

KONINKLIJK BESLUIT BETREFFENDE DE BESTRIJDING VAN DE RUNDERLEUCOSE 16.12.1991 (B.S. 18.01.1992, ERR. 02.04.1992)

Art. 1. 1. De enzoötische runderleucose is een dierenziekte die onder toepassing valt van hoofdstuk III van de diergezondheidswet van 24 maart 1987.

Elke behandeling en vaccinatie tegen leucose zijn verboden.

2. In het onderhavige besluit wordt enzoötische runderleucose aangeduid met de hoofdletters EBL.

HOOFDSTUK I - Bepalingen

Art. 2. Voor de toepassing van dit besluit moet men verstaan onder:

1° door EBL aangetast rund: elk rund waarvoor de ziekte werd bevestigd door een van de proeven die worden bedoeld in bijlage II;

2° rund verdacht aangetast door EBL: elk rund dat symptomen, letsels of gezwellen vertoont die EBL kunnen doen vermoeden of dat deel uitmaakt van een groep dieren waarvan een mengmonster positief reageert op de ELISA-test bedoeld in bijlage II;

3° rund verdacht besmet door EBL: elk rund dat tot een leucosehaard behoort of dat sinds minder dan 6 maanden een EBL-haard heeft verlaten;

4° veebeslag met sanitair statuut L3 of vrij van EBL: elk rundveebeslag dat aan de voorwaarden van bijlage I, A, voldoet;

5° veebeslag met sanitair statuut L2 of waarvan wordt verondersteld dat het vrij is van EBL: elk rundveebeslag dat aan de voorwaarden van bijlage I, B, voldoet;

6° veebeslag met sanitair statuut L1: elk rundveebeslag dat aan de voorwaarden van bijlage I, C, voldoet;

7° haard van EBL: veebeslag met één of meerdere runderen die aangetast zijn door EBL;

8° veebeslag verdacht van EBL: veebeslag met één of meerdere runderen die verdacht aangetast of verdacht besmet zijn;

9° Minister: de Minister tot wiens bevoegdheid de landbouw behoort;

10° dienst: de diergeneeskundige dienst van het Ministerie van Landbouw;

11° NIDO: het Nationaal Instituut voor Diergeneeskundig Onderzoek;

12° burgemeester: de burgemeester van de gemeente waarin het veebeslag gelegen is.

HOOFDSTUK II - Verdenking

Art. 3. Al wie het bestaan van EBL bij een rund vermoedt of vaststelt is verplicht onmiddellijk de inspecteur-dierenarts hiervan op de hoogte te brengen.

De dierenarts die bij een autopsie of vleeskeuring letsels of gezwellen vaststelt die aan EBL doen denken, verwijdt ze overeenkomstig de onderrichtingen van de Dienst en bezorgt ze onverwijld aan de laboratoria bedoeld in bijlage III.

Art. 4. § 1. De verantwoordelijke die door de dienst op de hoogte wordt gebracht van een verdenking van EBL in zijn veebeslag moet door een door hem gekozen aangenomen dierenarts binnen de 15 dagen na de verwittiging, alle vrouwelijke runderen van twaalf maanden en ouder en fokstieren van het bedrijf serologisch doen onderzoeken.

§ 2. Elke beweging van runderen naar of van het veebeslag verdacht van EBL, is verboden met uitzondering van de rechtstreekse overbrenging:

1° van runderen naar het slachthuis om er onverwijld te worden geslacht onder dekking van een vrijgeleide afgeleverd door de inspecteur-dierenarts;

2° van mannelijke runderen naar een aangeduide vetmestingsstal en vervolgens naar een slachthuis, onder dekking van een individueel vrijgeleide afgeleverd door de inspecteur-dierenarts, met vermelding van de identificatie van het rund en de vetmestingsstal van bestemming, en op voorwaarde dat zij worden geïdentificeerd met een onuitwisbaar merkteken, overeenkomstig de onderrichtingen van de dienst.

Art. 5. Zodra uit de onderzoeken blijkt dat de verdenking van EBL ongegrond is, worden de maatregelen die van toepassing zijn krachtens artikel 4, § 2, opgeheven door de dienst die de verantwoordelijke er van op de hoogte brengt.

HOOFDSTUK III - Haard

Art. 6. Zodra het bestaan van EBL bevestigd is, wordt het veebeslag als een haard van EBL beschouwd.

De inspecteur-dierenarts brengt de verantwoordelijke, de aangenomen dierenarts en de burgemeester er van op de hoogte.

Art. 7. De inspecteur-dierenarts schrijft in de haard alle gepaste maatregelen voor om te voorkomen dat de ziekte uitbreiding zou nemen en om er met name voor de zorgen:

1° dat de door EBL aangetaste runderen, in afwachting dat zij worden geslacht, doorlopend worden geïsoleerd in de lokalen van het bedrijf;

2° dat elke beweging van runderen naar en uit de haard wordt verboden met uitzondering van de rechtstreekse overbrenging:

1. van runderen bestemd voor het slachthuis om er onverwijld te worden geslacht onder dekking van een vrijgeleide afgeleverd door de inspecteur-dierenarts;

2. van mannelijke runderen naar een erkende vetmestingsstal en vervolgens naar een slachthuis, onder dekking van een individueel vrijgeleide afgeleverd door de inspecteur-dierenarts, met vermelding van de identificatie van het dier en de vetmestingsstal van besmetting, en op voorwaarde dat zij worden geïdentificeerd met een onuitwisbaar merkteken, overeenkomstig de onderrichtingen van de dienst.

3° dat de lokalen, recipiënten, installaties en alle andere voor het vee gebruikte voorwerpen regelmatig worden gereinigd en ontsmet;

4° dat de melk van besmette koeien slechts voor de veevoeding wordt gebruikt nadat zij een gepaste thermische behandeling heeft ondergaan of slechts wordt geleverd aan een zuivelfabriek om er die behandeling te ondergaan;

5° dat de voor de (dierenvoeding) bestemde karkassen, halve karkassen, stukken en slachtafval van besmette runderen op een zodanige wijze worden behandeld dat elke besmetting wordt vermeden; <Err. B.S. 02.04.1992>

6° dat de verantwoordelijke hem de dood of de noodslachting van elk rund van zijn veebeslag meedeelt.

Hij brengt de verantwoordelijke en de burgemeester op de hoogte van die maatregelen.

HOOFDSTUK IV - Verplichte afslachting

Art. 8. Zodra de inspecteur-dierenarts de resultaten van de in artikel 4, § 1, bedoelde onderzoeken ontvangt, brengt hij een bezoek aan de haard en deelt hij die resultaten mee aan de verantwoordelijke. Hij controleert de inventaris van het veebeslag en doet hem, desgevallend, onverwijld bijwerken.

Na een eventueel bijkomend onderzoek, doet hij overgaan tot het merken:

- ofwel van de door EBL aangetaste runderen,

- ofwel, met instemming van de Minister, van alle runderen van de haard,

- ofwel, met instemming van de Minister, van de door EBL aangetaste runderen en van de runderen die ten gevolge van een epidemiologisch onderzoek als besmet worden beschouwd.

Hij overhandigt het afslachtingsbevel voor deze runderen aan de verantwoordelijke.

Art. 9. § 1. Voor elk rund dat moet worden afgeslacht op bevel bedoeld in artikel 8, maakt de inspecteur-dierenarts een document op, waarop wordt vermeld:

a) de naam en het adres van de verantwoordelijke;

b) het signalement en de identificatiemerken van het rund;

c) de uiterste slachtdatum;

d) het aangeduide slachthuis.

Dat document, waaraan het identificatiedocument wordt gehecht, vergezelt het dier tot het wordt geslacht.

§ 2. De in § 1 bedoelde runderen worden rechtstreeks van het veebeslag naar het aangeduide slachthuis gevoerd in een vervoermiddel dat werd verzegeld door de inspecteur-dierenarts of zijn afgevaardigde.

§ 3. De persoon verantwoordelijk voor het vervoer van de in § 1 bedoelde runderen moet aan de verantwoordelijke van het veebeslag een ondertekend attest overhandigen waarin deze persoon erkent kennis te hebben genomen van het afslachtingsbevel, van de uiterste datum ervan en van het aangeduide slachthuis.

§ 4. De aankomst van de af te slachten runderen in het slachthuis wordt gecontroleerd door de dierenarts-vleeskeurder, die er zich tevens van vergewist dat de dieren effectief worden afgeslacht binnen de 3 dagen volgend op de dag van vertrek uit het bedrijf, zon- en feestdagen niet inbegrepen.

§ 5. De inspecteur-dierenarts, bevoegd op de plaats van afslachting, controleert en verklaart dat de dieren werden afgeslacht.

Art. 10. De runderen waarvoor een afslachtingsbevel werd afgeleverd moeten in het aangeduide slachthuis worden geslacht ten laatste binnen de 30 dagen die op de betekening van het resultaat volgen.

Art. 11. Het voertuig dat heeft gediend voor het vervoer van één of meerdere dieren die in het kader van EBL moeten worden afgeslacht, moet, vooraleer het het slachthuis verlaat, worden gereinigd en ontsmet overeenkomstig de bepalingen van artikel 21 van het ministerieel besluit van 21 februari 1951, betreffende de gezondmaking der vervoermiddelen die gediend hebben voor dieren, gewijzigd bij ministerieel besluit van 24 december 1990.

HOOFDSTUK V - Vergoedingen

Art. 12. Voor zover een rund wordt afgeslacht overeenkomstig de bepalingen van hoofdstuk IV, wordt, binnen de grenzen van de budgettaire kredieten, een vergoeding toegekend die berekend wordt volgens de bepalingen van het koninklijk besluit van 28 november 1991, betreffende de schatting van en de vergoeding voor runderen

afgeslacht in het kader van de gezondheidspolitie.

De vergoeding is evenwel niet verschuldigd voor de runderen die aangetast bevonden worden van enzoötische runderleucose bij het onderzoek verricht in uitvoering van artikel 21, § 2, van dit besluit.

Art. 13. Onverminderd de strafrechterlijke vervolgingen, verliest de rechthebbende elk recht op de vergoeding indien hij de bepalingen van het onderhavige besluit overtreedt of de richtlijnen die ter uitvoering van het onderhavige besluit door de inspecteur-dierenarts werden gegeven overtreedt.

HOOFDSTUK VI - Vrijmaking van de haard

A. Niet alle runderen worden afgeslacht.

Art. 14. § 1. De inspecteur-dierenarts heft de maatregelen in de haard op en beslist over de vrijmaking ervan, indien het vermoeden inzake het bestaan van EBL wordt opgeheven door drie opeenvolgende serologische balansen die op alle runderen van twaalf maanden en ouder door een aangenomen dierenarts werden uitgevoerd met een tussenpoos van vier maanden, waarbij de eerste wordt uitgevoerd vier maanden nadat het laatste op bevel af te slachten rund het bedrijf heeft verlaten.

§ 2. In afwijking van artikel 7, 1e lid, 2°, van dit besluit, kan de inspecteur-dierenarts de toelating geven om opnieuw dieren in de haard te brengen, wanneer de eerste controlebalans een negatief resultaat heeft opgeleverd.

B. Alle runderen worden afgeslacht.

Art. 15. De inspecteur-dierenarts heft de maatregelen in de haard op wanneer:

1. alle runderen van het veebeslag zijn geslacht;
2. de voor het veebeslag gebruikte schuilplaatsen, lokalen en materiaal werden gereinigd en ontsmet overeenkomstig de onderrichtingen van de inspecteur-dierenarts.

HOOFDSTUK VII - Bijzondere bepalingen

Sectie 1. - Diagnose.

Art. 16. § 1. Alleen het NIDO en de in bijlage III bedoelde laboratoria zijn gemachtigd om, met het oog op de diagnose van EBL, biologische proeven te doen op melk, bloed en alle andere bestanddelen. Alle resultaten van die proeven worden door hen aan de inspecteur-dierenarts meegedeeld.

Alleen de resultaten van de proeven die in deze laboratoria werden gedaan, worden in aanmerking genomen voor de toepassing van de bepalingen van dit besluit.

§ 2. In afwijking van § 1 kan de Minister andere laboratoria erkennen voor het uitvoeren van de onderzoeken bedoeld met het oog op onderzoek of onderwijs.

Art. 17. De in § 1 van artikel 16 bedoelde laboratoria voeren de in bijlage II bedoelde proeven uit overeenkomstig de bepalingen van genoemde bijlage en de onderrichtingen van de dienst, onder technisch toezicht van het NIDO.

Sectie 2. - Kwalificatie van de veebeslagen.

Art. 18. Wanneer een rund uit een veebeslag dat een statuut L2 heeft in een veebeslag met statuut L3 wordt gebracht, wordt het statuut van dit laatste L2 voor een periode van twee jaar, te rekenen vanaf de datum waarop het rund werd binnengebracht.

Art. 19. Elke verantwoordelijke onderwerpt de veebeslagen met statuut L1 en L2 aan de nodige onderzoeken om zo snel mogelijk het statuut L3 te krijgen.

Art. 20. In afwijking van artikel 2, 7°, en artikel 6 van dit besluit, kan een EBL-vrij veebeslag waarin één enkel rund door EBL is aangetast niet tot haard verklaard worden op voorwaarde dat dit rund en, desgevallend, de nakomelingen ervan onmiddellijk worden afgeslacht. Het statuut L3 wordt opnieuw toegekend indien een onderzoek, dat 3 maanden na het slachten van de betrokken runderen op alle runderen van meer dan één jaar wordt uitgevoerd, negatief blijkt te zijn.

Sectie 3. - Vervoer en verkoop van de runderen.

Art. 21. § 1. De sanitaire statuten i.v.m. EBL worden vermeld op het attest dat wordt voorgeschreven door artikel 41 van het koninklijk besluit van 6 december 1978 betreffende de bestrijding van de runderbrucellose.

§ 2. De aangenomen dierenarts die in toepassing van artikel 43, 2°, van het koninklijk besluit van 6 december 1978 betreffende de bestrijding van de runderbrucellose, wordt geroepen, is verplicht de voor de diagnose van EBL nodige stoffen te nemen, overeenkomstig de onderrichtingen van de dienst, en ze, onder eigen

verantwoordelijkheid, te doen geworden aan het laboratorium bedoeld in bijlage III van het onderhavige besluit en aangeduid voor de provincie van het veebeslag.

§ 3. Onverminderd de voor andere ziekten vereiste voorwaarden kan de verantwoordelijke maar een rund in zijn veebeslag inbrengen, op voorwaarde dat de in § 2 bedoelde onderzoeken negatieve resultaten hebben gegeven.

Art. 22. Indien runderen uit veebeslagen met verschillende statuten met elkaar in contact komen ter gelegenheid van een overdracht, een vervoer of een inbrenging, wordt het op de attesten vermelde statuut vervangen door het laagste statuut.

HOOFDSTUK VIII - Algemene bepalingen

Art. 23. Elke verantwoordelijke kan de inspecteur-dierenarts raadplegen over de profylaxie tegen de leucose in zijn veebeslag.

Hij moet de voorschriften naleven die de inspecteur-dierenarts hem inzake EBL-bestrijding geeft. Indien hij dat niet doet, (wordt elk) van zijn runderen beschouwd als aangetast door EBL en zijn bedrijf als een haard van EBL <Err. B.S. 02.04.1992>

Art. 24. Wanneer de verantwoordelijke de maatregelen of aanwijzingen weigert uit te voeren dan doet de inspecteur-dierenarts ze ambtshalve uitvoeren.

Art. 25. Elke dierenarts moet, inzake EBL, de onderrichtingen volgen die de inspecteur-dierenarts hem heeft gegeven en hem op elk ogenblik de gevraagde inlichtingen bezorgen.

Art. 26. Ten laste van het Fonds voor de gezondheid en de productie van de dieren, worden aan de aangenomen dierenartsen de volgende vergoedingen toegekend voor het nemen van bloed met het oog op de diagnose van EBL voor zover deze bloedname door de Koning wordt opgelegd of door de inspecteur-dierenarts wordt geëist en voor zover zij op het gepaste ogenblik wordt gedaan, overeenkomstig de onderrichtingen van de Dienst:

a) (11,85 EUR) per bedrijf; <KB 13.09.2004>

b) (1,76 EUR) voor elk rund waarvan bloed wordt genomen. <KB 13.09.2004>

Het bedrag van deze vergoedingen dekt alle kosten voor vacaties, verplaatsingen en de verzending van de monsters naar het erkend laboratorium. Deze vergoedingen worden rechtstreeks aan de aangenomen dierenartsen betaald, op vertoon van behoorlijk verantwoorde driemaandelijke staten, die door de inspecteur-dierenarts juist werden verklaard.

De driemaandelijke staten moeten, op straffe van verval, bij de inspecteur-dierenarts aankomen binnen de zestig kalenderdagen die volgen op de laatste dag van het kwartaal waarop zij betrekking hebben.

Dit artikel is niet van toepassing op de uitvoering van de bepalingen bedoeld in de artikelen 19 en 21, § 2.

Art. 27. Elk dringend geval dat door dit besluit niet wordt voorzien, wordt door de inspecteur-dierenarts beslecht.

Art. 28. De bijlagen bij dit besluit kunnen door de Minister worden gewijzigd en aangevuld. Indien hij het nuttig acht neemt hij aanvullende maatregelen om het opsporen van runderleucose te regelen en kan hij ze verplicht maken in de delen van het grondgebied die hij aanduidt.

Hij bepaalt de provincies vrij van EBL overeenkomstig punt D van bijlage I.

Art. 29. - <Opheffingsbepaling van KB 07.05.1969>

- <Opheffingsbepaling van art. 3, 4, 5 en bijlagen II en III van MB 16.02.1989>

Art. 30. Dit besluit treedt in werking de dag van zijn bekendmaking in het Belgisch Staatsblad.

Art. 31. Onze Minister van Buitenlandse Zaken en Onze Staatssecretaris voor Landbouw zijn, ieder wat hem betreft, belast met de uitvoering van dit besluit.

Wijzigingen:

Koninklijk besluit van 13.09.2004 (B.S. 06.10.2004)

Bijlage I

Sanitair statuut van de veebeslagen

A. Onder veebeslag met een statuut L3 verstaat men:

1. een veebeslag waarin:

- i) geen enkel geval van enzoötische runderleucose werd aangetoond, hetzij klinisch, hetzij ten gevolge van één van de proeven die werden verricht overeenkomstig bijlage II, noch bevestigd tijdens de laatste twee jaar;
- ii) alle runderen van meer dan 24 maanden tijdens de laatste twaalf maanden negatief hebben gereageerd op twee proeven die overeenkomstig bijlage II en met een tussentijd van 4 maanden werden gedaan;
- iii) na afwerking van de onder ii) bedoelde tests alleen nog runderen voorkomen die er werden geboren of voortkomen van een veebeslag vrij van enzoötische runderleucose;
- iv) de runderen van meer dan 24 maanden, na de kwalificatie, negatief zijn blijven reageren op één van de proeven die overeenkomstig bijlage II en met een tussenpoos van 3 jaar werden gedaan en de onder i) en iii) voorgeschreven voorwaarden vervuld blijven;

(2. Een veebeslag gelegen in een provincie vrij van EBL) <Err. B. S. 02.04.1992>

B. Onder een veebeslag met statuut L2, verstaat men een veebeslag waarin:

- i) sinds ten minste één jaar geen enkel geval van EBL werd aangetoond;
- ii) de runderen van één jaar of ouder met negatief resultaat een diagnoseproef hebben ondergaan bedoeld in bijlage II van dit besluit;
- iii) sinds de toekenning van statuut L2 aan het veebeslag geen enkel dier werd ingebracht dat niet voortkomt van een veebeslag met statuut L2 en L3.

C. Onder veebeslag met sanitair statuut L1 verstaat men een veebeslag waarvan de klinische antecedenten en de serologische status op het vlak van EBL onbekend zijn.

D. Onder een provincie vrij van EBL wordt verstaan een provincie:

1. in dewelke:

- a) minstens 99,8 % van de veebeslagen vrij zijn van EBL;
- b) of enerzijds tijdens de laatste drie jaar geen enkel geval van EBL werd aangetoond en anderzijds tijdens de laatste twee jaar:
 - i) steekproeven over gans de provincie op alle dieren ouder dan 24 maanden van minstens 10 % van de beslagen negatieve resultaten hebben opgeleverd;
 - ii) alle dieren ouder dan 24 maanden negatief hebben gereageerd op één van de proeven uitgevoerd overeenkomstig de bijlage II;

2. in dewelke, na te hebben voldaan aan de voorwaarden bepaald onder 1:

- a) jaarlijks, hetzij een steekproef met een zekerheidsgraad van 99 % aantoonde dat minder dan 0,2 % van de veebeslagen besmet zijn, hetzij proeven uitgevoerd overeenkomstig bijlage II (op) 20 % van de runderen ouder dan 2 jaar negatieve resultaten geven en <Err. B. S. 02.04.1992>
- b) de voorwaarden vermeld onder punt A. 1. vervuld blijven.

Bijlage II

Tests voor het opsporen van EBL

Het opsporen van EBL geschiedt door middel van de immunodiffusietest onder de in A en B beschreven voorwaarden of door middel van de enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) onder de in C beschreven voorwaarden. De immunodiffusiemethode wordt uitsluitend gebruikt voor de individuele tests.

De Minister erkent de diagnostische tests.

In geval van naar behoren gemotiveerde betwisting van het resultaat van de tests wordt een aanvullende controle uitgevoerd door middel van een immunodiffusietest.

A. Agar-gel-immunodiffusietest op EBL:

1. Het bij deze test te gebruiken antigeen moet de glycoproteïnen van de enveloppe van het runderleucosevirus bevatten. Het antigeen moet gestandaardiseerd zijn ten opzichte van een standaardserum dat wordt betrokken bij het Nationaal Diergeneeskundig Laboratorium te Kopenhagen.

2. Het NIDO wordt belast met het standaardiseren van het standaardantigeen van de laboratoria ten opzichte van het officiële EEG-standaardserum dat wordt betrokken bij het Nationaal Diergeneeskundig Laboratorium te Kopenhagen.

3. Ten minste eenmaal per jaar dienen de standaardantigenen die in de laboratoria worden gebruikt te worden voorgelegd aan het hierboven in punt 2 vermelde laboratorium om er opnieuw ten opzichte van het officiële EEG-standaardserum te worden getoetst. Bovendien kan het gebruikte antigeen ook worden gestandaardiseerd volgens de onder B beschreven methode.

4. Voor de uitvoering van deze test zijn de volgende reagentia vereist:

a) antigeen: het antigeen moet het glycoproteïne van de enveloppe bevatten die specifiek zijn voor EBL dat is gestandaardiseerd zijn ten opzichte van het officiële EEG-serum;

b) het testserum;

c) een controleserum waarvan bekend is dat het positief is;

d) agar-gel:

0,8 % agar

8,5 % NaCl

0,05 M Tris-bufferoplossing pH 7,2

15 ml agar moet in een petrischaal met een diameter van 85 mm worden overgebracht, zodat het laagje agar een dikte heeft van 2,6 mm.

5. Een experimentele opstelling van zeven vochtvrije putjes moet worden gemaakt door het perforeren van de agar tot op de bodem; de opstelling bestaat uit één centraal putje met daarrond zes perifere putjes, die cirkelvormig worden opgesteld.

Diameter van het centrale putje: 4 mm.

Diameter van de perifere putjes: 6 mm.

Afstand tussen het centrale en de perifere putjes: 3 mm.

6. Het centrale putje moet worden gevuld met het standaardantigeen, de perifere putjes 1 en 4 (zie schema) met positief serum en de putjes 2, 3, 5 en 6 met testserum. De putjes moeten worden gevuld totdat de meniscus verdwijnt.

7. Dit resulteert in onderstaande hoeveelheden reagentia:

antigeen: 32 microliter;

controleserum: 73 microliter;

testserum: 73 microliter.

8. Gedurende 72 uur bij kamertemperatuur (20-27°C) incuberen in een gesloten vochtige kamer.

9. Aflezing van de test is reeds mogelijk 24 en 48 uur na het begin van de incubatie, maar het definitieve resultaat wordt pas na 72 uur verkregen:

a) een testserum is positief indien (het een) specifieke precipitatielijn vormt met het EBL-antigeen en dus volledig samenvalt met de lijn van het controleserum; <Err. B.S. 02.04.1992>

b) een testserum is negatief indien het geen specifieke precipitatielijn vormt met het EBL-antigeen en indien het de lijn van het controleserum niet buigt;

c) de reactie wordt geacht geen uitsluitsel te geven indien:

(i) de lijn van het controleserum wel in de richting van het EBL-virus antigeen wordt gebogen maar het testserum toch geen duidelijke precipitatielijn vormt met het antigeen, of

(ii) de reactie niet duidelijk positief of negatief kan geïnterpreteerd worden.

Indien de reactie geen uitsluitsel geeft kan de test worden overgedaan met gebruik van geconcentreerd serum.

B. Methode voor standaardisatie van het antigeen:

Uitrusting en materiaal:

1. 40 ml agar (1,6 %) in 0,05 M Tris/HCl-bufferoplossing, pH 7,2 met 8,5 % NaCl;

2. 15 ml runderleucoserum met alleen antilichamen die gericht zijn tegen de glycoproteïnen van de enveloppe van het EBL-virus, verdunning 1:10 in 0,05 M Tris/HCl-bufferoplossing, pH 7,2 met 8,5 % NaCl;

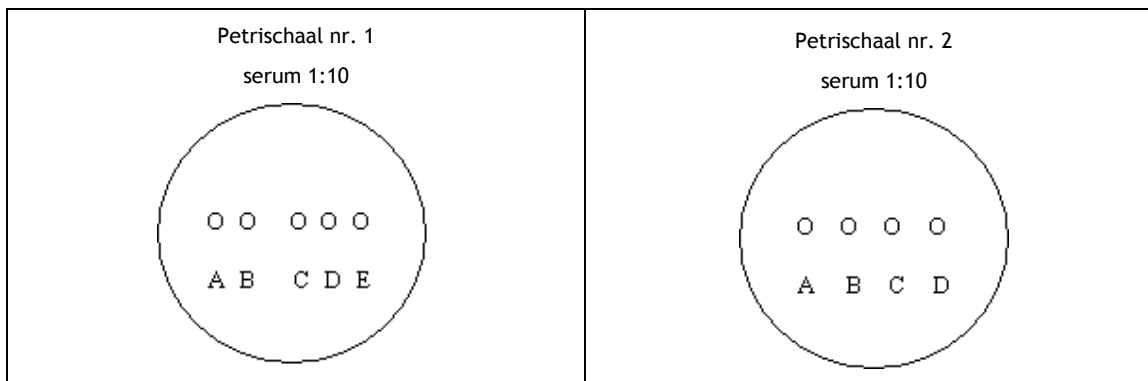
3. 15 ml EBL-serum met alleen antilichamen die gericht zijn tegen het glycoproteïne van de enveloppe van het EBL-virus, verdunning 1:15 in 0,05 M Tris/HCl-bufferoplossing, (pH 7,2 met 8,5 % NaCl); <Err. B.S. 02.04.1992>

4. vier plastic petrischaaltjes met een diameter van 85 mm;
5. een buisje met een diameter van 4-6 mm;
6. een referentie-antigeen;
7. het te standaardiseren antigeen;
8. een waterbad (56°C).

Procedure:

De agar (1,6 %) oplossen in de Tris/HCl-buffervloeistof door het mengsel voorzichtig te verwarmen tot 100°C. Daarna gedurende één uur in het waterbad op 56 °C plaatsen. Ook het verdunde EBL-serum in het waterbad (56°C) plaatsen.

Vervolgens 15 ml van de agaroplossing (56°C) vermengen met de 15 ml EBL-serum (1:10), snel schudden en het mengsel in twee petrischaaltjes gieten, 15 ml in elk schaalpje. Deze procedure herhalen met het EBL-serum (in de verdunning 1:5.) Wanneer de agar hard is geworden dienen daarin met het buisje putjes te worden gemaakt volgens onderstaand schema: <Err. B.S. 02.04.1992>



Toevoeging van antigeen:

1. Petrischaaltjes 1 + 3:

Loge A = onverdund referentie-antigeen;

Loge B = referentie-antigeen in de verdunning 1/2;

Loge C + E = referentie-antigeen;

Loge D = onverdund antigeen dat moet worden gestandaardiseerd.

2. Petrischaaltjes 2 + 4:

Loge A = onverdund te standaardiseren antigeen;

Loge B = te standaardiseren antigeen in de verdunning 1/2;

Loge C = te standaardiseren antigeen in de verdunning 1/4;

Loge D = te standaardiseren antigeen in de verdunning 1/8.

Aanvullende aanwijzingen:

1. Met het oog op een optimale precipitatie moet het experiment worden uitgevoerd met twee verschillende verdunningen van het serum (1/5 en 1/10).
2. Indien de precipitatie diameter met beide verdunningen te klein is moet het serum verder worden verdund.
3. Indien de precipitatie diameter met beide verdunningen te groot is en te onduidelijk moet een minder sterke verdunning van het serum worden genomen.
4. De uiteindelijke concentratie van de agar bedraagt 0,8 %, die van de sera 5 respectievelijk 10 %.
5. De gemeten diameters dienen op bijgevoegd coördinatenstelsel te worden geplotted. De verdunning van het te standaardiseren antigeen die dezelfde diameter heeft als het referentie-antigeen is de aan te houden verdunning.

C. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (Elisa) voor het opsporen van runderleucose:

1. Bij toepassing van de Elisa-methode moet gebruik worden gemaakt van de volgende materialen en reagentia:

a) microtiterplaten, cuvettes, of ander vast dragermateriaal;

b) het antigeen wordt met of zonder behulp van polyklonale of monoklonale antilichamen op de vaste drager gefixeerd. Indien directe coating van de vaste drager met het antigeen wordt toegepast, moeten alle positief reagerende monsters met behulp van een controle-antigeen opnieuw worden onderzocht. Behalve wanneer met EBL virusantigeen wordt gewerkt, moet het controle-antigeen steeds identiek zijn aan het gebruikte antigeen. Indien coating van de vaste drager met antilichamen wordt toegepast, mogen de antilichamen alleen reacties aangaan met runderleucose-virus-antigenen, en niet met andere antigenen;

c) de te testen biologische vloeistof;

d) een positief en negatief controleserum;

e) een conjugaat, namelijk een conjugaat van een antibovine-immunoglobuline met biotine of een enzymconjugaat of (een conjugaat van een anti EBL virus-immunoglobuline) met biotine of enzymconjugaat; <Err. B.S. 02.04.1992>

f) een geconjugeerd enzym voor testmethoden waarbij gebruik wordt gemaakt van immunoglobuline-biotinepreparaten (avidine of daarmee gelijkgesteld);

- g) een op het gebruikte enzym afgestemd substraat;
- h) een remmingsoplossing;
- i) bufferoplossingen voor de verdunning van de te onderzoeken monsters, de bereiding van reagentia en het spoelen van de vaste dragers;
- j) een afleessysteem met adequate, op het gebruikte substraat afgestemde filters.

2. Standaardisatie en gevoeligheid van de testmethode:

De gebruikte Elisa-testmethode moet zo gevoelig zijn dat het standaardserum een positieve reactie te zien geeft, wanneer het tien keer (serumstalen) of 250 keer (melkstalen) sterker is verdund dan de verdunning die met gegroepete monsters wordt verkregen.

Indien een test wordt toegepast waarbij monsters (serum of melk) individueel worden onderzocht, moet het standaardserum in de verdunning 1/10 (in negatief serum) of 1/250 (in negatieve melk) een positieve reactie te zien geven, wanneer het in eenzelfde verdunningsgraad wordt onderzocht dan deze gebruikt in de individuele tests.

Het standaardserum moet bij het nationaal veterinair laboratorium in Kopenhagen worden betrokken.

3. Voorwaarden voor het gebruik van de Elisa-test:

De Elisa-methode kan worden toegepast op een melkmonster uit de melkophaling van een bedrijf dat ten minste voor 30 % uit melkkoeien in de lactatieperiode bestaat.

De Elisa-methode kan worden uitgevoerd op een mengserum van bloed dat op maximaal 50 dieren wordt genomen.

Indien gebruik wordt gemaakt van deze mogelijkheid, moeten maatregelen getroffen worden om een verband te kunnen leggen tussen de genomen monsters en de dieren waarvan de onderzochte melk of sera afkomstig zijn.

4. Erkenning van de Elisa-tests:

De Elisa test voor de diagnose van EBL wordt lot per lot aan een controle van het NIDO onderworpen.

Om de erkenning van zijn Elisa test door de Minister te bekomen, moet de fabrikant of de verkoper:

1. een schriftelijke aanvraag indienen;
2. het noodzakelijk materiaal voor de erkenningscontroles gratis aan het NIDO ter beschikking stellen;
3. een leveringsregister bijhouden met vermelding van het aantal en de nummers van de loten van testen en op aanvraag het dubbel van de facturen aan de Dienst voorleggen;
4. ten laatste op 31 maart van elk jaar een voor éénsluidend verklaard overzicht van de leveringen die tijdens het voorbije jaar werden uitgevoerd voorleggen aan de Dienst;
5. in België geen Elisa test verkopen die niet beantwoordt aan de voorwaarden van dit besluit.

De erkenning wordt door de Minister ingetrokken wanneer de fabrikant of de verdeler de bepalingen van dit besluit niet naleeft.