

32008D0984

L 352/38

SLUŽBENI LIST EUROPSKE UNIJE

31.12.2008.

ODLUKA KOMISIJE**od 10. prosinca 2008.****o izmjeni Priloga C Direktivi Vijeća 64/432/EEZ i Odluke 2004/226/EZ u pogledu dijagnostičkih testova za brucelozu goveda***(priopćena pod brojem dokumenta C(2008) 7642)***(Tekst značajan za EGP)****(2008/984/EZ)**

KOMISIJA EUROPSKIH ZAJEDNICA,

uzimajući u obzir Ugovor o osnivanju Europske zajednice,

uzimajući u obzir Direktivu Vijeća 64/432/EEZ od 26. lipnja 1964. o zdravstvenim problemima životinja koji utječu na trgovinu govedima i svinjama unutar Zajednice ⁽¹⁾, a posebno njezin članak 6. stavak 2. točku (b) i drugi podstavak članka 16.,

budući da:

(1) Prilogom C Direktivi 64/432/EEZ određuju se dijagnostičke metode za brucelozu goveda koje se koriste za kontrolu i iskorjenjivanje te bolesti i za praćenje i nadzor, kao i za uspostavu i održavanje statusa stada službeno slobodnog od bruceloze i za potrebe veterinarskog certificiranja zahtijevanog u trgovini govedima unutar Zajednice.

(2) Odlukom Komisije 2004/226/EZ od 4. ožujka 2004. o odobravanju testova za otkrivanje protutijela za brucelozu goveda u okviru Direktive Vijeća 64/432/EEZ ⁽²⁾ odobravaju se neki testovi za brucelozu goveda koji se mogu koristiti kao alternativa obaveznom testu serumске aglutinacije (SAT) za certificiranje goveda u skladu s člankom 6. stavkom 2. točkom (b) Direktive 64/432/EEZ.

(3) Test fluorescentne polarizacije (FPA) je novi dijagnostički test koji je uključen kao propisani test za međunarodnu trgovinu u poglavlje 2.4.3 (brucelozu goveda) Priručnika za dijagnostičke testove i cjepiva za kopnene životinje, šesto izdanje, 2008. Svjetske organizacije za zdravlje životinja (OIE).

(4) Komisija je zatražila od Europske agencije za sigurnost hrane dostavljanje znanstvenog mišljenja o prikladnosti FPA-e za uvrštenje u Prilog C Direktivi 64/432/EEZ.

(5) Osim toga, Komisija je zatražila od EFSA-e da procijeni prikladnost FPA-e i testova navedenih u članku 1. Odluke 2004/226/EZ za potrebe certificiranja goveda u trgovini unutar Zajednice.

(6) Dana 11. prosinca 2006. Odbor za zdravlje i dobrobit životinja usvojio je znanstveno mišljenje o dijagnostičkim metodama za brucelozu goveda ⁽³⁾ u kojem zaključuje da su, osim SAT-a, dijagnostički testovi za brucelozu goveda uvršteni u Prilog C Direktivi 64/432/EEZ prikladni i dalje kao standardni testovi za potrebe certificiranja pojedinačnih goveda za trgovinu unutar Zajednice.

(7) Međutim, s obzirom na to da je SAT test koji se primjenjuje prije napuštanja gospodarstva podrijetla za trgovinu govedima i koji je izričito propisan člankom 6. stavkom 2. točkom (b) Direktive 64/432/EEZ, mora postojati tehnička specifikacija u Prilogu C toj Direktivi.

(8) Pored toga, u znanstvenom se mišljenju od 11. prosinca 2006. zaključuje da se osjetljivost i specifičnost FPA testa može usporediti s testovima uvrštenim u Prilog C Direktivi 64/432/EEZ i također je ustanovljeno da je prikladan za uvrštenje u taj Prilog kao standardni test za dijagnozu bruceloze kod životinja namijenjenih trgovini unutar Zajednice.

(9) Nedavno razvijena metoda lančane reakcije polimeraze kako je opisana u odsjeku 1(d) poglavlja 2.4.3 Priručnika za dijagnostičke testove i cjepiva za kopnene životinje, šesto izdanje, 2008. OIE omogućuje dodatne načine otkrivanja i identifikacije *Brucella* spp. i stoga bi je trebalo uvrstiti u Prilog C Direktivi 64/432/EEZ.

(10) Prilog C Direktivi 64/432/EEZ i Odluku 2004/226/EZ trebalo bi stoga na odgovarajući način izmijeniti.

(11) Mjere predviđene u ovoj Odluci u skladu su s mišljenjem Stalnog odbora za prehrambeni lanac i zdravlje životinja,

⁽¹⁾ SL 121, 29.7.1964., str. 1977/64.

⁽²⁾ SL L 68, 6.3.2004., str. 36.

⁽³⁾ http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_117862072731.htm

DONIJELA JE OVU ODLUKU:

Članak 1.

Prilog C Direktivi 64/432/EEZ zamjenjuje se tekstem iz Priloga ovoj Odluci.

Članak 2.

Članak 1. Odluke 2004/226/EZ zamjenjuje se sljedećim:

„Članak 1.

Test reakcije vezanja komplemenata, puferirani bruceloza antigen test (rose Bengal test (RBT)), ELISA testovi i test

fluorescentne polarizacije (FPA) provedeni u skladu s Prilogom C Direktivi 64/432/EEZ ovime se odobravaju u svrhu certificiranja.”

Članak 3.

Ova je Odluka upućena državama članicama.

Sastavljeno u Bruxellesu 10. prosinca 2008.

Za Komisiju

Androulla VASSILIOU

Članica Komisije

PRILOG

1. U Prilogu C Direktivi 64/432/EEZ točke 1., 2. i 3. zamjenjuju se sljedećim:

„PRILOG C

BRUCELOZA

1. DOKAZIVANJE UZROČNIKA

Dokazivanje modificiranim bojanjem acidorezistentnih bakterija ili imunospecifičnim bojanjem organizama koji imaju morfologiju uzročnika bruceloze (*Brucella*) u abortivnom materijalu, vaginalnom iscjedku ili mlijeku vrlo je vjerojatan dokaz bruceloze, posebno ako je potvrđen serološkim testovima. Metode lančane reakcija polimeraze (PCR) omogućavaju dodatne načine za otkrivanje.

Kad god je moguće *Brucella* spp. potrebno je izolirati koristeći uobičajene ili selektivne medije preko kulture iz vaginalnih iscjedaka, pobačenih fetusa, iscjedaka iz vimena ili odabranih tkiva kao što su limfni čvorovi te muški i ženski reproduktivni organi.

Nakon izolacije, vrste i biovar treba identificirati lizom bakteriofaga i/ili testovima metabolizma oksidacije, prema kriterijima kulture i biokemijskim i serološkim kriterijima. PCR može pomoću posebnih genomskih frekvenci služiti kao dopunska metoda i kao metoda biotipizacije.

Tehnike i mediji koji se koriste, njihova normizacija i interpretacija rezultata moraju biti u skladu s onima navedenim u Priručniku za dijagnostičke testove i cjepiva za kopnene životinje OIE-a, šesto izdanje, 2008., poglavlje 2.4.3 (bruceloza goveda), poglavlje 2.7.2 (bruceloza koza i ovaca) i poglavlje 2.8.5 (bruceloza svinja).

2. IMUNOLOŠKI TESTOVI

2.1. Norme

2.1.1. Uzročnik *Brucella abortus* biovar 1 Weybridge soj 99 ili USDA soj 1119-3 mora se koristiti za pripremu svih antigena koji se koriste u rose Bengal testu (RBT), serum aglutinacijskim testovima (SAT), testu reakcije vezanja komplementa (RVK) i mliječno prstenastoj probi (MPP).

2.1.2. Normiran referencijalni serum za testove RBT, SAT, RVK i MPP je OIE internacionalni normiran serum (OIEISS) pod prijašnjim nazivom WHO drugi internacionalni *anti-Brucella abortus* Serum (ISAbs).

2.1.3. Normirani referencijalni serumi za ELISA testove su:

— OIEISS,

— slabo pozitivan OIE ELISA normiran serum (OIEELISA_{WPSS}),

— jako pozitivan OIE ELISA normiran serum (OIEELISA_{SPSS}),

— negativan OIE ELISA normiran serum (OIEELISA_{NSS}).

2.1.4. Normirani referencijalni serumi za testove fluorescentne polarizacije (FPA) su:

— slabo pozitivan OIE ELISA normiran serum (OIEELISA_{WPSS}),

— jako pozitivan OIE ELISA normiran serum (OIEELISA_{SPSS}),

— negativan OIE ELISA normiran serum (OIEELISA_{NSS}).

2.1.5. Navedeni normirani serumi navedeni u 2.1.3 i 2.1.4 mogu se nabaviti u Referentnom laboratoriju Zajednice za brucelozu ili u Agenciji za veterinarske laboratorije (VLA), Weybridge, Ujedinjena Kraljevina.

- 2.1.6. OIEISS, OIEELISA_{WP}SS, OIEELISA_{SP}SS i OIEELISA_NSS su internacionalne primarne norme prema kojima se moraju utvrditi referencijalne nacionalne norme (radne norme) za svaki test naveden u točki 2.1.1 u svakoj državi članici.
- 2.2. **Imunoenzimski test 'Enzyme-Linked Immunosorbent Assays' (ELISA) ili drugi obvezujući testovi za otkrivanje bruceloze goveda u serumu ili mlijeku**
- 2.2.1. *Materijal i reagensi*
- Korištena tehnika i interpretacija rezultata mora se potvrditi u skladu s načelima iz poglavlja 1.1.4 Priručnika za dijagnostičke testove i cjepiva za koprnene životinje OIE-a, šesto izdanje, 2008., i mora uključivati barem laboratorijska i dijagnostička ispitivanja.
- 2.2.2. *Normizacija testa*
- 2.2.2.1. Postupak normizacije testa za pojedinačne uzorke seruma:
- (a) a 1/150 predilucija ⁽¹⁾ OIEISS ili 1/2 predilucija OIEELISA_{WP}SS ili 1/16 predilucija OIEELISA_{SP}SS u negativnom serumu (ili u negativnom skupnom uzorku seruma) treba imati pozitivnu reakciju;
 - (b) 1/600 predilucija OIEISS ili 1/8 predilucija OIEELISA_{WP}SS ili 1/64 predilucija OIEELISA_{SP}SS u negativnom serumu (ili u negativnom skupnom uzorku seruma) treba imati negativnu reakciju;
 - (c) OIEELISA_NSS treba uvijek imati negativnu reakciju.
- 2.2.2.2. Normizacija postupka testa za skupne uzorke seruma:
- (a) 1/150 predilucija OIEISS ili 1/2 predilucija OIEELISA_{WP}SS ili 1/16 predilucija OIEELISA_{SP}SS u negativnom serumu (ili negativnom skupnom uzorku 'pool' seruma) i opet razrijeđeno u negativnim serumima određenim brojem uzoraka koji tvore skupni uzorak treba dati pozitivnu reakciju;
 - (b) OIEELISA_NSS treba uvijek dati negativnu reakciju;
 - (c) test mora biti odgovarajući za otkrivanje dokaza infekcije u pojedinačnoj životinji iz skupine životinja čiji su uzorci seruma skupni.
- 2.2.2.3. Postupak normizacije testa za skupne uzorke mlijeka ili sirutke:
- (a) 1/1 000 predilucija OIEISS ili 1/16 predilucija OIEELISA_{WP}SS ili 1/125 predilucija OIEELISA_{SP}SS u negativnom serumu (ili u negativnom skupnom uzorku seruma) i opet razrijeđeno 1/10 u negativnom mlijeku trebao bi dati pozitivnu reakciju;
 - (b) OIEELISA_NSS razrijeđeno 1/10 u negativnom mlijeku treba uvijek dati negativnu reakciju;
 - (c) test mora biti odgovarajući za otkrivanje dokaza infekcije u pojedinačnoj životinji iz skupine životinja čiji su uzorci mlijeka ili sirutke skupni.
- 2.2.3. *Uvjeti za korištenje ELISA testa za dijagnozu bruceloze goveda:*
- 2.2.3.1. Koristeći spomenute uvjete kalibracije za ELISA test iz točaka 2.2.2.1 i 2.2.2.2 na uzorcima seruma, dijagnostička osjetljivost ELISA testa jednaka je ili veća od testova RBT ili RVK uzimajući u obzir epidemiološku situaciju u sklopu koje se koristi.
- 2.2.3.2. Koristeći navedene uvjete kalibracije za ELISA test iz točke 2.2.2.3 na skupnim uzorcima mlijeka, dijagnostička osjetljivost ELISA testa jednaka je ili veća od MPP testa uzimajući u obzir epidemiološku situaciju, ali također i prosječne i očekivane ekstremne sustave uzgoja.
- 2.2.3.3. Kad se ELISA test koristi za potrebe certificiranja u skladu s člankom 6. stavkom 1. ili za uspostavljanje i održavanje statusa stada u skladu s Prilogom A poglavljem II. točkom 10., udruživanje uzoraka seruma mora se provesti na takav način da se rezultati testa mogu nesumnjivo povezati s pojedinom životinjom uključenom u skupne uzorke. Svaki test u svrhu potvrđivanja mora se provesti na uzorcima seruma uzetim od pojedinačnih životinja

⁽¹⁾ Za potrebe ovog Priloga, razrjeđenja za pripremljanje tekućih reagensa izražavaju se kao, na primjer, 1/150 znači razrjeđenje 1 u 150.

2.2.3.4. ELISA testovi mogu se koristiti na uzorku mlijeka uzetog od mlijeka prikupljenog na farmi s najmanje 30 % mliječnih krava u laktaciji. Ako se koristi ta metoda, moraju se poduzeti mjere kako bi se osiguralo da se uzorci uzeti za ispitivanje mogu nesumnjivo povezati s pojedinim životinjama od kojih je uzeto mlijeko. Svaki test za potvrđivanje mora se provesti na uzorcima seruma uzetim od pojedinačnih životinja.

2.3. Test metodom reakcije vezanja komplementa (RVK)

2.3.1. Antigen predstavlja bakterijsku suspenziju u otopini fenola i fiziološke otopine (NaCl 0,85 % (m/v) i fenola 0,5 % (v/v)) ili u veronal puferu. Antigeni se mogu isporučiti u koncentriranom stanju s tim da je faktor razrjeđenja koji treba koristiti naznačen na naljepnici na bočici. Antigen se skladišti na 4 °C i ne smrzava.

2.3.2. Serumi se moraju inaktivirati kako slijedi:

— goveđi serum: 56 ° do 60 °C tijekom 30 do 50 minuta,

— svinjski serum: 60 °C tijekom 30 do 50 minuta.

2.3.3. Da bi se tijekom testa ostvarila prava reakcija, treba koristiti komplementarnu dozu višu od minimalne potrebne za potpunu hemolizu.

2.3.4. U provođenju testa metodom reakcije vezanja komplementa svaki se put moraju provesti sljedeće kontrole:

(a) kontrola antikomplementarnog učinka seruma;

(b) kontrola antigena;

(c) kontrola senzibiliziranih eritrocita;

(d) kontrola komplementa;

(e) kontrola osjetljivosti na početku reakcije korištenjem pozitivnog seruma;

(f) kontrola specifičnosti reakcije korištenjem negativnog seruma.

2.3.5. Izračun rezultata

OIEISS sadrži 1 000 internacionalnih jedinica RVK (ICFTU) po ml. Ako se OIEISS testira određenom metodom, rezultat je poznat kao titar (tj. najveća direktna dilucija OIEISS koja daje 50 % hemolize, T_{OIEISS}). Rezultat testa za test serum dan kao titar ($T_{\text{TESTSERUM}}$) mora se izraziti u ICFTU po ml. Da bi se izraz titra pretvorio u ICFTU, faktor (F) potreban za konverziju titra nepoznatog seruma testa ($T_{\text{TESTSERUM}}$) testiranog tom metodom u izraz ICFTU dobiva se iz formule:

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

a sadržaj internacionalnih jedinica RVK po ml seruma testa ($\text{ICFTU}_{\text{TESTSERUM}}$) iz formule:

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

2.3.6. Interpretacija rezultata

Serum koji sadrži 20 ili više ICFTU po ml smatra se pozitivnim.

2.4. Mliječno prstenasta proba (MPP)

2.4.1. Antigen predstavlja bakterijsku suspenziju u otopini fenola i fiziološke otopine (NaCl 0,85 % (m/v) i fenola 0,5 % (v/v)) obojenog hematoksilinom. Antigen se skladišti na 4 °C i ne smrzava.

2.4.2. Osjetljivost antigena mora se normirati s obzirom na OIEISS tako da antigen proizvede pozitivnu reakciju s 1/500 otopinom OIEISS u negativnom mlijeku, dok bi 1/1 000 razrjeđenje trebalo biti negativno.

- 2.4.3. Prstenasti se test mora raditi na uzorcima koji predstavljaju sadržaj svake kante za mlijeko ili sadržaj svakog spremnika za mlijeko na farmi.
- 2.4.4. Uzorci mlijeka ne smiju biti smrznuti, grijani ili izloženi snažnoj trešnji.
- 2.4.5. Reakcija se provodi korištenjem ovih metoda:
- na stupcu mlijeka od najmanje 25 mm visine i količine 1 ml kojem je dodana količina od 0,03 ml ili 0,05 ml jednog normiranog obojenog antigena,
 - na stupu mlijeka od najmanje 25 mm visine i količine 2 ml kojem je dodana količina od 0,05 ml jednog normiranog obojenog antigena,
 - na količinu mlijeka od 8 ml kojoj je dodano 0,08 ml normiranog obojenog antigena.
- 2.4.6. Mješavina mlijeka i antigena mora se inkubirati na 37 °C tijekom 60 minuta, zajedno s pozitivnim i negativnim radnim normama (standardiziranim uzorcima). Sljedeća inkubacija od 16 do 24 sata na 4 °C povećava osjetljivost testa.
- 2.4.7. Interpretacija rezultata:
- (a) negativna reakcija: obojeno mlijeko, bezbojno vrhnje;
 - (b) pozitivna reakcija:
 - jednako obojeno i mlijeko i vrhnje, ili
 - bezbojno mlijeko i obojeno vrhnje.
- 2.5. **Puferirani bruceloza antigen testovi (Rose bengal Test (RBT))**
- 2.5.1. Antigen predstavlja bakterijsku suspenziju puferiranu razrjeđivačem antigena *Brucella* na pH od $3,65 \pm 0,05$, obojen rose bengal bojom. Antigen se isporučuje gotov za uporabu i mora se skladištiti na 4 °C i ne smije se smrzavati.
- 2.5.2. Antigen se priprema ne uzimajući u obzir koncentraciju stanica, međutim osjetljivost mu se normira u odnosu na OIEISS tako da antigen proizvede pozitivnu reakciju s razrjeđenjem seruma od 1/45 i negativnu reakciju s razrjeđenjem od 1/55.
- 2.5.3. RBT se provodi na sljedeći način:
- (a) serum (20-30 μ l) miješa se s jednakom količinom antigena na bijeloj ploči ili emajliranoj pločici za stvaranje zone od otprilike 2 cm promjera. Mješavina se 4 minute lagano trese na okolnoj temperaturi, a tad promatra na jakom svjetlu zbog aglutinacije;
 - (b) može se koristiti automatizirana metoda, ali koja mora biti najmanje isto tako točna kao i manualna metoda.
- 2.5.4. *Interpretacija rezultata*
- Svaka se vidljiva reakcija smatra pozitivnom, osim ako nije došlo do prevelikog isušivanja oko rubova.
- Pozitivne i negativne radne norme treba uključiti u svaku seriju testova.
- 2.6. **Serumska aglutinacija (SAT)**
- 2.6.1. Antigen je bakterijska suspenzija u otopini fenola i fiziološke otopine (NaCl 0,85 % (m/v) i fenola od 0,5 % (v/v)).
- Formaldehid se ne smije koristiti.
- Antigeni se mogu isporučiti u koncentriranom stanju, s tim da faktor razrjeđenja mora biti naznačen na naljepnici na bočici.
- EDTA se može dodati suspenziji antigena u konačnoj 5 mm otopini testa da bi se smanjila razina lažno pozitivnih rezultata serumske aglutinacije. Nakon toga se pH od 7,2 mora ponovno umjeravati u suspenziji antigena.

- 2.6.2. OIEISS sadrži 1 000 internacionalnih jedinica aglutinacije.
- 2.6.3. Antigen se priprema ne uzimajući u obzir koncentraciju stanica, međutim osjetljivost mu se normira u odnosu na OIEISS tako da antigen stvara 50 % aglutinacije s konačnim razrjeđenjem seruma od 1/600 do 1/1 000 ili 75 % aglutinacije s konačnim razrjeđenjem seruma od 1/500 do 1/750.

Preporuča se također usporedba reaktivnosti novih i prethodno normiranih serija antigena korištenjem skupine definiranih seruma.

- 2.6.4. Test se obavlja ili u cjevčicama ili mikropločicama. Mješavinu antigena i razrjeđenja seruma treba inkubirati od 16 do 24 sata na temperaturi od 37 °C.

Za svaki serum moraju se pripremiti najmanje tri razrjeđenja. Razrjeđenja sumnjivog seruma moraju se pripremiti tako da se očitavanje granice pozitivne reakcije obavlja na medijanu cijevi (ili bunarčiću za metodu mikropločicom).

- 2.6.5. *Interpretacija rezultata:*

Stupanj aglutinacije *Brucella* u serumu izražava se IU po ml.

Serum koji sadrži 30 ili više IU po ml smatra se pozitivnim.

- 2.7. **Test fluorescentne polarizacije (FPA)**

- 2.7.1. FPA se može obavljati u staklenim epruvetama ili na mikropločicama s 96 bunarčića. Korištena tehnika, normizacija i interpretacija rezultata mora biti u skladu s onima iz poglavlja 2.4.3 (bruceloza goveda) Priručnika za dijagnostičke testove i cjevica za kopnene životinje OIE-a, šesto izdanje, 2008.

- 2.7.2. *Normizacija:*

FPA će se normirati tako da:

- (a) OIEELISA_{SpSS} i OIEELISA_{WpSS} stalno daju pozitivne rezultate;
- (b) 1/8 predilucija OIEELISA_{WpSS} ili 1/64 predilucija OIEELISA_{SpSS} u negativnom serumu (ili u negativnom skupnom uzorku seruma) uvijek daje negativnu reakciju;
- (c) OIEELISA_{NSS} stalno daje negativnu reakciju.

Sljedeće će se uključiti u svaku seriju testova: jako pozitivan, slabo pozitivan, negativni radni normirani serum (kalibrirani naspram OIE ELISA normiranih seruma).

3. Komplementarni testovi

- 3.1. **Kožni test za brucelozu (BKT)**

- 3.1.1. *Uvjeti za korištenje BKT-a*

- (a) Kožni test za brucelozu ne koristi se za certificiranje za trgovinu unutar Zajednice.
- (b) Kožni test za brucelozu jedan je od najspecifičnijih testova za otkrivanje bruceloze kod necijepljenih životinja, međutim dijagnoza se ne smije postaviti samo na temelju pozitivne intradermalne reakcije.
- (c) Goveda s negativnim rezultatom na jednom od seroloških testova definiranih u ovom Prilogu koji imaju pozitivnu reakciju na BST testu smatrat će se zaraženima ili se sumnja da su zaražena.
- (d) Goveda s pozitivnim rezultatom na jednom od seroloških testova definiranih u ovom Prilogu mogu se podvrgnuti BST testu da bi se potvrdila interpretacija rezultata serološkog testa, posebno kad se u stadu službeno slobodnom od bruceloze ne može isključiti unakrižna reakcija s antitijelima na druge bakterije.

- 3.1.2. Test se provodi korištenjem normiranoga i definiranoga pripravka alergena bruceloze koji ne sadrži glatki lipopolisaharidni (LPS) antigen, jer bi to moglo izazvati nespecifičnu upalnu reakciju ili interferirati s naknadnim serološkim testovima.

Zahtjevi za njegovu proizvodnju brucelina detaljno su opisani u odsjeku C1 poglavlja 2.4.3 Priručnika za dijagnostičke testove i cjepiva OIE-a, šesto izdanje, 2008.

3.1.3. *Postupak testa*

- 3.1.3.1. Količina od 0,1 ml alergena bruceloze ubrizga se intradermalno u kožu na repu, kožu slabina ili postrance na vratu.

- 3.1.3.2. Test se očitava nakon razdoblja od 48 do 72 sata.

- 3.1.3.3. Debljina kože na mjestu ubrizgavanja mjeri se pomičnim mjerilom prije ubrizgavanja i na ponovnom ispitivanju.

- 3.1.3.4. Interpretacija rezultata:

Jaka se reakcija lako prepoznaje po lokalnoj oteklini i induraciji.

Debljina kože od 1 do 2 mm smatra se pozitivnom reakcijom na BST.

3.2. **Kompetitivni imunoenzimski test 'Competitive enzyme-linked immunosorbent assay' (cELISA)**

- 3.2.1. *Uvjeti za korištenje testa cELISA*

Proba cELISA ne smije se koristiti za svrhe certificiranja za trgovinu unutar EU.

Goveda koja su imala pozitivan rezultat u jednom od drugih seroloških testova iz ovog Priloga može se podvrgnuti cELISA testu za potporu interpretacije rezultata drugih seroloških testova; posebno kada se u stadima koja su slobodna ili službeno slobodna od bruceloze ne može isključiti unakrižna reakcija s antitijelima na druge bakterije ili spriječiti reakcije zbog rezidualnih antitijela nastalih zbog cijepljenja s S19.

- 3.2.2. *Postupak provedbe testa*

Test se provodi u skladu s propisom iz odsjeka B poglavlja 2.4.3 Priručnika za dijagnostičke testove i cjepiva za kopnene životinje OIE-a, šesto izdanje, 2008."

2. U Prilogu C Direktivi 64/432/EEZ točka 4.1 zamjenjuje se sljedećim:

„4.1. **Zadaće i odgovornosti**

Nacionalni referentni laboratoriji određeni u skladu s člankom 6.a odgovorni su za:

- (a) odobravanje rezultata ispitivanja validacije koji pokazuju pouzdanost metode korištenog testa;
 - (b) utvrđivanje maksimalnog broja uzoraka koji se skupljaju u korištenim ELISA kitovima;
 - (c) kalibraciju radnih normi iz stavka 2.1.6;
 - (d) provjere kvalitete svih antigena i serija ELISA kitova koji se koriste u državama članicama;
 - (e) slijeđenje preporuka i suradnju s nacionalnim referentnim laboratorijima Zajednice za brucelozu.”
-