

388L0406

22.7.88

EUROPEISKA GEMENSKAPERNAS OFFICIELLA TIDNING

Nr L 194/1

## RÅDETS DIREKTIV

av den 14 juni 1988

om ändring av direktiv 64/432/EEG i fråga om enzootisk bovin leukos och om upphävande av direktiv 80/1102/EEG

(88/406/EEG)

EUROPEISKA GEMENSKAPERNAS RÅD HAR  
ANTAGIT DETTA DIREKTIV

med beaktande av Fördraget om upprättandet av Europeiska ekonomiska gemenskapen, särskilt artikel 43 i detta,

med beaktande av kommissionens förslag<sup>(1)</sup>,med beaktande av Europaparlamentets yttrande<sup>(2)</sup>,med beaktande av Ekonomiska och sociala kommitténs yttrande<sup>(3)</sup>, och

med beaktande av följande:

En av gemenskapens uppgifter på veterinärområdet är att förbättra hälsotillståndet hos husdjursbeståndet och sålunda förbättra djuruppfödningens lönsamhet.

Det föreligger behov av att förbättra skyddet mot enzootisk bovin leukos inom gemenskapen. Genom direktiven 77/391/EEG<sup>(4)</sup> och 78/52/EEG<sup>(5)</sup> samt genom beslut 87/58/EEG<sup>(6)</sup> har gemenskapen redan vidtagit åtgärder för att utrota denna sjukdom.

Sådana åtgärder måste bidra till att avskaffa de hinder mot handeln med levande djur mellan medlemsstaterna som orsakas av skillnader i hälsoläget.

I detta syfte införs åtgärder till skydd mot enzootisk bovin leukos fram till den 31 december 1987 genom rådets direktiv 64/432/EEG av den 26 juni 1964 om djurhälsoproblem som påverkar handeln med nötkreatur och svin inom gemenskapen<sup>(7)</sup>, senast ändrat genom förordning (EEG) nr 3805/87<sup>(8)</sup>.

Dessa åtgärder bör utökas under beaktande av nya metoder för att påvisa enzootisk bovin leukos.

Efter en övergångsperiod bör de särbestämmelser upphävas som fastställs genom nuvarande arrangemang för länder som tillämpat nationella program för att bekämpa denna sjukdom.

Regler bör fastställas för klassificering av besättningar i fråga om enzootisk bovin leukos.

Medlemsstaterna måste i syfte att klassificera sina besättningar tillämpa ett program som innebär att deras besättningar underkastas ett av de prov för påvisande av leukos som fastställs i bilaga G till direktiv 64/432/EEG.

Med undantag av slaktdjur som är yngre än 30 månader bör djur avsedda för handel inom gemenskapen härröra från en undersökt besättning och ha underkastats ett individuellt prov.

HÄRIGENOM FÖRESKRIVS FÖLJANDE.

## Artikel 1

Från och med den 1 juli 1988 ändras direktiv 64/432/EEG på följande sätt:

<sup>(1)</sup> EGT nr C 5, 9.1.1988, s. 5.<sup>(2)</sup> EGT nr C 49, 22.2.1988, s. 164.<sup>(3)</sup> EGT nr C 80, 28.3.1988, s. 34.<sup>(4)</sup> EGT nr L 145, 13.6.1977, s. 44.<sup>(5)</sup> EGT nr L 15, 19.1.1978, s. 34.<sup>(6)</sup> EGT nr L 24, 27.1.1987, s. 51.<sup>(7)</sup> EGT nr 121, 29.7.1964, s. 1977/64.<sup>(8)</sup> EGT nr L 357, 19.12.1987, s. 1.

## 1. Följande skall läggas till i artikel 2:

“s) besättning som är fri från enzootisk bovin leukos: en besättning hos vilken

- i) inga tecken framkommit, vare sig kliniska eller i form av resultat av undersökningar utförda i enlighet med bilaga G, som tyder på att något fall av enzootisk bovin leukos inträffat och hos vilken inte heller något sådant fall bekräftats de senaste två åren,
- ii) de djur som är äldre än 24 månader har under de närmast föregående 12 månaderna reagerat negativt på två prov utförda i enlighet med bilaga G med minst fyra månaders mellanrum eller, i fråga om en besättning som redan uppfyllt det kravet, reagerat negativt på ett enstaka prov som utförts i enlighet med samma bilaga,
- iii) det alltsedan den första undersökningen endast funnits djur som fötts inom besättningen eller som härrör från en besättning som är fri från enzootisk bovin leukos”.

## 2. Följande skall läggas till i artikel 3.2:

“j) Är det fråga om renrasiga nötkreatur, enligt definitionen i artikel 1 i direktiv 77/504/EEG, som är avsedda uteslutande för avelsändamål och är mycket värdefulla skall de härröra från en besättning

- i) om vilken inga uppgifter kommit till den officiella veterinärens kännedom som givit honom anledning att dra slutsatsen att något fall av enzootisk bovin leukos inträffat de senaste två åren,
- ii) vars ägare har förklarat att han inte känner till några sådana omständigheter och vidare skriftligen förklarat att det eller de djur som är avsedda för handel inom gemenskapen antingen är födda och uppfödda inom besättningen eller har tillhört denna under de senaste 12 månaderna”.

## 3. Följande skall läggas till i artikel 3.3:

“d) härröra från en besättning i vilken det inte förekommit några tecken på enzootisk bovin leukos under de senaste två åren och djuren, om de är äldre än 12 månader, har reagerat negativt på ett individuellt prov som utförts i enlighet med bilaga G under de 30 dagarna närmast före inlastningen.

Detta prov skall dock inte krävas i fråga om nötkreatur av hankön eller ungtjurar som är yngre än 30 månader och är avsedda för köttproduktion, förutsatt att sådana djur kan särskiljas genom ett speciellt märke när de lastas och att medlemsstaterna vidtar alla åtgärder för att förhindra överföring av smitta till landets egna besättningar”.

## 4. Följande skall läggas till i artikel 7.1:

“G. nötkreatur av honkön som är yngre än 30 månader och avsedda för köttproduktion vilka trots artikel 3.3 d inte har underkastats något individuellt prov. Sådana djur måste bära ett speciellt märke. Den medlemsstat till vilken djuren är destinerade skall vidta alla åtgärder för att förhindra överföring av smitta till landets egna besättningar”.

## 5. Följande skall läggas till i artikel 8.2:

“Med särskild hänsyn till enzootisk bovin leukos och i fråga om sådana djur som avses i artikel 3.2 j. Det står medlemsstaterna fritt att, om inte annat följer av de allmänna bestämmelserna i fördraget, dessutom kräva att alla djur i den besättning som djuren härrör ifrån och som är äldre än 24 månader den dag provet utförs, under de senaste 12 månaderna skall ha reagerat negativt på ett prov som utförts i enlighet med bilaga G. Sådana garantier skall dock inte krävas vid införsel av djur från en medlemsstat som, i enlighet med förfarandet i artikel 12, anses kunna uppvisa tillräckliga garantier vad gäller enzootisk bovin leukos”.

## 6. Följande artikel skall införas:

## “Artikel 8a

1. Medlemsstater som sedan 1980 har tillämpat ett obligatoriskt nationellt program för utrotning av enzootisk bovin leukos får ställa som villkor för införsel till sitt territorium av nötkreatur för avel eller produktion och som är avsedda att införlivas med nötkreatursbesättningar som inte misstänks ha leukos, att det företes ett intyg som utfärdats på inlastningsdagen av en ansvarig officiell veterinär på åtminstone det eller de språk som används i destinationslandet, av vilket framgår

- a) att veterinären inte känner till några uppgifter av vilka han kan dra slutsatsen att något fall av enzootisk bovin leukos inträffat de senaste tre åren inom den besättning från vilken de härrör, och att ägaren till besättningen förklarat att han inte känner till några sådana omständigheter och att han vidare skriftligen försäkrat att det eller de djur som är avsedda för handel inom gemenskapen är födda och uppfödda inom besättningen eller har tillhört denna under de senaste 12 månaderna,

- b) att under de senaste 12 månaderna alla nötkreatur som var över 24 månader gamla den dag provet utfördes och som ingår i den besättning från vilken de härrör har reagerat negativt på ett prov som utförts i enlighet med bilaga G.

2. I enlighet med förfarandet i artikel 12 står det fritt för andra medlemsstater än de som avses under punkt 1 att inom sitt territorium tillämpa samma krav eller, i fråga om Storbritannien vad gäller Nordirland, om en kampanj för utrotning av enzootisk bovin leukos pågår där i enlighet med beslut 87/58/EEG, eller om det kan bevisas att det den dag då ärendet hänskjutits till Ständiga veterinärkommittén, det under minst två år där tillämpats ett minimiprogram för utrotning, innefattande minst följande krav:

- Alla tumörer i nötkreaturens organ och lymfatiska system måste anmälas och undersökas histologiskt av ett veterinärt laboratorium som står under direkt tillsyn av ett av de laboratorier som uppräknas i bilaga G.
- Alla nötkreatur i besättningar som haft smittkontakt med ett djur som befunnits lida av leukotiska tumörer skall underkastas ett prov på enzootisk bovin leukos, att undersökas i enlighet med kraven i bilaga G och på ett laboratorium som står under direkt tillsyn av ett av de laboratorier som uppräknas i samma bilaga.
- Inom en besättning i vilken något djur har befunnits lida av en leukotisk tumör och för vilket diagnosen enzootisk bovin leukos bekräftats får infekterade djur avlägsnas endast för slakt under tillsyn av de veterinära myndigheterna. Besättningen skall stå under fortsatt officiell tillsyn intill dess att den uppvisat en negativ reaktion på minst två prov som utförts med minst fyra månaders mellanrum på alla djur som är äldre än 24 månader och i enlighet med kraven i bilaga G vid ett laboratorium som står under direkt tillsyn av ett av laboratorierna i bilaga G.

Vad beträffar de ytterligare villkor som kan knytas till denna utvidgning till varje medlemsstat eller någon berörd del därav hänvisas till det beslut som avses i första stycket.”

7. Följande skall läggas till i slutet av a i bilaga E:

“— Enzootisk bovin leukos”.

8. Bilaga F, mall I:

- a) V:

aa) Följande skall läggas till efter d:

“e) — De har under de senaste 12 månaderna<sup>(5)</sup> eller, om de är yngre än 12 månader, alltsedan födelsen tillhört en besättning i vilken under de senaste tre åren<sup>(5)</sup>, såvitt undertecknad känner till och enligt vad ägaren försäkrat, inga fall av enzootisk bovin leukos har diagnosticerats<sup>(2, 12)</sup>.

— De härrör från en besättning inom vilken det inte förekommit några tecken på enzootisk leukos under de senaste tre åren<sup>(2)</sup>.

— Samtliga djur som vid undersökningstillfället är äldre än 24 månader har under de senaste 12 månaderna<sup>(5)</sup> underkastats<sup>(2, 12)</sup> en undersökning som befunnits negativ<sup>(13)</sup> med avseende på enzootisk bovin leukos.

— De har inom de föreskrivna 30 dagarna<sup>(5)</sup> visat negativ reaktion<sup>(2, 5, 11)</sup> på ett individuellt prov<sup>(13)</sup> för påvisande av enzootisk bovin leukos,

— De är avsedda för gödning<sup>(2, 11)</sup>.”

bb) e-i skall betecknas respektive f-j.

- b) Följande skall läggas till efter fotnot<sup>(10)</sup>:

“<sup>(11)</sup> Detta undantag medges endast i fråga om handjur som är yngre än 30 månader och avsedda för gödning och förutsatt att djuren är försedda med en särskiljande märkning och underkastas särskild kontroll i destinationslandet.

<sup>(12)</sup> Detta är onödigt utom i fråga om renrasiga avelsdjur som är avsedda enbart för avelsändamål och som är mycket värdefulla.

<sup>(13)</sup> Det individuella provet har utförts i enlighet med bilaga G till direktiv 64/432/EEG.”

9. Bilaga G till detta direktiv skall läggas till.

## Artikel 2

Från och med den 1 juli 1990 ändras direktiv 64/432/EEG på följande sätt:

1. Artikel 3.2 j skall utgå.

2. Artikel 3.3 d skall ersättas med följande och e-f läggas till:

”d) härröra från en besättning som är fri från enzootisk bovin leukos enligt artikel 2 s,

e) utöver det villkor som anges i d, om de är äldre än 12 månader, ha reagerat negativt på ett individuellt prov som utförts i enlighet med bilaga G inom 30 dagar närmast före inlastningsdagen,

f) inte vara underkastade kraven under d och e om de är yngre än 30 månader och avsedda för köttproduktion om de

i) härrör från en besättning inom vilken inget fall av enzootisk bovin leukos anmälts och bekräftats under de senaste två åren,

ii) om de identifierats genom ett särskilt märke när de lastas och de står under fortsatt uppsikt tills de slaktas,

förutsatt att den medlemsstat till vilken de är destinerade vidtar alla nödvändiga åtgärder för att förhindra spridning av smitta till sina inhemska besättningar.”

3. Artikel 7.1G skall utgå.

4. Artikel 8.2 sista stycket skall utgå.

5. Artikel 8a skall utgå.

6. I mall I i bilaga F skall

— V e ersättas med följande:

“e) — De har under de senaste 12 månaderna<sup>(5)</sup> eller, om de är yngre än 12 månader<sup>(5)</sup>, alltsedan födelsen tillhört en besättning som är fri från enzootisk bovin leukos<sup>(2, 11)</sup>,

— De har inom de föreskrivna 30 dagarna<sup>(5)</sup> visat negativ reaktion på ett individuellt prov<sup>(12)</sup> för påvisande av enzootisk bovin leukos<sup>(2, 11)</sup>,

— De är avsedda för gödning<sup>(11)</sup>.”

— fotnot<sup>(11)</sup> ersättas med följande:

“(11) Detta undantag medges endast i fråga om nötkreatur som är yngre än 30 månader och avsedda för gödning, förutsatt att djuren

— härrör från en besättning i vilken inget fall av enzootisk bovin leukos har anmälts och bekräftats under de senaste två åren,

— är försedda med en särskiljande märkning och underkastas särskild kontroll i destinationslandet.”

— fotnot<sup>(12)</sup> utgå,

— fotnot<sup>(13)</sup> betecknas fotnot<sup>(12)</sup>.

#### Artikel 3

1. För att få rätt att förklara sina besättningar fria från enzootisk bovin leukos skall medlemsstaterna genomföra ett program enligt vilket deras besättningar underkastas ett av de prov som anges i bilaga G i direktiv 64/432/EEG.

2. Medlemsstaterna skall minst en gång årligen meddela kommissionen hur deras program fortskrider och vilka resultat som uppnåtts.

#### Artikel 4

Rådet skall på förslag av kommissionen före den 1 januari 1990 fastställa de kriterier enligt vilka en medlemsstats territorium eller del därav skall få förklaras fritt från enzootisk bovin leukos och de villkor som skall uppställas för att garantera att denna status upprätthålls, tillsammans med de regler som skall tillämpas på handeln från regioner eller medlemsstater som är fria från enzootisk bovin leukos.

#### Artikel 5

Medlemsstaterna skall sätta i kraft de bestämmelser som är nödvändiga för att följa

— artiklarna 1 och 3 senast den 1 juli 1988,

— artikel 2 senast den 1 juli 1990.

De skall utan dröjsmål underrätta kommissionen om detta.

#### Artikel 6

Direktiv 80/1102/EEG<sup>(1)</sup> skall härmed upphöra att gälla.

#### Artikel 7

Detta direktiv riktar sig till medlemsstaterna.

Utfärdat i Luxemburg den 14 juni 1988.

På rådets vägnar

I. KIECHLE

Ordförande

(1) EGT nr L 325, 1.12.1980, s. 18.

## BILAGA

## "BILAGA G

## UNDERSÖKNINGAR FÖR PÅVISANDE AV ENZOOTISK BOVIN LEUKOS

Undersökningar för påvisande av enzootisk bovin leukos skall utföras med hjälp av immunodiffusionsmetoden under de betingelser som beskrivs under punkterna A och B nedan eller genom "Elisa" ('the enzyme-linked immunosorbent assay') under de betingelser som beskrivs under punkt C nedan. Immuno-diffusionsmetoden får endast användas för individuella undersökningar.

Om det finns välgrundad anledning att ifrågasätta undersökningsresultaten skall en ytterligare kontroll utföras med hjälp av immuno-diffusionsmetoden.

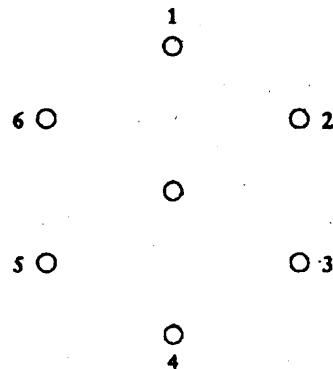
## A. Undersökning för påvisande av enzootisk bovin leukos genom immuno-diffusion i agargel

1. Det antigen som skall användas för denna undersökning måste innehålla glykoproteiner från det virus som orsakar bovin leukos. Antigenet måste standardiseras mot ett standardserum (E1-serum) som tillhandhålls av Statens Veterinære Serumlaboratorium i Köpenhamn.
2. De officiella inrättningar som räknas upp nedan måste ansvara för kalibrering av laboratoriets arbetsstandardantigen mot det officiella EEG-standardserum (E1-serum) som tillhandahålls av Statens Veterinære Serumlaboratorium, Köpenhamn.
 

a) Tyskland:	Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten d. Tiere, Tübingen
b) Belgien:	Institut national de recherches vétérinaires, Bruxelles
c) Frankrike:	Laboratoire national de pathologie bovine, Lyon
d) Luxemburg:	—
e) Italien:	Istituto Zooprofilattico Sperimentale, Perugia
f) Nederländerna:	Centraal Diergeneeskundig Instituut, Afdeling Rotterdam
g) Danmark:	Statens Veterinære Serumlaboratorium, Köpenhamn
h) Irland:	Veterinary Research Laboratory, Abbotstown, Dublin
i) Storbritannien	
1. Storbritannien	utom Nordirland: The Central Veterinary Laboratory, Weybridge, England
2. Nordirland:	The Veterinary Research Laboratory, Stormont, Belfast
j) Spanien:	Laboratório de Sanidad y Produccion Animal de Barcelona
k) Portugal:	Laboratório Nacional de Investigaçao Veterinária, Lisboa
3. De standardantigener som används i laboratoriet måste sändas in minst en gång årligen till de referenslaboratorier inom EEG som räknas upp under punkt 2 ovan för att testas mot det officiella EEG-standardserumet. Bortsett från denna standardisering kan det använda antigenet kalibreras i enlighet med B.
4. Reagenserna för testet skall utgöras av
  - a) antigen: antigenet måste innehålla specifika glykoproteiner från det virus som orsakar enzootisk bovin leukos och som standardiserats mot det officiella EEG-serumet,
  - b) testserum,
  - c) känt positivt kontrollserum,
  - d) agargel
    - 0,8 % agar,
    - 8,5 % NaCl
    - 0,05 M Tris-buffert pH 7,2.

15 ml av denna agar förs över till en petriskål med 85 mm diameter till ett djup av 2,6 mm agar.
5. En testformation bestående av sju brunnar som befriats från fuktighet skärs ut i agarn till botten av plattan. Formationen skall bestå av en central brunn och sex brunnar i en cirkel runt densamma.
  - Den centrala brunnens diameter: 4 mm
  - De perifera brunnarnas diameter: 6 mm
  - Avståndet mellan den centrala och de perifera brunnarna: 3 mm

6. Den centrala brunnen fylls med standardantigenet. De perifera brunnen 1 och 4 (se diagrammet nedan) fylls med det kända positiva serumet, brunnen 2, 3, 5 och 6 med provserum. Brunnen fylls tills menisken försvinner.



7. Detta resulterar i följande mängder:

Antigen: 32  $\mu$ l.  
 Kontrollserum: 73  $\mu$ l.  
 Provserum: 73  $\mu$ l.

8. Inkubationen sker vid rumstemperatur (20 — 27 °C) under 72 timmar i en sluten fuktig kammare.
9. Avläsning av resultatet kan göras efter 24 och 48 timmar, men för slutavläsning kan krävas upp till 72 timmar:
- Ett provserum är positivt om det bildar en specifik precipitinlinje med BLV-antigenet och bildar en fullständig identitetslinje med kontrollserumet.
  - Ett provserum är negativt om det inte bildar en specifik precipitinlinje med BLV-serumet och om det inte böjer av kontrollserumets linje.
  - Reaktionen kan inte anses bedömbär om den
    - böjer av kontrollserumets linje mot BLV-antigenbrunnen utan att bilda en synlig precipitinlinje med antigenet, eller
    - varken kan avläsas som negativ eller positiv.

Vid icke bedömbära reaktioner kan testet upprepas med användning av koncentrerat serum.

#### B. Metod för standardisering av antigen

*Lösningar och material för undersökningen:*

- 40 ml 1,6 % agaros i 0,05 M Tris/HCl-buffert, pH 7,2 med 8,5 % NaCl.
- 15 ml bovint leukos-serum med antikroppar enbart mot glykoproteiner från bovint leukosvirus, spätt 1:10 i 0,05 M Tris/HCl-buffert, pH 7,2, med 8,5 % NaCl.
- 15 ml bovint leukos-serum med antikroppar enbart mot glykoproteiner från bovint leukosvirus, spätt 1:5 i 0,05 M Tris/HCl-buffert, pH 7,2, med 8,5 % NaCl.
- Fyra petriskålar av plast med en diameter av 85 mm.
- En stans med en diameter av 4 — 6 mm.
- Ett referensantigen.
- Det antigen som skall standardiseras.
- Ett vattenbad (56 °C).

*Utförande*

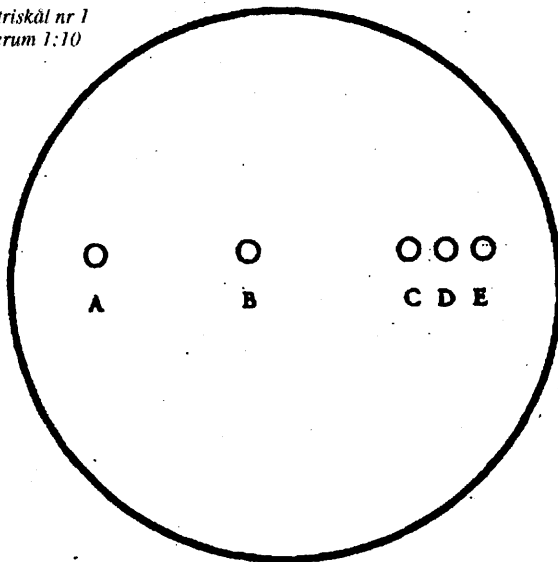
Agarosen (1,6 %) löses i Tris/HCl-buffert genom försiktig uppvärmning till 100 °C och placeras i vattenbad med en temperatur av 56 °C under ca en timme. Även serumspädningarna av bovint leukos-serum placeras i vattenbad med en temperatur av 56 °C.

Härefter blandas 15 ml av agaroslösningen med en temperatur av 56 °C med 15 ml bovint leukos-serum (1:10) och 15 ml överförs efter snabb omskakning till var och en av två petriskålar.

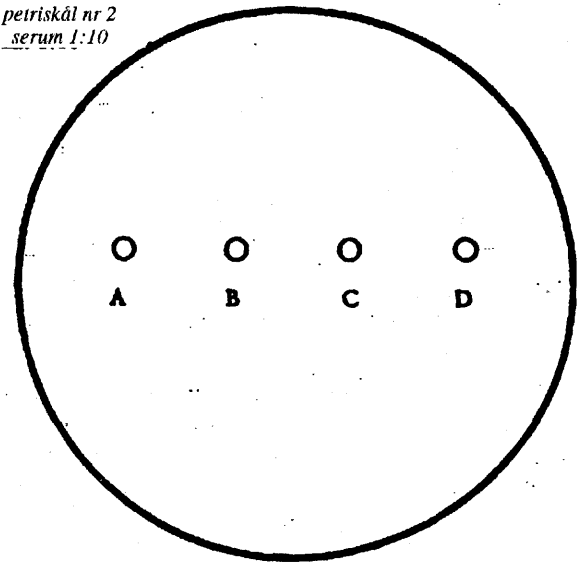
Förfarandet upprepas med bovint leukos-serum spätt 1:5.

När agarosen stelnat görs hål i enlighet med följande:

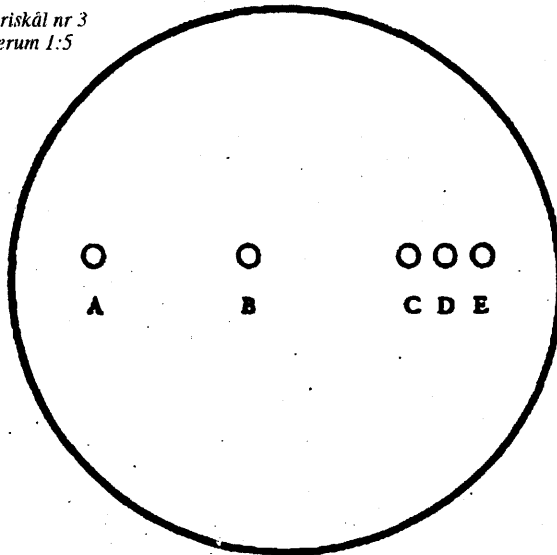
petriskål nr 1  
serum 1:10



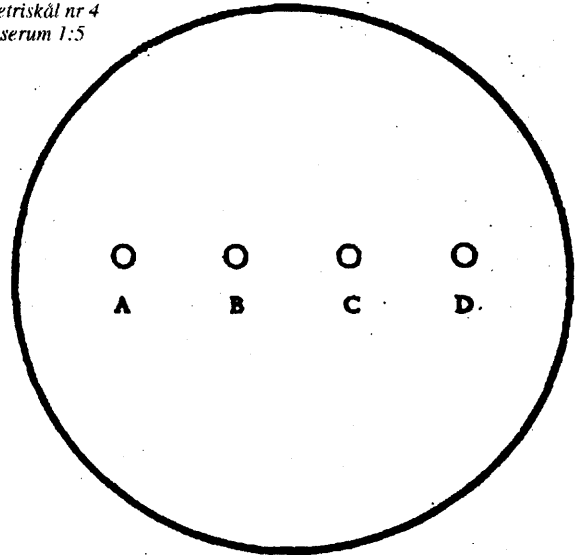
petriskål nr 2  
serum 1:10



petriskål nr 3  
serum 1:5



petriskål nr 4  
serum 1:5



*Tillsats av antigen:*

I. Petriskålar nr 1 och 3

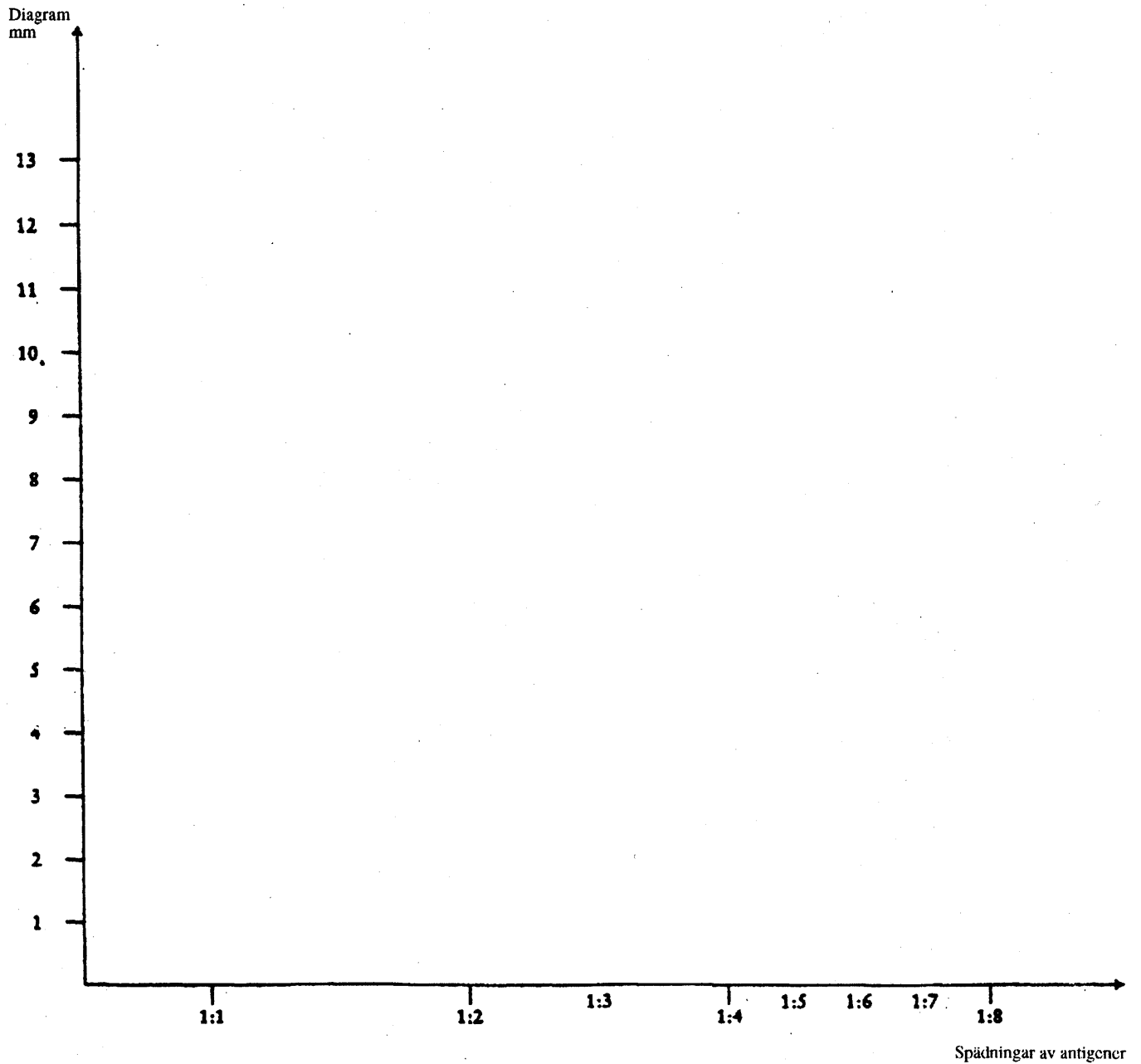
- brunn A = outspätt referensantigen,  
brunn B = referensantigen i spädning 1:2,  
brunnarna C och E = referensantigen,  
brunn D = outspätt provantigen.

II. Petriskålar 2 och 4

- brunn A = outspätt provantigen,  
brunn B = provantigen i spädning 1:2,  
brunn C = provantigen i spädning 1:4,  
brunn D = provantigen i spädning 1:8.

*Övriga anvisningar:*

1. Försöket utföres med två serumspädningar (1:5 och 1:10) för att optimala precipitering skall uppnås.
2. Om precipitationsdiametern blir alltför liten med båda spädningarna, måste serumet spädas ytterligare.
3. Om precipitationsdiametern i båda spädningarna är alltför stor och svag, måste en lägre serumspädning väljas.
4. Agarosens slutkoncentration måste vara 0,8 %, för serumspädningarna 5 % respektive 10 %.
5. De uppmätta diametrarna ritas in i nedanstående koordinatsystem. Spädningarna av provantigenet med samma diameter som referensantigenet svarar mot arbetsspädningen.





### C. Elisa (enzyme-linked immunosorbent assay) för enzootisk bovin leukos

#### 1. För denna Elisa-metod används följande material och reagenser:

- a) Mikroplattor för fast fas, kyvetter eller valfri fast fas.
- b) Antigenet binds till den fasta fasen med eller utan hjälp av polyklonala eller monoklonala fästade antikroppar. Om man låter antigenet direkt bekläda den fasta fasen måste alla undersökta prover som ger positiva reaktioner undersökas på nytt mot kontrollantigenet. Kontrollantigenet måste vara identiskt med antigenet utom vad gäller BLV-antigenerna. Om den fasta fasen överdras med fästade antikroppar, får antikropparna inte reagera med andra antigener än BLV-antigenerna.
- c) Den biologiska vätska som skall undersökas (serum eller mjölk).
- d) En positiv och en negativ kontroll.
- e) Ett konjugat -ett anti-bovint immunglobulin som biotinylerats eller enzymkonjugerats eller ett anti-BLV-immunglobulin som biotinylerats eller enzymkonjugerats.
- f) Avidin -ett enzym för styrkebestämning med hjälp av biotinylerade immunglobulinpreparat.
- g) Ett substrat som lämpar sig för det använda enzymet.
- h) En stopplösning.
- i) Buffrade lösningar för spädning av de prover som skall undersökas, för beredning av reagensen och för tvättning.
- j) Ett avläsningsystem med lämpliga filter som svarar mot de använda substraten.

#### 2. Standardisering, testens känslighet

Känsligheten för Elisa-bestämningen måste ligga på en sådan nivå att E4-serum bedöms som positivt efter 10 gånger (serumprov) eller 250 gånger (mjölkprov) högre utspädning än den utspädning som kommer i fråga för individuella prov när dessa ingår i sammanslagna prov.

Vid bestämningar där prov (serum eller mjölk) undersöks individuellt måste E4-serum som späts 1:10 (i negativt serum) eller 1:250 (i negativ mjölk) ge upphov till en som positiv bedömd reaktion när det undersöks vid samma spädningar som kommer i fråga för de individuella prov som är föremål för undersökning.

E4-serum tillhandahålls av Statens Veterinære Serumlaboratorium, Köpenhamn.

#### 3. Betingelser för användning av Elisa-metoden

Elisa-metoden kan användas på ett mjölkprov som tagits från den mjölk som har samlats upp från en gård med minst 30 % mjölkkor. Provet måste tas från mjölk som produceras av färre än 50 kor och från ett vasslakoncentrat av uppsamlad mjölk om denna kommer från 20 till högst 50 kor. Kommer den uppsamlade mjölken från fler än 50 kor skall antalet prover ökas i motsvarande mån.

Elisa-metoden får också användas på ett blodprov som tagits från högst 50 djur.

Om något av de ovannämnda alternativen väljs måste åtgärder vidtas för att säkerställa att de prov som tagits kan identifieras och relateras till de djur vilkas mjölk respektive serumprov varit föremål för undersökning.

Om något av proven bedöms som positivt, måste besättningen stå under fortsatt officiell tillsyn tills ett negativt resultat noterats vid minst två individuella undersökningar som utförts med minst fyra månaders mellanrum på samtliga djur som är mer än sex månader gamla, i enlighet med vad som föreskrivits ovan, och i ett laboratorium som står under direkt tillsyn av ett av de laboratorier som uppräknas under punkt A."