

**DECISIÓN DE LA COMISIÓN**

de 2 de junio de 1992

**sobre los controles que se aplican a las aves de corral para la detección de la enfermedad de Newcastle antes de su expedición, en aplicación del artículo 12 de la Directiva 90/539/CEE del Consejo**

(92/340/CEE)

LA COMISIÓN DE LAS COMUNIDADES EUROPEAS,

Visto el Tratado constitutivo de la Comunidad Económica Europea,

Vista la Directiva 90/539/CEE del Consejo, de 15 de octubre de 1990, relativa a las condiciones de policía sanitaria que regulan los intercambios intracomunitarios y las importaciones de aves de corral y de huevos para incubar procedentes de países terceros<sup>(1)</sup>, modificada en último lugar por la Directiva 91/496/CEE<sup>(2)</sup>, y, en particular, el apartado 1 de su artículo 12,

Considerando que tanto la metodología aplicable a la realización de los controles serológicos para la detección de la enfermedad de Newcastle como la aplicable al aislamiento del virus de esta enfermedad deberán facilitar información sobre la toma de muestras, el procedimiento para la realización de los controles y la interpretación de los resultados;

Considerando que las medidas previstas en la presente Decisión se ajustan al dictamen del Comité veterinario permanente,

HA ADOPTADO LA PRESENTE DECISIÓN:

*Artículo 1*

El control serológico representativo para la detección de anticuerpos de la enfermedad de Newcastle a que se

refiere el tercer guión de la letra c) del apartado 1 del artículo 12 de la Directiva 90/539/CEE deberá cumplir los requisitos que figuran en el Anexo I.

*Artículo 2*

La prueba para el aislamiento del virus de la enfermedad de Newcastle a que se refiere el segundo guión de la letra d) del apartado 1 del artículo 12 de la Directiva 90/539/CEE deberá cumplir los requisitos que figuran en el Anexo II.

*Artículo 3*

Los destinatarios de la presente Decisión serán los Estados miembros.

Hecho en Bruselas, el 2 de junio de 1992.

*Por la Comisión*

Ray MAC SHARRY

*Miembro de la Comisión*<sup>(1)</sup> DO nº L 303 de 31. 10. 1990, p. 6.<sup>(2)</sup> DO nº L 268 de 24. 9. 1991, p. 56.

*ANEXO I***Control serológico para la detección de anticuerpos de la enfermedad de Newcastle en aves de corral***1. Toma de muestras de sangre*

Las aves de corral sujetas a las condiciones de este Anexo procederán de manadas de las que se hayan obtenido muestras de sangre procedentes de al menos sesenta aves tomadas al azar y que hayan sido examinadas mediante la prueba de inhibición de la hemaglutinación (IH) de acuerdo con el procedimiento que figura en el apartado 2.

*2. Procedimiento*

- a) Distribuir 0,025 ml de SSIAF en cada uno de los pocillos de una placa de microtitulación de plástico (utilizar pocillos con fondo en V).
- b) Introducir 0,025 ml de suero en el primer pocillo de la placa.
- c) Utilizar una micropipeta para hacer diluciones a la mitad del suero en toda la placa.
- d) Añadir 0,025 ml de fluido alantoideo diluido que contenga 4 u 8 unidades de hemaglutinación.
- e) Homogeneizar golpeando ligeramente la placa y refrigerarla a 4 °C al menos durante 60 minutos o dejarla a temperatura ambiente durante 30 minutos como mínimo.
- f) Añadir 0,025 ml de suspensión de hematíes al 1 % a todos los pocillos.
- g) Homogeneizar golpeando ligeramente las placas y refrigerarlas a 4 °C.
- h) Leer las placas después de 30 a 40 minutos cuando se hayan sedimentado los hematíes de control. La lectura se efectuará inclinando las placas y observando la presencia o ausencia de un movimiento en forma de lágrima similar al de los pocillos de control que contengan hematíes (0,025 ml) y SSIAF (0,05 ml) solamente.
- i) El título de inhibición de la hemaglutinación será la mayor dilución del antisuero que produzca una inhibición completa de 4 u 8 unidades de virus (en todas las pruebas deberá incluirse una titulación de hemaglutinación para confirmar la presencia de la unidades de hemaglutinación necesarias).
- j) La validez de los resultados dependerá de la obtención de un título de menos de 2<sup>3</sup> para 4 unidades de hemaglutinación o de 2<sup>2</sup> para 8 unidades de hemaglutinación con el suero de control negativo y de un título que esté entre el doble y la mitad (un orden de dilución) del título conocido del suero de control positivo.

*3. Interpretación de los resultados*

El antígeno utilizado influirá en el nivel a partir del cual se considera que el suero es positivo : en el caso de 4 unidades de hemaglutinación, un suero será positivo cuando muestre un título igual o superior a 2<sup>4</sup> ; tratándose de 8 unidades de hemaglutinación, el suero será positivo cuando tenga un título igual o superior a 2<sup>3</sup>.

## ANEXO II

**Aislamiento del virus de la enfermedad de Newcastle en aves de matadero**

Las aves de corral sujetas a las condiciones de este Anexo procederán de manadas que hayan sido sometidas a una prueba para detectar la presencia del virus de la enfermedad de Newcastle con resultados negativos, y sin que se haya aislado virus alguno, de acuerdo con el procedimiento siguiente.

**1. Toma de muestras**

Se tomarán como mínimo 60 muestras que incluyan hisopos de cloaca o heces de cada una de las manadas.

**2. Tratamiento de las muestras**

No podrán juntarse más de 5 muestras. Se sumergirán completamente los hisopos en una cantidad suficiente de medio con antibióticos. A su vez, las muestras de materias fecales deberán homogeneizarse (en un mezclador cerrado o utilizando un mortero y arena esterilizada) en un medio con antibióticos para convertirlas en suspensiones en ese medio al 10-20 % p/v. Posteriormente, esas suspensiones se dejarán a temperatura ambiente durante dos horas aproximadamente (o durante más tiempo a una temperatura de 4 °C) y se clarificarán por centrifugación (por ejemplo, de 800 a 1 000 g durante 10 minutos).

Para las muestras de materias fecales es necesaria una fuerte concentración de antibióticos; una mezcla típica es la siguiente: 10 000 unidades/ml de penicilina, 10 mg/ml de estreptomina, 0,25 mg/ml de gentamicina y 5 000 unidades/ml de micostatina en una solución salina amortiguadora de fosfato. Para evitar el crecimiento de *Chlamydia*, pueden añadirse 50 mg/ml de oxitetraciclina. Al elaborar el medio, es imprescindible comprobar el pH después de añadir los antibióticos y corregirlo hasta que fluctúe entre 7,0 y 7,4.

**3. Aislamiento del virus en huevos embrionados de aves de corral**

Deberán inocularse dosis de 0,1 a 0,2 ml del líquido sobrenadante clarificado dentro de la cavidad alantoidea de al menos cuatro huevos embrionados que hayan sido incubados de ocho a diez días. Es preferible que los huevos procedan de una manada exenta de patógenos específicos, aunque, si ello no fuera posible, podrán utilizarse huevos de una manada exenta de anticuerpos del virus de la enfermedad de Newcastle. Los huevos inoculados deberán mantenerse a 37 °C y se examinarán al trasluz diariamente. Los huevos que contengan embriones muertos o moribundos serán refrigerados a 4 °C a medida que se vayan comprobando. Los demás lo serán a la misma temperatura seis días después de la inoculación. Los fluidos alantoideos o amnióticos se someterán además a la prueba de hemaglutinación. Si ésta resultase negativa, deberá repetirse el procedimiento anterior utilizando fluido alantoideo o amniótico como inóculo.

Cuando la hemaglutinación sea positiva, deberá descartarse la posible presencia de bacterias mediante la realización de un cultivo. Si se confirma la presencia de bacterias, podrán filtrarse los fluidos con un filtro de membrana de 450 nm, añadirse más antibióticos e inocularse en huevos embrionados como ya se explicó anteriormente.