

d) Condiciones especiales de facturación (abonadas con autorización de la Dirección General de la Energía de horarios de discriminación horaria distintos a los de aplicación general).

e) Posibles anomalías en los descuentos.

f) Condición de autogenerador o en la actualidad productores consumidores en régimen especial.

La muestra seleccionada, siguiendo los criterios anteriores, será, como mínimo, de 25 abonados por año.

1.3 Tarifas específicas.—Dentro de las tarifas específicas de alta tensión, riegos, tracción y distribuidores, la muestra para cada una de ellas se seleccionará atendiendo a lo siguiente:

Volumen de facturación.

Más de una empresa distribuidora por conjunto de tarifas específicas.

El número de abonados seleccionados que se inspeccionará cada año será como mínimo de 6,2 por cada una de las tarifas específicas.

1.4 Resto de abonados.—Además de la muestra determinada anteriormente, se inspeccionarán aquellos abonados en los que, a través de la inspección económica de las empresas suministradoras, se observe alguna anomalía.

2. *Muestra a inspeccionar.*—La Oficina de Compensaciones de la Energía Eléctrica (OFICO) presentará a la Dirección General de la Energía, dentro de los diez primeros días de cada trimestre, la relación detallada de los abonados correspondientes a la muestra que se haya seleccionado de acuerdo con lo dispuesto en el apartado anterior, con indicación para cada uno de las fechas en que se realizará la inspección «in situ».

La Dirección General de la Energía aprobará, en el plazo de diez días desde su presentación con las modificaciones que, en su caso, estime oportunas, la relación de abonados concretos a inspeccionar en el trimestre.

MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACION

9071 REAL DECRETO 361/1995, de 10 de marzo, por el que se modifica el Real Decreto 1317/1992, de 30 de octubre, por el que se establece las condiciones de sanidad animal aplicables a los intercambios intracomunitarios y las importaciones de aves de corral y de huevos para incubar procedentes de países terceros.

El actual desarrollo de la industria avícola en unidades más amplias e intensivas ha hecho necesario la modificación del Real Decreto 1317/1992, de 30 de octubre, por el que se establece las condiciones de sanidad animal aplicables a los intercambios intracomunitarios y las importaciones de aves de corral y de huevos para incubar procedentes de países terceros, a fin de especificar los requisitos sanitarios y simplificar su aplicación uniforme en el territorio español.

La aprobación del Real Decreto 1025/1993, de 25 de junio, por el que se establece medidas para la lucha contra la influenza aviar, y del Real Decreto 1988/1993, de 12 de noviembre, por el que se establece medidas

para la lucha contra la enfermedad de Newcastle, permite simplificar lo establecido en el Real Decreto 1317/1992.

Además, con el objeto de reconsiderar los riesgos de transmisión de la enfermedad de Newcastle y las condiciones que debe cumplir la vacunación contra la misma, y con el objeto de evaluar el estatuto de Estado miembro o de región que no practica la vacunación contra la enfermedad de Newcastle, se han de tener en consideración, por un lado la Decisión 92/369/CEE, de la Comisión, de 23 de junio, por la que se modifica el anexo III de la Directiva 90/539/CEE, en lo que atañe a las condiciones de vacunación de las aves de corral, que figuraba como anexo II del Real Decreto 1317/1992. Por otro lado se debe tener en consideración la Decisión 93/152/CEE, de la Comisión, de 8 de febrero, por la que se establece los criterios de utilización de las vacunas contra la enfermedad de Newcastle, en el marco de programas de vacunación de rutina.

Se tienen en cuenta, además, por un lado, la Decisión 92/340/CEE, de 2 de junio, 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, transpuesto al ordenamiento jurídico español por el artículo 11 del Real Decreto 1317/1992. Por otra parte, se tiene en consideración la Decisión 94/327/CEE, de 19 de mayo, por la que se fija los criterios relativos al control anual que se aplica a las aves de corral de cría para la detección de la enfermedad de Newcastle, con arreglo al apartado 2 del artículo 12 de la Directiva 90/539/CEE, cuyo contenido está transpuesto en el apartado 2 del artículo 11 del Real Decreto 1317/1992.

La modificación del Real Decreto 1317/1992 viene obligada por la transposición de la Directiva 93/120/CE, del Consejo, de 22 de diciembre, que modifica la Directiva 90/539/CEE, relativa a condiciones de policía sanitaria que regula los intercambios intracomunitarios y las importaciones de aves de corral y de huevos para incubar procedentes de países terceros.

El presente Real Decreto se dicta en virtud de la competencia estatal en materia de comercio exterior, sanidad exterior y bases y coordinación general de la sanidad del artículo 149.1.10.^a y 16.^a de la Constitución.

En su virtud, a propuesta del Ministro de Agricultura, Pesca y Alimentación, de acuerdo con el Consejo de Estado y previa deliberación del Consejo de Ministros en su reunión del día 10 de marzo de 1995,

DISPONGO:

Artículo único.

El Real Decreto 1317/1992, de 30 de octubre, por el que se establece las condiciones de sanidad animal aplicables a los intercambios intracomunitarios y a las importaciones de aves de corral y de huevos para incubar procedentes de países terceros, queda modificado como sigue:

1) El apartado 5 del artículo 2 se sustituye por el texto siguiente:

«5. Pollitos de un día de vida: todas las aves de corral con menos de setenta y dos horas y que aún no hayan sido alimentadas; sin embargo, los patos de Berbería ("Cairina moschata") o sus cruces podrán haber sido alimentados.»

2) El apartado 9 del artículo 2 se sustituye por el texto siguiente:

«9. Manada: el conjunto de las aves de corral del mismo estatuto sanitario que se encuentren

en el mismo local o recinto y constituyan una unidad epidemiológica. En el caso de las aves estabuladas, incluirá a todas las aves que compartan la misma cubicación de aire.»

3) El párrafo c) del apartado 11 del artículo 2 se sustituye por el texto siguiente:

«c) Criadero: la granja de aves de cría, es decir, la granja cuya actividad consista en criar aves de corral de cría antes de la fase de reproducción, o la granja de aves de explotación, es decir, la granja cuya actividad consista en criar aves de corral de explotación ponedoras antes de la fase de puesta.»

4) Se suprime el apartado 17 del artículo 2.

5) El artículo 4 se sustituye por el texto siguiente:

«Artículo 4.

Para ser objeto de intercambios intracomunitarios:

a) Los huevos para incubar, los pollitos de un día de vida, las aves de cría y las aves de explotación deberán cumplir las condiciones de los artículos 5, 11, 12 y 14.

Además:

Los huevos para incubar deberán cumplir las condiciones del artículo 6.

Los pollitos de un día de vida deberán cumplir las condiciones establecidas en el artículo 7.

Las aves de cría y de explotación deberán cumplir las condiciones establecidas en el artículo 8.

b) Las aves para matadero deberán cumplir las condiciones de los artículos 9, 11, 12 y 14.

c) Las aves destinadas al suministro de caza de repoblación (incluidos los pollitos de un día de vida) deberán cumplir las condiciones de los artículos 9 bis, 11, 12 y 14.»

6) El párrafo c) del apartado 1 de artículo 5 se sustituye por el texto siguiente:

«c) Estar situadas fuera de una zona sometida, por razones sanitarias, a medidas restrictivas con arreglo a la legislación comunitaria debido al brote de una enfermedad que pueda afectar a las aves de corral.»

7) El apartado 2 del artículo 5 se sustituye por el texto siguiente:

«2. De una manada que en el momento de la expedición no presente ningún síntoma clínico ni sospecha de enfermedad contagiosa para las aves de corral.»

8) El artículo 6 se sustituye por el texto siguiente:

«Artículo 6.

En el momento de su expedición, los huevos para incubar deberán:

1) Proceder de manadas:

Que hayan permanecido durante más de seis semanas en una o varias granjas de la Comunidad Europea tal como se define en el párrafo a) del apartado 1 del artículo 5.

Que, si han sido vacunadas, lo hayan sido de conformidad con las condiciones de vacunación establecidas en el anexo II.

Que o bien hayan sido sometidas a un examen sanitario efectuado por un veterinario oficial o autorizado durante las setenta y dos horas anteriores a la expedición y que, en el momento de dicho

examen, no hayan presentado ningún síntoma clínico ni sospecha de enfermedad contagiosa.

O bien hayan sido sometidas a una inspección sanitaria mensual efectuada por un veterinario oficial o autorizado, habiendo tenido lugar la última visita en los treinta y un días anteriores a la expedición. Si se optara por esta posibilidad, el veterinario oficial o autorizado deberá efectuar también un examen de los registros del estatuto sanitario de la manada y una evaluación de su estatuto sanitario actual basándose en los datos actualizados facilitados por el responsable de la manada durante las setenta y dos horas anteriores a la expedición; en caso de que los registros u otros datos induzcan a sospecha de enfermedad, las manadas deberán someterse a un examen sanitario, efectuado por el veterinario oficial o autorizado, que descarte la posibilidad de enfermedad contagiosa para las aves de corral.

2) Estar identificados con arreglo a lo dispuesto en el Reglamento (CEE) 1868/77, de la Comisión, de 29 de julio, por el que se establecen modalidades de aplicación del Reglamento (CEE) 2782/75, relativo a la producción y comercialización de los huevos para incubar y de los pollitos de aves de corral.

3) Haber sido desinfectados de acuerdo con las instrucciones del veterinario oficial.

Además, si en la manada de la que proceden los huevos para incubar se hubiera declarado una enfermedad transmisible mediante los huevos durante el período de incubación, esto deberá notificarse al criadero afectado y a las autoridades responsables del criadero y de la manada de origen.»

9) El párrafo b) del artículo 7 se sustituye por el texto siguiente:

«b) Cumplir las condiciones de vacunación establecidas en el anexo II cuando hayan sido vacunadas.»

10) El párrafo b) del artículo 8 se sustituye por el texto siguiente:

«b) Cumplir las condiciones de vacunación establecidas en el anexo II cuando hayan sido vacunadas.»

11) El párrafo c) del artículo 8 se sustituye por el texto siguiente:

«c) Haber sido sometidas a un reconocimiento sanitario efectuado por un veterinario oficial o autorizado en el curso de las cuarenta y ocho horas anteriores a la expedición y no presentar, en el momento de dicho reconocimiento, ningún síntoma clínico ni sospecha de enfermedad contagiosa para las aves de corral.»

12) El párrafo c) del artículo 9 se sustituye por el texto siguiente:

«c) En la cual, durante el reconocimiento sanitario de la manada de la que procedan las aves destinadas al sacrificio efectuado por un veterinario oficial o autorizado en los cinco días anteriores a la expedición, no se haya observado ningún síntoma clínico ni sospecha de enfermedad contagiosa para las aves de corral.»

13) El párrafo d) del artículo 9 se sustituye por el texto siguiente:

«d) Situada fuera de una zona sometida, por razones sanitarias, a medidas restrictivas con arre-

glo a la legislación comunitaria debido al brote de una enfermedad que pueda afectar a las aves de corral.»

14) Se introduce el siguiente artículo:

«Artículo 9 bis.

1. En el momento de su expedición, las aves de más de setenta y dos horas de vida destinadas al suministro de caza silvestre de repoblación deberán proceder de una explotación:

a) Donde hayan permanecido desde su nacimiento o durante más de veintiún días y donde no hayan entrado en contacto con aves de corral recién llegadas durante las dos semanas anteriores a la expedición.

b) Que no esté sometida a ninguna restricción sanitaria aplicable a las aves de corral.

c) En la cual, durante el reconocimiento sanitario de la manada de la que procedan las aves efectuado por un veterinario oficial o autorizado en las cuarenta y ocho horas a la expedición, no se haya observado ningún síntoma clínico ni sospecha de enfermedad contagiosa para las aves de corral.

d) Situada fuera de una zona sometida a prohibición, por razones sanitarias, con arreglo a la legislación comunitaria, debido al brote de una enfermedad que pueda afectar a las aves de corral.

2. Las disposiciones de los artículos 5 y 9 no se aplicarán a las aves de corral a que se refiere el anterior apartado 1.»

15) El párrafo c) del apartado 2 del artículo 10 se sustituye por el texto siguiente:

«c) Que cumplan las condiciones de vacunación establecidas en el anexo II si han sido vacunadas.»

16) El párrafo e) del apartado 2 del artículo 10 se sustituye por el texto siguiente:

«e) Situada fuera de una zona sometida, por razones sanitarias, a medidas restrictivas con arreglo a la legislación comunitaria debido al brote de una enfermedad que pueda afectar a las aves de corral.»

17) Se suprime el texto del párrafo f) del apartado 2 del artículo 10, y se sustituye por el siguiente:

«f) Todas las aves del lote deberán haber dado resultado negativo el mes anterior a la expedición en pruebas serológicas para la detección de anticuerpos de «Salmonella pullorum» y «Salmonella gallinarum», de conformidad con lo dispuesto en el capítulo III del anexo I. Cuando se trate de huevos para incubar o de pollitos de un día de vida, la manada de origen deberá haber sido sometida en el período de los tres meses anteriores a la expedición a pruebas serológicas de detección de «Salmonella pullorum» y «Salmonella gallinarum» con resultados que proporcionen un 95 por 100 de fiabilidad en la detección de la infección con una prevalencia del 5 por 100.»

18) Se modifica el párrafo tercero del apartado 1, c), del artículo 11 y se sustituye por el siguiente texto, como consecuencia de la Decisión 92/340/CEE, de la Comisión, de 2 de junio, sobre los controles que se aplican a las aves de corral para la detección de la enfermedad de Newcastle antes de su expe-

dición en aplicación del artículo 12 de la Directiva 90/539/CEE:

«3.º Haber sido sometidas, durante los catorce días que precedan a la expedición, a un control serológico representativo realizado para la detección de anticuerpos de la enfermedad de Newcastle de conformidad con el punto 1 del anexo V.»

19) Se modifica el párrafo segundo del apartado 1, d), del artículo 11 y se sustituye por el siguiente texto, como consecuencia de la Decisión 92/340/CEE.

2.º «Si están vacunadas, no deberán haber sido vacunadas con una vacuna viva durante los treinta días precedentes a la expedición, y deberán haber sido sometidas mediante una muestra representativa, durante los catorce días que precedan a la expedición, a una prueba realizada con el fin de aislar el virus de la enfermedad de Newcastle, de conformidad con el apartado 2 del anexo V.»

20) Se introduce un anexo V en el que se reproduce el contenido de la Decisión 92/340/CEE, el cual figura como anexo I del presente Real Decreto.

21) El apartado 3 del artículo 11 se sustituye por el texto siguiente:

«3. Cuando en la totalidad del territorio español o en alguna de sus Comunidades Autónomas no se vacune contra la enfermedad de Newcastle y deseen ser reconocidas con el estatuto de no vacunación contra dicha enfermedad, se podrán elaborar programas con arreglo a los siguientes contenidos:

La situación de la enfermedad en su territorio. La justificación del programa por la importancia de la enfermedad y sus ventajas desde el punto de vista de la relación coste/beneficio previstas.

La zona geográfica en la que se va a aplicar el programa.

Los diferentes estatutos aplicables a las granjas y las normas que deberán alcanzarse en cada categoría, así como los procedimientos de prueba.

Los procedimientos de control de dicho programa.

Las consecuencias que deben deducirse de la pérdida del estatuto por parte de la granja, por el motivo que fuere.

Las medidas que se deban tomar en el caso de observarse resultados positivos durante los controles realizados con arreglo a las disposiciones del programa.

Los programas elaborados por la Comunidades Autónomas serán notificados al Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Este presentará todos los programas a la Comisión Europea a través del cauce correspondiente para la aprobación de los mismos, en su caso.»

22) En el artículo 11 se introducen los siguientes apartados:

«4. Los datos que se tendrán en cuenta para determinar que la totalidad del territorio español o alguna de sus Comunidades Autónomas tienen el estatuto de no vacunación contra la enfermedad de Newcastle serán en particular los siguientes:

Ninguna vacunación contra la enfermedad de Newcastle de las aves contempladas en el artículo 1 deberá haber sido autorizada durante los doce meses anteriores, con excepción de la vacunación obligatoria de las palomas mensajeras contempla-

das en el apartado 2 del artículo 15 del Real Decreto 1988/1993, de 12 de noviembre, por el que se establece medidas para la lucha contra la enfermedad de Newcastle.

Las manadas de aves de cría deberán someterse a un control serológico para detectar de la presencia de la enfermedad de Newcastle al menos una vez al año, de acuerdo con las normas establecidas en el anexo VI.

Las explotaciones no deberán contener aves que hayan sido vacunadas contra la enfermedad de Newcastle en los doce meses anteriores, con excepción de las palomas mensajeras vacunadas de conformidad con el apartado 2 del artículo 15 del Real Decreto 1988/1993.

5. La Comisión Europea podrá suspender el estatuto de no vacunación contra la enfermedad de Newcastle de la totalidad del territorio español o de las Comunidades Autónomas en que no se vacune, en los siguientes casos:

a) Que se produzca una grave epizootia de enfermedad de Newcastle que no haya sido controlada o

b) Que se deroguen las restricciones legales que prohíban el recurso sistemático a la vacunación contra la enfermedad de Newcastle.»

23) Se introduce un anexo VI que incorpora el contenido de la Decisión 94/327/CEE, de la Comisión, de 19 de mayo, por la que se fijan los criterios relativos al control anual que se aplica a las aves de corral de cría para la detección de la enfermedad de Newcastle con arreglo al apartado 2 del artículo 12 de la Directiva 90/539/CEE, y que figura en el anexo II del presente Real Decreto.

24) El apartado 1 del artículo 12 se sustituye por el texto siguiente:

«1. Los pollitos de un día de vida y los huevos para incubar deberán ser transportados en embalajes nuevos de uso único concebidos a tal fin, que se usarán una sola vez y serán destruidos, o bien en embalajes que podrán ser reutilizados previa limpieza y desinfección. En cualquier caso, los embalajes deberán:

a) Contener solamente pollitos de un día de vida o huevos para incubar de la misma especie, categoría y tipo de ave y procedentes de la misma granja.

b) Indicar en su etiqueta:

El nombre "Reino de España" y de la Comunidad Autónoma de origen.

El número de autorización de la granja de origen, de conformidad con el apartado 2 del capítulo I del anexo I.

El número de huevos o de pollitos de cada caja.

La especie de ave de corral a la que pertenecen los huevos o los pollitos.»

25) Se suprime el párrafo c) del apartado 3 del artículo 12.

26) En el apartado 4 del artículo 12 se añade un nuevo párrafo con el texto siguiente:

«Las aves destinadas al suministro de caza para repoblación deberán enviarse lo antes posible al punto de destino sin que entren en contacto con

otras aves, excepto las destinados al suministro de caza para repoblación que cumplan las condiciones establecidas en el presente Real Decreto.»

27) El párrafo g) del artículo 14 se sustituye por el texto siguiente:

«g) Que lleve un sello y una firma de color distinto al del certificado.»

28) El artículo 17 se sustituye por el texto siguiente:

«Las aves de corral y los huevos para incubar deberán proceder de terceros países:

a) En los que la influenza aviar y la enfermedad de Newcastle, tal como se definen en los Reales Decretos 1025/1993 y 1988/1993, sean enfermedades de notificación obligatoria.

b) Libres de influenza aviar y de enfermedad de Newcastle o que, aunque no estén libres de estas enfermedades, apliquen medidas de lucha al menos equivalente a las establecidas respectivamente en los Reales Decretos 1025/1993 y 1988/1993.»

29) El párrafo h) del artículo 19 se sustituye por el texto siguiente:

«h) Llevar un sello y una firma de color distinto al del certificado.»

30) El anexo II que ha sido modificado por la Decisión 92/369/CEE, de la Comisión, de 24 de junio, por la que se modifica el anexo III de la Directiva 90/539/CEE, del Consejo, relativa a 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, en lo que atañe a las condiciones de vacunación de las aves de corral y la Decisión 93/152/CEE, de la Comisión, de 8 de febrero, por la que se establecen los criterios de utilización de las vacunas contra la enfermedad de Newcastle en el marco de programas de vacunación de rutina, queda sustituido por el texto que figura como anexo III del presente Real Decreto.

31) En el modelo 5 del anexo III, el párrafo a) del apartado 14 se sustituye por:

«a) Las aves arriba descritas cumplen las disposiciones de los artículos 10 bis y 15 de la Directiva 90/539/CEE.»

Disposición final única.

El presente Real Decreto entrará en vigor el día siguiente al de su publicación en el «Boletín Oficial del Estado».

Dado en Madrid a 10 de marzo de 1995.

JUAN CARLOS R.

El Ministro de Agricultura, Pesca
y Alimentación,
LUIS MARIA ATIENZA SERNA

ANEXO I

ANEXO V

1. 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 60 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 sesenta minutos o dejarla a temperatura ambiente durante treinta minutos como mínimo.

f) Añadir 0,025 ml de suspensión de hematíes al 1 por 100 a todos los pocillos.

g) Homogeneizar golpeando ligeramente las placas y refrigerarlas a 4 °C.

h) Leer las placas después de treinta a cuarenta 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 a 8 unidades de virus (en todas las pruebas deberá incluirse una titulación de hemaglutinación para confirmar la presencia de las unidades de hemaglutinación necesarias).

j) La validez de los resultados dependerá de la obtención de un título de menos de 2^3 para 4 unidades de hemaglutinación o de 2^2 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 2^4 ; tratándose de 8 unidades de hemaglutinación, el suero será positivo cuando tenga un título igual o superior a 2^3 .

2. 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 cinco 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 por 100 p/v. Posteriormente, esas suspensiones se dejarán a temperatura ambiente durante dos horas aproximadamente (o durante más tiempo a una tempe-

ratura de 4 °C) y se clasificarán por centrifugación (por ejemplo, de 800 a 1.000 g durante diez 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 estreptomocina, 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 añadir 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 antibióticos e inocularse en huevos embrionados como ya se explicó anteriormente.

ANEXO II

ANEXO VI

Control serológico anual para la detección de anticuerpos de la enfermedad de Newcastle en las manadas de aves de corral de cría de los Estados miembros o de las regiones de los Estados miembros que hayan alcanzado el estatuto de Estado miembro o región que no practica la vacunación contra la enfermedad de Newcastle

1. Toma de muestras de sangre. Una vez al año, se tomarán muestras de todas las manadas de aves de cría del siguiente modo: las muestras de sangre procederán de al menos 60 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 sesenta minutos o dejarla a temperatura ambiente durante treinta minutos como mínimo.

f) Añadir 0,025 ml de suspensión de hematíes al 1 por 100 a todos los pocillos.

g) Homogeneizar golpeando ligeramente las placas y refrigerarlas a 4 °C.

h) Leer las placas después de treinta a cuarenta 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 a 8 unidades de virus (en todas las pruebas deberá incluirse una titulación de hemaglutinación para confirmar la presencia de las unidades de hemaglutinación necesarias).

j) La validez de los resultados dependerá de la obtención de un título de menos de 2^3 para 4 unidades de hemaglutinación o de 2^2 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 2^4 ; tratándose de 8 unidades de hemaglutinación, el suero será positivo cuando tenga un título igual o superior a 2^3 .

ANEXO III

1. Las vacunas utilizadas para la vacunación de las aves de corral o de las manadas de origen de los huevos para incubar deberán llevar una autorización de comercialización extendida por la Administración General del Estado.

2. Los criterios de utilización de las vacunas contra la enfermedad de Newcastle en el marco de programas de vacunación de rutina son los siguientes:

a) Las vacunas vivas atenuadas contra la enfermedad de Newcastle deberán prepararse a partir de cepas de virus de la enfermedad cuya «cepa madre» («Master Seed») haya sido sometida a un test que haya revelado un índice de patogenicidad intracerebral (IPIC) de:

1.º Menos de 0,4; si cada ave ha recibido al menos 10^7 EID₅₀ para la prueba.

2.º Menos de 0,5; si cada ave ha recibido el menos 10^8 EID₅₀ para la prueba.

b) Las vacunas inactivadas contra la enfermedad de Newcastle deberán prepararse a partir de cepas de virus de la enfermedad cuya «cepa madre» (Master Seed) haya sido sometida a un test que haya revelado un índice de patogenicidad intracerebral (IPIC) de menos de 0,7; si cada ave ha recibido al menos 10^8 EID₅₀ para la prueba.