II

(Actes dont la publication n'est pas une condition de leur applicabilité

CONSEIL

DIRECTIVE DU CONSEIL

du 14 juin 1988

modifiant la directive 64/432/CEE en ce qui concerne la leucose bovine enzootique et abrogeant la directive 80/1102/CEE

(88/406/CEE)

LE CONSEIL DES COMMUNAUTÉS EUROPÉENNES,

vu le traité instituant la Communauté économique européenne, et notamment son article 43,

vu la proposition de la Commission (1),

vu l'avis du Parlement européen (2),

vu l'avis du Comité économique et social (3),

considérant que l'une des tâches de la Communauté dans le domaine vétérinaire consiste à améliorer l'état sanitaire du cheptel afin d'assurer une meilleure rentabilité de l'élevage;

considérant que, à cet égard, il s'avère nécessaire de protéger la Communauté contre la leucose bovine enzootique; que la Communauté a d'ailleurs, dans les directives 77/391/CEE (4) et 78/52/CEE (5) et dans la décision 87/58/CEE (6), déjà entrepris une action en vue de l'éradication de cette maladie;

considérant que ce type d'action doit contribuer à faire disparaître les entraves qui subsistent dans les échanges intracommunautaires d'animaux vivants et qui sont dues aux différences de situation sanitaire;

considérant que, à cette fin, ont été introduites, jusqu'au 31 décembre 1987, des mesures de protection contre la leucose bovine enzootique dans la directive 64/432/CEE du Conseil, du 26 juin 1964, relative à des problèmes de police sanitaire en matière d'échanges intracommunautaires d'animaux des espèces bovine et porcine (7), modifiée en dernier lieu par le règlement (CEE) n° 3805/87 (8);

considérant qu'il convient de proroger ces mesures, tout en reconnaissant de nouvelles méthodes de détection de la leucose bovine enzootique;

considérant qu'il convient, à l'issue d'une période transitoire, de mettre fin aux règles particulières prévues par le régime actuel pour les pays qui appliquaient des programmes nationaux de lutte contre cette maladie;

considérant qu'il est opportun de prévoir des règles relatives à la qualification des cheptels au regard de la leucose bovine enzootique;

considérant que les États membres doivent, pour qualifier leur cheptel, mettre en œuvre un programme afin de soumettre leur cheptel à l'une des épreuves de dépistage de la leucose prévues à l'annexe G de la directive 64/432/CEE;

considérant que, à l'exception des animaux de boucherie de moins de trente mois, les animaux destinés aux échanges intracommunautaires devront provenir d'un cheptel testé et avoir été soumis à un test individuel,

A ARRÊTÉ LA PRÉSENTE DIRECTIVE:

Article premier

Avec effet au 1er juillet 1988, la directive 64/432/CEE est modifiée comme suit:

(1) JO n° C 5 du 9. 1. 1988, p. 5.
(2) JO n° C 49 du 22. 2. 1988, p. 164.
(3) JO n° C 80 du 28. 2. 1988, p. 34.
(4) JO n° L 145 du 13. 6. 1977, p. 44.
(5) JO n° L 15 du 19. 1. 1978, p. 34.
(6) JO n° L 24 du 27. 1. 1987, p. 51.
(7) JO n° 121 du 29. 7. 1964, p. 1977/64.
(8) JO n° L 357 du 19. 12. 1987, p. 1.

1) À l'article 2, le point suivant est ajouté:

«s) Cheptel indemne de leucose bovine enzootique: un cheptel dans lequel:

i) aucun cas de leucose bovine enzootique n'a été ni mis en évidence, que ce soit cliniquement ou à la suite de l'un des tests pratiqués conformément à l'annexe G, ni confirmé au cours des deux dernières années;

ii) les animaux de plus de 24 mois ont — au cours des 12 derniers mois — réagi négativement à deux tests pratiqués conformément à l'annexe G, à un intervalle de 4 mois minimum ou, dans le cas d'un cheptel qui a déjà satisfait à cette exigence, à un seul test pratiqué conformément à ladite annexe;

iii) à partir de la date du premier contrôle ne se trouvent plus que les animaux qui y sont nés ou qui proviennent d'un cheptel indemne de leucose bovine enzootique.»

2) À l'article 3 paragraphe 2, le point suivant est ajouté:

«j) pour autant qu'il s'agit de bovins d'élevage reproducteurs de race pure, tels que définis à l'article 1er de la directive 77/504/CEE, strictement réservés à la reproduction et ayant une grande valeur, provenir d'un cheptel:

i) dans lequel aucun fait permettant de conclure à l'existence de cas de leucose bovine enzootique au cours des deux dernières années n'a été porté à la connaissance du vétérinaire officiel;

ii) dont le propriétaire a déclaré n'avoir pas eu connaissance de tels faits et a, en outre, déclaré par écrit que l'animal ou les animaux destinés aux échanges intracommunautaires sont nés et ont été élevés dans ledit cheptel ou ont fait partie intégrante de celui-ci pendant les 12 mois précédents.»

3) À l'article 3, le paragraphe 3 est complété par le point suivant:

«d) provenir d'un cheptel dans lequel rien n'a permis de conclure à l'existence de cas de leucose bovine enzootique au cours des deux dernières années et, s'ils sont âgés de plus de 12 mois, avoir été soumis, avec un résultat négatif dans les trente jours précédant leur embarquement, à un test individuel pratiqué conformément à l'annexe G.

Toutefois, ce test ne sera pas exigé pour les bovins mâles et les bovins castrés âgés de moins de 30 mois et destinés à la production de viande, pour autant que ces animaux soient identifiés par une marque particulière lors de leur embarquement et que l'État membre prenne les dispositions pour éviter la contamination des cheptels indigènes.»

4) À l'article 7 paragraphe 1, le point suivant est ajouté:

«G. En ce qui concerne les bovins femelles de moins de 30 mois destinés à la production de viande, ceux qui, en dérogation de l'article 3 paragraphe 3 point d), n'ont pas subi de test individuel. Ces animaux doivent porter une marque particulière. L'État membre destinataire prend toutes les dispositions afin d'éviter la contamination des cheptels indigènes.»

5) À l'article 8, le paragraphe 2 est complété par l'alinéa suivant:

«En ce qui concerne en particulier la leucose bovine enzootique et s'agissant des animaux visés à l'article 3 paragraphe 2 point j), les États membres sont autorisés à exiger en outre, dans le respect des dispositions générales du traité, que tous les animaux du cheptel de provenance âgés de plus de 24 mois à la date du test aient, au cours des 12 derniers mois, réagi négativement à un test exécuté conformément à l'annexe G. De telles garanties ne peuvent toutefois pas être exigées à l'introduction d'animaux provenant d'un État membre reconnu, selon la procédure prévue à l'article 12, comme offrant des garanties suffisantes au regard de la leucose bovine enzootique.»

6) L'article suivant est inséré:

«*Article 8* bis

1. Les États membres, qui appliquent depuis 1980 un programme obligatoire national de prophylaxie de la leucose bovine enzootique, peuvent subordonner l'introduction sur leur territoire de bovins d'élevage et de rente destinés à être intégrés dans des cheptels bovins non suspects de leucose, à la production d'un certificat établi le jour de l'embarquement par un vétérinaire officiel compétent et rédigé au moins dans la ou les langues du pays destinataire attestant que:

a) ledit vétérinaire n'a pas eu connaissance de faits permettant de conclure à l'existence de leucose bovine enzootique au cours des trois dernières années dans le cheptel de provenance et que le propriétaire du cheptel a déclaré n'avoir pas eu connaissance de tels faits, et qu'il a déclaré en outre, par écrit, que l'animal ou les animaux destinés aux échanges intracommunautaires sont nés et ont été élevés dans ledit cheptel ou ont fait partie intégrante dudit cheptel pendant les 12 mois précédents;

b) au cours des 12 derniers mois, tous les animaux âgés de plus de 24 mois à la date du test appartenant au cheptel d'origine ont réagi négativement à un test exécuté conformément à l'annexe G.

2. Selon la procédure prévue à l'article 12, les États membres autres que ceux visés au paragraphe 1 peuvent

être autorisés à appliquer les mêmes exigences pour leur territoire ou, en ce qui concerne le Royaume-Uni, pour l'Irlande du Nord si un plan d'éradication de la leucose bovine enzootique y est mis en œuvre en application de la décision 87/58/CEE ou s'il est prouvé que, à la date de saisine du comité vétérinaire permanent, ils y appliquent depuis au moins 2 ans un programme minimal d'éradication comprenant les exigences minimales suivantes:

— toutes les tumeurs dans les organes et le système lymphatique de bovins doivent être notifiées et doivent être examinées d'un point de vue histologique par un laboratoire vétérinaire directement supervisé par un des laboratoires mentionnés à l'annexe G,

— tous les bovins des cheptels qui ont été en contact contagieux avec un animal trouvé atteint d'une tumeur leucosique sont soumis à un test de recherche de la leucose bovine enzootique effectué conformément à l'annexe G et dans un laboratoire directement supervisé par l'un des laboratoires mentionnés dans ladite annexe,

— dans un cheptel où un animal a été trouvé atteint d'une tumeur leucosique et pour lequel le diagnostic de leucose bovine enzootique a été confirmé, les animaux infectés ne peuvent quitter ledit cheptel que pour l'abattage sous contrôle des autorités vétérinaires compétentes. Le cheptel doit rester sous contrôle officiel jusqu'à ce qu'un résultat négatif ait pu y être enregistré pour au moins deux tests effectués, à un intervalle d'au moins 4 mois, sur tous les bovins âgés de plus de 24 mois, conformément à l'annexe G et dans un laboratoire directement supervisé par un laboratoire mentionné dans ladite annexe.

Les conditions complémentaires auxquelles peut être subordonnée cette extension pour chaque État membre ou partie de territoire concerné peuvent être précisées dans la décision prévue au premier alinéa.»

7) À l'annexe E, à la fin du point a), le tiret suivant est ajouté:

«— leucose bovine enzootique.»

8) À l'annexe F, modèle I:

a) Au point V:

aa) après le point d), le texte suivant est inséré:

«e) — ils ont été maintenus pendant les douze derniers mois (5) ou, s'ils sont âgés de moins de 12 mois, depuis leur naissance dans un cheptel dans lequel, au cours des trois dernières années (5) à la connaissance du soussigné et d'après l'assurance donnée par le propriétaire, aucun cas de leucose bovine enzootique n'a été constaté (2) (12),

— ils proviennent d'un cheptel dans lequel rien n'a permis de conclure à l'existence de leucose bovine enzootique au cours des trois dernières années (2),

— à la date de l'examen, tous les animaux du cheptel âgés de plus de 24 mois ont, au cours des douze derniers mois (5), subi (2) (12), avec un résultat négatif, un test individuel (13),

— ils ont, dans un délai prescrit de trente jours (5), réagi négativement (2) (5) (11) à un test individuel (13) de recherche de la leucose bovine enzootique,

— ils sont destinés à l'engraissement (2) (11);»

bb) les points e) à i) deviennent respectivement f) à j).

b) Après la note de bas de page (10), les notes de bas de page suivantes sont ajoutées:

«(11) Cette exception n'est donnée que pour les animaux mâles de moins de 30 mois destinés à l'engraissement, dans la mesure où ces animaux sont marqués de façon distincte et sont soumis à un contrôle particulier dans le pays de destination.

(12) Cette indication n'est nécessaire que pour les animaux reproducteurs de race pure strictement réservés à la reproduction et ayant une grande valeur.

(13) Le test individuel a été pratiqué conformément à l'annexe G de la directive 64/432/CEE.»

9) L'annexe G figurant en annexe à la présente directive est ajoutée.

Article 2

Avec effet au 1er juillet 1990, la directive 64/432/CEE est modifiée comme suit:

1) À l'article 3 paragraphe 2, le point j) est supprimé.

2) À l'article 3 paragraphe 3, le point d) es remplacé par le point d) figurant ci-après et les points e) et f) sont ajoutés:

«d) provenir d'un cheptel indemne de leucose bovine enzootique au sens de l'article 2 point s);

e) outre la condition prévue au point d), lorsqu'ils sont âgés de plus de 12 mois, avoir présenté un résultat négatif à un test individuel qui a été pratiqué conformément à l'annexe G, dans les 30 jours précédant leur embarquement;

f) ne pas être soumis aux exigences des points d) et e) s'il s'agit de bovins âgés de moins de 30 mois, destinés à la production de viande et s'ils:

i) proviennent d'un cheptel dans lequel aucun cas de leucose bovine enzootique n'a été notifié et confirmé au cours des deux dernières années,

ii) sont identifiés par une marque particulière lors de leur embarquement et restent sous contrôle jusqu'à leur abattage,

pour autant que l'État membre de destination prenne toutes les mesures pour éviter la contamination des cheptels indigènes;»

3) À l'article 7 paragraphe 1, le point G est supprimé.

4) À l'article 8 paragraphe 2, le dernier alinéa est supprimé.

5) L'article 8 *bis* est supprimé.

6) Dans le modèle I de l'annexe F:

— Au point V, le point e) est remplacé par le texte suivant:

«e) — ils ont été maintenus pendant les douze derniers mois (5) ou, s'ils sont âgés de moins de 12 mois (5), depuis leur naissance dans un cheptel indemne de leucose bovine enzootique (2) (11),

— ils ont, dans le délai prescrit de trente jours (5), réagi négativement à un test individuel (12) de recherche de la leucose bovine enzootique (2) (11),

— ils sont destinés à l'engraissement (11),»

— la note de bas de page (11) est remplacée par le texte suivant:

«(11) Cette exception n'est autorisée que pour les bovins de moins de 30 mois destinés à l'engraissement, dans la mesure où ces animaux:

— proviennent d'un cheptel dans lequel aucun cas de leucose bovine enzootique n'a été notifié et confirmé au cours des deux dernières années,

— sont marqués de façon distincte et sont soumis au contrôle particulier dans le pays de destination.»

— la note de bas de page (12) est supprimée,

— la note de bas de page (13) devient la note (12).

Article 3

1. Pour qualifier leurs cheptels comme étant indemnes de leucose bovine enzootique, les États membres mettent en œuvre un programme de manière à soumettre leurs cheptels à l'une des épreuves visées à l'annexe G de la directive 64/432/CEE.

2. Les États membres informent la Commission au moins une fois l'an du déroulement de leur programme, ainsi que des résultats obtenus dans l'application de celui-ci.

Article 4

Le Conseil, statuant sur proposition de la Commission, établit, avant le 1er janvier 1990, les critères permettant à un État membre ou à une partie du territoire d'un État membre d'être reconnus comme indemnes de leucose bovine enzootique et les conditions à mettre en œuvre pour garantir le maintien de ce statut, ainsi que les règles applicables aux échanges à partir de régions ou d'États membres indemnes de leucose bovine enzootique.

Article 5

Les États membres mettent en vigueur les dispositions nécessaires pour se conformer aux exigences:

— des articles 1er et 3 au plus tard le 1er juillet 1988,

— de l'article 2 au plus tard de 1er juillet 1990.

Ils en informent immédiatement la Commission.

Article 6

La directive 80/1102/CEE (1) est abrogée.

Article 7

Les États membres sont destinataires de la présente directive.

Fait à Luxembourg, le 14 juin 1988.

Par le Conseil

Le président

I. KIECHLE

(1) JO n° L 325 du 1. 12. 1980, p. 18.

ANNEXE

«ANNEXE G

ÉPREUVES POUR LA RECHERCHE DE LA LEUCOSE BOVINE ENZOOTIQUE

La recherche de la leucose bovine enzootique est effectuée au moyen de l'épreuve d'immunodiffusion dans les conditions décrites aux points A et B ci-après ou par l'épreuve d'immuno-absorption enzymatique (ELISA) dans les conditions décrites au point C ci-après. La méthode d'immunodiffusion est réservée aux tests individuels.

Si les résultats des tests font l'objet d'une contestation motivée, un contrôle complémentaire est pratiqué au moyen d'une épreuve d'immunodiffusion.

A. Épreuves d'immunodiffusion sur plaque de gélose

1. L'antigène à utiliser dans cette épreuve doit contenir des glycoprotéines du virus de la leucose bovine. L'antigène doit être standardisé par rapport à un sérum étalon (sérum E I) fourni par le Statens Veterinaere Serum Laboratorium de Copenhague.

2. Les instituts d'États désignés ci-après doivent être chargés d'étalonner l'antigène standard de travail du laboratoire par rapport au sérum étalon officiel CEE (sérum E I) fourni par le Statens Veterinaere Serum Laboratorium de Copenhague.

   a) Allemagne (RF): Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere, Tübingen;

   b) Belgique: Institut national de recherches vétérinaires, Bruxelles;

   c) France: Laboratoire national de pathologie bovine, Lyon;

   d) Grand-duché de Luxembourg: —

   e) Italie: Istituto Zooprofilattico Sperimentale, Perugia;

   f) Pays-Bas: Centraal Diergeneeskundig Instituut, afdeling Rotterdam;

   g) Danemark: Statens Veterinære Serum Laboratorium, København;

   h) Irlande: Veterinary Research Laboratory, Abbotstown, Dublin;

   i) Rayaume-Uni:

      1. Grande-Bretagne: Central Veterinary Laboratory, Weybridge, England,

      2. Irlande du Nord: Veterinary Research Laboratory, Stormont, Belfast,

   j) Espagne: Laboratorio de Sanidad y Producción Animal de Barcelona;

   k) Portugal: Laboratório Nacional de Investigação Veterinária, Lisboa.

3. Les antigènes étalons utilisés au laboratoire doivent être présents au moins une fois par an aux laboratoires de référence CEE énumérés au paragraphe 2 ci-dessus pour y être testés par rapport au sérum étalon CEE. Indépendamment de cette standardisation, l'antigène utilisé peut être étalonné conformément à la lettre B.

4. L'épreuve met en œuvre les réactifs suivants:

   a) antigène: l'antigène doit contenir des glycoprotéines spécifiques du virus de leucose bovine enzootique qui a été standardisé par rapport au sérum officiel CEE;

   b) le sérum à tester;

   c) un sérum de contrôle positif connu;

   d) gélose;

      0,8 % agar

      8,5 % NaCl

      tampon Tris 0,05 M, pH 7,2

      15 millilitres de cette gélose doivent être coulés dans une boîte de Petri de 85 millimètres de diamètre, ce qui donne une profondeur de 2,6 millimètres de gélose.

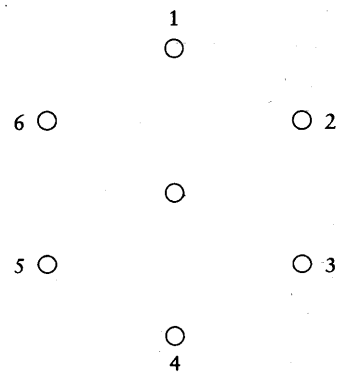
5. Un dispositif expérimental de sept loges exemptes d'humidité doit être réalisé par perforation de la gélose jusqu'au fond de la plaque; ce réseau consiste en une loge centrale autour de laquelle s'ordonnent six loges périphériques disposées en cercle.

   Diamètre de la loge centrale: 4 millimètres

   Diamètre des loges périphériques: 6 millimètres

   Distance entre les loges centrales et périphériques: 3 millimètres

6. La loge centrale doit être remplie de l'antigène étalon. Les loges périphériques 1 et 4 (voir schéma ci-dessous) sont remplies avec le sérum positif connu, les loges 2, 3, 5 et 6 avec les sérums à tester. Les loges doivent être emplies jusqu'à disparition du ménisque.



7. Les quantités obtenues sont les suivantes:

antigène:	32 microlitres,
sérum de contrôle:	73 microlitres,
sérum à tester:	73 microlitres.

8. L'incubation doit durer 72 heures à température ambiante (20-27 °C) dans une enceinte humide fermée.

9. L'épreuve peut être lue après 24 heures, puis après 48 heures, mais aucun résultat final ne peut être obtenu avant 72 heures:

   a) un sérum à tester est positif s'il forme une courbe de précipitation, spécifique avec l'antigène du virus de la leucose bovine et si cette courbe coïncide avec celle du sérum de contrôle;

   b) un sérum à tester est négatif s'il ne donne pas une courbe de précipitation spécifique avec l'antigène du virus de la leucose bovine et s'il n'infléchit pas la courbe du sérum de contrôle;

   c) la réaction ne pourrait être considérée comme concluante si:

      (i) elle infléchit la courbe du sérum de contrôle vers la loge de l'antigène du virus de la leucose bovine sans former une courbe de précipitation visable avec l'antigène

      ou

      (ii) s'il n'est pas possible de l'interpréter comme négative ou comme positive.

   Pour les réactions non concluantes, on peut répéter l'épreuve et utiliser du sérum concentré.

B. Méthode de standardisation de l'antigène

Solutions et matériels nécessaires

1. 40 millilitres de gélose à 1,6 % dans un tampon Tris 0,05 M/HCl, pH 7,2 avec 8,5 % de NaCl;
2. 15 millilitres d'un sérum de leucose bovine n'ayant d'anticorps qu'à l'égard des glycoprotéines du virus de la leucose bovine, sérum dilué au 1/10 dans un tampon Tris 0,05 M/HCl, pH 7,2 avec 8,5 % de NaCl;
3. 15 millilitres d'un sérum de la leucose bovine n'ayant d'anticorps qu'à l'égard des glycoprotéines du virus de la leucose bovine, sérum dilué au 1/15 dans un tampon Tris 0,05 M/HCl, pH 7,2 avec 8,5 % NaCl;
4. quatre boîtes de Petri en matière plastique, d'un diamètre de 85 millimètres;
5. un poinçon d'un diamètre de 4 à 6 millimètres;
6. un antigène de référence;
7. l'antigène à standardiser;
8. un bain d'eau chaude (56 °C).

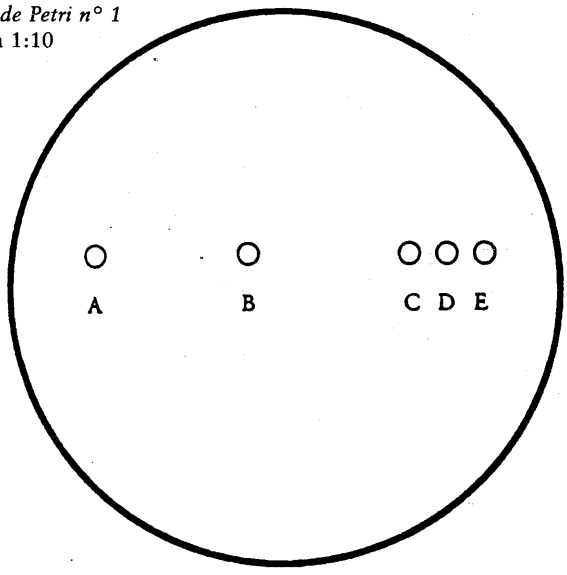
Mode opératoire

Dissoudre la gélose (1,6 %) dans le tampon Tris/HCl en chauffant avec précaution jusqu'à 100 °C. Mettre en place le bain d'eau à 56 °C pour environ 1 heure. Placer en outre les solutions du sérum de la leucose bovine dans le bain d'eau à 56 °C.

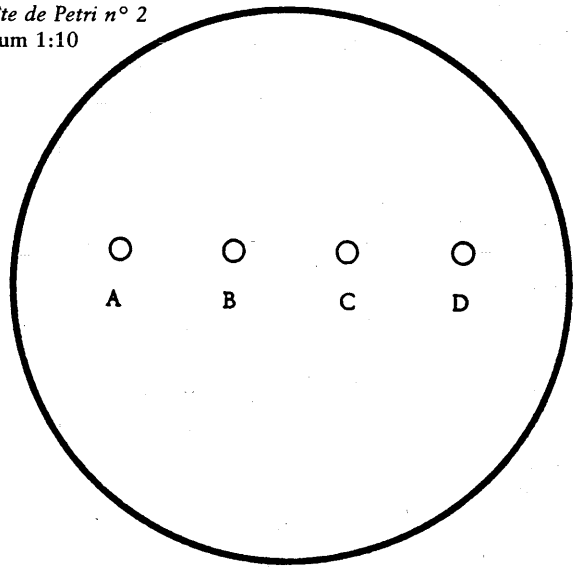
Mélanger ensuite 15 millilitres de la solution de gélose à 56 °C avec les 15 millilitres de sérum de la leucose bovine (1:10), agiter rapidement et verser dans deux boîtes de Petri, à raison de 15 millilitres par boîte. Recommencer les opérations précédemment décrites avec le sérum de la leucose bovine dilué au 1/5.

Lorsque la gélose a durci, les trous y sont pratiqués de la manière suivante:

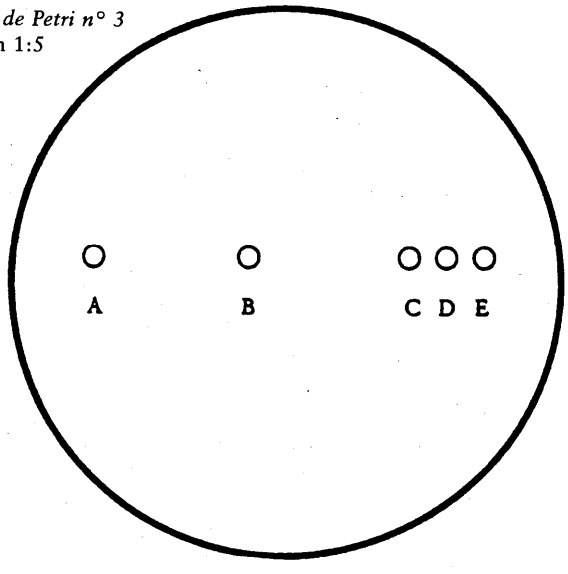
Boîte de Petri n° 1
Sérum 1:10



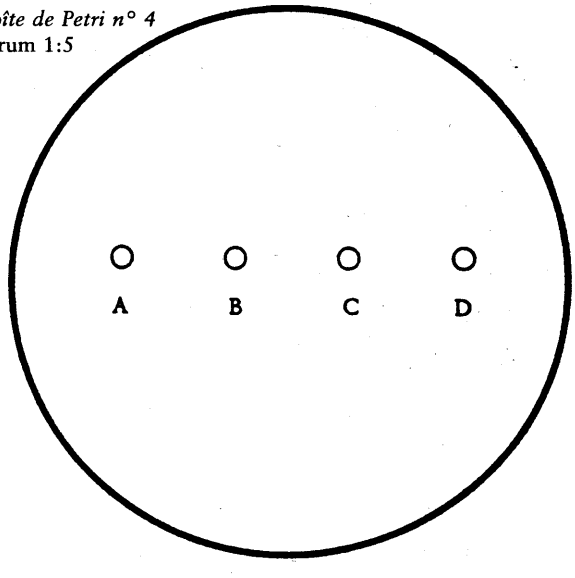
Boîte de Petri n° 2
Sérum 1:10



Boîte de Petri n° 3
Sérum 1:5



Boîte de Petri n° 4
Sérum 1:5



Addition d'antigènes

I. Boîtes de Petri n^{os} 1 et 3:

loge A	=	antigène de référence non dilué,
loge B	=	antigène de référence dilué à 1/2,
loges C + E	=	antigènes de référence,
loge D	=	antigènes à tester, non dilué.

II. Boîtes de Petri n^{os} 2 et 4:

loge A	=	antigène à tester, non dilué,
loge B	=	antigène à tester, dilué à 1/2,
loge C	=	antigène à tester, dilué à 1/4,
loge D	=	antigène à tester, dilué à 1/8.

Instructions complémentaires

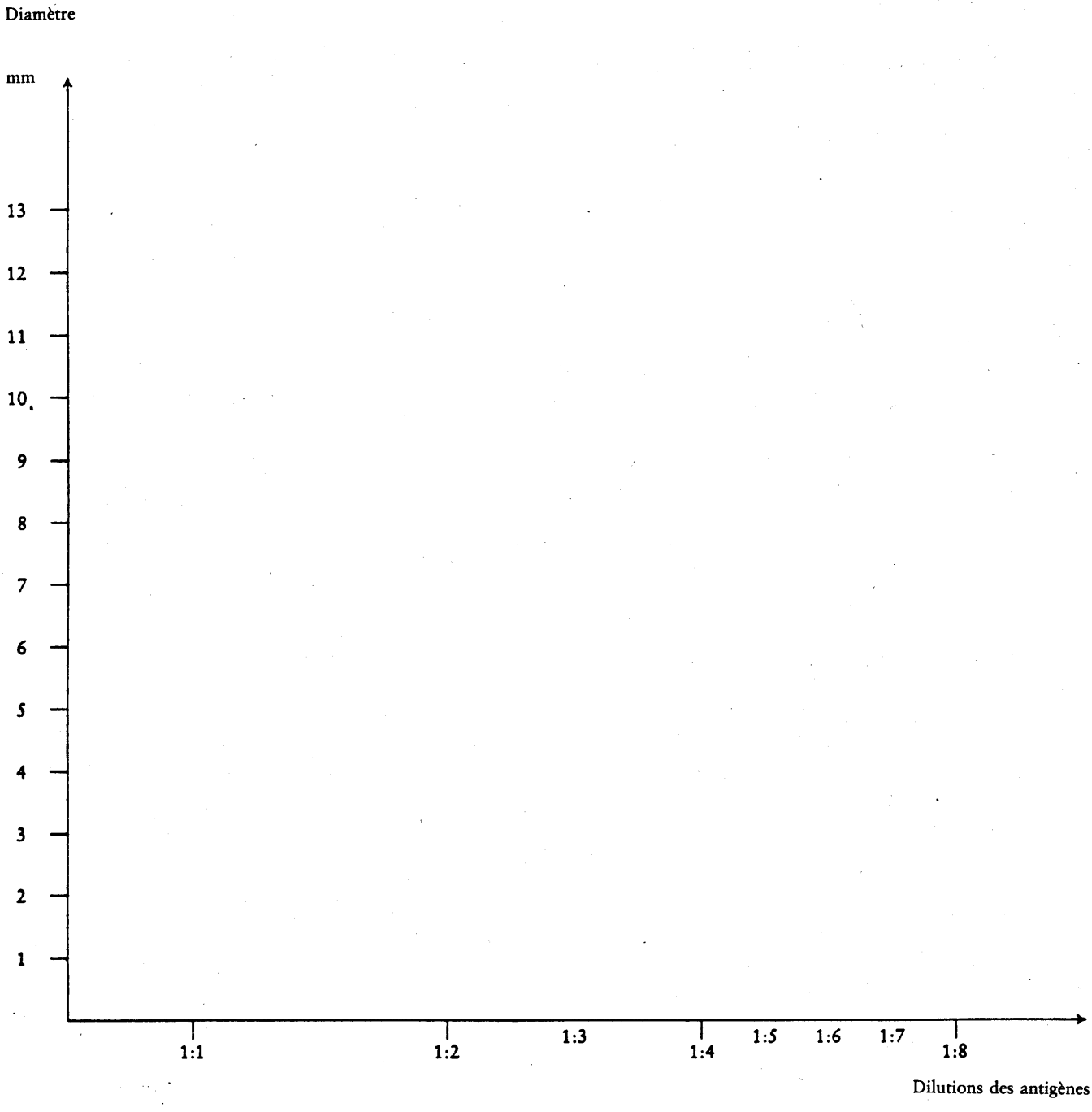
1. L'expérience doit être effectuée avec deux degrés de dilution du sérum (1:5 et 1:10) afin d'obtenir la précipitation optimale.

2. Si le diamètre de précipitation est trop faible pour chacun des deux degrés de dilution, le sérum doit faire l'objet d'une dilution supplémentaire.

3. Si le diamètre de précipitation est excessif pour les deux degrés de dilution et si le précipité disparaît, un degré de dilution plus faible doit être choisi pour le sérum.

4. La concentration finale de la gélose doit s'établir à 0,8 % et celle des sérums à 5 % et à 10 % respectivement.

5. Noter les diamètres mesurés dans le système coordonné suivant. La dilution de travail est celle où on enregistre le même diamètre pour l'antigène à tester que pour l'antigène de référence.



C. **Épreuve d'immuno-absorption enzymatique (ELISA) pour la recherche de la leucose bovine enzootique**

1. Pour la méthode ELISA, les matériels et réactifs à utiliser sont les suivants:

   a) des microplaques pour phase solide, des cuvettes ou toute autre phase solide;

   b) l'antigène est fixé sur la phase solide avec ou sans l'aide d'anticorps de captage polyclonaux ou monoclonaux. Si l'antigène est associé directement à la phase solide, tous les échantillons soumis à l'examen présentant une réaction positive doivent être réexaminés par rapport à l'antigène de contrôle. Celui-ci devrait être identique à l'antigène examiné, sauf en ce qui concerne les antigènes BLV. Si des anticorps de captage sont associés à la phase solide, les anticorps ne doivent pas réagir à des antigènes autres que les antigènes BLV;

   c) le liquide biologique à examiner (sérum ou lait);

   d) un contrôle positif et négatif;

   e) le conjugué: une immunoglobine antibovine biotinylée ou enzyme conjuguée ou une immunoglobine biotinylée anti BLV ou une enzyme conjuguée;

   f) l'avidine: une enzyme pour essais utilisant des préparations d'immunoglobines biotinylées;

   g) un substrat adapté aux enzymes utilisées;

   h) une solution d'obturation;

   i) des solutions tampons pour la dilution des échantillons examinés, la préparation des réactifs et le lavage;

   j) un système de lecture avec filtres appropriés correspondant au substrat utilisé.

2. *Épreuve de standardisation et de sensibilité*

   La sensibilité du test ELISA doit être d'un niveau tel que le sérum E 4 présente une réaction positive lorsqu'il est dilué 10 fois (échantillons de sérum) ou 250 fois (échantillons de lait) plus que la dilution obtenue à partir d'échantillons mis en commun.

   Lors d'essais ou les échantillons (sérum et lait) sont examinés individuellement, le sérum E 4, dilué à raison de 1 pour 10 (sérum négatif) ou à raison de 1 pour 250 (lait négatif) doit présenter une réaction positive, lorsqu'il est examiné dans la même dilution d'essai que celle utilisée pour les essais individuels.

   Le sérum E 4 sera fourni par le laboratoire vétérinaire national de Copenhague.

3. *Conditions d'utilisation du test ELISA*

   La méthode ELISA peut être utilisée sur un échantillon de lait prélevé sur la collecte de lait provenant d'une exploitation comprenant au moins 30 % de vaches laitières en lactation à la condition que l'échantillon porte sur le lait produit par moins de 50 vaches et sur une concentration du lactosérum du lait collecté sur un nombre de vaches compris entre 20 et 50 au maximum et que, lorsque la collecte de lait porte sur plus de 50 vaches, le nombre de prélèvements soit augmenté proportionnellement.

   La méthode ELISA peut également être utilisée sur un échantillon de sang prélevé sur un maximum de 50 animaux.

   En cas de recours à l'une des facultés précitées, des mesures doivent être prises pour assurer une correspondance entre les échantillons prélevés et les animaux dont proviennent le lait examiné ou les sérums.

   En cas de résultat positif sur l'un des échantillons, le cheptel doit rester sous contrôle officiel jusqu'à ce qu'un résultat négatif ait pu être enregistré pour au moins deux tests individuels effectués, à un intervalle de quatre mois minimum, sur tous les bovins âgés de plus de six mois, conformément aux dispositions précitées, et dans un laboratoire directement supervisé par un laboratoire mentionné au point A.»