

## KOMMISSIONENS BESLUTNING

af 10. december 2008

## om ændring af bilag C til Rådets direktiv 64/432/EØF og af beslutning 2004/226/EF for så vidt angår diagnostiske test for kvægbrucellose

(meddelt under nummer K(2008) 7642)

(EØS-relevant tekst)

(2008/984/EF)

KOMMISSIONEN FOR DE EUROPÆISKE FÆLLESSKABER HAR —

under henvisning til traktaten om oprettelse af Det Europæiske Fællesskab,

under henvisning til Rådets direktiv 64/432/EØF af 26. juni 1964 om veterinærpolitimæssige problemer ved handel inden for Fællesskabet med kvæg og svin<sup>(1)</sup>, særlig artikel 6, stk. 2, litra b), og artikel 16, stk. 1, andet afsnit, og

ud fra følgende betragtninger:

(1) I bilag C til direktiv 64/432/EØF foreskrives de metoder til diagnosticering af kvægbrucellose, der skal anvendes i forbindelse med bekæmpelse og udryddelse af sygdommen og i forbindelse med overvågning samt med henblik på etablering og bevarelse af en besætningsstatus som officielt brucellosefri og certifikatudstedelse ved handel inden for Fællesskabet med kvæg.

(2) Ved Kommissionens beslutning 2004/226/EF af 4. marts 2004 om godkendelse af test til påvisning af antistoffer mod kvægbrucellose som led i Rådets direktiv 64/432/EØF<sup>(2)</sup> godkendes visse kvægbrucellosestest, som kan anvendes som alternativ til den obligatoriske serumagglutinationstest (SAT) med henblik på udstedelse af certifikater for kvæg i henhold til artikel 6, stk. 2, litra b), i direktiv 64/432/EØF.

(3) Fluorescenspolariseringstesten (FPA) er en ny diagnostisk test, der er medtaget som en foreskrevet test ved international handel i kapitel 2.4.3 (kvægbrucellose) i Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 6. udgave, 2008, fra Verdensorganisationen for Dyresundhed (OIE).

(4) Kommissionen anmodede Den Europæiske Fødevarerikkerhedsautoritet (EFSA) om en videnskabelig udtalelse om, hvorvidt FPA er egnet til optagelse i bilag C til direktiv 64/432/EØF.

(5) Kommissionen anmodede endvidere EFSA om at vurdere, om FPA og de test, der er anført i artikel 1 i beslutning 2004/226/EF, er egnede med henblik på udstedelse af certifikater for kvæg ved handel inden for Fællesskabet.

(6) Ekspertpanelet for Dyrs Sundhed og Velfærd vedtog den 11. december 2006 en videnskabelig udtalelse om metoder til diagnosticering af brucellose hos kvæg<sup>(3)</sup>, hvori det konkluderedes, at de diagnostiske test for kvægbrucellose, der er anført i bilag C til direktiv 64/432/EØF, bortset fra SAT, er egnede til fortsat at være standardtest med henblik på udstedelse af certifikater for enkeltkreaturer ved handel inden for Fællesskabet.

(7) Da SAT imidlertid er den test, der direkte er foreskrevet i artikel 6, stk. 2, litra b), i direktiv 64/432/EØF forud for transport ved handel med kvæg, skal der være en teknisk specifikation i bilag C til nævnte direktiv.

(8) Endvidere konkluderedes det i den videnskabelige udtalelse af 11. december 2006, at FPA's følsomhed og specificitet er sammenlignelig med de test, der er anført i bilag C til direktiv 64/432/EØF, og at FPA er egnet til at blive medtaget i nævnte bilag som en standardtest til diagnosticering af brucellose hos sådanne dyr ved handel inden for Fællesskabet.

(9) De nyudviklede metoder med polymerasekædereaktion, der er beskrevet i kapitel 2.4.3, afdeling 1, litra d), i OIE's Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 6. udgave, 2008, er supplerende metoder til påvisning og identifikation af *Brucella* spp., og de bør derfor medtages i bilag C til direktiv 64/432/EØF.

(10) Bilag C til direktiv 64/432/EØF og beslutning 2004/226/EF bør derfor ændres i overensstemmelse hermed.

(11) Foranstaltningerne i denne beslutning er i overensstemmelse med udtalelse fra Den Stående Komité for Fødevarerækæden og Dyresundhed —

<sup>(1)</sup> EFT 121 af 29.7.1964, s. 1977/64.

<sup>(2)</sup> EUT L 68 af 6.3.2004, s. 36.

<sup>(3)</sup> [http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa\\_locale-1178620753812\\_1178620772731.htm](http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1178620772731.htm)

VEDTAGET FØLGENDE BESLUTNING:

*Artikel 1*

Bilag C til direktiv 64/432/EØF ændres som angivet i bilaget til nærværende beslutning.

*Artikel 2*

Artikel 1 i beslutning 2004/226/EF affattes således:

»*Artikel 1*

Komplementbindingstest, brucella-stødpudeantigentest (Rose Bengal-test (RBT)), ELISA-test og fluorescenspolariseringstest

(FPA), som udføres i henhold til bilag C til direktiv 64/432/EØF, godkendes med henblik på udstedelse af certifikat.«

*Artikel 3*

Denne beslutning er rettet til medlemsstaterne.

Udfærdiget i Bruxelles, den 10. december 2008.

*På Kommissionens vegne*

Androulla VASSILIOU

*Medlem af Kommissionen*

## BILAG

1) I bilag C til direktiv 64/432/EØF affattes punkt 1, 2 og 3 således:

## »BILAG C

**BRUCELLOSE**

## 1. IDENTIFIKATION AF AGENS

Påvises der organismer med brucella-morfologi i abortmateriale, vaginalflåd eller mælk ved hjælp af modificeret syrefast eller immunspecifik farvning, er der stor sandsynlighed for, at der er tale om brucellose, især hvis diagnosen støttes af serologiske test. Metoder med polymerasekædereaktion (PCR) er supplerende påvisningsmetoder

*Brucella* spp. isoleres om muligt ved anvendelse af non-selektive eller selektive medier ved dyrkning fra livmodersekret, aborterede fostre, yversekret eller udvalgt væv, f.eks. lymfeknuder og mandlige og kvindelige kønsorganer.

Efter isolation skal art og biovar identificeres ved hjælp af faglysis og/eller oxidative stofskifteundersøgelser, dyrkningskriterier og biokemiske og serologiske kriterier. PCR kan udgøre en supplerende metode såvel som en metode til biotypning baseret på specifikke genomsekvenser.

De anvendte teknikker og medier, standardiseringen af dem og fortolkningen af resultaterne skal være i overensstemmelse med OIE's Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 6. udgave, 2008, kapitel 2.4.3 (kvægbrucellose), kapitel 2.7.2 (fåre- og gedebucellose) og kapitel 2.8.5 (svinebrucellose).

## 2. IMMUNOLOGISKE TEST

2.1. **Standarder**

2.1.1. Der skal bruges *Brucella abortus* biovar 1 Weybridge-stamme nr. 99 eller USDA-stamme 1119-3 til fremstilling af alle antigener, der anvendes i Rose Bengal-test (RBT), serum-agglutinationstest (SAT), komplementbindingstest (CFT) og mælkeringstest (MRT).

2.1.2. Standardreferenceserum til RBT, SAT, CFT og MRT er OIE's internationale standardreferenceserum (OIEISS), der tidligere blev kaldt WHO's andet internationale anti-brucella abortus-serum (ISAbs).

2.1.3. Standardreferenceseraene til ELISA-test (ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay) er:

— OIEISS

— det svagt positive OIE ELISA-standardserum (OIEELISA<sub>WP</sub>SS)

— det stærkt positive OIE ELISA-standardserum (OIEELISA<sub>SP</sub>SS)

— det negative OIE ELISA-standardserum (OIEELISA<sub>N</sub>SS).

2.1.4. Standardreferenceseraene til fluorescenspolariseringstest (FPA) er:

— det svagt positive OIE ELISA-standardserum (OIEELISA<sub>WP</sub>SS)

— det stærkt positive OIE ELISA-standardserum (OIEELISA<sub>SP</sub>SS)

— det negative OIE ELISA-standardserum (OIEELISA<sub>N</sub>SS).

2.1.5. Standardsera anført i punkt 2.1.3 og 2.1.4 kan fås hos EF-referencelaboratoriet for brucellose eller Veterinary Laboratories Agency (VLA), Weybridge, Det Forenede Kongerige.

- 2.1.6. OIEISS, OIEELISA<sub>WP</sub>SS, OIEELISA<sub>SP</sub>SS og OIEELISA<sub>N</sub>SS er internationale primære standarder, ud fra hvilke der i de enkelte medlemsstater skal etableres nationale sekundære referencestandardsera (»arbejdsstandarder«) for hver test omhandlet i punkt 2.1.1.
- 2.2. **Prøver med brug af enzymmærket antistof (ELISA-test) eller andre immunbindingsanalyser til påvisning af kvægbrucellose i serum eller mælk**
- 2.2.1. *Materialer og reagenser*
- Den teknik, der anvendes, og fortolkningen af resultaterne skal være godkendt efter principperne i kapitel 1.1.4 i OIE's Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 6. udgave, 2008, og skal mindst indbefatte laboratorieundersøgelser og diagnostiske undersøgelser.
- 2.2.2. *Teststandardisering*
- 2.2.2.1. Standardisering af testproceduren for individuelle serumprøver:
- En fortynding <sup>(1)</sup> af OIEISS i forholdet 1:150 eller en fortynding af OIEELISA<sub>WP</sub>SS i forholdet 1:2 eller en fortynding af OIEELISA<sub>SP</sub>SS i forholdet 1:16 i et negativt serum (eller i en negativ serumpulje) skal give en positiv reaktion.
  - En fortynding af OIEISS i forholdet 1:600 eller en fortynding af OIEELISA<sub>WP</sub>SS i forholdet 1:8 eller en fortynding af OIEELISA<sub>SP</sub>SS i forholdet 1:64 i et negativt serum (eller i en negativ serumpulje) skal give en negativ reaktion.
  - OIEELISA<sub>N</sub>SS skal altid give en negativ reaktion.
- 2.2.2.2. Standardisering af testproceduren for puljede serumprøver:
- En fortynding af OIEISS i forholdet 1:150 eller en fortynding af OIEELISA<sub>WP</sub>SS i forholdet 1:2 eller en fortynding af OIEELISA<sub>SP</sub>SS i forholdet 1:16 i et negativt serum (eller i en negativ serumpulje), der igen er fortyndet i negative sera med antallet af prøver, der indgår i puljen, skal give en positiv reaktion.
  - OIEELISA<sub>N</sub>SS skal altid give en negativ reaktion.
  - Testen skal kunne bruges til at påvise infektion hos et enkelt dyr i den gruppe af dyr, som serumprøverne, der indgår i puljen, er taget fra.
- 2.2.2.3. Standardisering af testproceduren for puljede mælke- eller valleprøver:
- En fortynding af OIEISS i forholdet 1:1 000 eller en fortynding af OIEELISA<sub>WP</sub>SS i forholdet 1:16 eller en fortynding af OIEELISA<sub>SP</sub>SS i forholdet 1:125 i et negativt serum (eller i en negativ serumpulje), der igen er fortyndet i forholdet 1:10 i negativ mælk, skal give en positiv reaktion.
  - OIEELISA<sub>N</sub>SS fortyndet i forholdet 1:10 i negativ mælk skal altid give en negativ reaktion.
  - Testen skal kunne bruges til at påvise infektion hos et enkelt dyr i den gruppe af dyr, som mælke- eller valleprøverne, der indgår i puljen, er taget fra.
- 2.2.3. *Betingelser for anvendelse af ELISA-test til diagnosticering af kvægbrucellose*
- 2.2.3.1. Ved anvendelsen af kalibreringsbetingelser for ELISA'er, jf. punkt 2.2.2.1 og 2.2.2.2, på serumprøver skal ELISA-testen diagnostisk være mindst lige så følsom som RBT eller CFT, idet der tages hensyn til den epidemiologiske situation, som testen anvendes i.
- 2.2.3.2. Ved anvendelsen af kalibreringsbetingelser for ELISA, jf. punkt 2.2.2.3, på puljede mælkeprøver skal ELISA-testen diagnostisk være mindst lige så følsom som MRT, idet der ikke blot tages hensyn til den epidemiologiske situation, men også til de gennemsnitlige og forventede ekstremer af husdyrbrugssystemer.
- 2.2.3.3. Anvendes der ELISA'er med henblik på udstedelse af certifikat i henhold til artikel 6, stk. 1, eller med henblik på etablering og bevarelse af en besætningsstatus i henhold til bilag A, afsnit II, punkt 10, skal serumprøverne puljes på en sådan måde, at testresultaterne med sikkerhed kan henføres til det individuelle dyr i puljen. Eventuelle verifikationstest skal udføres på serumprøver fra individuelle dyr.

<sup>(1)</sup> Fortyndinger, der anvendes til at skabe flydende reagenser, udtrykkes i dette bilag som f.eks. 1:150, hvilket betyder en fortynding på 1 til 150.

2.2.3.4. Der kan anvendes ELISA'er på en mælkeprøve taget fra mælk, der er indsamlet fra en bedrift med mindst 30 % lakterende malkekøer. Anvendes denne metode, skal der træffes foranstaltninger til at sikre, at de prøver, der er udtaget til undersøgelse, med sikkerhed kan henføres til de individuelle dyr, som mælken stammer fra. Eventuelle verifikationstest skal udføres på serumprøver fra individuelle dyr.

### 2.3. Komplementbindingstest (CFT)

2.3.1. Antigenet består af en bakterieopløsning i fenol-kogsaltopløsning (NaCl 0,85 % (m/v) med tilsætning af fenol 0,5 % (v/v)) eller i en veronalbufferopløsning. Antigenene kan leveres i koncentreret stand, såfremt den fortyndingsfaktor, som skal anvendes, er angivet på flaskens etiket. Antigenet opbevares ved 4 °C og ikke i frossen stand.

2.3.2. Sera skal inaktiveres på følgende måde:

— kvægserum: 56 til 60 °C i 30 til 50 minutter

— svineserum: 60 °C i 30 til 50 minutter.

2.3.3. For at opnå en sand testreaktion skal der anvendes en komplementdosis, der ligger over det nødvendige minimum for en total hæmolyse.

2.3.4. Ved gennemførelse af komplementbindingstesten foretages hver gang følgende kontrol:

- a) kontrol af serumets antikomplementære virkning
- b) kontrol af antigenet
- c) kontrol af de sensibiliserede røde blodlegemer
- d) kontrol af komplementet
- e) kontrol af følsomheden ved reaktionens begyndelse ved hjælp af et positivt serum
- f) kontrol af reaktionens specificitet ved hjælp af et negativt serum.

#### 2.3.5. Beregning af resultater

OIEISS indeholder 1 000 internationale CFT-enheder (ICFTU) pr. ml. Hvis OIEISS testes efter en given metode, angives resultatet som en titer (dvs. den største direkte fortynding af OIEISS, der giver 50 % hæmolyse ( $T_{\text{OIEISS}}$ ). Testresultatet for testserum angivet som titer ( $T_{\text{TESTSERUM}}$ ) skal udtrykkes i ICFTU pr. ml. Til omregning af en titer til ICFTU kan den faktor (F), der kræves for at omregne titeren for et ukendt testserum ( $T_{\text{TESTSERUM}}$ ), der er testet efter denne metode, til ICFTU, findes ved hjælp af formlen:

$$F = 1\,000 \times 1/T_{\text{OIEISS}}$$

og indholdet af internationale CFT-enheder pr. ml testserum ( $\text{ICFTU}_{\text{TESTSERUM}}$ ) kan findes ved hjælp af formlen:

$$\text{ICFTU}_{\text{TESTSERUM}} = F \times T_{\text{TESTSERUM}}$$

#### 2.3.6. Fortolkning af resultater

Et serum, der indeholder 20 ICFTU pr. ml eller derover, betragtes som positivt.

### 2.4. Mælkeringstest (MRT)

2.4.1. Antigenet består af en bakterieopløsning i fenol-kogsaltopløsning (NaCl 0,85 % (m/v) med tilsætning af fenol 0,5 % (v/v)) farvet med hæmatoxylin. Antigenet opbevares ved 4 °C og ikke i frossen stand.

2.4.2. Antigenfølsomheden skal standardiseres i forhold til OIEISS på en sådan måde, at antigenet giver en positiv reaktion med en fortynding af OIEISS i forholdet 1:500 i negativ mælk og en negativ reaktion med en fortynding i forholdet 1:1 000.

- 2.4.3. Ringtesten skal udføres på prøver, der er repræsentative for indholdet i hver transportspand eller samletank fra bedriften.
- 2.4.4. Mælkeprøverne må ikke have været frosset, opvarmet eller være blevet rystet kraftigt.
- 2.4.5. Reaktionen udføres efter en af følgende metoder:
- på en mindst 25 mm høj mælkesøjle og en mælkemængde på 1 ml, som er tilsat 0,03 eller 0,05 ml af et af de standardiserede, farvede antigener
  - på en mindst 25 mm høj mælkesøjle og en mælkemængde på 2 ml, som er tilsat 0,05 ml af et af de standardiserede, farvede antigener
  - på en mælkemængde på 8 ml, som er tilsat 0,08 ml af et af de standardiserede, farvede antigener.
- 2.4.6. Blandingen af mælk og antigen skal henstå ved 37 °C i 60 minutter sammen med positive og negative arbejdsstandarder. Henstår blandingen i yderligere 16 til 24 timer ved 4 °C, øges testens følsomhed.
- 2.4.7. Fortolkning af resultater:
- a) negativ reaktion: mælken farvet, fløden farveløs
  - b) positiv reaktion:
    - mælk og fløde farvet på samme måde, eller
    - mælken farveløs og fløden farvet.
- 2.5. **Brucella-stødpudeantigentest (Rose Bengal-test (RBT))**
- 2.5.1. Antigenet består af en bakterieopløsning i »buffered« brucella-antigenfortynder med en pH på  $3,65 \pm 0,05$  farvet med Rose Bengal-farvestof. Antigenet skal leveres brugsklart og skal opbevares ved 4 °C og ikke i frossen stand.
- 2.5.2. Antigenet tilberedes uden hensyntagen til cellekoncentrationen, men dets følsomhed skal standardiseres i forhold til OIEISS på en sådan måde, at antigenet giver en positiv reaktion med en serumfortynding i forholdet 1:45 og en negativ reaktion med en fortynding i forholdet 1:55.
- 2.5.3. RBT udføres således:
- a) Serum (20-30 µl) blandes med en tilsvarende mængde antigen på en hvid eller emaljeret plade, så der dannes en flade med en diameter på ca. 2 cm. Blandingen vippe blidt i 4 minutter ved stuetemperatur og aflæses derefter i god belysning for agglutination.
  - b) Der kan anvendes en automatiseret metode, men den skal være mindst lige så følsom og nøjagtig som den manuelle metode.
- 2.5.4. *Fortolkning af resultater*
- Enhver synlig reaktion betragtes som positiv, medmindre kanterne er stærkt udtørrede.
- Der skal medtages positive og negative arbejdsstandarder i hver testrække.
- 2.6. **Serum-agglutinationstest (SAT)**
- 2.6.1. Antigenet består af en bakterieopløsning i fenol-kogsaltopløsning (NaCl 0,85 % (m/v) med tilsætning af fenol 0,5 % (v/v)).
- Der må ikke anvendes formaldehyd.
- Antigenerne kan leveres i koncentreret stand, såfremt den fortyndingsfaktor, som skal anvendes, er angivet på flaskens etiket.
- For at reducere antallet af falske positive testresultater kan antigenopløsningen tilsættes EDTA til en endelig testkoncentration på 5 mM. Antigenopløsningens pH justeres derpå igen til 7,2.

- 2.6.2. OIEISS indeholder 1 000 internationale agglutinationsenheder.
- 2.6.3. Antigenet tilberedes uden hensyntagen til cellekoncentrationen, men dets følsomhed skal standardiseres i forhold til OIEISS på en sådan måde, at antigenet enten giver 50 % agglutination med en endelig serumfortynding på mellem 1:600 og 1:1 000 eller 75 % agglutination med en endelig serumfortynding på mellem 1:500 og 1:750.

Det kan også være tilrådeligt at sammenligne nye og tidligere standardiserede antigenbatchers reaktivitet ved hjælp af et panel af definerede sera.

- 2.6.4. Testen udføres enten i reagensglas eller på mikroplader. Blandingen af antigen og serumfortyndinger skal henstå i 16 til 24 timer ved 37 °C.

Der tilberedes mindst tre fortyndinger for hvert serum. Fortyndinger af mistænkt serum laves på en sådan måde, at reaktionen ved positivitetsgrænsen aflæses i det midterste reagensglas (eller den midterste fordybning på mikroplader).

- 2.6.5. *Fortolkning af resultater*

Indholdet af brucella-agglutiner i et serum skal udtrykkes i IE pr. ml.

Et serum, der indeholder 30 IE pr. ml eller derover, betragtes som positivt.

## 2.7. **Fluorescenspolariseringstest (FPA)**

- 2.7.1. FPA kan udføres enten i reagensglas eller på plader med 96 huller. Den anvendte teknik, standardiseringen af den og fortolkningen af resultaterne skal være i overensstemmelse med OIE's Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 6. udgave, 2008, kapitel 2.4.3 (kvægbrucellose).

- 2.7.2. *Teststandardisering*

FPA standardiseres, således at:

- a) OIEELISA<sub>Sp</sub>SS og OIEELISA<sub>Wp</sub>SS altid giver positive resultater
- b) en fortynding af OIEELISA<sub>Wp</sub>SS i forholdet 1:8 eller en fortynding af OIEELISA<sub>Sp</sub>SS i forholdet 1:64 i et negativt serum (eller i en negativ serumpulje) giver en negativ reaktion
- c) OIEELISA<sub>N</sub>SS giver altid en negativ reaktion.

Hver testbatch skal omfatte følgende: et stærkt positivt, et svagt positivt og et negativt arbejdsstandardserum (kalibreret i forhold til OIE's ELISA-standardserum).

## 3. SUPPLERENDE TEST

### 3.1. **Brucellose-kutantest (BST)**

- 3.1.1. *Betingelser for anvendelse af BST*

- a) Brucellose-kutantesten må ikke anvendes med henblik på udstedelse af certifikat til handel inden for EF.
- b) Brucellose-kutantesten er en af de mest specifikke test til påvisning af brucellose hos uvaccinerede dyr, men diagnosen må ikke stilles alene på grundlag af positive intradermale reaktioner.
- c) Kvæg, der har reageret negativt på en af de serologiske test, der er defineret i dette bilag, og som reagerer positivt på BST, betragtes som inficeret eller formodet inficeret.
- d) Kvæg, der har reageret positivt på en af de serologiske test, der er defineret i dette bilag, kan underkastes en BST til støtte for fortolkningen af de serologiske testresultater, især hvis der i officielt brucellosefrie eller brucellosefrie kvægbesætninger ikke kan udelukkes en krydsreaktion med antistoffer mod andre bakterier.

- 3.1.2. Testen udføres ved hjælp af et standardiseret og defineret brucellose-allergenpræparat, der ikke indeholder glat lipopolysaccharid (LPS)-antigen, da det kan fremkalde uspecifikke betændelsesreaktioner eller forstyrre senere serologiske test.

Fremstillingskravene for brucellin er beskrevet i afdeling C1 i kapitel 2.4.3 i OIE's Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 6. udgave, 2008.

3.1.3. *Testprocedure*

- 3.1.3.1. 0,1 ml brucellose-allergen injiceres intradermalt i halefolden, flanken eller siden af halsen.

- 3.1.3.2. Testen aflæses efter 48 til 72 timer.

- 3.1.3.3. Hudtykkelsen på injektionsstedet måles med en skydelære før injektionen og ved den efterfølgende undersøgelse.

- 3.1.3.4. Fortolkning af resultater:

Stærke reaktioner erkendes let ved lokal hævelse og induration.

En hudfortykkelse på 1,5 til 2 mm betragtes som en positiv reaktion på BST.

3.2. **Kompetitiv prøve med brug af enzymmærket antistof (cELISA)**

- 3.2.1. *Betingelser for anvendelse af cELISA*

cELISA-testen må ikke anvendes med henblik på udstedelse af certifikat til handel inden for EF.

Kvæg, der har reageret positivt på en af de andre serologiske test, der er defineret i dette bilag, kan underkastes cELISA til støtte for fortolkningen af de andre serologiske testresultater, især hvis der i de officielt brucellosefrie eller brucellosefrie kvægbesætninger ikke kan udelukkes en krydsreaktion med antistoffer mod andre bakterier, eller for at eliminere reaktioner, der skyldes restantistoffer produceret som reaktion på vaccination med S19.

- 3.2.2. *Testprocedure*

Testen skal udføres efter afdeling B(2) i kapitel 2.4.3 i OIE's Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 6. udgave, 2008.«

- 2) I bilag C til direktiv 64/432/EØF affattes punkt 4.1 således:

»4.1. **Opgaver og ansvar**

De nationale referencelaboratorier er ansvarlige for følgende:

- a) godkendelse af resultaterne af valideringsundersøgelser, der dokumenterer, at den testmetode, der anvendes i medlemsstaten, er pålidelig
  - b) fastsættelse af det maksimale antal prøver, der kan puljes i de ELISA-kits, der anvendes
  - c) kalibrering af arbejdsstandarder, jf. punkt 2.1.6
  - d) kvalitetskontrol af alle antigener og batcher af ELISA-kits, der anvendes i medlemsstaten
  - e) samarbejde med EF-referencelaboratoriet for brucellose og efterkommelse af dets anbefalinger.«
-