

384L0644

N° L 339/3C

Diario Oficial de las Comunidades Europeas

27. 12. 84

## DIRECTIVA DEL CONSEJO

de 11 de diciembre de 1984

por la que se modifica la Directiva 64/432/CEE en lo que se refiere a la brucelosis y, en particular, a la prueba del antígeno brucelar tamponado, a la prueba de microaglutinación y a la prueba del anillo practicadas en muestras de leche

(84/644/CEE)

EL CONSEJO DE LAS COMUNIDADES EUROPEAS,

Visto el Tratado constitutivo de las Comunidades Europeas y, en particular, sus artículos 43 y 100,

Vista la propuesta de la Comisión <sup>(1)</sup>,

Visto el dictamen del Parlamento Europeo <sup>(2)</sup>,

Visto el dictamen del Comité económico y social <sup>(3)</sup>,

Considerando que la Directiva 64/432/CEE del Consejo, de 26 de junio de 1964, relativa a problemas de policía sanitaria en materia de intercambios intracomunitarios de animales de las especies bovina y porcina <sup>(4)</sup>, modificada en último lugar por la Directiva 84/643/CEE <sup>(5)</sup>, prevé normas comunes para las medidas de lucha contra la brucelosis aplicables a los animales que deban ser objeto de intercambios intracomunitarios;

Considerando que es conveniente precisar que la prueba que debe practicarse en los bovinos y cerdos antes de que dichos animales entren en el circuito de los intercambios intracomunitarios es la prueba de seroaglutinación lenta en tubos;

Considerando que, para garantizar la continuidad de la libre circulación de bovinos dentro de la Comunidad, es conveniente tener en cuenta la evolución del progreso científico adaptando las disposiciones técnicas de la Directiva mencionada relativas a la brucelosis;

Considerando que los nuevos conocimientos científicos y la evolución de las técnicas de diagnóstico y de lucha contra la brucelosis bovina imponen una adaptación de las medidas comunitarias actualmente aplicables en la materia,

HA ADOPTADO LA PRESENTE DIRECTIVA:

*Artículo 1*

Se modifica la Directiva 64/432/CEE del modo siguiente:

<sup>(1)</sup> DO n° C 255 de 23. 9.1983, p. 3.

<sup>(2)</sup> DO n° C 342 de 19. 12. 1983, p. 117.

<sup>(3)</sup> DO n° C 23 de 30. 1. 1984, p. 23.

<sup>(4)</sup> DO n° 121 de 29. 7. 1964, p. 1977/64.

<sup>(5)</sup> DO n° L 339 de 27. 12. 1984, p. 27.

- 1) Se añade «punto A» después de «Anexo C» en la letra b) del apartado 3 del artículo 3.
- 2) Se añade «punto A» después de «Anexo C» en la letra i) del apartado 4 del artículo 3.
- 3) Se añade «punto A» después de «Anexo C» en la letra b) del apartado 6 del artículo 3.
- 4) Se añade «punto A» después de «Anexo C» en el punto C del apartado 1 del artículo 7.
- 5) Se añade «punto A» después de «Anexo C» en el punto D del apartado 1 del artículo 7.
- 6) En el inciso i) de la letra c) del apartado 1 del punto A de la Parte II del Anexo A:
  - se añade «punto A» después de «Anexo C»,
  - se sustituye el segundo guión por el texto siguiente:
    - «— las pruebas de seroaglutinación contempladas en el apartado 1 podrán sustituirse por dos pruebas del antígeno brucelar tamponado practicadas oficialmente o por dos pruebas de microaglutinación practicadas con arreglo a los puntos D y G del Anexo C. Dichas pruebas se realizarán con un intervalo de tres meses como mínimo y doce meses como máximo.»
- 7) se sustituye el inciso ii) de la letra c) del apartado 1 del punto A de la Parte II del Anexo A por el texto siguiente:
  - «ii) se controla anualmente para determinar la ausencia de brucelosis mediante tres pruebas de anillo efectuadas a intervalos de tres meses por lo menos o dos pruebas del anillo a intervalos de tres meses por lo menos y una prueba serológica (prueba de seroaglutinación, prueba del antígeno brucelar tamponado, prueba de plasmaglutinación, prueba del anillo de leche efectuada sobre plasma sanguíneo o prueba de microaglutinación) practicada por lo menos seis semanas después de la segunda prueba del anillo. Cuando no se practiquen las pruebas del anillo, se efectuarán cada año dos pruebas serológicas (prueba de seroaglutinación, prueba del antígeno brucelar tamponado, prueba de plasmaglutinación, prueba del anillo de leche efectuada sobre plasma sanguíneo o prueba de microaglutinación) a intervalos de tres meses como mínimo y de seis meses como máximo.

Cuando, en un Estado miembro o en una región de un Estado miembro en la que la totalidad del

ganado bovino esté sometido a las operaciones oficiales de lucha contra la brucelosis, el porcentaje de ganado bovino infectado no sea superior a 1, bastará con porceder anualmente a dos pruebas del anillo a intervalos de tres meses por lo menos o a una prueba serológica (prueba de seroaglutinación, prueba del antígeno brucelar tamponado, prueba de plasmaglutinación, prueba del anillo de leche efectuada en plasma sanguíneo o prueba de microaglutinación).

En caso de control de cisternas, el número de pruebas contempladas en los párrafos precedentes deberá duplicarse y los intervalos se reducirán a la mitad».

- 8) se sustituye el texto del último párrafo de la letra c) del apartado 2 del punto A de la Parte II del Anexo A por el texto siguiente:

«Las pruebas de seroaglutinación contempladas en el primer guión del inciso i de la letra c) del apartado 1 podrán sustituirse por pruebas del antígeno brucelar tamponado efectuadas con arreglo al punto D del Anexo C o por pruebas de microaglutinación efectuadas con arreglo al punto G del Anexo C.»

- 9) En el Anexo C:

— se sustituye el punto C por el texto siguiente:

«C. Prueba del anillo

1. La prueba del anillo deberá efectuarse sobre el contenido de todos los bidones de leche o sobre el contenido de todas las cisternas de leche de la explotación.
2. El antígeno standard que se utilice deberá proceder de uno de los institutos citados en las letras a) a j) del apartado 9 del punto A. Se aconseja que se proceda a la estandarización de los antígenos de acuerdo con las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS/FAO).
3. El antígeno sólo podrá colorearse con hematoxilina o tetrazolio; se dará preferencia a la hematoxilina.
4. Si no se adoptare ninguna medida de conservación, la reacción deberá practicarse entre la decimoctava y vigesimocuarta hora a partir de la toma de la muestra de la vaca. Si la prueba se efectuare más de veinticuatro horas después de la toma de la muestra de leche, habrá que conservar la misma; los agentes conservantes que pueden utilizarse son el formol y el cloruro mercúrico, y el plazo en que la prueba deberá efectuarse, previa utilización de uno de estos dos agentes, será de catorce días después del día de la toma. En caso de utilizarse formol, la dilución final en la muestra de leche será del 0,2 %; la proporción entre la cantidad de leche y la solución de formol será, por lo menos, de 10 a 1. Se podrá utilizar, en lugar de for-

mol, cloruro mercúrico; en tal caso, la dilución final en la leche será del 0,2 % y la proporción entre la cantidad de leche y la solución de cloruro mercúrico de 10 a 1.

5. La reacción se practicará según uno de los métodos siguientes:

- en una columna de leche que tenga por lo menos 25 mm de altura y un volumen de leche de 1 ml con adición de 0,03 ml de uno de los antígenos estandarizados coloreados.
- en una columna de leche que tengo por lo menos 25 mm de altura y un volumen de leche de 1 ml con adición de 0,05 ml de uno de los antígenos estandarizados coloreados.
- en un volumen de leche de 8 ml con adición de 0,08 ml de uno de los antígenos estandarizados coloreados.
- en una columna de leche que tenga por lo menos 25 mm de altura y un volumen de leche de 2 ml con adición de 0,05 ml de uno de los antígenos estandarizados coloreados.

6. La mezola de leche y antígeno se mantendrá en estufa a 37 °C durante 45 minutos como mínimo y 60 minutos como máximo. La evaluación se efectuará en los 15 minutos siguiente a la salida de la estufa.

7. La reacción se evaluará de acuerdo con los siguientes criterios:

- a) reacción negativa: leche coloreada, nata sin colorear;
- b) reacción positiva: leche y nata coloreadas de manera idéntica o leche no coloreada y crema coloreada»

— se añade el punto G siguiente:

«G. Prueba de microaglutinación

1. los diluyentes estarán compuestos de una solución salina fisiológica al 0,85 % con fenol al 0,5 %.
2. El antígeno se preparará con arreglo a las indicaciones de los número 6, 7 y 8 del punto A del Anexo C, y la titulación se efectuará con arreglo a los indicaciones del apartado 5 del punto A del Anexo C. Al utilizar el antígeno se añadirá safranina 0 al 0,02 % (dilución final).
3. El suero standard será el del apartado 1 del punto A del Anexo C.
4. El Bundesgesundheitsamt de Berlín se encargará del suministro del suero standard.
5. La prueba de microaglutinación se practicará en placas que contengan cúpulas de

fondo cónico y cuyo volumen sea de 0,250 ml. La prueba se realizará del modo siguiente:

- a) prediluciones de los sueros: se añadirá en cada cúpula que contenga 0,075 ml de diluyente 0,0050 ml de cada suero en examen. Las mezclas se agitarán durante 30 segundos;
- b) diluciones graduales de los sueros: se prepararán por lo menos tres diluciones para cada suero. A tal fin, a partir de las prediluciones (1 : 2,5), se tomarán 0,025 ml de cada suero y se pasarán a una placa que contenga 0,025 ml de diluyente. De este modo, la primera dilución alcanzará el valor de 1 : 5 y las diluciones siguientes se efectuarán por duplicación;
- c) adición del antígeno: se añadirá, en cada cúpula que contenga las diferentes diluciones de los sueros de examen, antígeno a razón de 0,025 ml. Previa agitación durante 30 segundos, se cerrarán las placas con sus tapas correspondientes y se dejarán a 37 °C durante 20 a 24 horas en atmósfera humidificada;
- d) lectura de los resultados: se evaluará el aspecto de la sedimentación del antígeno mediante un examen del fondo de la cúpula reflejado en un espejo cóncavo situado debajo de la misma. En caso de reacción negativa, el antígeno

formará sedimentos en forma de botón compacto, con bordes precisos y de color rojo intenso. En caso de reacción positiva, en cambio, se formará un velo difuso de color rosa y uniformemente repartido. Los diferentes porcentajes de aglutinación se determinarán mediante comparación con controles del antígeno que indiquen 0, 25, 50, 75 y 100 % de aglutinación. El título de cada suero se expresará en unidades internacionales aglutinantes por ml. Es conveniente que se incluyan en la prueba controles mediante suero negativo y suero positivo diluido de manera que contenga 30 unidades internacionales aglutinantes por ml.»

#### *Artículo 2*

Los Estados miembros aplicarán las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas necesarias para cumplir la presente Directiva a más tardar el 30 de septiembre de 1985. Informarán de ello inmediatamente a la Comisión.

#### *Artículo 3*

Los destinatarios de la presente Directiva serán los Estados miembros.

Hecho en Bruselas, el 11 de diciembre de 1984.

*Por el Consejo*

*El Presidente*

A. DEASY