

ROZHODNUTÍ KOMISE

ze dne 10. prosince 2008,

kterým se mění příloha C směrnice Rady 64/432/EHS a rozhodnutí 2004/226/ES, pokud jde o diagnostické testy ke zjištění brucelózy skotu

(oznámeno pod číslem K(2008) 7642)

(Text s významem pro EHP)

(2008/984/ES)

KOMISE EVROPSKÝCH SPOLEČENSTVÍ,

s ohledem na Smlouvu o založení Evropského společenství,

s ohledem na směrnici Rady 64/432/EHS ze dne 26. června 1964 o veterinárních otázkách obchodu se skotem a prasaty uvnitř Společenství⁽¹⁾, a zejména na čl. 6 odst. 2 písm. b) a čl. 16 odst. 1 druhý pododstavec uvedené směrnice,

vzhledem k těmto důvodům:

- (1) Příloha C směrnice 64/432/EHS stanoví diagnostické metody ke zjištění brucelózy skotu, které se mají použít pro tlumení a eradikaci uvedené choroby a pro sledování a dozor, stejně jako pro stanovení a zachování statusu stáda skotu úředně prostého brucelózy a pro osvědčování požadované pro obchod se skotem uvnitř Společenství.
- (2) Rozhodnutí Komise 2004/226/ES ze dne 4. března 2004, kterým se schvalují testy k detekci protilátek proti brucelóze skotu v rámci směrnice Rady 64/432/EHS⁽²⁾, schvaluje některé testy ke zjištění brucelózy skotu, které smějí být použity jako alternativa k povinnému séroaglutinačnímu testu (SAT) pro osvědčování skotu v souladu s čl. 6 odst. 2 písm. b) směrnice 64/432/EHS.
- (3) Test fluorescenční polarizace (FPA) je nový diagnostický test, který byl zahrnut jako předepsaný test pro mezinárodní obchod v kapitole 2.4.3 (brucelóza skotu) Příručky diagnostických testů a očkovacích látek pro suchozemská zvířata Světové organizace pro zdraví zvířat (OIE), šesté vydání z roku 2008.
- (4) Komise požádala Evropský úřad pro bezpečnost potravin o poskytnutí vědeckého stanoviska, zda je vhodné zahrnout test FPA do přílohy C směrnice 64/432/EHS.

(5) Komise dále požádala Evropský úřad pro bezpečnost potravin, aby posoudil vhodnost testu FPA a testů uvedených v článku 1 rozhodnutí 2004/226/ES pro účely osvědčování skotu pro obchod uvnitř Společenství.

(6) Dne 11. prosince 2006 přijala Komise pro zdraví a dobré životní podmínky zvířat vědecké stanovisko k metodám diagnostiky brucelózy u skotu⁽³⁾, ve kterém dospěla k závěru, že kromě SAT jsou diagnostické testy ke zjištění brucelózy skotu zahrnuté v příloze C směrnice 64/432/EHS vhodné, aby zůstaly zachovány jakožto standardní testy pro účely osvědčování jednotlivých kusů skotu pro obchod uvnitř Společenství.

(7) Nicméně, jelikož je test SAT testem před opuštěním stáda přímo předepsaným pro obchodování s dobytkem v čl. 6 odst. 2 písm. b) směrnice 64/432/ES, musí být v příloze C uvedené směrnice k dispozici technická specifikace.

(8) Vědecké stanovisko ze dne 11. prosince 2006 navíc dospělo k závěru, že citlivost a specifická testu FPA jsou srovnatelné s těmi, jaké mají testy zahrnuté v příloze C směrnice 64/432/EHS a shledalo, že test je vhodný, aby byl zahrnut v uvedené příloze jakožto standardní test pro diagnostiku brucelózy u uvedených zvířat pro obchod uvnitř Společenství.

(9) Nedávno vyvinuté metody polymerázové řetězové reakce popsané v oddílu 1 písm. d) kapitoly 2.4.3 Příručky diagnostických testů a očkovacích látek pro suchozemská zvířata Světové organizace pro zdraví zvířat (OIE), šestém vydání z roku 2008 poskytují dodatečné prostředky k detekci a určení *Brucella* spp., a proto by měly být zahrnuty v příloze C směrnice 64/432/EHS.

(10) Příloha C směrnice 64/432/EHS a rozhodnutí 2004/226/ES by proto měly být odpovídajícím způsobem změněny.

(11) Opatření stanovená tímto rozhodnutím jsou v souladu se stanoviskem Stálého výboru pro potravinový řetězec a zdraví zvířat,

⁽¹⁾ Úř. věst. L 121, 29.7.1964, s. 1977/64.

⁽²⁾ Úř. věst. L 68, 6.3.2004, s. 36.

⁽³⁾ http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1178620772731.htm

PŘIJALA TOTO ROZHODNUTÍ:

Článek 1

Příloha C směrnice 64/432/EHS se nahrazuje přílohou tohoto rozhodnutí.

Článek 2

Článek 1 rozhodnutí 2004/226/ES se nahrazuje tímto:

„Článek 1

Test reakce vazby komplementu, test na brucelózu s pufrovaným brucelovým antigenem (test s bengálskou

červení (RBT)), testy ELISA a test fluorescenční polarizace (FPA), prováděné v souladu s ustanoveními přílohy C směrnice 64/432/EHS se tímto schvalují pro účely osvědčování.“

Článek 3

Toto rozhodnutí je určeno členskými státy.

V Bruselu dne 10. prosince 2008.

Za Komisi

Androulla VASSILIOU

členka Komise

PŘÍLOHA

1) Příloha C směrnice 64/432/EHS se nahrazuje tímto:

„PŘÍLOHA C

BRUCELÓZA

1. IDENTIFIKACE PŮVODCE

Prokázání mikroorganismů s morfologií *Brucelly* na základě modifikovaného kyselého nebo imunspecifického barvení v materiálu z abortů, výtoků z pochvy nebo v mléce zakládá domněnku výskytu brucelózy, zvláště je-li podpořeno sérologickými testy. Metody polymerázové řetězové reakce (PCR) poskytují dodatečné prostředky detekce.

Kdykoliv je to možné, měly by být brucely (*Brucella* spp.) izolovány pomocí běžných nebo selektivních médií, kultivací z děložního výtoku, potracených plodů, sekretů z vemene nebo z vybraných tkání, jako jsou mizní uzliny a samčí a samičí pohlavní orgány.

Pro izolaci by se měl příslušný druh nebo biovar identifikovat lýzou fágů a/nebo testy oxidativního metabolismu, kultivačními, biochemickými a sérologickými kritérii. PCR je doplňková metoda biotypizace založená na specifických sekvencích genomu.

Postupy a použitá média, jejich standardizace a výklad výsledků musí odpovídat ukazatelům, které jsou specifikovány v Příručce diagnostických testů a očkovacích látek pro suchozemská zvířata Světové organizace pro zdraví zvířat (OIE), šestém vydání z roku 2008, v kapitole 2.4.3 (brucelóza skotu), v kapitole 2.7.2 (brucelóza koz a ovcí) a v kapitole 2.8.5 (brucelóza prasat).

2. IMUNOLOGICKÉ TESTY

2.1 **Standardy**

2.1.1 K přípravě všech antigenů použitých v testu s bengálskou červení (RBT), v séroaglutinačním testu (SAT), v testu reakce vazby komplementu (CFT) a v kroužkovém testu s mlékem (MRT) musí být použit *Brucella abortus* biovar 1 kmen Weybridge č. 99 nebo kmen USDA 1119-3.

2.1.2 Standardním referenčním sérum pro testy RBT, SAT, CFT a MRT je mezinárodní referenční standardní sérum OIE (OIEISS), původně zvané druhé mezinárodní anti-*Brucella abortus* sérum WHO (ISABS).

2.1.3 Standardními referenčními séry pro enzymoimunoanalýzy (testy ELISA) jsou:

— OIEISS,

— slabě pozitivní standardní sérum OIE ELISA (OIEELISA_{WPSS}),

— silně pozitivní standardní sérum OIE ELISA (OIEELISA_{SPSS}),

— negativní standardní sérum OIE ELISA (OIEELISA_{NSS}).

2.1.4 Standardními referenčními séry pro testy fluorescenční polarizace (FPA) jsou:

— slabě pozitivní standardní sérum OIE ELISA (OIEELISA_{WPSS}),

— silně pozitivní standardní sérum OIE ELISA (OIEELISA_{SPSS}),

— negativní standardní sérum OIE ELISA (OIEELISA_{NSS}).

2.1.5 Standardní séra uvedená v bodech 2.1.3 a 2.1.4 jsou k dispozici v referenční laboratoři Společenství pro brucelózu nebo je lze získat od Veterinary Laboratories Agency (VLA), Weybridge, Spojené Království.

- 2.1.6 Standardy OIEISS, OIEELISA_{WP}SS, OIEELISA_{SP}SS a OIEELISA_NSS jsou primární mezinárodní standardy, ze kterých musí vycházet sekundární referenční národní standardní séra (pracovní standardy) pro každý z testů uvedený v bodu 2.1.1 v každém členském státě.
- 2.2 **Enzymoimunoanalýzy (testy ELISA) nebo jiné aglutinační testy k detekci brucelózy skotu v séru nebo mléce**
- 2.2.1 *Materiál a reakční činidla*
- Je nutné, aby použitá metoda a výklad výsledků byly validovány v souladu s principy uvedenými v kapitole 1.1.4 Příručky diagnostických testů a očkovacích látek pro suchozemská zvířata Světové organizace pro zdraví zvířat (OIE), šesté vydání z roku 2008, a musí přinejmenším zahrnovat laboratorní a diagnostické studie.
- 2.2.2 *Standardizace testu*
- 2.2.2.1 Standardizace postupu testu pro jednotlivé vzorky séra:
- a) předředění 1/150 ⁽¹⁾ u OIEISS nebo předředění $\frac{1}{2}$ u OIEELISA_{WP}SS nebo předředění 1/16 u OIEELISA_{SP}SS připravené v negativním séru (nebo ve směsi negativních sér) musí dát pozitivní reakci;
 - b) předředění 1/600 u OIEISS nebo předředění 1/8 u OIEELISA_{WP}SS nebo předředění 1/64 u OIEELISA_{SP}SS připravené v negativním séru (nebo ve směsi negativních sér) musí dát negativní reakci;
 - c) OIEELISA_NSS musí vždy dát negativní reakci.
- 2.2.2.2 Standardizace postupu testu pro vzorky směsného séra:
- a) předředění 1/150 u OIEISS nebo předředění $\frac{1}{2}$ u OIEELISA_{WP}SS nebo předředění 1/16 u OIEELISA_{SP}SS připravené v negativním séru (nebo ve směsi negativních sér) a znovu zředěné v negativním séru počtem vzorků tvořících směs musí dát pozitivní reakci;
 - b) OIEELISA_NSS musí vždy dát negativní reakci;
 - c) test musí být schopný prokázat infekci u jednotlivého zvířete ze skupiny zvířat, od kterých byly vzorky séra smíchány do směsi.
- 2.2.2.3 Standardizace postupu testu pro vzorky směsi mléka nebo syrovátky:
- a) předředění 1/1 000 u OIEISS nebo předředění 1/16 u OIEELISA_{WP}SS nebo předředění 1/125 u OIEELISA_{SP}SS připravené v negativním séru (nebo směsi negativních sér) a znovu zředěné 1/10 v negativním mléce musí dávat pozitivní reakci;
 - b) OIEELISA_NSS zředěná 1/10 v negativním mléce musí vždy dávat negativní reakci;
 - c) test musí být schopný prokázat infekci u jednotlivého zvířete ze skupiny zvířat, od kterých byly vzorky mléka nebo syrovátky smíchány do směsi.
- 2.2.3 *Podmínky pro použití testů ELISA pro diagnostiku brucelózy skotu:*
- 2.2.3.1 Při použití podmínek kalibrace pro testy ELISA stanovených v bodech 2.2.2.1 a 2.2.2.2 na vzorcích séra se diagnostická citlivost testu ELISA musí rovnat citlivosti RBT nebo CFT nebo být vyšší s přihlédnutím k epizootologické situaci, za které je test používán.
- 2.2.3.2 Při použití podmínek kalibrace pro test ELISA stanovených v bodu 2.2.2.3 na směsných vzorcích mléka se diagnostická citlivost testu ELISA musí rovnat citlivosti MRT nebo být vyšší s přihlédnutím nejen k epizootologické situaci, ale také k průměrným nebo vysokým počtům zvířat posuzovaných chovů.
- 2.2.3.3 Pokud se testy ELISA používají pro účely osvědčování v souladu s čl. 6 odst. 1 nebo pro stanovení a zachování statusu stáda v souladu s přílohou A kapitolou II bodem 10, musí se vkládání vzorků séra do směsi provádět takovým způsobem, aby výsledky testu měly nepochybný vztah k jednotlivému zvířeti zahrnutému ve směsném vzorku. Případný potvrzovací test se musí provádět na vzorcích séra odebraných od jednotlivých zvířat.

⁽¹⁾ Pro účely této přílohy jsou ředění udávána pro vytváření tekutých činidel vyjádřena jako poměr; např. poměr 1/150 znamená 1 díl ve 150 dílech.

2.2.3.4 Testy ELISA mohou být používány na vzorku mléka odebraného z mléka shromážděného z hospodářství s nejméně 30 % dojníc v laktaci. Používá-li se uvedená metoda, musí být učiněna opatření pro zajištění toho, aby se vzorky nepochybně vztahovaly k jednotlivým zvířatům, od kterých mléko pochází. Případný potvrzovací test se musí provádět na vzorcích séra odebraných od jednotlivých zvířat.

2.3 Test reakce vazby komplementu (CFT)

2.3.1 Antigen představuje bakteriální suspenzi v solném roztoku s fenolem (NaCl 0,85 % (hmot./obj.) a fenol při 0,5 % (obj./obj.) nebo ve veronalovém pufru. Antigeny mohou být dodávány v koncentrovaném stavu za předpokladu, že faktor ředění, který má být použit, je uveden na etiketě lahvičky. Antigen musí být skladován při teplotě 4 °C a nesmí zmraznout.

2.3.2 Sérum se musí inaktivovat takto:

— sérum skotu: 56 až 60 °C po dobu 30 až 50 minut,

— sérum prasat: 60 °C po dobu 30 až 50 minut.

2.3.3 K provedení věrohodné reakce během postupu testu by se měla použít dávka komplementu vyšší, než je minimum potřebné k úplné hemolýze.

2.3.4 Při provádění testu reakce vazby komplementu musí být pokaždé provedeny tyto kontroly:

- a) kontrola antikomplementárního účinku séra;
- b) kontrola antigenu;
- c) kontrola senzibilizovaných červených krvinek;
- d) kontrola komplementu;
- e) kontrola citlivosti na počátku reakce pomocí pozitivního séra;
- f) kontrola specifčnosti reakce pomocí negativního séra.

2.3.5 Výpočet výsledků

OIEISS obsahuje 1 000 mezinárodních jednotek CFT (ICFTU) na 1 ml. Je-li danou metodou testováno OIEISS, udává se výsledek jako titer (tj. nejvyšší přímé ředění OIEISS, které dá 50 % hemolýzu, T_{OIEISS}). Výsledek testu pro testované sérum udaný jako titer ($T_{\text{TESTSERUM}}$) musí být vyjádřen v ICFTU na 1 ml. Za účelem převodu vyjádření titru na ICFTU je možno faktor F nutný k převodu titru neznámého testovaného séra ($T_{\text{TESTSERUM}}$), které se takovou metodou testuje, zjistit ze vzorce:

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

a obsah mezinárodních jednotek CFT na ml séra v testu ($\text{ICFTU}_{\text{TESTSERUM}}$) ze vzorce:

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

2.3.6 Výklad výsledků

Sérum obsahující 20 nebo více ICFTU na 1 ml se považuje za pozitivní.

2.4 Kroužkový test mléka

2.4.1 Antigen představuje bakteriální suspenzi v solném roztoku s fenolem (NaCl 0,85 % (hmot./obj.) a fenol při 0,5 % (obj./obj.) a je barven hematoxylinem. Musí být skladován při teplotě 4 °C a nesmí zmraznout.

2.4.2 Citlivost antigenu musí být standardizována ve vztahu k OIEISS takovým způsobem, že antigen vytváří pozitivní reakci s ředěním OIEISS 1/500 v negativním mléce, zatímco ředění 1/1 000 musí být negativní.

- 2.4.3 Kroužkový test musí být proveden na vzorcích představujících obsah každé konve mléka nebo obsah každé ze směsných nádrží z příslušného hospodářství.
- 2.4.4 Vzorky mléka nesmí zmrznout, nesmí se zahřát a nesmí být vystaveny silným otřesům.
- 2.4.5 Reakce se musí uskutečnit použitím jedné z těchto metod:
- ve sloupci mléka o výšce nejméně 25 mm a objemu mléka 1 ml, ke kterému bylo přidáno buď 0,03 ml anebo 0,05 ml jednoho ze standardizovaných obarvených antigenů,
 - ve sloupci mléka o výšce nejméně 25 mm a objemu mléka 2 ml, ke kterému bylo přidáno 0,05 ml jednoho ze standardizovaných obarvených antigenů,
 - v objemu mléka 8 ml, ke kterému bylo přidáno 0,08 ml jednoho ze standardizovaných obarvených antigenů.
- 2.4.6 Směs mléka a antigenů musí být inkubována při teplotě 37 °C po dobu 60 minut souběžně s pozitivními a negativními pracovními standardy. Citlivost testu zvyšuje ještě následná inkubace dobu 16 až 24 hodin při teplotě 4 °C.
- 2.4.7 Výklad výsledků
- a) negativní reakce: mléko zbarvené, smetana nezbarvená;
 - b) pozitivní reakce:
 - mléko a smetana mají stejné zbarvení nebo
 - mléko nezbarvené a smetana zbarvená.
- 2.5 **Test na brucelózu s pufrovaným brucelovým antigenem (test s bengálskou červení (RBT))**
- 2.5.1 Antigen představuje bakteriální suspenzi v pufrovaném ředidle antigenu *Brucelly* s pufrům s pH $3,65 \pm 0,05$ při barvení bengálskou červení. Antigen má být dodáván připravený k použití a musí být skladován při teplotě 4 °C a nesmí zmrznout.
- 2.5.2 Antigen má být připraven bez ohledu na koncentraci buněk, avšak jeho citlivost musí být standardizována ve vztahu k OIEISS tak, že antigen vyvolá pozitivní reakci s ředěním séra 1/45 a negativní reakci s ředěním 1/55.
- 2.5.3 Test RBT se provádí tímto způsobem:
- a) sérum (20–30 μ l) se smíchá se stejným objemem antigenu na bílé dlaždicové plotně nebo emailové plotně tak, aby se vytvořila zóna o průměru přibližně 2 cm. Směs se promíchává mírným pohybem po dobu 4 minut při teplotě okolního prostředí a při dobrém osvětlení se pozoruje aglutinace;
 - b) může se použít automatizovaná metoda, musí však být přinejmenším tak citlivá a přesná jako metoda ruční.
- 2.5.4 **Výklad výsledků**
- Jakákoliv viditelná reakce se považuje za pozitivní, pokud není na okrajích nadměrně zaschnutí.
- Do každé ze sérií testů se zahrnou pozitivní a negativní pracovní standardy.
- 2.6 **Séroaglutinační test (SAT)**
- 2.6.1 Antigen představuje bakteriální suspenzi v solném roztoku s fenolem (NaCl 0,85 % (hmot./obj.) a fenol při 0,5 % (obj./obj.).
- Formaldehyd se nesmí použít.
- Antigeny mohou být dodávány v koncentrovaném stavu za předpokladu, že faktor ředění, který má být použit, je uveden na etiketě lahvičky.
- K suspenzi antigenu může být přidáno EDTA na finální ředění testu 5 mM, aby se u séroaglutinačního testu snížil počet falešně pozitivních výsledků. Následně musí být hodnota pH 7,2 u suspenze antigenu znovu upravena.

- 2.6.2 OIEISS obsahuje 1 000 mezinárodních jednotek aglutinace.
- 2.6.3 Antigen se připraví bez ohledu na koncentraci buněk, avšak jeho citlivost musí být standardizována ve vztahu k OIEISS takovým způsobem, že antigen vytváří buď 50 % aglutinace při finálním ředění séra 1/600 až 1/1 000, anebo 75 % aglutinace s finálním ředěním séra 1/500 až 1/750.

Lze také doporučit porovnání reaktivity nových a předtím standardizovaných šarží antigenu užitím skupiny definovaných sér.

- 2.6.4 Test se provádí buď ve zkumavkách, nebo na mikrotitračních destičkách. Směs antigenu a přírodních ředění séra se inkubuje po dobu 16 až 24 hodin při teplotě 37 °C.

Pro každé ze sér se musí připravit alespoň tři ředění. Ředění podezřelých sér se musí provádět takovým způsobem, že odečítání reakce se provádí v pásmu pozitivivity v prostředních zkumavkách (nebo v prostředních jamkách při odečítání na mikrotitračních destičkách).

- 2.6.5 *Výklad výsledků*

Stupeň aglutinace *Brucella* v séru musí být vyjádřen v IU na 1 ml.

Sérum obsahující 30 nebo více IU na 1 ml se považuje za pozitivní.

2.7 Test fluorescenční polarizace (FPA)

- 2.7.1 Test fluorescenční polarizace lze provádět ve skleněných zkumavkách nebo na mikrotitračních destičkách s 96 jamkami. Použitý postup, jeho standardizace a výklad výsledků musí odpovídat ukazatelům, které jsou specifikovány v kapitole 2.4.3 (brucelóza skotu) Příručky diagnostických testů a očkovacích látek pro suchozemská zvířata Světové organizace pro zdraví zvířat (OIE), šesté vydání z roku 2008.

- 2.7.2 *Standardizace testu*

Test FPA se standardizuje tak, aby:

- OIEELISA_{Sp}SS a OIEELISA_{Wp}SS dávaly konzistentně pozitivní výsledky;
- předředění 1/8 u OIEELISA_{Wp}SS nebo předředění 1/64 u OIEELISA_{Sp}SS připravené v negativním séru (nebo ve směsi negativních sér) vždy dalo negativní reakci;
- OIEELISA_NSS vždy dala negativní reakci.

V každé šarži testů by mělo být zahrnuto toto: silně pozitivní, slabě pozitivní a negativní pracovní standardní sérum (kalibrované na základě standardního séra OIE ELISA).

3. DOPLŇKOVÉ TESTY

3.1 Kožní test na brucelózu (BST)

- 3.1.1 *Podmínky pro použití testu*

- Kožní test na brucelózu se nesmí používat pro účely osvědčování pro obchod uvnitř Společenství.
- Kožní test na brucelózu je jedním z nejspécifitějších testů ke zjišťování brucelózy u neočkovaných zvířat; ale diagnóza se nesmí stanovovat jen na základě pozitivních intradermálních reakcí.
- Skot, který je testován s negativním výsledkem v jednom ze sérologických testů definovaných v této příloze a který reaguje na BST pozitivně, se považuje za nakažený nebo je v podezření, že je nakažený.
- Skot, který je testován při jednom ze sérologických testů definovaných v této příloze a je pozitivní, může být podroben BST, aby byl podpořen výklad výsledků sérologického testu, zejména pokud u stád skotu úředně prostých nebo prostých brucelózy nelze vyloučit zkříženou reakci s protilátkami proti jiným bakteriím.

- 3.1.2 Test se musí provést s použitím standardizovaného a definovaného přípravku brucelového alergenu, který neobsahuje lipopolysacharidový antigen S-formy (LPS), protože ten může vyvolat nespecifické zánětlivé reakce nebo může interferovat s následnými sérologickými testy.

Požadavky na výrobu brucellinu jsou v souladu s oddílem C1 kapitoly 2.4.3 Příručky diagnostických testů a očkovacích látek pro suchozemská zvířata Světové organizace pro zdraví zvířat (OIE), šesté vydání z roku 2008.

3.1.3 *Postup testu*

- 3.1.3.1 Množství 0,1 ml brucelového alergenu se intradermálně vpraví do předocasní řasy, kůže boku nebo do postranní části krku.

3.1.3.2 Test se odečte po 48 až 72 hodinách.

3.1.3.3 Tloušťka kůže v místě vpichu se měří kutimetrem před injekcí a při opětovném vyšetření.

3.1.3.4 Výklad výsledků

Silné reakce se snadno rozeznají jako místní otok a ztvrdnutí.

Zesílení kůže o 1,5 až 2 mm se považuje za pozitivní reakci na BST.

3.2 **Kompetitivní enzymoimunoanalýza (cELISA)**

3.2.1 *Podmínky pro použití cELISA*

Test cELISA se nesmí používat pro účely osvědčování pro obchod uvnitř Společenství.

Skot, který je testován s pozitivním výsledkem při jednom z dalších sérologických testů definovaných v této příloze, může být podroben testu cELISA, aby byl podpořen výklad výsledků tohoto dalšího sérologického testu; zejména pokud nelze u stád skotu úředně prostých nebo prostých brucelózy vyloučit zkříženou reakci s protilátkami proti jiným bakteriím nebo za účelem eliminovat reakce způsobené reziduálními protilátkami, vytvořenými jako odpověď na očkování kmenem S19.

3.2.2 *Postup testu*

Test se provádí v souladu s předpisem uvedeným v oddílu B(2) kapitoly 2.4.3 Příručky diagnostických testů a očkovacích látek pro suchozemská zvířata Světové organizace pro zdraví zvířat (OIE), šesté vydání z roku 2008.“

2) Bod 4.1 přílohy C směrnice 64/432/EHS se nahrazuje tímto:

„4.1 **Úkoly a pověření**

Národní referenční laboratoře určené v souladu s článkem 6a jsou příslušné pro:

- a) schvalování výsledků validačních studií, které prokazují spolehlivost metody testu použité v členském státě;
 - b) určování maximálního počtu vzorků, které mohou být sloučeny do směsi u použitých souprav ELISA;
 - c) kalibraci pracovních standardů uvedených v bodě 2.1.6;
 - d) kontroly kvality všech šarží antigenů a šarží souprav ELISA používaných v členském státě;
 - e) spolupráci s národní referenční laboratoří Společenství pro brucelózu a dodržování jejích doporučení.“
-