, втора алинея от нея,

като има предвид, че:

(1) На 11 октомври 1999 г. Научният комитет по здравето на животните и хуманното отношение към тях прие доклад³ относно изменението на техническите приложения към Директива 64/432/ЕИО на Съвета, за да се вземе предвид научното развитие относно туберкулозата, бруцелозата и ензоотичната левкоза по говедата.

(2) В съответствие с горепосочения доклад, тестовете за туберкулоза следва да бъдат извършвани съгласно Наръчника за стандарти за диагностични тестове и ваксини, трето издание, 1996 г., на Международното бюро по епизоотите (МБЕ).

(3) През август 2001 г., МБЕ публикува Четвърто издание (издание 2000 г.) на въпросния наръчник, включвайки някои изменения в описанието на тестовете за туберкулоза.

(4) През януари 2002 г., Европейската дирекция по качеството на лекарствата публикува Четвърто издание 2002 г. на Европейската фармакопея, включително монографии 0535 и 0536 за туберкулин- пречистен протеинов дериват- птичи и говежди.

(5) Следователно е необходимо да се измени приложение Б към Директива 64/432/ЕИО така, че да установи процедури за тестване, приложими за надзорни и търговски цели в рамките на Общността, отчитайки становището на Научния ветеринарен комитет.

(3) Мерките, предвидени в настоящия регламент, са в съответствие със становището на Управителния комитет по хранителната верига и здравето на животните,

¹ ОВ 121, 29.7.1964 г., стр. 1977/64.

² ОВ L 80, 23.3.2002 г., стр. 22.

³ SANCO/B3/R10/1999 г..

ПРИЕ НАСТОЯЩИЯ РЕГЛАМЕНТ:

Член 1

Приложение Б към Директива 64/432/ЕИО се заменя с приложението към настоящия регламент.

Член 2

Настоящият регламент влиза в сила на 20-ия ден след публикуването му в *Официален вестник на Европейските общности*.

Настоящият регламент е задължителен в своята цялост и се прилага пряко във всички държави-членки.

Съставено в Брюксел на 8 юли 2002 година.

За Комисията
David BYRNE
Член на Комисията

ПРИЛОЖЕНИЕ

„ПРИЛОЖЕНИЕ Б

ТУБЕРКУЛОЗА

1. ИДЕНТИФИКАЦИЯ НА АГЕНТА

Наличието на *Mycobacterium bovis* (*M.bovis*), агент на говежда туберкулоза, в клинични и постмортални проби може да бъде демонстрирано чрез изследване на оцветени намазки или имунопероксидазни техники и потвърдено чрез култивиране на организма върху първично изолирана среда.

Патологичният материал за потвърждаване на *M.bovis* следва да бъде взет от анормални лимфни възли и паренхиматозни органи като бели дробове, черен дроб, далак и други. В случаите когато животното не показва патологични лезии, следва да бъдат събрани проби от ретрофарингеални, бронхиални, медиастинални, супрамамарни, мандибуларни и някои мезентерични лимфни възли и далак за изследване и култура.

Идентификацията на изолати може се направи обикновено чрез определяне на културални и биохимични свойства. Може също така да се използва полимеразна верижна реакция (PCR) за определяне на *M.tuberculosis* комплекс. Техниките за анализ на ДНК могат да се окажат по-бързи и по-надеждни от биохимичните методи за диференциация на *Mycobacterium bovis* от *M. tuberculosis* комплекс. Генетичните отпечатъци позволяват разграничаване между различните щамове на *M.bovis* и ще позволят да се опишат картините на произхода, предаването и разпространението на *M.bovis*.

Използваните техники и среди, тяхната стандартизация и интерпретация на резултатите трябва да отговаря на определеното от МБЕ Наръчник за стандарти за диагностични тестове и ваксини, четвърто издание, 2000 г., Глава 2.3.3 (туберкулоза по говедата).

2. ТУБЕРКУЛИНОВ КОЖЕН ТЕСТ

Туберкулин (пречистени протеинови деривати), който отговарят на стандартите, установени по-долу в параграф 2.1, се използват за провеждане на официален туберкулинов кожен тест съгласно процедурите, посочени в параграф 2.2.

2.1. Стандарти за туберкулин (говежди и птичи)

2.1.1. Дефиниция

Туберкулинов пречистен протеинов дериват (туберкулин PPD, говежди и птичи) е препарат, получен от топлинно обработени продукти на растеж и лизис на *Mycobacterium bovis* или *Mycobacterium avium* (ако е уместно), който е в състояние да развие закъсняла свръхчувствителност в животно, с повишена чувствителност към микроорганизми от същия вид.

2.1.2. Производство

Получава се от водоразтворими фракции, получени чрез нагряване със свободно подавана пара и последващо филтруване на култури от *M.bovis* или *M.avium* (както е уместно), отгледани в течна синтетична среда. Активната фракция на филтратата, състояща се главно от протеин, е изолирана чрез утаяване, промиване и повторно разтваряне. Може да бъде добавено антимикробно консервиращо вещество, което не предизвиква погрешни позитивни реакции, като например фенол. Крайният стерилен препарат, свободен от микобактерии, се разпределя асептично в стерилни защитени от замърсяване стъклени контейнери, които се затварят така, че да бъдат предпазени от замърсявания. Препаратът може да се лиофилизира.

2.1.3. Идентификация на продукта

Инжектира се серия от равни дози интрадермално на различни места на морски свинчета албиносни с подходящо повишена чувствителност, всяко тежащо не по-малко от 250 г. След 24 h до 28 h се появява реакция под формата на едематозно подуване с еритема със или без некроза на местата на инжектиране. Размерът и сериозността на реакцията варира в зависимост на дозата. Морските свинчета, които не са с повишена чувствителност не показват реакция на подобни инжекции.

2.1.3. Тестове

2.1.4.1. pH : pH е 6.5 до 7.5.

2.1.4.2. Фенол: ако изследваният препарат съдържа фенол, неговата концентрация не е повече от 5 g/l.

2.1.4.3. Сенсibiliзиращ ефект: използва се група от три морски свинчета, които не са третирани с никакъв материал, който може да взаимодейства с теста теста. На три пъти, на интервали от пет дни във всяко морско свинче се инжектира интрадермално доза от изследвания препарат, еквивалентна на 500 IU в 0,1 ml. От 15 до 21 дни след третата инжекция се инжектира интрадермално същата доза (500 IU) в тези животни и в контролна група от три морски свинчета със същото тегло, и които преди това не са били инжектирани с туберкулин. 24 до 28 часа след последното инжектиране реакциите на двете групи не се различава съществено.

2.1.4.4. Токсичност: използват се две морски свинчета, всяко от които тежи не

по-малко от 250 g, които не са третирани преди това с никакъв материал, който може да попречи на теста. Във всяко морско свинче се инжектира подкожно 0,5 ml от изследвания препарат. Животните се наблюдават за период от седем дни. През изследвания период не се проявяват аномални ефекти.

2.1.4.5. Стерилност: отговаря на теста за стерилност, предписан в монографията върху ваксините за ветеринарна употреба, 4-то издание, 2002 г. на Европейската фармакопея.

2.1.5. *Потенция*

Потенцията на туберкулиновия пречистен протеинов дериватив (говеждо и птиче) се определя чрез сравнение на реакциите, предизвикани в морски свинчета с повишена чувствителност чрез интрадермална инжекция на серии от разреждания на изследвания препарат с тези, произведени чрез известни концентрации на референтен препарат на туберкулинов (говежди и птичи, ако е подходящо) пречистен протеинов дериватив, калибрирано в международни единици.

За да се тества потенциалът, се сенсibiliзират не по-малко от девет морски свинчета албиноси, всяко тежащо от 400 g до 600 g, с дълбока интрамускулна инжекция от 0,0001 mg влажна маса на живи *M.bovis* от щам AN5, суспендирана в 0,5 ml 9 g/l разтвор на натриев хлорид R за говежди туберкулин, или подходяща доза инактивирани или живи *M.avium* за птичи туберкулин. След не по-малко от четири седмици след сенсibiliзирането, хълбоците им се обръсват, за да се направи място за не повече от четири инжекции от всяка страна. Приготвят се разреждания на изследвания препарат и на референтния препарат при използване на изотоничен фосфатен буфер (pH 6.5-7.5), съдържащ 0,005 g/l полисорбат 80 R. Използват се не по-малко от три дози от референтния препарат и по-малко от три дози от препарата, който трябва да бъде изследван. Дозите се избират така, че направените лезии имат диаметър не по-малък от 8 mm и не по-голям от 25 mm. Разрежданията се разпределят безразборно по отношение на местата във вид на квадрат, в който няма повторение на символите. Всяка доза с постоянен обем от 0,1 ml или 0,2 ml се инжектира интрадермално. След 24 до 28 часа се измерва диаметъра на всяка лезия и се изчислява резултатът от теста, като се използват обичайните статистически методи и като се приема, че диаметрите на лезиите са право пропорционални на логаритъма на концентрацията на туберкулина.

Тестът не е валиден само, когато доверителната граница на грешката ($P = 0,95$) не е по-малка от 50 % и не е повече от 200% на изчислената потенция. Изчислената потенция е не по-малко от 66% и не повече от 150% от установената потентност за говеждия туберкулин. Изчислената потенция е не по-малко от 75% и не повече от 133% от установената потентност за птичи туберкулин. Установената потенция е не по-малка от 20 000 IU/ml и за двата туберкулина (говежди и птичи).

2.1.6. Съхранение

Съхранява се защитен от светлина при температура от 5 ± 3 °C.

2.1.7. Етикетирание

Етикетът съдържа:

- потенциата в международни единици за милилитър,
- наименованието и количество на всяко добавено вещество,
- за лиофилизирани препарати:
 - наименованието и обема на възстановяващата течност, която трябва да бъде добавена,
 - че продуктът следва да бъде използван незабавно след възстановяването.

2.2 Тестови процедури

2.2.1. Като официален интрадермален туберкулинов тест се признава следното:

- единичен интрадермален тест: този тест изисква единична инжекция на говежди туберкулин,
- интрадермален сравнителен тест: този тест изисква една инжекция на говежди туберкулин и една инжекция на птичи туберкулин, направени едновременно.

2.2.2. Инжектираната доза от туберкулин е:

- не по-малко от 2000 IU говежди туберкулин,
- не по-малко от 2000 IU птичи туберкулин.

2.2.3. Обемът на всяка инжектирана доза не надвишава 0,2 ml.

2.2.4. Туберкулиновите тестове се провеждат чрез инжектиране на туберкулин(и) в кожата на шията. Местата на инжекциите се намират на границата между предната и средната третини на шията. Когато на едно животно се инжектират и говежди и птичи туберкулин мястото за инжектиране на птичи туберкулин е на разстояние около 10 cm от горния край на шията и мястото за инжектиране на говежди туберкулин трябва да бъде на разстояние около 12,5 cm по-ниско на линия, приблизително успоредна на линията на рамото или на различни страни на шията; при млади животни, при които няма достатъчно място за достатъчно разделяне на инжектиранията на едната страна на шията, една инжекция се прави от двете страни на шията на идентични места в центъра на средната трета на шията.

2.2.4. Техниката на туберкулиновото тестване и интерпретиране на реакциите

са както следва:

2.2.5.1. Техника:

Инжектираните места се стрижат и почистват. Гънка от кожата от всяко остригано място се хваща с палеца и показалеца и да се измери с дебеломер и да се запише. След това дозата туберкулин се инжектира чрез метод, който гарантира, че туберкулинът е въведен интрадермално. Използва се къса стерилна игла с косо срязан отвън ръб и градуирана спринцовка, напълнена с туберкулин, за вкарване под наклон в дълбоките слоеве на кожата. Правилното инжектиране се потвърждава чрез напипване на малка граховидна подутина на местата на инжектиране. Дебелината на кожата гънка на всяко инжектирано място се мери отново 72 часа (± 4 часа) след инжектирането и се записва.

2.2.5.2.Интерпретацията на реакциите

Интерпретацията на реакциите се основава на клиничните наблюдения и записаното увеличение(ия) на дебелината на кожата гънка на местата на инжектиране 72 часа след инжектирането на туберкулина(ите).

- а) Негативна реакция: ако се наблюдава само ограничено подуване с увеличение не повече от 2 mm на дебелината на кожата гънка без клинични признаци като дифузен или екстензивен едем, ексудация, некроза, болка или възпаление на лимфните влакна в тази област или на лимфните възли.
- б) Неокончателна реакция: ако не се наблюдават клинични признаци, както е упоменато в буква а) и ако увеличаването на дебелината на кожата гънка е повече от 2 mm и по-малко от 4 mm.
- в) Позитивна реакция: ако не се наблюдават клинични признаци като тези, упоменати в буква а) или ако увеличаването на дебелината на кожата гънка на мястото на инжектиране е повече от 4 mm.

2.2.5.3. Интерпретацията на официалните интрадермални туберкулинови тестове са както следва:

2.2.5.3.1. Единичен интрадермален тест:

- а) позитивен: позитивна реакция на говедото, както е определена в параграф 2.2.5.2, буква в);
- б) неокончателен: неопределена реакция на говедото, както е определена в параграф 2.2.5.2, буква б);
- в) негативен: негативна реакция на говедото, както е описана в параграф 2.2.5.2, буква а).

Животните с неопределен резултат от единичния интрадермален тест се подлагат на друг тест след минимум 42 дни.

Животните, които не са негативни след този втори тест, се счита, че показват позитивна реакция на теста.

Животните, които са позитивни на единичния интрадермален тест могат да бъдат подложат на интрадермален сравнителен тест, ако има съмнение за грешна позитивна реакция или намесваща се реакция.

2.2.5.3.2. Интрадермален сравнителен тест за установяване и поддържане на статута на стадо, официално свободно от туберкулоза:

- а) позитивен: позитивна говежда реакция, която е по-голяма с повече от 4 mm от реакцията на птицата, или наличието на клинични признаци;
- б) неокончателен: позитивна или неопределена говежда реакция, която е по-голяма от 1 до 4 mm от реакцията на птицата, и липсват клинични признаци;
- в) негативен: негативна говежда реакция, или позитивна или неопределена говежда реакция, която е еднаква или по-малка от позитивната или неопределена реакция на птицата и липса на клинични признаци и в двата случая.

Животни, които са неопределени на интрадермален сравнителен тест, се подлагат на друг тест след минимум 42 дни. Животни, които не са негативни на този втори тест, се считат за позитивни на теста.

2.2.5.3.3. Статута на стадо, официално свободно от туберкулоза може да бъде отнет и не трябва да се позволява на животни от стадото да се търгуват в рамките на Общността за времето, за което статута на следните животни е отнет:

- а) животни, които са считани за неопределени относно единичния интрадермален туберкулинов тест;
- б) животни, които са считани за позитивни на единичния интрадермален туберкулинов тест, но очакват повторно тестване с интрадермален сравнителен тест;
- в) животни, които са считани за неопределени за интрадермалния сравнителен тест;

2.2.5.3.4 Когато законодателството на Общността изисква животните да бъдат тествани с интрадермален тест преди движението им, тестът се интерпретира така, че никое животно, което показва увеличение на дебелината на кожната гънка повече от 2 mm или наличие на клинични признаци, не може да бъде предмет на търговия вътре в Общността.

2.2.5.3.5 За да позволи откриване на максимален брой на инфектирани и заразени животни в стадото или в района, държавите-членки могат да изменят критериите за интерпретиране на теста с цел постигане на по-голяма чувствителност на теста относно всички неопределени реакции, посочени в 2.2.5.3.1, буква б) и 2.2.5.3.2, буква б) като позитивни реакции.

3. ДОПЪЛНИТЕЛНО ТЕСТВАНЕ

За да позволи откриването на максимален брой инфектирани и заразени животни в стадото или в региона, държавите-членки могат да разрешат употребата на гама-интерферонови анализи, посочени в МБЕ Наръчник за стандарти за диагностични тестове и ваксини, 4-то издание, 2000 г., глава 2.3.3. (туберкулоза по говедата), в допълнение към туберкулиновия тест.

4. ДЪРЖАВНИ ИНСТИТУТИ И НАЦИОНАЛНИ РЕФЕРЕНТНИ ЛАБОРАТОРИИ

4.1. Задачи и отговорности

Държавните институции и референтни лаборатории, включени в параграф 3.2, са отговорни за официалното тестване на туберкулини или реагенти, включени в параграф 2 и 3, в съответните държави, да гарантира, че всеки от тези туберкулини или реагенти са подходящи за горепосочените стандарти.

4.2. Списък на държавните институции и национални референтни лаборатории

1. Германия:

Paul-Ehrlich Institut (PEI), Bundesamt für Sera und Impfstoffe, D-23207 Langen; Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin - Bereich Jena - D-07743 Jena;

2. Белгия:

Institut Scientifique de la Santé Publique - Louis Pasteur, 14 Rue Juliette Wytsman - B 1050 Bruxelles - Belgique;

3. Франция:

Laboratoire national des médicaments vétérinaires, Fougères;

4. Велико херцогство Люксембург:

Институтът на доставящата страна;

5. Италия:

Istituto superiore di sanità, Rome;

6. Нидерландия:

Centraal Instituut voor Dierziekte Controle Lelystad (CIDC-Lelystad), Lelystad;

7. Дания:

Danmarks Veterinærinstitut, Bülowsvej 27, DK-1790 København;

8. Ирландия:

Институтът на доставящата страна;

9. Обединено кралство:

Veterinary Laboratory Agency, Addlestone, Weybridge;

10. Гърция:

Κέντρο Κτηνιατρικών Ιδρυμάτων, Νεαπόλεως 25, 153 10 Αθήνα;

11. Испания:

Laboratorio de Sanidad y pProducción Animal de Granada;

12. Португалия:

Laboratorio Nacional de Investigação Veterinária, Lisbon;

13. Австрия:

Bundesanstalt für veterinärmedizinische Untersuchungen, Mödling;

14. Финландия:

Eläinlääkintä – ja elintarviketutkimus – laitos – Forskningsanstalten för veterinärmedicin och livsmedel, Helsinki;

15. Швеция:

Statens veterinärmedicinska anstalt, Uppsala.”