

384L0644

Nº L 339/30

Jornal Oficial das Comunidades Europeias

27. 12. 84

## DIRECTIVA DO CONSELHO

de 11 de Dezembro de 1984

que altera a Directiva 64/432/CEE no que diz respeito à brucelose e, mais precisamente, à prova do antígeno brucélico tamponado, à prova de microaglutinação e à prova do anel realizadas com amostras de leite

(84/644/CEE)

O CONSELHO DAS COMUNIDADES EUROPEIAS,

Tendo em conta o Tratado que institui a Comunidade Económica Europeia e, nomeadamente, os seus artigos 43º e 100º,

Tendo em conta a proposta da Comissão (1),

Tendo em conta o parecer do Parlamento Europeu (2),

Tendo em conta o parecer do Comité Económico Social (3),

Considerando que a Directiva 64/432/CEE do Conselho, de 26 de Junho de 1964, relativa a problemas de policia sanitária em matéria de comércio intracomunitário de animais das espécies bovina e suína (4), com a última redacção que lhe foi dada pela Directiva 84/643/CEE (5), prevê normas comuns relativamente às medidas de luta contra a brucelose aplicáveis aos animais que vão ser objecto de comércio intracomunitário;

Considerando que convém especificar que a prova de seroaglutinação lenta em provetas é a prova que deve ser utilizada com os bovinos e suínos antes de estes animais serem introduzidos no circuito do comércio intracomunitário;

Considerando que, para assegurar a continuidade da livre circulação de bovinos no interior da Comunidade, é conveniente ter em conta o progresso científico, adaptando as disposições técnicas da supracitada directiva relativas à brucelose;

Considerando que os novos conhecimentos científicos e o desenvolvimento das técnicas de diagnóstico e de luta contra a brucelose bovina impõem uma adaptação das medidas comunitárias actualmente aplicáveis a esta matéria,

ADOPTOU A PRESENTE DIRECTIVA:

*Artigo 1º*

A Directiva 64/432/CEE é alterada do seguinte modo,

- 1) No nº 3, ponto b), do artigo 3º, acrescenta-se «ponto A» depois de «Anexo C».
- 2) No nº 4, ponto i), do artigo 3º, acrescenta-se «ponto A» depois de «Anexo C».
- 3) No nº 6, ponto b), do artigo 3º, acrescenta-se «ponto A» depois de «Anexo C».
- 4) No nº 1, ponto C, do artigo 7º, acrescenta-se «ponto A» depois de «Anexo C».
- 5) No nº 1, ponto D, do artigo 7º, acrescenta-se «ponto A» depois de «Anexo C».
- 6) No ponto A, nº 1, ponto C), alínea i), do Anexo A, segunda Parte:
  - acrescenta-se «ponto A» depois de «Anexo C»,
  - o segundo travessão passa a ter a seguinte redacção:
    - «— as provas de seroaglutinação referidas no nº 1 poderão ser substituídas por duas provas oficiais de antígeno brucélico tamponado ou por duas provas de microaglutinação realizadas em conformidade com os pontos D e G do Anexo C. Estas provas efectuar-se-ão com um intervalo mínimo de três meses e máximo de doze meses.»
- 7) No ponto A, nº 1, ponto c), do Anexo A, segunda Parte, substitui-se o ponto ii) pelo seguinte texto:
  - «ii) serão anualmente controlados para determinar a ausência de brucelose através de três provas do anel feitas com intervalos de, pelo menos, três meses ou através de duas provas do anel com intervalo de, pelo menos, três meses e uma prova serológica (prova de seroaglutinação, prova de antígeno brucélico tamponado, prova de plasmaglutinação, prova do anel de leite em plasma sanguíneo ou prova de microaglutinação) realizada seis semanas, pelo menos, após a segunda prova do anel. Quando não se fizerem provas do anel, efectuar-se-ão anualmente duas provas serológicas (prova de seroaglutinação, prova de antígeno brucélico tamponado, prova de plasmaglutinação, prova do anel de leite em plasma sanguíneo ou prova de microaglutinação), com intervalos mínimos de três meses e máximos de seis meses.

Quando, num Estado-membro, ou numa região de um Estado-membro, em que a totalidade dos efectivos bovinos esteja abrangida pelas operações oficiais de luta contra a brucelose, a percentagem dos efectivos bovinos infectados não for

(1) JO nº C 255 de 23. 9. 1983, p. 3.

(2) JO nº C 342 de 19. 12. 1983, p. 117.

(3) JO nº C 23 de 30. 1. 1984, p. 23.

(4) JO nº 121 de 29. 7. 1964, p. 1977/64.

(5) JO nº L 339 de 27. 12. 1984, p. 27.

superior a 1, bastará proceder anualmente a duas provas do anel com intervalos de, pelo menos, três meses ou uma prova serológica (prova de seroaglutinação, prova de antigénio brucélico tamponado, prova de plasmaglutinação, prova do anel de leite em plasma sanguíneo ou prova de microaglutinação).

Caso o controlo se faça nas cisternas de leite, será duplicado o número das provas referidas nos parágrafos precedentes e serão reduzidos para metade os intervalos.»

- 8) No ponto A, nº 2, ponto c), do Anexo A, Segunda Parte, o texto do último parágrafo é substituído pelo seguinte texto:

«As provas de seroaglutinação referidas no nº 1, ponto c), alínea i), primeiro travessão, poderão ser substituídas por provas de antigénio brucélico tamponado efectuadas com o ponto D do Anexo C ou por provas de microaglutinação efectuadas em conformidade com o ponto G do Anexo C.»

- 9) No Anexo C:

— o ponto C passa a ter a seguinte redacção:

«C. Prova do anel

1. A prova do anel deverá ser executada sobre o conteúdo de todas as vesilhas de leite ou sobre o conteúdo de todas as cisternas de leite da exploração.
2. O antigénio-padrão a utilizar deverá vir de um dos institutos enumerados no ponto A, nº 9, pontos a) a j). Será aconselhável proceder-se à padronização dos antigénios segundo as recomendações da Organização Mundial de Saúde (OMS/FAO).
3. O antigénio só poderá ser corado com hematoxilina ou com tetrazólio; deverá dar-se preferência à hematoxilina.
4. Se não se tomar nenhuma medida de conservação, deverá fazer-se a reacção entre a 18ª e a 24ª horas a contar da colheita da amostra na vaca. Se a prova se efectuar mais e 24 horas depois da colheita da amostra de leite, será preciso assegurar a sua conservação; os agentes conservadores que poderão ser utilizados são o formol e o cloreto de mercúrio, e a prova deverá ser efectuada no período de 14 dias seguintes à utilização de um destes dois agentes conservadores. Caso se utilize formol, a concentração final na amostra de leite será de 0,2 %; a proporção entre a quantidade de leite e a solução de formol deverá ser de, pelo menos, 10 para 1. Em vez de formol poderá utilizar-se cloreto de mercúrio: a concentração final no leite será, nesse caso de 0,2 % e a proporção entre a quantidade de leite e a solução de cloreto de mercúrio, de 10 para 1.
5. A reacção deverá fazer-se segundo um dos seguintes métodos:

— numa coluna de leite com, pelo menos, 25 mm de altura e um volume de leite de 1 ml, a que se adicionam 0,03 ml de um dos antigénios padronizados corados,

- numa coluna de leite com, pelo menos, 25 mm de altura e um volume de leite de 1 ml, a que se adicionam 0,05 ml de um dos antigénios padronizados corados,
- num volume de leite de 8 ml, a que se adicionam 0,08 ml de um dos antigénios padronizados corados,
- numa coluna de leite com, pelo menos, 25 mm de altura e um volume de leite de 2 ml, a que se adicionam 0,05 ml de um dos antigénios padronizados corados.

6. A mistura de leite e antigénio deverá colocar-se em estufa a 37 °C por um período de 45 minutos, no mínimo, e de 60 minutos, no máximo. A avaliação deverá fazer-se no prazo de 15 minutos a contar da saída da estufa.

7. A reacção será avaliada segundo os seguintes critérios:

- a) Reacção negativa: leite corado, nata descorada;
- b) Reacção positiva: leite e nata corados de forma idêntica ou leite descorado e nata corada.»

— é aditado o ponto G seguinte:

«G. Prova de microaglutinação

1. Os diluentes serão compostos por uma solução salina fisiológica a 0,85 % fenolada a 0,5 %.
2. O antigénio será preparado em conformidade com as indicações dos pontos 6, 7 e 8 do ponto A do Anexo C e o doseamento deverá efectuar-se em conformidade com as indicações do ponto A, nº 5, de Anexo C. No momento de utilização do antigénio, acrescentar-se-á safranina O a 0,02 % (solução final).
3. O soro-padrão é o mesmo do ponto A, nº 1, do Anexo C.
4. O fornecimento do soro-padrão deverá ser assegurado pelo Bundesgesundheitsamt, Berlin.
5. A prova de microaglutinação realizar-se-á em lâminas com concavidades de fundo cónico e com volume de 0,250 ml.

A prova realizar-se-á da seguinte maneira:

- a) Diluição prévia dos soros: a cada concavidade contendo 0,075 ml de diluente juntam-se 0,050 ml de cada soro a ser examinado. Agitam-se as misturas durante 30 segundos;
- b) Diluições graduais dos soros: preparar, pelo menos, três soluções para cada soro: Para este efeito, a partir das pré-soluções (1 : 2,5), retiram-se 0,025 ml de cada soro e transferem-se para uma lâmina que contenha 0,025 ml de diluente. Deste modo, a primeira solução terá o valor de 1 : 5 e as soluções seguintes efectuar-se-ão por repetição;
- c) Adição de antigénio: adiciona-se antigénio, à razão de 0,025 ml a cada uma

das concavidades com as diferentes soluções de soros em análise. Agita-se durante 30 segundos, fechando-se depois as lâminas com a respectiva tampa e colocam-se a 37 °C durante 20 a 24 horas em ambiente humidificado;

- d) Leitura dos resultados: avalia-se o aspecto da sedimentação do antigénio por exame do fundo da concavidade reflectido por um espelho côncavo colocado sob ela. Em caso de reacção negativa, o antigénio forma sedimentos sob forma de botão compacto com bordos nítidos e de cor encarnada viva. Pelo contrário, em caso de reacção positiva, forma-se um véu difuso cor-de-rosa e uniformemente distribuído. As diferentes percentagens de aglutinação determinam-se comparando com controlos de antigénio que indiquem 0, 25, 50, 75 e 100 % de aglutinação. A medida de cada soro exprime-se em unidades internacionais aglutinantes por

ml. Convém incluir na prova controlos com soro negativo e soro positivo diluído de forma a conter 30 unidades internacionais aglutinantes por ml.»

*Artigo 2º*

Os Estados-membros porão em vigor as disposições legislativas, regulamentares e administrativas necessárias para darem cumprimento à presente directiva, o mais tardar até 30 de Setembro de 1985. Do facto informarão imediatamente a Comissão.

*Artigo 3º*

Os Estados-membros são destinatários da presente directiva.

Feito em Bruxelas em 11 de Dezembro de 1984.

*Pelo Conselho*

*O Presidente*

A. DEASY