

II

(Retsakter hvis offentliggørelse ikke er obligatorisk)

RÅDET

RÅDETS DIREKTIV

af 14. juni 1988

om ændring af direktiv 64/432/EØF for så vidt angår enzootisk kvægleukose og om ophævelse af direktiv 80/1102/EØF

(88/406/EØF)

RÅDET FOR DE EUROPÆISKE
FÆLLESSKABER HAR —

under henvisning til Traktaten om Oprettelse af Det Europæiske Økonomiske Fællesskab, særlig artikel 43,

under henvisning til forslag fra Kommissionen ⁽¹⁾,

under henvisning til udtalelse fra Europa-Parlamentet ⁽²⁾,

under henvisning til udtalelse fra Det Økonomiske og Sociale Udvalg ⁽³⁾, og

ud fra følgende betragtninger:

En af Fællesskabets opgaver på det veterinære område er at forbedre husdyrbestandens sundhedstilstand med henblik på at opnå en forbedret avlsrentabilitet;

i dette øjemed er det nødvendigt at beskytte Fællesskabet mod enzootisk kvægleukose; Fællesskabet har i øvrigt allerede ved direktiv 77/391/EØF ⁽⁴⁾ og 78/52/EØF ⁽⁵⁾ samt ved beslutning 87/58/EØF ⁽⁶⁾ iværksat en aktion med henblik på udryddelse af denne sygdom;

sådanne aktioner skal bidrage til at fjerne de hindringer, der stadig findes for samhandel i Fællesskabet med levende dyr, og som skyldes forskelle i sundhedstilstanden;

med henblik herpå er der indtil den 31. december 1987 ved Rådets direktiv 64/432/EØF af 26. juni 1964 om veterinær-

politimæssige problemer ved handel inden for Fællesskabet med kvæg og svin ⁽⁷⁾, senest ændret ved forordning (EØF) nr. 3805/87 ⁽⁸⁾ indført beskyttelsesforanstaltninger mod enzootisk kvægleukose;

gyldigheden af disse foranstaltninger bør forlænges, samtidig med at nye metoder til påvisning af enzootisk kvægleukose godkendes;

ved udløbet af en overgangsperiode bør gyldigheden af de særlige regler, der er fastsat i den for tiden gældende ordning, bringes til ophør for lande, der anvender nationale programmer i kampen mod denne sygdom;

det vil være hensigtsmæssigt at fastsætte regler vedrørende besætningernes betegnelse for så vidt angår enzootisk kvægleukose;

medlemsstaterne bør, for at deres bestand kan betegnes som værende fri for enzootisk kvægleukose, gennemføre et program, der indebærer, at bestanden underkastes en af de prøver til påvisning af leukose, der er fastlagt i bilag G til direktiv 64/432/EØF;

med undtagelse af slagtedyr på under 30 måneder skal dyr bestemt til handel inden for Fællesskabet stamme fra en besætning, der har været genstand for en prøve og har været underkastet en enkeltdyrsprøve —

UDSTEDT FØLGENDE DIREKTIV:

Artikel 1

Med virkning fra 1. juli 1988 foretages følgende ændringer i direktiv 64/432/EØF:

⁽⁷⁾ EFT nr. 121 af 29. 7. 1964, s. 1977/64.

⁽⁸⁾ EFT nr. L 357 af 19. 12. 1987, s. 1.

⁽¹⁾ EFT nr. C 5 af 9. 1. 1988, s. 5.

⁽²⁾ EFT nr. C 49 af 22. 2. 1988, s. 164.

⁽³⁾ EFT nr. C 80 af 28. 3. 1988, s. 34.

⁽⁴⁾ EFT nr. L 145 af 13. 6. 1977, s. 44.

⁽⁵⁾ EFT nr. L 15 af 19. 1. 1978, s. 34.

⁽⁶⁾ EFT nr. L 24 af 27. 1. 1987, s. 51.

1) I artikel 2 indsættes som litra s):

- »s) Kvægbesætning, fri for enzootisk kvægleukose; en besætning, hvor:
- tilfælde af enzootisk kvægleukose hverken er påvist, det være sig klinisk eller ved en prøve gennemført i henhold til bilag G, eller bekræftet inden for de seneste to år
 - samtligte dyr på over 24 måneder — i løbet af de seneste tolv måneder — har reageret negativt på to prøver, der er gennemført i henhold til bilag G med et interval på mindst fire måneder, eller, i tilfælde af en besætning, der allerede opfylder dette krav, én enkelt prøve gennemført i henhold til nævnte bilag
 - der efter datoen for den første kontrol ikke længere findes andre dyr end dem, der er født der, eller som stammer fra en besætning, der er fri for enzootisk kvægleukose.«

2) I artikel 3, stk. 2, indsættes som litra j):

- »j) når det drejer sig om meget værdifuldt raceret avlskvæg, som defineret i artikel 1 i direktiv 77/504/EØF, og som udelukkende skal anvendes til avlsbrug, stamme fra en besætning:
- hvor intet i de for embedsdyrlægen foreliggende oplysninger tyder på, at der i de seneste to år har været tilfælde af enzootisk kvægleukose
 - hvis ejer har erklæret, at han ikke har haft kendskab til sådanne tilfælde, og endvidere skriftligt har erklæret, at det eller de dyr, der er bestemt til handel inden for Fællesskabet, enten er født eller opdrættet i besætningen eller har udgjort en del af denne i de seneste tolv måneder.«

3) I artikel 3, stk. 3, indsættes som litra d):

- »d) stamme fra en besætning, hvor intet tyder på, at der i løbet af de sidste to år har været tilfælde af enzootisk kvægleukose, og hvis dyrene er mere end tolv måneder gamle, skal de have reageret negativt på en enkeltdyrsprøve gennemført i henhold til bilag G inden for 30 dage før indladningen.

En sådan prøve kræves dog ikke for tyre og kastrerede dyr, der er mindre end 30 måneder gamle og bestemt til kødproduktion, forudsat at disse dyr ved indladningen identificeres ved hjælp af et særligt mærke, og at medlemsstaten træffer forholdsregler for at undgå smitte af besætningerne på dens område.«

4) I artikel 7, stk. 1, indsættes som litra G:

- »G. Køer, der er mindre end 30 måneder gamle og bestemt til kødproduktion, og som uanset artikel 3, stk. 3, litra d), ikke har været underkastet enkeltdyrsprøve. Disse dyr skal forsynes med et særligt mærke. Bestemmelseslandet træffer enhver forholdsregel for at undgå smitte af besætningerne på dets område.«

5) I artikel 8, stk. 2, indsættes følgende afsnit:

- »For så vidt angår de i artikel 3, stk. 2, litra j), omhandlede dyr, og navnlig i forbindelse med leukose, kan medlemsstaterne under overholdelse af Traktatens almindelige bestemmelser desuden kræve, at alle dyr fra oprindelsesbesætningen, der på tidspunktet for prøven er over 24 måneder gamle, inden for de seneste tolv måneder har reageret negativt på en prøve, der er foretaget i henhold til bilag G. Der kan dog ikke kræves sådanne garantier ved indførsel af dyr fra en medlemsstat, om hvilken det efter fremgangsmåden i artikel 12 er fastslået, at den giver tilstrækkelig garanti for så vidt angår leukose.«

6) Følgende indsættes som artikel 8a:

»Artikel 8a

1. De medlemsstater, som siden 1980 har anvendt et obligatorisk nationalt program for forebyggelse af enzootisk kvægleukose, kan ved indførsel til deres område af brugs- og avlskvæg, beregnet til indlemmelse i kvægbesætninger, der ikke formodes at have leukose, kræve fremlæggelse af en attest, som på datoen for indladningen er udfærdiget af en kompetent embedsdyrlæge på i hvert fald bestemmelseslandets sprog til godtgørelse af, at:

- intet i de for dyrlægen foreliggende oplysninger tyder på, at der i de seneste tre år har været tilfælde af enzootisk kvægleukose i oprindelsesbesætningen, og at besætningens ejer skriftligt har erklæret, dels at han ikke har konstateret symptomer på leukose i besætningen, dels at det eller de dyr, der er bestemt til handel inden for Fællesskabet, er født og opdrættet i besætningen eller har været i besætningen de seneste tolv måneder
- alle dyr i oprindelsesbesætningen, der på datoen for en serologisk prøve er over 24 måneder gamle, i løbet af de seneste tolv måneder har reageret negativt på en sådan prøve, der er gennemført i henhold til bilag G.

2. Efter fremgangsmåden i artikel 12 kan andre end de i stk. 1 nævnte medlemsstater træffe afgørelse om, at

de samme krav skal gælde for hele deres område eller, for Det Forenede Kongeriges vedkommende, for Nordirland, hvis der her er iværksat en plan for udryddelse af enzootisk kvægleukose i medfør af beslutning 87/58/EØF, eller hvis det er bevist, at de på datoen for sagens forelæggelse for Den Stående Veterinærkomité i mindst to år har anvendt et minimumsprogram for udryddelse med mindst følgende krav:

- alle tumorer i dyrenes organer og lymfesystem skal meddeles og underkastes en histologisk undersøgelse på et veterinært laboratorium, der står under direkte tilsyn af et af de i bilag G nævnte laboratorier
- alle dyr fra besætninger, som har været i smittende kontakt med et dyr med en leukosetumor, underkastes en prøve for enzootisk kvægleukose, som udføres i henhold til bilag G på et laboratorium, der står under direkte tilsyn af et af de i bilag G nævnte laboratorier
- smittede dyr kan kun udskilles fra besætninger, hvor det er konstateret, at et dyr har en leukosetumor, eller hvor der er konstateret enzootisk kvægleukose, for at blive slagtet under tilsyn af en kompetent veterinærmyndighed. Der føres officielt tilsyn med besætningen, indtil samtlige dyr på mere end 24 måneder i denne besætning har reageret negativt på mindst to prøver foretaget med mindst fire måneders mellemrum i henhold til bilag G på et laboratorium, der står under direkte tilsyn af et af de i dette bilag nævnte laboratorier.

De supplerende betingelser, som kan kræves for denne udvidelse i enhver af de pågældende medlemsstater eller dele heraf, kan angives nærmere i den i første afsnit omhandlede afgørelse.»

7) I bilag E indsættes i slutningen af litra a) følgende led:

»— Enzootisk kvægleukose«.

8) I bilag F, formular I:

a) punkt V:

aa) indsættes efter litra d) følgende litra e):

- »e) — de har i de seneste tolv måneder⁽⁵⁾ eller, hvis de er mindre end tolv måneder gamle, siden fødslen været i en besætning, hvor der i de seneste tre år⁽⁵⁾, så vidt undertegnede ved og ifølge ejerens forsikringer, ikke har været påvist noget tilfælde af enzootisk kvægleukose⁽²⁾ ⁽¹²⁾

- de stammer fra en besætning, hvor intet tyder på, at der i løbet af de sidste tre år har været tilfælde af enzootisk kvægleukose⁽²⁾
- på undersøgelsesdatoen havde samtlige dyr på mere end 24 måneder i løbet af de seneste tolv måneder⁽⁵⁾ reageret negativt⁽²⁾ ⁽¹²⁾ på en prøve⁽¹³⁾
- de har inden for den foreskrevne frist på 30 dage⁽⁵⁾ reageret negativt⁽²⁾ ⁽⁵⁾ ⁽¹¹⁾ på en enkeltdyrsprøve⁽¹³⁾ for enzootisk kvægleukose
- de er bestemt til opfedning⁽²⁾ ⁽¹¹⁾«

bb) Bliver litra e) til i) henholdsvis litra f) til j)

b) indføjes efter fodnote⁽¹⁰⁾ følgende fodnoter:

- »⁽¹¹⁾ Denne undtagelse gælder kun tyre på mindre end 30 måneder bestemt til opfedning, når disse dyr er tydeligt mærket og underkastes en særlig kontrol i bestemmelseslandet.
- ⁽¹²⁾ Denne angivelse er kun nødvendig for værdifuldt racerent avlskvæg, som udelukkende skal anvendes til avlsbrug.
- ⁽¹³⁾ Denne enkeltdyrsprøve er blevet udført i henhold til bilag G i direktiv 64/432/EØF.«

9) Bilag G som anført i bilaget til dette direktiv tilføjes.

Artikel 2

Med virkning fra 1. juli 1990 foretages følgende ændringer i direktiv 64/432/EØF:

1) I artikel 3, stk. 2, udgår litra j).

2) I artikel 3, stk. 3, affattes litra d) således som anført nedenfor, og litra e) og f) indsættes:

- »d) stamme fra en besætning, der er fri for enzootisk kvægleukose i henhold til artikel 2, litra s)
- e) ud over betingelsen i litra d), hvis dyrene er mere end tolv måneder gamle, have reageret negativt på en enkeltdyrsprøve foretaget i henhold til bilag G inden for 30 dage før indladningen

f) ikke underkastes kravene i litra d) og e), hvis det drejer sig om dyr, der er mindre end 30 måneder gamle og bestemt til kødproduktion, hvis de:

- i) stammer fra en besætning, hvor der inden for de seneste to år ikke er anmeldt og bekræftet noget tilfælde af enzootisk kvægleukose
- ii) ved indladningen er blevet forsynet med et særligt mærke og indtil slagtingen forsat har været under tilsyn

for så vidt bestemmelsesmedlemsstaten træffer alle forholdsregler for at undgå smitte af besætningerne på dens område.»

3) I artikel 7, stk. 1, udgår afsnit G.

4) I artikel 8, stk. 2, udgår sidste afsnit.

5) Artikel 8a udgår.

6) I bilag F, formular I,

— affattes punkt V, litra e), således:

»e) — de har i de seneste tolv måneder ⁽⁵⁾ eller, hvis de er mindre end tolv måneder gamle ⁽⁵⁾, siden fødslen været i en besætning, der er fri for enzootisk kvægleukose ⁽²⁾ ⁽¹¹⁾

— de har inden for den foreskrevne frist på 30 dage ⁽⁵⁾ reageret negativt på en enkelt-dyrsprøve ⁽¹²⁾ for enzootisk kvægleukose ⁽²⁾ ⁽¹¹⁾

— de er bestemt til opfedning ⁽¹¹⁾«

— affattes fodnote ⁽¹¹⁾ således:

⁽¹¹⁾ Denne undtagelse gælder kun for dyr på mindre end 30 måneder bestemt til opfedning, når disse dyr:

- stammer fra en besætning, hvor der inden for de seneste to år ikke er anmeldt og bekræftet noget tilfælde af enzootisk kvægleukose
- er tydeligt mærket og underkastes en særlig kontrol i bestemmelseslandet.

— udgår fodnote ⁽¹²⁾

— bliver fodnote ⁽¹³⁾ herefter fodnote ⁽¹²⁾.

Artikel 3

1. For at deres bestande kan betegnes som værende fri for enzootisk kvægleukose iværksætter medlemsstaterne et program med det formål at underkaste bestandene en af de prøver, der er omhandlet i bilag G til direktiv 64/432/EØF.

2. Medlemsstaterne underretter mindst én gang om året Kommissionen om virkeliggørelsen af deres program og om de opnåede resultater ved dets gennemførelse.

Artikel 4

Rådet, der træffer afgørelse på forslag af Kommissionen, fastlægger inden den 1. januar 1990 de kriterier, der gør det muligt for en medlemsstat eller en del af en medlemsstats område at blive anerkendt som værende fri for enzootisk kvægleukose, og de forudsætninger, der skal være opfyldt for at garantere opretholdelsen af denne status, samt regler for handelen med områder eller medlemsstater, der er fri for enzootisk kvægleukose.

Artikel 5

Medlemsstatene sætter de nødvendige bestemmelser i kraft for at efterkomme kravene:

— i artikel 1 og 3 senest den 1. juli 1988

— i artikel 2 senest den 1. juli 1990.

De underretter straks Kommissionen herom.

Artikel 6

Direktiv 80/1102/EØF ⁽¹⁾ ophæves.

Artikel 7

Dette direktiv er rettet til medlemsstaterne.

Udfærdiget i Luxembourg, den 14. juni 1988.

På Rådets vegne

I. KIECHLE

Formand

⁽¹⁾ EFT nr. L 325 af 1. 12. 1980, s. 18.

BILAG

»BILAG G

PRØVER TIL PÅVISNING AF ENZOOTISK KVÆGLEUKOSE

Enzootisk kvægleukose påvises ved en immuno-diffusionsprøve som beskrevet i punkt A og B nedenfor, eller ved en prøve med brug af enzymmærket antistof (ELISA) som beskrevet i punkt C nedenfor. Immuno-diffusionsmetoden er forbeholdt enkeltdyrsprøver.

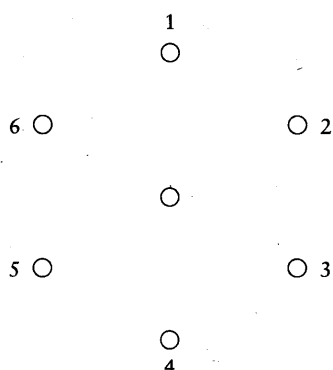
Gøres der behørigt begrundet indsigelse mod prøveresultaterne, benyttes en back-up test i form af en immuno-diffusionsprøve.

A. Agrar-gel-immunodiffusionsprøven for enzootisk kvægleukose

1. Til prøven anvendes et antigen, der indeholder glycoproteiner fra kvægleukosevirus. Antigenet standardiseres efter et standardserum (E.I. serum) fra Statens Veterinære Serumlaboratorium, København.
2. De nedenfor angivne officielle institutter er ansvarlige for, at standardantigenet til laboratoriebrug korrigeres efter det officielle EØF-standardserum (E.I. serum) fra Statens Veterinære Serumlaboratorium, København.
 - a) Tyskland: Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere, Tübingen
 - b) Belgien: Institut national de recherches vétérinaires, Bruxelles
 - c) Frankrig: Laboratoire national de pathologie bovine, Lyon
 - d) Storhertugdømmet Luxembourg: —
 - e) Italien: Istituto Zooprofilattico Sperimentale, Perugia
 - f) Nederlandene: Centraal Diergeneeskundig Instituut, Afdeling Rotterdam
 - g) Danmark: Statens Veterinære Serumlaboratorium, København
 - h) Irland: Veterinary Research Laboratory, Abbotstown, Dublin
 - i) Det Forenede Kongerige:
 1. Storbritannien: The Central Veterinary Laboratory, Weybridge, England
 2. Nordirland: The Veterinary Research Laboratory, Stormont, Belfast
 - j) Spanien: Laboratorio de Sanidad y Producción Animal de Barcelona
 - k) Portugal: Laboratório Nacional de Investigação Veterinária — Lisboa.
3. Standardantigener til laboratoriebrug sendes mindst en gang om året til de under nr. 2 angivne EØF-referencelaboratorier for at blive prøvet over for det officielle EØF-standardserum. Ud over denne standardisering kan det anvendte antigen korrigeres som angivet i punkt B.
4. Reagenserne til prøven omfatter:
 - a) antigen: antigenet skal indeholde specifikke glycoproteiner fra enzootisk kvægleukosevirus, som er standardiseret efter det officielle EØF-serum
 - b) det serum, der skal prøves
 - c) kendt positivt kontrolserum
 - d) agar-gel
 - 0,8 % agar
 - 8,5 % NaCl
 - 0,05 M TRIS-buffer, pH 7,2
 - 15 ml af denne agar hældes i en petriskål med en diameter på 85 mm, hvilket giver et 2,6 mm tykt agarlag.
5. I agaren udskæres syv fugtfri huller helt til skålens bund; hullerne skal danne et mønster med et hul i midten og de øvrige seks huller som en cirkel rundt om.

Midterhullets diameter: 4 mm
Periferihullernes diameter: 6 mm
Afstand mellem midterhul og periferihuller: 3 mm.

6. Midterhullet fyldes med standardantigenet. Periferihul 1 og 4 (se tegningen) fyldes med kendt positivt serum, og hul 2, 3, 5 og 6 fyldes med de sera, der skal prøves. Hullerne fyldes, indtil menisken forsvinder.



7. Dette giver følgende reagensmængder:

Antigen: 32 mikroliter

Kontrolserum: 73 mikroliter

Sera, der skal prøves: 73 mikroliter

8. Herefter henstår det 72 timer ved stuetemperatur (20 til 27 °C) i et lukket fugtighedskammer.
9. Prøven kan aflæses efter 24 og 48 timer, men aflæsning af det endelige resultat må først ske efter 72 timer.
- a) Det serum, der skal prøves, er positivt, hvis det danner en specifik præcipitinlinje med BLV-antigenet og en helt identisk linje med kontrolserumet
- b) Det serum, der skal prøves, er negativt, hvis det ikke danner en specifik linje med BLV-antigenet, og hvis det ikke afbøjer kontrolserumets linje
- c) Reaktionen anses for usikker, hvis den:
- (i) afbøjer kontrolserumets linje mod hullet med BLV-antigen uden at danne en synlig præcipitinlinje med antigenet, eller
- (ii) hvis den hverken kan aflæses som positiv eller negativ.
- I tilfælde af usikker reaktion kan prøven gentages med koncentreret serum.

B. Metode til standardisering af antigener

Oplosninger og materialer:

- 40 ml 1,6% agarose i 0,05 M Tris/MCl buffer, pH 7,2 med 8,5% NaCl
- 15 ml kvægleukosenserum, der kun indeholder antistoffer til glycoproteiner af kvægleukosevirus; fortynding: 1:10 i 0,05 M Tris/HCl buffer, pH 7,2 med 8,5% NaCl
- 15 ml kvægleukosenserum, der kun indeholder antistoffer til glycoproteiner af kvægleukosevirus; fortynding: 1:5 i 0,05 M Tris/HCl buffer, pH 7,2 med 8,5% NaCl
- 4 petriskåle af plast med en diameter på 85 mm
- 1 dorn med en diameter på 4 til 6 mm
- referenceantigen
- det antigen, der skal standardiseres
- vandbad (56 °C)

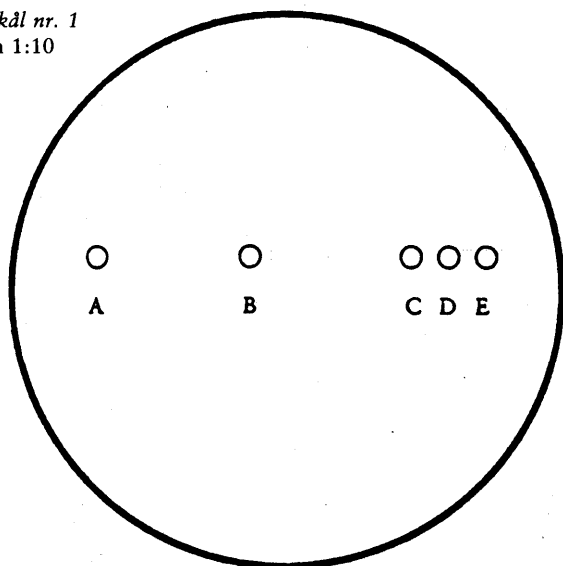
Fremgangsmåde:

Agarosan (1,6%) opløses i Tris/HCl buffer ved forsigtig opvarmning til 100 °C. Den henses derefter i vandbad på 56 °C i ca. 1 time. Også kvægleukosenserumfortyndingerne henses i vandbad på 56 °C.

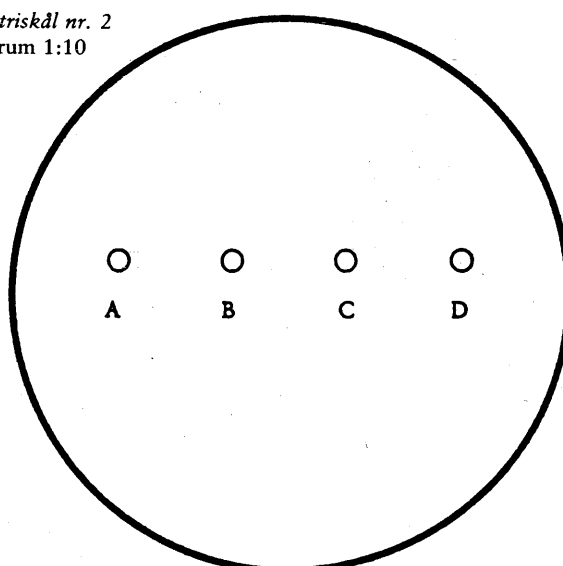
Nu blandes 15 ml af den 56 ° varme agaroseopløsning med den 15 ml kvægleukosenserum (1:10) og omrystes hurtigt; derefter hældes det i 2 petriskåle, 15 ml i hver. Det samme gøres med kvægleukosenserumet i fortyndingen 1:5.

Når agarosen er størknet, laves der huller på følgende måde:

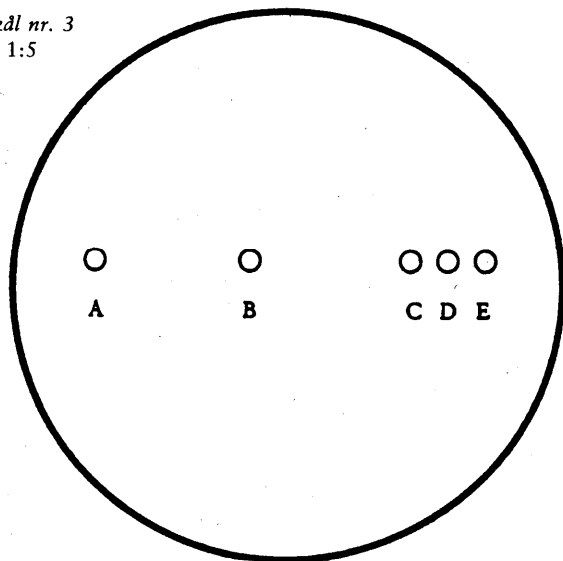
Petriskål nr. 1
Serum 1:10



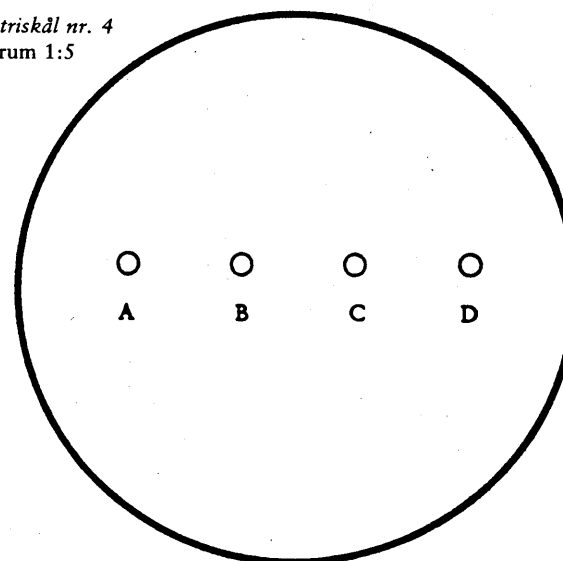
Petriskål nr. 2
Serum 1:10



Petriskål nr. 3
Serum 1:5



Petriskål nr. 4
Serum 1:5



Tilsætning af antigen:

I. Petriskål 1 og 3

- hul A — ufortyndet referenceantigen
- hul B — referenceantigen, fortynding 1:2
- hul C og E — referenceantigen
- hul D — ufortyndet antigen, der skal prøves

II. Petriskål 2 og 4

- hul A — ufortyndet antigen, der skal prøves
- hul B — antigen, der skal prøves, fortynding 1:2
- hul C — antigen, der skal prøves, fortynding 1:4
- hul D — antigen, der skal prøves, fortynding 1:8

Bemærkninger

1. For at få optimal udfældning bør forsøget foretages med to serumfortyndinger (1:5 og 1:10).
2. Hvis udfældningsdiameteren er for lille med begge fortyndinger, fortyndes serumet yderligere.
3. Hvis udfældningsdiameteren med begge fortyndinger er for stor og udviskes, vælges en mindre fortyndet serum.
4. Agarosens endelige koncentration skal være 0,8%; serumkoncentrationernes henholdsvis 5% og 10%.
5. De målte diametre indsættes i følgende koordinatsystem. Den fortynding af det antigen, der skal prøves, som har samme diameter som referenceantigenet, er den fortynding, der skal anvendes.

Diameter

mm

13
12
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1

1:1

1:2

1:3

1:4

1:5

1:6

1:7

1:8

Antigenets fortynding

C. Prøve med brug af enzymmærket antistof (ELISA) til påvisning af enzootisk kvægleukose**1. Til ELISA-prøven anvendes følgende materialer og reagenser:**

- a) mikropalader, skåle eller enhver anden form for fast fase
- b) antigenet bindes til den faste fase med eller uden brug af polyklonale eller monoklonale antistoffer. Hvis antigenet påføres den faste fase direkte, må alle testprøver med positiv reaktion gentestes med kontrolantigenet. Kontrolantigenet bør være identisk med antigenet, undtagen når det gælder BLV-antigener. Hvis den faste fase påføres capture-antistoffer, må antistofferne ikke reagere med andre antigener end BLV-antigener
- c) den biologiske prøve (serum eller mælk)
- d) en positiv og en negativ kontrol
- e) konjugat — et biotinyleret eller enzymkonjugeret antibovint immunglobulin eller et biotinyleret eller enzymkonjugeret anti-BLV immunglobulin
- f) avidin — enzym til målinger ved brug af biotinylerede immunglobulin-præparater
- g) et substrat, der svarer til det anvendte enzym
- h) en stopopløsning
- i) bufferopløsninger til fortynding af prøverne, til fremstilling af reagenserne og til vask
- j) et aflæsningssystem med filtre svarende til det anvendte substrat.

2. Teststandardisering og -følsomhed

ELISA-prøven må være så følsom, at E4-serum reagerer positivt, når det fortyndes ti gange (serumprøver) eller 250 gange (mælkeprøver) mere end den opløsning, der fås ved pooling af prøver.

Hvor prøver (serum og mælk) testes separat, må E4-serum, der fortyndes i forholdet 1:10 (i negativt serum) eller 1:250 (i negativ mælk), reagere positivt, når det testes i samme prøveopløsning som den, der anvendes til enkeltprøver.

E4-serummet leveres af Statens Veterinære Serumlaboratorium i København.

3. Betingelser for anvendelse af ELISA-prøven

ELISA-metoden kan anvendes ved hjælp af en prøve, der udtages af en pooling af mælk fra en bedrift, hvor der findes mindst en tredjedel malkekøer, på betingelse af at prøven omfatter mælk produceret af mindst 50 køer samt en koncentrering af valle i tilfælde af pooling fra mellem 20 og højst 50 køer, og at antallet af prøver, når pooling foretages af mælk stammende fra mere end 50 køer, forhøjes tilsvarende.

ELISA-metoden kan ligeledes anvendes ved en pooling af blodprøver fra højst 50 dyr.

Anvendes en af ovennævnte muligheder, skal der træffes foranstaltninger til sikring af, at de udtagne prøver kan henføres til de dyr, fra hvilke den testede mælk eller de testede sera stammer.

Hvis én af prøverne giver positiv reaktion, skal besætningen forblive under officielt tilsyn indtil en negativ reaktion har kunnet konstateres ved mindst to enkeltprøver foretaget med mindst fire måneders mellemrum på alle dyr, der er over seks måneder gamle, i henhold til de ovenfor anførte bestemmelser i et laboratorium, der står under direkte tilsyn af et af de i punkt A nævnte laboratorier.