

TARIEF VII.

Supplémenten op de tarieven I, II, III, IV en V

A. Voor prestaties tussen 17 uur en 8 uur van de daarop volgende dag, wordt per uur een supplement van 1 200 F aangerekend.

Voor vaartuigen van minder dan 300 ton bedraagt dat supplement op de tarieven I en II, 25 % van de voor het eerste uur vastgestelde sleeprechten.

B. Voor prestaties verricht op zondagen en wettelijke feestdagen wordt een supplement van 1 800 F per uur aangerekend.

Voor vaartuigen van minder dan 300 ton bedraagt dat supplement op de tarieven I en II, 50 % van de voor het eerste uur vastgestelde sleeprechten.

Art. 2. Dit besluit treedt in werking de eerste dag van de eerste maand volgend op die gedurende welke het in het *Belgisch Staatsblad* is bekendgemaakt.

Art. 3. Onze Minister van Verkeerswezen is belast met de uitvoering van dit besluit.

Gegeven te Brussel, 24 december 1987.

BOUDEWIJN

Van Koningswege :

De Minister van Verkeerswezen en Buitenlandse Handel,

H. DE CROO

TARIF VII.

Suppléments aux tarifs I, II, III, IV et V

A. Un supplément de 1 200 F par heure est perçu pour les prestations entre 17 heures et 8 heures du jour suivant.

Pour des bâtiments de moins de 300 tonnes ce supplément aux tarifs I et II est de 25 % des droits de remorque fixés pour la première heure.

B. Un supplément de 1 800 F par heure est perçu pour les prestations effectuées les dimanches et jours fériés légaux.

Pour des bâtiments de moins de 300 tonnes, ce supplément aux tarifs I et II est de 50 % des droits de remorque fixés pour la première heure.

Art. 2. Le présent arrêté entre en vigueur le premier jour du premier mois qui suit celui au cours duquel il aura été publié au *Moniteur belge*.

Art. 3. Notre Ministre des Communications est chargé de l'exécution du présent arrêté.

Donné à Bruxelles, le 24 décembre 1987.

BAUDOUIN

Par le Roi :

Le Ministre des Communications et du Commerce extérieur,

H. DE CROO

MINISTERIE VAN LANDBOUW

N. 88 — 289

20 JANUARI 1988. — Koninklijk besluit tot wijziging van het koninklijk besluit van 6 december 1978 betreffende de bestrijding van runderbrucellose

BOUDEWIJN, Koning der Belgen,

Aan allen die nu zijn en hierna wezen zullen, Onze Groot.

Gelet op de Dierengezondheidswet van 24 maart 1987;

Gelet op het koninklijk besluit van 6 december 1978 betreffende de bestrijding van runderbrucellose;

Gelet op de richtlijn 64/432/EEG van de Raad van 20 juni 1964, inzake veterinaire rechtelijke vraagstukken op het gebied van het intracommunautair handelsverkeer in runderen en varkens, met zijn wijzigingen;

Gelet op het akkoord van de Minister van Begroting, gegeven de 15 januari 1988;

Gelet op de wetten op de Raad van State, gecoördineerd op 12 januari 1973, inzonderheid op artikel 3, § 1, gewijzigd bij de wet van 9 augustus 1980;

Gelet op de dringende noodzakelijkheid;

Overwegende dat men zich onverwijld dient te schikken naar de bepalingen van de Richtlijn 64/432/EEG van de Raad van 20 juni 1964, laatst gewijzigd bij de Richtlijn 87/489/EEG van de Raad van 22 september 1987 en vanaf de volgende campagne voor de bestrijding van de runderbrucellose, de maatregelen van diergeneeskundige politie genomen in uitvoering van de Dierengezondheidswet van 24 maart 1987, dient aan te passen;

Op voorstel van Onze Minister van Buitenlandse Betrekkingen en van Onze Staatssecretaris voor Landbouw,

Hebben Wij besloten en besluiten Wij :

Artikel 1. Artikel 1, § 1, van het koninklijk besluit van 6 december 1978 betreffende de bestrijding van de runderbrucellose wordt vervangen door de volgende bepaling :

« De runderbrucellose is een dierenziekte die valt onder de toepassing van hoofdstuk III van de dierengezondheidswet van 24 maart 1987. »

Art. 2. In artikel 2 van hetzelfde besluit worden de volgende wijzigingen aangebracht :

A. 1 wordt vervangen door de volgende bepaling :

« 1. rund aangetast door brucellose : het rund dat klinische verschijnselen van brucellose vertoont of bij hetwelk laboratoriumonderzoeken hebben uitgewezen hetzij :

a) de aanwezigheid van brucella's;

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE

F. 88 — 289

20 JANVIER 1988. — Arrêté royal modifiant l'arrêté royal du 6 décembre 1978 relatif à la lutte contre la brucellose bovine

BAUDOUIN, Roi des Belges,

A tous, présents et à venir, Salut.

Vu la loi du 24 mars 1987 relative à la santé des animaux;

Vu l'arrêté royal du 6 décembre 1978 relatif à la lutte contre la brucellose bovine;

Vu 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, ainsi qu'elle a été modifiée;

Vu l'accord du Ministre du Budget, donné le 15 janvier 1988;

Vu les lois sur le Conseil d'Etat, coordonnées le 12 janvier 1973, notamment l'article 3, § 1^{er}, modifié par la loi du 9 août 1980;

Vu l'urgence;

Considérant qu'il y a lieu sans délai de se conformer aux dispositions de la Directive 64/432/CEE du Conseil du 26 juin 1964, modifiée en dernier lieu par la Directive 87/489/CEE du Conseil du 22 septembre 1987 et d'adapter dès la prochaine campagne de lutte contre la brucellose bovine, les mesures de police sanitaire en exécution de la loi du 24 mars 1987 relative à la santé des animaux;

Sur la proposition de Notre Ministre des Relations extérieures et de Notre Secrétaire d'Etat à l'Agriculture,

Nous avons arrêté et arrêtons :

Article 1^{er}. L'article 1^{er}, § 1^{er} de l'arrêté royal du 6 décembre 1978 relatif à la brucellose bovine est remplacé par la disposition suivante :

« La brucellose bovine est une maladie des animaux qui tombe sous l'application du chapitre III de la loi du 24 mars 1987 relative à la santé des animaux. »

Art. 2. A l'article 2 du même arrêté sont apportées les modifications suivantes :

A. Le 1 est remplacé par la disposition suivante :

« 1. bovin atteint de brucellose : le bovin qui présente des signes cliniques de brucellose ou chez lequel les examens de laboratoire ont décelé soit :

a) la présence de brucellas;

b) een agglutinatietiter gelijk aan of hoger dan 30 I.E. per milliliter;

c) een titer van 20 of meer EEG-sensibilisatie-eenheden per milliliter.

Wordt evenwel niet beschouwd als aangetast door brucellose :

— het rund jonger dan dertig maanden, waarvoor de vaccinatie werd toegelaten overeenkomstig artikel 38 met het vaccin BUCK 19 op de leeftijd van vier tot zes maanden, of met een andere entstof goedgekeurd door de Europese Gemeenschappen, en dat een agglutinatietiter van minder dan 80 I.E. per milliliter vertoont, evenals :

— een titer van minder dan 30 EEG-sensibilisatie-eenheden indien het dieren betreft die minder dan twaalf maanden geleden ingeënt zijn;

— een titer van minder dan 20 EEG-sensibilisatie-eenheden in alle andere gevallen;

— het rund gevaccineerd in toepassing van artikel 23bis, sedert minder dan honderd tachtig dagen, en dat een agglutinatietiter van minder dan 200 I.E. per milliliter vertoont, evenals een titer van minder dan 100 EEG-sensibilisatie-eenheden op de complementbindingsreactie. »

B. Punt 2 wordt aangevuld als volgt :

« d) hetzij behoort tot een haard. »

C. Punt 3 wordt opgeheven.

Art. 3. Artikel 9, tweede lid, van hetzelfde besluit wordt als volgt gewijzigd :

A. 1 wordt vervangen door de volgende bepaling :

« 1. alle runderen van de veestapel worden geïdentificeerd door het aanbrengen in het rechteroor van een speciaal merkteken erkend volgens de richtlijnen van de Minister van Landbouw.

De verantwoordelijke van deze runderen is verplicht :

a) de inspecteur-dierenarts op de hoogte te brengen van alle verliesen, wijzigingen of veranderingen van deze speciale merktekens voor identificatie;

b) erop toe te kijken dat de aanduidingen aangebracht op deze merktekens altijd duidelijk leesbaar zijn. »

B. 2 wordt vervangen door de volgende bepaling :

« 2. alle runderen van de veestapel worden binnen de gebouwen van het bedrijf waar ze worden onderbracht afgezonderd.

Nochtans kan de inspecteur-dierenarts toelaten dat de niet-drachtige dieren, voor zover ze binnen de dertig voorafgaande dagen de proeven bedoeld in bijlage II A en B hebben ondergaan met negatief resultaat afgezonderd worden op iedere andere plaats zodanig dat rechtstreeks of onrechtstreeks contact met runderen van andere bedrijven onmogelijk is. »

Art. 4. In hoofdstuk III van hetzelfde besluit wordt een afdeling 3bis en een artikel 23bis ingevoegd, luidend als volgt :

« Afdeling 3bis. — Zonale profylaxie.

Artikel 23bis. De Minister van Landbouw kan tijdelijk in de gemeenten of gebieden, door hem aangeduid, waar een bijzonder gevaar voor uitbreiding van de brucellose bestaat :

1. maatregelen nemen voor de intensivering van de opsporing van de brucellose en van de uitvoering van de serologische balansen en andere onderzoeken. Hij legt de termijnen vast waarbinnen ze moeten verwezenlijkt worden;

2. de modaliteiten van uitzuivering en de termijnen waarbinnen deze moeten verwezenlijkt worden, bepalen;

3. in afwijking van de bepalingen van artikel 38 volgens de wijze die hij bepaalt, het inenten tegen brucellose toelaten met de entstof BUCK 19 of een andere entstof goedgekeurd door de Europese Gemeenschappen, evenals de bijzondere maatregelen die er van toepassing zijn, treffen. »

Art. 5. Artikel 24, tweede lid, van hetzelfde besluit wordt aangevuld als volgt :

onverminderd de bepalingen, onder andere van de artikelen 10, 11, 13 en 56 ».

Art. 6. Artikel 31, eerste lid, van hetzelfde besluit wordt vervangen door de volgende bepaling :

« Artikel 31. Alleen het Nationaal Instituut voor Diergeneeskundig Onderzoek en de in bijlage III voorkomende laboratoria zijn gemachtigd biologische proeven op melk, bloed en op elk andere stof, met het oog op de diagnose van runderbrucellose te verrichten. »

Art. 7. In artikel 37 van hetzelfde besluit worden de woorden « voor het opsporen, de diagnose, het onderzoek en de controle van brucellose » geschrapt.

b) un titre agglutinique égal ou supérieur à 30 U.I. par millilitre;

c) un titre en unités sensibilisatrices égal ou supérieur à 20 U CEE par millilitre.

Cependant, n'est pas considéré comme atteint de brucellose :

— le bovin âgé de moins de trente mois dont la vaccination a été autorisée conformément à l'article 38 avec le vaccin BUCK 19 à l'âge de quatre à six mois, ou avec un vaccin agréé par les Communautés Européennes et qui présente un titre agglutinique inférieur à 80 U.I. par millilitre, ainsi que :

— un titre inférieur à 30 U CEE sensibilisatrices s'il s'agit d'animaux vaccinés depuis moins de douze mois;

— un titre inférieur à 20 U CEE sensibilisatrices dans tous les autres cas;

— le bovin vacciné en application de l'article 23bis, depuis moins de cent quatre-vingt jours et présentant un titre agglutinique inférieur à 200 U.I. par millilitre ainsi qu'un titre inférieur à 100 U CEE sensibilisatrices à l'épreuve de la fixation du complément. »

B. Le 2 est complété comme suit :

« d) soit fait partie d'un foyer. »

C. Le 3 est abrogé.

Art. 3. A l'article 9, alinéa 2, de ce même arrêté sont apportées les modifications suivantes :

A. Le 1 est remplacé par la disposition suivante :

« 1. tous les bovins du cheptel sont identifiés par apposition à l'oreille droite d'une marque spéciale agréée suivant les directives du Ministre de l'Agriculture.

Le responsable de ces bovins est tenu :

a) d'avertir l'inspecteur vétérinaire de toute perte, modification ou altération de ces marques d'identification spéciales;

b) de veiller à ce que les inscriptions mentionnées sur ces marques soient en tout temps parfaitement lisibles. »

B. Le 2 est remplacé par la disposition suivante :

« 2. tous les bovins du cheptel sont isolés dans les locaux d'hébergement de l'exploitation.

Toutefois, l'inspecteur vétérinaire peut autoriser que les bovins non gestants, pour autant qu'ils aient subi dans les trente jours précédents, avec réactions négatives, les épreuves visées à l'annexe I A et B, soient isolés dans tout autre endroit sans contact direct ou indirect possible avec les bovins d'autres exploitations. »

Art. 4. Dans le chapitre III du même arrêté sont insérés une section 3bis et un article 23bis, rédigés comme suit :

« Section 3bis. — Prophylaxie zonale.

Article 23bis. Dans les communes ou régions à risques particuliers d'extension de la brucellose, qu'il désigne, le Ministre de l'Agriculture peut temporairement :

1. prendre des mesures en vue de l'intensification du dépistage de la brucellose et de la réalisation des bilans sérologiques et autres examens. Il fixe les délais dans lesquels ils doivent être effectués;

2. déterminer les modalités d'assainissement et les délais dans lesquels cet assainissement doit être réalisé;

3. autoriser, en dérogation aux dispositions de l'article 38, selon les modalités qu'il détermine, la vaccination antibrucellique à l'aide du vaccin BUCK 19 ou d'un autre vaccin agréé par les Communautés européennes ainsi que fixer les mesures particulières y applicables. »

Art. 5. L'article 24, alinéa 2 du même arrêté est complété comme suit :

« sans préjudice des dispositions notamment des articles 10, 11, 13 et 56 ».

Art. 6. L'article 31, premier alinéa, du même arrêté est remplacé par la disposition suivante :

« Article 31. L'Institut National de Recherches Vétérinaires et les laboratoires visés à l'annexe III sont seuls habilités à exécuter les épreuves biologiques sur le lait, le sang et toutes autres substances en vue du diagnostic de la brucellose bovine. »

Art. 7. A l'article 37 du même arrêté les mots « pour le dépistage, le diagnostic, la recherche et le contrôle de la brucellose » sont supprimés.

Art. 8. In artikel 40, 1e lid, van hetzelfde besluit worden tussen de woorden « tenzij » en « het » de woorden « het drager is van de voorgeschreven oormerken en » ingevoegd.

Art. 9. In artikel 41, 1e lid van hetzelfde besluit worden de woorden « en, naar gelang van het geval het resultaat van de serologische proeven uit te voeren binnen de dertig dagen die het vertrek uit het bedrijf voorafgaat » geschrapt.

Art. 10. Artikel 42 van hetzelfde besluit wordt vervangen door de volgende bepaling :

« Art. 42. Onverminderd de bepalingen van artikel 39, § 2, bekomt een veestapel waaraan een rund wordt toegevoegd het statuut van de veestapel van herkomst, indien dit lager is dan het eigen statuut. In dit geval is het artikel 3 van het koninklijk besluit van 6 december 1978 tot bevordering van de runderbrucellosebestrijding niet meer van toepassing totdat de veestapel waaraan het rund werd toegevoegd, terug zijn oorspronkelijk gezondheidsstatuut verkregen heeft.

Indien runderen, afkomstig van bedrijven met verschillende statuten, tijdens de overbrenging contacten hebben, vervangt het laagste statuut het statuut vermeld op de attesten. »

Art. 11. Artikel 43, eerste lid, van hetzelfde besluit wordt vervangen door de volgende leden :

« Hij die een rund verwerft voor de kweek, melkwinning of vetmesting moet :

1^o van de overdrager de afgifte eisen van het attest dat het dier vergezelt zoals bedoeld in artikel 40 en het behoorlijk ingevuld doen toekomen bij de inspecteur-dierenarts, onmiddellijk na ontvangst van de resultaten van de voorgeschreven onderzoeken;

2^o binnen de 48 uren volgend op de verwerving van het rund, beroep doen op een aangenomen dierenarts naar zijn keuze, om het dier te onderzoeken en over te gaan tot het nemen van een bloedmonster en desgevallend van elke andere stof noodzakelijk voor de diagnose van de brucellose, overeenkomstig de onderrichtingen van de Minister van Landbouw.

Deze verplichting tot staalname is niet van toepassing op runderen jonger dan twaalf maanden en op mannelijke runderen of castraten jonger dan dertig maanden, bestemd voor de vestmesting.

Hij mag het rund alleen toevoegen aan zijn veestapel op voorwaarde dat de onderzoeken bedoeld in het eerste lid, 2^o, negatieve resultaten hebben gegeven. »

Art. 12. In hetzelfde besluit wordt een artikel 43bis, luidend als volgt ingevoegd :

« Artikel 43bis : de aangenomen dierenarts bedoeld in artikel 43 is gehouden :

1^o de gelijkvormigheid van de identificatiemerken en van het signalement van het rund met deze vermeld op de identificatiekaart en het attest zoals bedoeld in artikel 40, evenals de geldigheid van dit laatste na te gaan. In voorkomend geval brengt hij de inspecteur-dierenarts op de hoogte van vastgestelde onregelmatigheden;

2^o binnen de drie dagen volgend op de oproep van de verwerfer over te gaan tot klinisch onderzoek van het rund evenals tot het nemen van de vereiste monsters overeenkomstig de onderrichtingen van de Minister van Landbouw;

3^o op zijn verantwoordelijkheid de monsters te laten toekomen voor analyse in het provinciaal laboratorium bedoeld in bijlage III;

4^o zodra hij de resultaten van deze analyse ontvangt, ze mee te delen aan de verwerfer en ze in te schrijven op het attest bedoeld in artikel 40. »

Artikel 3 van het koninklijk besluit van 6 december 1978 tot bevordering van de runderbrucellosebestrijding, is niet van toepassing op dit artikel.

Art. 13. Artikel 57, eerste lid van hetzelfde besluit wordt opgeheven.

Art. 14. Artikel 59 van hetzelfde besluit wordt vervangen door de volgende bepaling :

« Artikel 59. Overtredingen van de bepalingen van dit besluit worden opgespoord, vastgesteld en gestraft overeenkomstig de hoofdstukken V en VI van de Dierengezondheidswet van 24 maart 1987.

De dieren die in beslag worden genomen en indien ze teruggebracht werden bij de eigenaar worden beschouwd als verdacht a: ngetast door brucellose en de bepalingen van de artikels 7 en 8 zijn van toepassing op deze bedrijven.

Alle kosten van vervoer en van serologisch onderzoek vallen ten laste van de overtredders. »

Art. 8. Dans l'article 40, premier paragraphe du même arrêté, les mots « qui ne soit pas porteur des marques auriculaires prescrites » et « sont insérés entre les mots « bœvin » et « qui ».

Art. 9. A l'article 41, premier paragraphe du même arrêté, les mots « et, le cas échéant, le résultat des épreuves sérologiques à effectuer dans les trente jours précédant le départ de l'exploitation » sont supprimés.

Art. 10. L'article 42 du même arrêté est remplacé par la disposition suivante :

« Art. 42. Sans préjudice des dispositions de l'article 39, § 2, un cheptel dans lequel un bovin est introduit reçoit le statut du cheptel de provenance, si celui-ci est inférieur à son propre statut. Dans ce cas, l'article 3 de l'arrêté royal du 6 décembre 1978 relatif à l'encouragement de la lutte contre la brucellose n'est plus d'application, jusqu'à ce que le cheptel dans lequel le bovin a été introduit ait été requalifié par son statut sanitaire d'origine.

Si, au cours du transport, des bovins provenant de cheptels avec statuts différents ont des contacts, le statut le plus bas remplace le statut mentionné sur les attestations. »

Art. 11. L'article 43, premier alinéa, du même arrêté est remplacé par les alinéas suivants :

« Celui qui acquiert un bovin pour l'élevage, l'exploitation laitière ou l'engraissement doit :

1^o exiger du cédant la remise de l'attestation visée à l'article 40 qui accompagne le bovin, et la faire parvenir à l'inspecteur vétérinaire dûment complétée, dès réception des résultats des examens prescrits;

2^o faire appel endéans les 48 heures qui suivent l'acquisition du bovin, à un médecin vétérinaire agréé de son choix, afin de le faire examiner et de faire procéder sur celui-ci à un prélèvement de sang et le cas échéant, de toute autre substance nécessaire au diagnostic de la brucellose, conformément aux instructions du Ministre de l'Agriculture.

Cette obligation de prélèvement ne s'applique pas aux bovins âgés de moins de douze mois ainsi qu'aux bovins mâles et castrats de moins de trente mois destinés à l'engraissement.

Il ne peut introduire ce bovin dans son cheptel qu'à la condition que les examens visés à l'alinéa premier, 2^o, aient donné des résultats négatifs. »

Art. 12. Un article 43bis, rédigé comme suit est inséré dans le même arrêté :

« Article 43bis : le médecin vétérinaire agréé visé à l'article 43 est tenu de :

1^o contrôler la conformité des marques d'identification et du signalement du bovin avec ceux mentionnés sur la fiche d'identification et l'attestation visée à l'article 40, ainsi que la validité de cette dernière. Le cas échéant, il informe l'inspecteur vétérinaire des irrégularités constatées;

2^o procéder, endéans les trois jours qui suivent l'appel de l'acquéreur, à l'examen clinique du bovin ainsi qu'aux prélèvements requis conformément aux instructions du Ministre de l'Agriculture;

3^o faire parvenir, sous sa responsabilité, les prélèvements au laboratoire provincial visé à l'annexe III, en vue de leur analyse;

4^o communiquer, dès réception, les résultats de ces analyses à l'acquéreur et les inscrire sur l'attestation visée à l'article 40. »

L'article 3 de l'arrêté royal du 6 décembre 1978 relatif à l'encouragement de la lutte contre la brucellose ne s'applique pas au le présent article.

Art. 13. L'article 57, alinéa 1^{er} du même arrêté est abrogé.

Art. 14. L'article 59 du même arrêté est remplacé par la disposition suivante :

« Article 59. Les infractions aux dispositions du présent arrêté sont recherchées, constatées et sanctionnées conformément aux chapitres V et VI de la loi du 24 mars 1987 relative à la santé des animaux.

Les bovins saisis au cas où ils sont remis au propriétaire, sont considérés comme suspects d'être atteints de brucellose et les dispositions des articles 7 et 8 sont d'application dans ces exploitations.

Tous les frais de transport et de contrôle sérologique sont à charge des contrevenants. »

Art. 15. De bijlagen I en II van hetzelfde besluit worden vervangen door de bijlage I en II bij dit besluit.

Art. 16. Dit besluit treedt in werking de dag van zijn bekendmaking in het *Belgisch Staatsblad*.

Art. 17. Onze Minister van Buitenlandse Betrekkingen en Onze Staatssecretaris voor Landbouw zijn, ieder wat hem betreft, belast met de uitvoering van dit besluit.

Gegeven te Brussel, 20 januari 1988.

BOUDEWIJN

Van Koningswege :

De Minister van Buitenlandse Betrekkingen,
L. TINDEMANS

De Staatssecretaris voor Landbouw,
P. DE KEERSMAEKER

Bijlage I

bij het koninklijk besluit van 20 januari 1988

GEZONDHEIDSSTATUUT VAN DE VEESTAPELS

A. Onder veestapel met gezondheidsstatuut B1 wordt verstaan : een veestapel waarvan de klinische antecedenten en de toestand op het gebied van de inenting en op serologisch gebied onbekend zijn.

B. Onder veestapel met gezondheidsstatuut B2 wordt verstaan : een veestapel waarvan de klinische antecedenten, de toestand op het gebied van de inenting en op serologisch gebied bekend zijn en waarbij routinecontroletests worden verricht overeenkomstig bijlage 1 C, nodig om dergelijke veestapel een B3 (brucellosevrij) of B4 (officieel brucellosevrij) gezondheidsstatuut te geven.

C. Onder veestapel met gezondheidsattest B3 of brucellosevrij wordt verstaan : een veestapel :

a) waartoe geen mannelijk rund behoort dat tegen brucellose is ingeënt;

b) waar alle of een deel van de vrouwelijke runderen zijn ingeënt :

— op een leeftijd van ten hoogste zes maanden met de levende entstof Buck 19, of met een andere door de Europese Gemeenschappen goedgekeurde entstof;

— op een leeftijd van ten hoogste vijftien maanden, met de gedode geadjuveerde entstof 45/20, die officieel gecontroleerd en erkend is;

c) waar alle runderen voldoen aan de in bijlage I, D, b en c, vermelde voorwaarden, met dien verstande dat de runderen die jonger zijn dan dertig maanden en die met de levende entstof Buck 19 zijn ingeënt, bij een bloedserumagglutinatie een brucellose-titer van 30 I.E. per milliliter of meer, maar minder dan 80 I.E. per milliliter vertonen, mits zij bij de complementbindingsreactie :

— een titer van minder dan 30 EEG-eenheden vertonen, indien het vrouwelijke runderen betreft die minder dan twaalf maanden geleden zijn ingeënt;

— in alle andere gevallen een titer van minder dan 20 EEG-eenheden vertonen.

De serumagglutinatie-tests bedoeld onder punt D, c, i, mogen vervangen worden door gebufferde brucella-antigeentests uitgevoerd overeenkomstig bijlage II, onder D of door micro-agglutinatie-tests uitgevoerd overeenkomstig bijlage II, punt G;

d) waaraan geen enkel rund is toegevoegd zonder een attest van een dierenarts, waaruit blijkt dat het voldoet aan de in bijlage I, D, d gestelde voorwaarden, of dat het afkomstig is van een veestapel met gezondheidsstatuut B3 of brucellosevrij en, in dit geval, indien twaalf maanden of ouder, binnen dertig dagen voor de opname in het veebeslag, bij een bloedserumagglutinatie, verricht, overeenkomstig bijlage II, een brucellose-titer van minder dan 30 I.E. per milliliter en een negatieve complementbindingsreactie heeft vertoond.

Art. 15. Les annexes I et II du même arrêté sont remplacées par les annexes I et II du présent arrêté.

Art. 16. Le présent arrêté entre en vigueur le jour de sa publication au *Moniteur belge*.

Art. 17. Notre Ministre des Relations extérieures et Notre Secrétaire d'Etat à l'Agriculture sont chargés, chacun en ce qui le concerne, de l'exécution du présent arrêté.

Donné à Bruxelles, le 20 janvier 1988.

BAUDOUIN

Par le Roi :

Le Ministre des Relations extérieures,
L. TINDEMANS

Le Secrétaire d'Etat à l'Agriculture,
P. DE KEERSMAEKER

Annexe I

à l'arrêté royal du 20 janvier 1988

STATUT SANITAIRE DES CHEPTELS

A. Par cheptel avec statut sanitaire B1, on entend : cheptel dans lequel les antécédents cliniques et la situation quant à la vaccination et au statut sérologique sont inconnus.

B. Par cheptel avec statut sanitaire B2, on entend : cheptel dans lequel les antécédents cliniques, la situation quant à la vaccination et au statut sérologique sont connus et dans lequel des épreuves de contrôle de routine sont effectuées conformément à l'annexe 1 C pour amener ce cheptel bovin au statut sanitaire de type B3 (indemne de brucellose) ou B4 (officiellement indemne de brucellose).

C. Par cheptel avec statut sanitaire B3 ou indemne de brucellose, on entend : un cheptel :

a) dans lequel il ne se trouve aucun bovin mâle ayant été vacciné contre la brucellose;

b) dans lequel toutes les femelles de l'espèce bovine ou une partie d'entre elles, ont été vaccinées :

— à l'âge de six mois au plus à l'aide du vaccin vivant Buck 19, ou d'un autre vaccin agréé par les Communautés européennes;

— à l'âge de quinze mois au plus, à l'aide du vaccin tué adjuvé 45/20 contrôlé et reconnu officiellement;

c) dans lequel tous les bovins satisfont aux conditions indiquées à l'annexe I, D, b et c, étant entendu que les bovins, qui ont été vaccinés à l'aide du vaccin vivant Buck 19, âgés de moins de trente mois peuvent présenter un titre brucellique égal ou supérieur à 30 U.I. agglutinantes par millilitre, mais inférieur à 80 U.I. agglutinantes par millilitre pour autant qu'ils présentent lors de la réaction de fixation du complément :

— un titre inférieur à 30 unités CEE, s'il s'agit de femelles vaccinées depuis moins de douze mois;

— un titre inférieur à 20 unités CEE dans tous les autres cas.

Les épreuves de séro-agglutination visées au point D, c, i, peuvent être remplacées par des épreuves à l'antigène brucellique tamponné effectuées conformément à l'annexe II, point D ou par des épreuves de micro-agglutination effectuées conformément à l'annexe II, point G;

d) dans lequel aucun bovin n'a été introduit sans une attestation d'un vétérinaire agréé certifiant qu'il se trouve dans les conditions prévues à l'annexe I, D, d ou qu'il provient d'un cheptel avec statut sanitaire B3, ou indemne de brucellose et, dans ce cas, s'il est âgé de douze mois ou plus, qu'il a présenté, dans les trente jours avant l'introduction dans le cheptel selon les dispositions de l'annexe II, un titre brucellique inférieur à 30 U.I. agglutinantes par millilitre et une réaction de fixation du complément négative.

Betreft het echter een ingeënt rund jonger dan dertig maanden, dan mag de bloedserumagglutinatie een brucellose titer van 30 I.E. per milliliter of meer, maar minder dan 80 I.E. per milliliter vertonen, mits het bij de complementbindingsreactie :

— een titer van minder dan 30 EEG-eenheden vertoont, indien het een vrouwelijk rund betreft dat minder dan twaalf maanden geleden is ingeënt;

— na de twaalfde maand volgend op de inenting een titer van minder dan 20 EEG-eenheden vertoont.

D. Onder veestapel met gezondheidsstatuut B4 of officieel brucellosevrij wordt verstaan, een veestapel :

a) waartoe geen runderen behoren die tegen brucellose zijn ingeënt, tenzij het vrouwelijke runderen betreft die minstens drie jaar geleden zijn ingeënt;

b) waar alle runderen sedert ten minste zes maanden geen klinische brucelloseverschijnselen vertonen;

c) waar alle runderen die twaalf maanden of ouder zijn :

i) bij 2 onder officieel toezicht met een tussenpoos van ten minste drie maanden en ten hoogste twaalf maanden volgens het bepaalde in bijlage II, verrichte bloedserumagglutinaties een brucellose titer hebben vertoond van minder dan 30 I.E. per milliliter; de eerste bloedserumagglutinaties kan worden vervangen door drie ringtests, uitgevoerd met een tussenpoos van drie maanden, mits de tweede bloedserumagglutinaties ten minste zes weken na de derde ringtest wordt verricht; de serumagglutinatietests bedoeld in deze alinea mogen vervangen worden door 2 officiële gebufferde brucella-antigeentests of 2 micro-agglutinatietests uitgevoerd overeenkomstig bijlage II, onder G. Deze tests worden eveneens uitgevoerd met een tussenpoos van ten minste drie en ten hoogste twaalf maanden.

ii) jaarlijks worden gecontroleerd door middel van drie ringtests verricht met een tussenpoos van ten minste drie maanden, of twee ringtests verricht met een tussenpoos van ten minste drie maanden en één serologische test (serumagglutinatietest, gebufferde brucella-antigeentest, plasma-agglutinatietest, plasmamelkringtest of micro-agglutinatietest) verricht ten minste zes weken na de tweede ringtest, ten einde de afwezigheid van brucellose vast te stellen. Indien geen ringtests worden uitgevoerd, dienen elk jaar twee serologische tests (serumagglutinatietest, gebufferde brucella-antigeentest, plasma-agglutinatietest, plasmamelkringtest of micro-agglutinatietest) te worden uitgevoerd met een tussenpoos van ten minste drie en ten hoogste zes maanden.

Wanneer in het ganse Rijk of een gebied van het Rijk, waar voor alle rundveebeslagen officiële maatregelen inzake brucellosebestrijding gelden, het percentage besmette rundveebeslagen niet hoger ligt dan 1, behoeven jaarlijks slechts 2 ringtests te worden verricht met een tussenpoos van ten minste drie maanden of een serologische test (serumagglutinatietest, gebufferde brucella-antigeentest, plasma-agglutinatietest, plasmamelkringtest of micro-agglutinatietest).

Bij controle van de inhoud van melktanks wordt het aantal tests bedoeld in de vorige leden verdubbeld en worden de aldaar bedoelde tussentijden gehalveerd; »

iii) van de eisen met betrekking tot de sub ii) bedoelde jaarlijkse controle op afwezigheid van brucellose kan worden afgezien indien ten minste 99,8 % van de rundveebeslagen sinds ten minste vier jaar officieel als brucellosevrij zijn erkend; in dat geval kan de tussenpoos voor de controle tot twee jaar worden verlengd en moeten de controles worden verricht door middel van een der sub ii) genoemde serologische proeven.

d) waaraan geen enkel rund is toegevoegd zonder een attest van een aangenomen dierenarts, waaruit blijkt dat het afkomstig is van een veebeslag met gezondheidsstatuut B4 of officieel brucellosevrij en, indien het twaalf maand of ouder is, dat bij een bloedserumagglutinaties, die binnen de dertig dagen voor de toevoeging aan de veestapel werd verricht overeenkomstig het bepaalde in bijlage II, een brucellose titer van minder dan 30 I.E. per milliliter heeft vertoond :

i) de bloedserumagglutinaties behoort echter niet te worden geëist, wanneer het percentage haarden sinds ten minste twee jaar niet hoger ligt dan 0,2 en wanneer uit een attest van een aangenomen dierenarts blijkt dat het desbetreffende rund :

1. behoorlijk is geïdentificeerd;

2. afkomstig is uit een veestapel met gezondheidsstatuut B4 of officieel brucellosevrij;

Toutefois, s'il s'agit d'un bovin vacciné âgé de moins de trente mois, il peut présenter un titre brucellique égal ou supérieur à 30 U.I. agglutinantes par millilitre, mais inférieur à 80 U.I. agglutinantes par millilitre, pour autant qu'il présente, lors de la réaction de fixation du complément :

— un titre inférieur à 30 unités CEE, s'il s'agit d'un bovin femelle vaccinée depuis moins de douze mois;

— un titre inférieur à 20 unités CEE après le douzième mois suivant la vaccination.

D. Par cheptel avec statut sanitaire B4 ou cheptel officiellement indemne de brucellose, on entend, un cheptel :

a) dans lequel ne se trouvent pas de bovins vaccinés contre la brucellose, à moins qu'il ne s'agisse de femelles ayant été vaccinées depuis au moins trois ans;

b) dans lequel tous les bovins sont exempts de signes cliniques de brucellose depuis six mois au moins;

c) dans lequel tous les bovins âgés de douze mois ou plus :

i) ont présenté, à l'occasion de 2 séro-agglutinations pratiquées officiellement à des intervalles de trois mois au moins et de douze mois au plus selon les dispositions de l'annexe II, un titre brucellique inférieur à 30 U.I. agglutinantes par millilitre; la première séro-agglutination peut être remplacée par trois épreuves de l'anneau (ringtest) effectuées à intervalle de trois mois, à la condition toutefois que la seconde séro-agglutination soit effectuée six semaines au moins après la troisième épreuve de l'anneau; les épreuves de séro-agglutination au présent alinéa peuvent être remplacées par deux épreuves à l'antigène brucellique tamponné pratiquées officiellement ou par deux épreuves de micro-agglutination pratiquées conformément à l'annexe II, point G. Ces épreuves sont également effectuées à intervalle de trois mois au moins et de douze mois au plus;

ii) sont contrôlés annuellement pour déterminer l'absence de brucellose par 3 épreuves de l'anneau effectuées à intervalles d'au moins trois mois ou 2 épreuves de l'anneau à intervalle d'au moins trois mois et une épreuve sérologique (épreuve de séro-agglutination, épreuve à l'antigène brucellique tamponné, épreuve de plasmagglutination, épreuve de l'anneau de lait sur plasma sanguin ou épreuve de micro-agglutination) pratiquée six semaines au moins après la deuxième épreuve de l'anneau. Lorsque les épreuves de l'anneau ne sont pas pratiquées, 2 épreuves sérologiques (épreuve de séro-agglutination, épreuve à l'antigène brucellique tamponné, épreuve de plasmagglutination, épreuve de l'anneau de lait sur plasma sanguin ou épreuve de micro-agglutination) sont effectuées chaque année à intervalles de trois mois au moins et de six mois au plus.

Lorsque, dans tout le Royaume ou dans une région du Royaume où la totalité des cheptels bovins est soumise aux opérations officielles de lutte contre la brucellose, le pourcentage des cheptels bovins infectés n'est pas supérieur à 1, il suffit de procéder annuellement à 2 épreuves de l'anneau à intervalles d'au moins trois mois ou à une épreuve sérologique (épreuve de séro-agglutination, épreuve à l'antigène brucellique tamponné, épreuve de plasmagglutination, épreuve de l'anneau de lait sur plasma sanguin ou épreuve de micro-agglutination).

En cas de contrôle sur le contenu des citernes, le nombre des épreuves visé aux alinéas précédents est à doubler et les intervalles sont à réduire de moitié; »

iii) il peut être renoncé aux exigences concernant le contrôle annuel de l'absence de brucellose prévu sous ii) lorsque au moins 99,8 % du cheptel bovin sont reconnus officiellement indemnes de brucellose depuis quatre ans au minimum; dans ce cas, l'intervalle entre les contrôles peut être porté à deux ans et les contrôles doivent être effectués à l'aide de l'une des épreuves sérologiques citées sous ii).

d) dans lequel aucun bovin n'a été introduit sans qu'une attestation d'un vétérinaire agréé ne certifie que ce bovin provient d'un cheptel avec statut sanitaire B4 ou officiellement indemne de brucellose et, s'il est âgé de douze mois au plus, qu'il a présenté un titre brucellique inférieur à 30 U.I. agglutinantes par millilitre, lors d'une séro-agglutination pratiquée selon les dispositions de l'annexe II, dans les trente jours avant l'introduction dans le cheptel :

i) toutefois, la séro-agglutination peut ne pas être exigée quand le pourcentage de foyers n'est pas, depuis deux ans au moins, supérieur à 0,2 et s'il résulte d'une attestation d'un vétérinaire agréé que le bovin :

1. est dûment identifié;

2. provient d'un cheptel avec statut sanitaire B4 ou officiellement indemne de brucellose;

3. bij zijn vervoer niet in aanraking is gekomen met runderen die niet afkomstig zijn uit veestapels met gezondheidsstatuut B4 of officieel brucellosevrij;

ii) het sub i) bedoelde attest hoeft niet te worden geëist wanneer sedert ten minste vier jaar :

— 99,80 pct. van de veestapel het gezondheidsstatuut B4 hebben of officieel brucellosevrij zijn;

— op de veestapels die niet het gezondheidsstatuut B4 hebben of niet als officieel brucellosevrij erkend zijn, officieel toezicht bestaat, waarbij het overbrengen van runderen buiten deze veestapels verboden is behalve wanneer zij naar een slachthuis worden gebracht vergezeld van een geleidebrief afgeleverd door de inspecteur-dierenarts.

Gezien om te worden gevoegd bij Ons besluit van 20 januari 1988.

BOUDEWIJN

Van Koningswege :

De Minister van Buitenlandse Betrekkingen,
L. TINDEMANS

De Staatssecretaris voor Landbouw,
P. DE KEERSMAEKER

Bijlage 2

bij het koninklijk besluit van 20 januari 1988

De biologische proeven

A. Bloedserumagglutinatie :

1. De sub-standaard van het brucellose-serum moet overeenkomen met het in het Veterinary-Laboratory Weybridge/Surrey, Engeland, bereide internationale standaard-serum.

De ampul moet 1000 internationale agglutinatie-eenheden (I.E.) bevatten per 1 milliliter gelyofiliseerd runderbrucellose-serum.

2. Het standaardserum moet bij het Bundesgesundheitsamt te Berlijn betrokken worden.

3. Het gehalte aan brucellaagglutininen van een serum moet worden uitgedrukt in internationale eenheden (I.E.) per milliliter (bijvoorbeeld serum X = 80 I.E. per milliliter).

4. Het aflezen van de langzame serumagglutinatie in reageerbuisjes moet geschieden bij 50 pct. of 75 pct. agglutinatie, waarbij het gebruikte antigeen op dezelfde wijze moet zijn getitreerd ten opzichte van een standaardserum.

5. Het agglutinatievermogen van de verschillende antigeensoorten ten opzichte van het standaardserum moet gelegen zijn tussen de volgende grenzen :

— indien het aflezen geschiedt bij 50 pct. : tussen 1/600 en 1/1000;

— indien het aflezen geschiedt bij 75 pct. : tussen 1/500 en 1/750.

6. Voor de bereiding van antigeen, bestemd voor de serumagglutinatie in reageerbuisjes (langzame methode), moeten de stammen Weybridge, nr. 99 en U.S.D.A. 1119 of enige andere stam met een gelijke gevoeligheidsreactie worden gebruikt.

7. De voedingsbodems, zowel voor het kweken van de stam in laboratoria als voor de produktie van antigeen, moeten zo worden gekozen dat zij de dissociatie van de brucellosekiemen (S-R) niet bevorderen; bij voorkeur moeten voedingsbodems op basis van aardappelen worden gebruikt.

8. De bacterie-emulsie moet gevormd worden in een fysiologische oplossing (NaCl 8,5 %) met een fenoltoevoeging van 0,5 pct. Formoline mag niet gebruikt worden.

9. Het Nationaal Instituut voor diergeneeskundig onderzoek is belast met het officieel toezicht op de antigenen.

10. De antigenen kunnen geconcentreerd worden geleverd voor zover op het etiket van de fles de vereiste verdunningsgraad is aangegeven.

11. Voor een serumagglutinatie moeten minstens 3 verdunningen voor elk serum worden ingesteld. Het verdachte serum moet zo verdund worden dat de aan de infectiegrens liggende reactie in het middelste reageerbuisje wordt afgelezen. Bij een positieve reactie in dit buisje bevat dus het verdachte serum een hoeveelheid van minstens 30 I.E. per milliliter.

3. n'est pas entré en contact, à l'occasion de son transport, avec des bovins ne provenant pas de cheptels avec statut sanitaire B4 ou officiellement indemnes;

ii) l'attestation prévue sous i) peut ne pas être exigée quand depuis quatre ans au minimum :

— 99,80 p.c. au moins des cheptels ont le statut sanitaire B4 ou sont reconnus officiellement indemnes de brucellose et,

— les cheptels qui n'ont pas le statut sanitaire B4 ou qui ne sont pas officiellement indemnes se trouvent sous contrôle officiel, le transfert des bovins hors de ces cheptels étant interdit, sauf s'ils sont conduits à l'abattage sous le couvert d'un sauf-conduit délivré par l'inspecteur vétérinaire.

Vu pour être annexé à Notre arrêté du 20 janvier 1988.

BAUDOIN

Par le Roi :

Le Ministre des Relations extérieures,
L. TINDEMANS

Le Secrétaire d'Etat à l'Agriculture,
P. DE KEERSMAEKER

Annexe 2

à l'arrêté royal du 20 janvier 1988

Les épreuves biologiques

A. Séro-agglutination :

1. Le sérum agglutinant standard doit être conforme au sérum étalon préparé par le Veterinary Laboratory, à Weybridge/Surrey, Angleterre.

L'ampoule doit contenir 1000 unités internationales (U.I.) agglutinantes provenant de la lyophilisation de 1 millilitre de sérum bovin.

2. La fourniture du sérum standard doit être assurée par le Bundesgesundheitsamt, à Berlin.

3. Le taux des agglutinines brucelliques d'un sérum doit être exprimé en unités internationales par millilitre (par exemple : sérum X = 80 unités internationales par millilitre).

4. La lecture de la séro-agglutination lente en tubes doit se faire à 50 ou 75 p.c. d'agglutination, l'antigène utilisé devant avoir été titré dans des conditions identiques en présence de sérum standard.

5. L'agglutinabilité des divers antigènes à l'égard du sérum standard doit être comprise dans les limites suivantes :

— si la lecture est faite à 50 p.c. : entre 1/600 et 1/1000;

— si la lecture est faite à 75 p.c. : entre 1/500 et 1/750.

6. Pour la préparation de l'antigène destiné à la séro-agglutination en tubes (méthode lente), les souches Weybridge n° 99 et U.S.D.A. 1119 ou toute autre souche de sensibilité équivalente doivent être utilisées.

7. Les milieux de culture utilisés tant pour l'entretien de la souche en laboratoire que pour la production de l'antigène doivent être choisis de manière qu'ils ne favorisent pas la dissociation bactérienne (S-R); de préférence, on doit employer la gélose à la pomme de terre.

8. L'emulsion bactérienne doit être faite au sérum physiologique (NaCl 8,5 %) phénique à 0,5 p.c. Le formol ne doit pas être employé.

9. L'Institut national de recherches vétérinaires est chargé du contrôle officiel des antigènes.

10. Les antigènes peuvent être livrés à l'état concentré pour autant que le facteur de dilution à utiliser soit mentionné sur l'étiquette du flacon.

11. Pour effectuer une séro-agglutination, on doit préparer au moins 3 dilutions pour chaque sérum. Les dilutions du sérum suspect doivent être effectuées de telle manière que la lecture de la réaction à la limite d'infection se fasse dans le tube médian. En cas de réaction positive dans ce tube, le sérum suspect contient donc au moins la quantité de 30 U.I. agglutinantes par millilitre.

B. Complementbindingsreactie :

1. De sub-standaard van het serum is dezelfde als die genoemd onder A 1, van deze bijlage. Behalve het gehalte aan internationale agglutinatie-eenheden (I.E.) moet 1 milliliter van dit gelyofiliseerd runderbrucellose-serum 1000 complementbindende sensibilisatie-eenheden bevatten. Deze sensibilisatie-eenheden worden EEG-sensibilisatie-eenheden (E.S.E.) genoemd.

2. Het standaardserum moet bij het Bundesgesundheitsamt te Berlijn betrokken worden.

3. Het gehalte aan complementbindende antilichamen in een serum moet worden uitgedrukt in EEG-sensibilisatie-eenheden (E.S.E.) (bij voorbeeld serum X = zestig EEG-sensibilisatie-eenheden per milliliter).

Een serum dat 20 of meer EEG-sensibilisatie-eenheden (dit komt overeen met een uitwerking van 20 % van die van het standaardserum) per milliliter bevat, moet als positief beschouwd worden.

5. De sera moeten als volgt geïnactiveerd worden :

- a) rundserum : 56 à 60° C gedurende 30-50 minuten;
- b) varkensserum : 60° C gedurende 30-50 minuten.

6. Voor de bereiding van antigeen moet de stam Weybridge nr. 99 of de stam U.S.D.A. 1119 worden gebruikt. Het antigeen vormt een bacteriesuspensie in een fysiologische oplossing van 0,85 pct. of in een veronalbufferoplossing.

7. Voor de reactie moet een dosis van het complement gebruikt worden die groter is dan de kleinste dosis benodigd voor een volledige hemolyse.

8. Bij de toepassing van de complementbindingsreactie moeten telkens de volgende controles worden uitgevoerd :

- a) controle van het anticomplementaire effect van het serum;
- b) controle van het antigeen;
- c) controle van de gesensibiliseerde rode bloedlichaampjes;
- d) controle van het complement;
- e) controle van de gevoeligheid van de reactie met behulp van een positief serum;
- f) controle van de specificiteit van de reactie met behulp van een negatief serum.

9. Het toezicht en de officiële controle op de standaard-sera en de antigeen berusten bij het Nationaal Instituut voor Diergeneeskundig Onderzoek.

11. De antigenen kunnen geconcentreerd worden geleverd, mits op het etiket van de fles de vereiste verdunningsgraad is aangegeven.

C. Ringtest :

1. De ringtest moet worden uitgevoerd op de inhoud van elke melkbus op het bedrijf of op de inhoud van elke melktank op het bedrijf.

2. Het te gebruiken standaardantigeen moet afkomstig zijn van het Nationaal Instituut voor Diergeneeskundig Onderzoek. De antigenen worden bij voorkeur gestandaardiseerd overeenkomstig de aanbevelingen van de WHO/FAO.

3. Het antigeen mag slechts worden gekleurd met hematoxyline of tetrazolium; bij voorkeur wordt hematoxyline gebruikt.

4. Indien geen enkele bewaringsmaatregel wordt genomen, moet de test worden uitgevoerd tussen 18 en 24 uur te rekenen vanaf de monsterneming.

Indien de melk niet binnen 24 uur na de bemonstering wordt onderzocht, moet de bewaring ervan verzekerd worden; als bewaarmiddel mogen formaline of kwikchloride worden gebruikt en bij gebruik van een van deze twee bewaarmiddelen moet de test worden verricht binnen veertien dagen na de bemonstering. Bij gebruik van formaline, moet de eindverdunding in het melkmonster 0,2 % bedragen; in dat geval moet de verhouding tussen de hoeveelheid melk en de formaline-oplossing ten minste gelijk zijn aan 10 : 1.

In de plaats van formaline mag ook een oplossing van kwikchloride worden toegevoegd : de eindverdunding in het melkmonster moet dan 0,2 % bedragen en in dat geval moet de verhouding tussen de hoeveelheid melk en de kwikchlorideoplossing gelijk zijn aan 10 : 1.

5. De test moet worden verricht volgens een van de volgende methoden :

- op een melkkolom met een hoogte van ten minste 25 mm en op een hoeveelheid melk van 1 ml, waaraan 0,03 ml van een gestandaardiseerd gekleurd antigeen is toegevoegd;
- op een melkkolom met een hoogte van ten minste 25 mm en op een hoeveelheid melk van 1 ml, waaraan 0,05 ml van een gestandaardiseerd gekleurd antigeen is toegevoegd;
- op een hoeveelheid melk van 8 ml, waaraan 0,08 ml van een gestandaardiseerd gekleurd antigeen is toegevoegd;

B. Réaction de fixation du complément :

1. Le sérum standard est le même que celui figurant à la présente annexe au point A, 1. Outre sa teneur en unités internationales agglutinantes, 1 millilitre de ce sérum bovin lyophilisé doit contenir 1 000 unités sensibilisatrices assurant la fixation du complément. Ces unités sensibilisatrices sont appelées unités CEE sensibilisatrices.

2. La fourniture du sérum standard doit être assurée par le Bundesgesundheitsamt de Berlin.

3. Le taux d'un sérum en anticorps fixateurs du complément doit être exprimé en unités CEE sensibilisatrices (par exemple sérum X₁ = 60 unités CEE sensibilisatrices par millilitre).

4. Un sérum contenant 20 unités CEE sensibilisatrices ou plus (soit une activité égale à 20 % de celle du sérum standard) par millilitre doit être considéré comme positif.

5. Les sérums doivent être inactivés de la façon suivante :

- a) sérum bovin : 56 à 60° C pendant 30 à 50 minutes;
- b) sérum porcin : 60° C pendant 30 à 50 minutes.

6. Pour la préparation de l'antigène, les souches de Weybridge n° 99 ou U.S.D.A. 1119 doivent être utilisées. L'antigène représente une suspension bactérienne dans un sérum physiologique à 0,85 p.c ou dans une solution tampon véronal.

7. Pour effectuer la réaction, il convient d'utiliser une dose de complément supérieure au minimum nécessaire pour une hémolyse totale.

8. Lorsqu'on effectue la réaction de fixation du complément, il est nécessaire de procéder chaque fois aux contrôles suivants :

- a) contrôle de l'effet anticomplémentaire du sérum;
- b) contrôle de l'antigène;
- c) contrôle des hématies sensibilisées;
- d) contrôle du complément;
- e) contrôle, à l'aide d'un sérum positif, de la sensibilité au déclenchement de la réaction;
- f) contrôle de la spécificité de la réaction à l'aide d'un sérum négatif.

9. La surveillance et le contrôle officiel des sérums standards et des antigènes sont assurés par l'Institut National de Recherches Vétérinaires.

10. Les antigènes peuvent être livrés à l'état concentré, pour autant que le facteur de dilution à utiliser soit mentionné sur l'étiquette du flacon.

C. Epreuve de l'anneau :

1. L'épreuve de l'anneau doit être exécutée sur le contenu de chaque bidon de lait ou le contenu de chaque citerne à lait de l'exploitation.

2. L'antigène standard à utiliser doit provenir de l'Institut National de Recherches Vétérinaires. Il est procédé à la standardisation des antigènes selon les recommandations de l'Organisation mondiale de la santé (OMS/FAO).

3. L'antigène ne peut être coloré qu'à l'hématoxyline ou au tétrazolum; il faut donner la préférence à l'hématoxyline.

4. Si aucune mesure de conservation n'est prise, la réaction doit être pratiquée entre la 18e et la 24e heure à compter du prélèvement.

Si l'épreuve est effectuée plus de 24 heures après le prélèvement, il faut assurer la conservation de celui-ci; les agents conservateurs pouvant être utilisés sont le formol et le chlorure mercurique, et le délai dans lequel l'épreuve doit être effectuée après l'utilisation d'un de ces deux agents conservateurs est de quatorze jours suivant le jour du prélèvement. En cas d'utilisation de formol, la dilution finale dans l'échantillon de lait est de 0,2 %; la proportion entre la quantité de lait et la solution de formol doit être d'au moins 10 à 1.

A la place du formol, on peut utiliser du chlorure mercurique : la dilution finale dans le lait est alors de 0,2 % et la proportion entre la quantité de lait et la solution de chlorure mercurique de 10 à 1.

5. La réaction doit être pratiquée selon une des méthodes suivantes

- sur une colonne de lait d'au moins 25 mm de hauteur et un volume de lait de 1 ml additionné de 0,03 ml d'un des antigènes standardisés colorés;
- sur une colonne de lait d'au moins 25 mm de hauteur et un volume de lait de 1 ml additionné de 0,05 ml d'un des antigènes standardisés colorés;
- sur un volume de lait de 8 ml additionné de 0,08 ml d'un des antigènes standardisés colorés;

— op een melk kolom met een hoogte van ten minste 25 mm en op een hoeveelheid melk van 2 ml, waaraan 0,05 ml van een gestandaardiseerd gekleurd antigeen is toegevoegd.

6. Het mengsel van melk en antigeen moet gedurende ten minste 45 en ten hoogste 60 minuten bij een temperatuur van 37 C graden worden geïncubeerd. De test moet worden beoordeeld binnen 15 minuten nadat het mengsel uit de broedstof is verwijderd.

7. De reactie moet volgens de onderstaande criteria worden beoordeeld :

- a) negatieve reactie : gekleurde melk, kleurloze room;
- b) positieve reactie : melk en room op gelijke wijze gekleurd of kleurloze melk en gekleurde room. »

D. Brucella antigeen bufferproef.

De brucella antigeen bufferproef kan worden uitgevoerd volgens één der volgende methoden :

I. Manueel onderzoek :

1. Het standaardserum is het tweede internationale anti-brucella abortus standaardserum dat wordt betrokken bij het Central Veterinary Laboratory, Weybridge, Surrey, Engeland.

2. Het antigeen wordt bereid zonder inachtneming van de celconcentratie, maar de gevoeligheid van het antigeen moet zodanig genormaliseerd zijn ten opzichte van het tweede internationale anti-brucella abortus standaardserum, dat het antigeen een positieve reactie produceert bij een serumverdunding van 1 : 47,5 en een negatieve reactie bij een verdunding van 1 : 55.

3. Het antigeen wordt in suspensie gebracht in verdunningsmiddel voor gebufferd brucella antigeen met een pH van 3,65 + / - 0,5 en dat kan gemerkt zijn door het gebruik van Rose Bengalen.

4. Voor de bereiding van het antigeen moeten de stammen Weybridge nr. 99 of U.S.D.A. 1119 of een andere stam met een gelijke gevoeligheidsreactie worden gebruikt.

5. De voedingsbodems, gebruikt voor het kweken van de stam in laboratoria en voor de productie van antigeen, mogen de dissociatie van de brucellosekiemen (S-R) niet bevorderen; er moeten voedingsbodems op basis van aardappelen en agar of continu cultuurmethoden worden gebruikt.

6. Het antigeen moet worden beproefd tegen 8 bekende, gevriesdroogde positieve, respectievelijk negatieve sera.

7. Het toezicht en de officiële controle op de standaardsera en antigenen berust bij het Nationaal Instituut voor Diergeneeskundig Onderzoek.

8. Het antigeen wordt gebruiksklaar geleverd.

9. de brucella antigeen bufferproef moet op de volgende wijze worden uitgevoerd :

- a) plaats één druppel (0,03 ml) antigeen naast één druppel (0,03 ml) serum op een witte plaat;
- b) vermeng met een agitator, eerst in rechte lijn en daarna in een cirkel met ongeveer 10 tot 12 mm diameter;

c) daarna de plaat beurtelings achterwaarts en voorwaarts bewegen gedurende 4 minuten (ongeveer 30 bewegingen per minuut);

d) het aflezen van de proef moet bij goede verlichting geschieden; bij afwezigheid van agglutinatie wordt de proef als negatief beschouwd; iedere graad van agglutinatie zal als positief worden beschouwd, tenzij het drogen op de randen overmatig is;

II. Geautomatiseerde methode :

De geautomatiseerde methode moet ten minste even gevoelig en nauwkeuring zijn als de manuele methode.

E. Plasma-melkringtest :

1. Bereiding van het plasma.

De proefbuisjes met het door toevoeging van Edta onstolbaar gemaakt bloed worden gedurende drie minuten tegen 3 000 omwentelingen per minuut gecentrifugeerd en vervolgens gedurende 12 tot 24 uur bij 37 C graden bewaard.

2. Diagnostisch gebruik.

0,2 ml gestabiliseerd plasma wordt met 1 ml rauwe melk in een proefbuisje gebracht. Na schudden wordt een druppel (0,05 ml) ABR-antigeen toegevoegd waarna de inhoud van het proefbuisje wederom wordt geschud. Het antigeen wordt genormeerd ten opzichte van het standaard-antigeen dat door het Nationaal Instituut voor Diergeneeskundig Onderzoek ter beschikking wordt gesteld.

Na 45 minuten bebroeding bij 37 C graden wordt het resultaat van de proef binnen 15 minuten afgelezen. De beoordeling is positief als de melk ring even sterk als, of sterker dan de melkzuil gekleurd is.

— sur une colonne de lait d'au moins 25 mm de hauteur et un volume de lait de 2 ml additionné de 0,05 ml d'un des antigènes standardisés colorés.

6. Le mélange de lait et d'antigène doit être mis à l'étuve à 37 degrés C pendant 45 minutes au moins et 60 minutes au plus. L'évaluation doit avoir lieu dans un délai de 15 minutes à compter de la sortie de l'étuve.

7. La réaction est appréciée selon les critères suivants :

- a) réaction négative : lait coloré, crème décolorée;
- b) réaction positive : lait et crème de façon identique ou lait décoloré et crème colorée. »

D. Epreuve à l'antigène brucellique tamponné.

L'épreuve à l'antigène brucellique tamponné peut être réalisée selon l'une des méthodes suivantes :

I. Méthode manuelle :

1. Le sérum standard est le deuxième sérum standard international contre l'avortement brucellique fourni par le Central Veterinary Laboratory, Weybridge, Surrey, Angleterre.

2. L'antigène est préparé sans référence à la concentration cellulaire, mais sa sensibilité doit être étalonnée par rapport au deuxième sérum standard international contre l'avortement brucellique de manière à ce que l'antigène produise une réaction positive pour une dilution du sérum de 1 : 47,5 et une réaction négative pour une dilution de 1 : 55.

3. L'antigène est mis en suspension dans du diluant à l'antigène brucellique tamponné de pH 3,65 +/- 0,5 et peut avoir été marqué au moyen d'une teinture au rose Bengale.

4. Pour préparer l'antigène, utiliser la souche n° 99 de Weybridge ou la souche U.S.D.A. 1119 ou toute souche de sensibilité équivalente.

5. Les milieux de culture utilisés pour conserver la souche en laboratoire et pour produire l'antigène doivent ne pas provoquer de dissociation bactérienne (S-R); utiliser de la gélose à la pomme de terre ou des méthodes de culture continue.

6. L'antigène est testé au moyen de 8 sérums séchés procédé frigorifique, dont on sait qu'ils sont respectivement positifs et négatifs.

7. La surveillance et le contrôle officiels du sérum et de l'antigène standard sont effectués par l'Institut national de Recherches Vétérinaires.

8. L'antigène est fourni prêt à l'emploi.

9. L'épreuve à l'antigène brucellique tamponné doit être réalisée de la manière suivante :

- a) mettre une goutte (0,03 ml) d'antigène et une goutte (0,03 ml) de sérum sur une plaque blanche;
- b) à l'aide d'un agitateur mélanger d'abord sur une ligne droite puis dans un mouvement circulaire d'un diamètre de 10 à 12 mm environ;
- c) agiter ensuite la plaque alternativement en avant et en arrière pendant 4 minutes (environ 30 mouvements par minute);

d) effectuer la lecture sous un bon éclairage; en l'absence d'agglutination l'épreuve est considérée comme négative; toute agglutination permet de considérer l'épreuve comme positive, à moins que le séchage soit excessif sur les bords.

II. Méthode automatisée :

La méthode automatisée doit être au moins aussi sensible et précise que la méthode manuelle.

E. Epreuve de l'anneau de lait effectué sur du plasma sanguin.

1. Obtention du plasma sanguin.

Les éprouvettes contenant le sang rendu incoagulable par adjonction d'Edta sont centrifugés pendant trois minutes à 3 000 tr/mn et sont ensuite conservées pendant 12 à 24 h à une température de 37 degrés C.

2. Utilisation diagnostique.

On verse 0,2 ml de plasma stabilisé dans une éprouvette contenant 1 ml de lait cru. Après agitation, on ajoute une goutte (0,05 ml) d'antigène ABR et on agite à nouveau. L'antigène est normalisé d'après un antigène standard mis à disposition par l'Institut national de Recherches Vétérinaires.

Après avoir laissé reposer pendant 45 mn à une température de 37 degrés C, on examine le résultat dans un délai de 15 mn. L'épreuve est considérée comme positive si l'anneau de lait présente la même coloration ou une coloration plus prononcée que celle de la colonne de lait.

F. Plasma-agglutinatieproef :

Het overeenkomstig bij punt E, sub 1, bekomen bloedplasma kan zonder thermische stabilisering onmiddellijk na het centrifugeren worden gebruikt.

0,05 ml plasma wordt met 1 ml antigeen voor de serumagglutinatie (50 %) vermengd, wat overeenstemt met de verdunningsgraad 1 : 20 bij de serumagglutinatieproef.

De aflezing gebeurt na 18 tot 24 uur bebroeding bij 37 graden C. Als positief geldt een agglutinatie gelijk aan of hoger dan 50 %.

G. Micro-agglutinatie-test :

1. Verdunningen worden gemaakt met een fysiologische zoutoplossing 0,85 % waaraan 0,5 % fenol is toegevoegd.

2. Het antigeen wordt bereid overeenkomstig de aanwijzingen in punten 6, 7 en 8 onder A, van bijlage II en moet worden getitreerd overeenkomstig het bepaalde onder A, paragraaf 5, van dezelfde bijlage. Op het ogenblik waarop het antigeen wordt gebruikt, wordt een 0,02 % safranine O oplossing toegevoegd (uiteindelijke oplossing).

3. Het standaardserum is het serum als bedoeld onder A, punt 1, van deze bijlage.

4. Het standaardserum moet bij het Bundesgesundheitsamt te Berlijn worden betrokken.

5. De micro-agglutinatie-test moet worden uitgevoerd op plaatjes voorzien van putjes met een kegelvormige bodem en met een inhoud van 0,250 ml. De test wordt als volgt uitgevoerd :

a) vooroplossing van serums : in elk putje met 0,075 ml oplosmiddel wordt 0,050 ml van elk te onderzoeken serum toegevoegd. Het mengsel wordt gedurende 30 seconden geschud;

b) geleidelijke verdunning van serums : voor elk serum worden ten minste drie verdunningen bereid. Hiertoe wordt uit de voorverdundingen (1 : 2,5) 0,025 ml van elk serum genomen en overgebracht op een plaatje met 0,025 ml oplosmiddel. Aldus wordt de eerste verdunning gebracht op de waarde 1 : 5 en vinden de volgende verdunningen plaats door verdubbeling;

c) toevoeging van antigeen : in elk putje met de verschillende verdunningen van te onderzoeken serums wordt 0,025 ml antigeen toegevoegd. Na gedurende 30 seconden te zijn geschud worden de plaatjes met hun onderscheiden deksel gesloten en worden zij bij 37 C graden gedurende de 20 à 24 uur in vochtige atmosfeer geplaatst;

d) aflezen van de resultaten : het aspect van de bezinking van het antigeen wordt geëvalueerd door een onderzoek van de bodem van het putje weerspiegeld door een daaronder geplaatste holle spiegel. Bij een negatieve reactie vormt het antigeen bezinksel in de vorm van een compacte knop, met duidelijke zijanten en van een intense rode kleur. Bij een positieve reactie daarentegen ontstaat er een diffuse sluijer van een roze kleur en op uniforme wijze verdeeld.

De onderscheiden agglutinatiepercentages worden bepaald door vergelijking met de controles van het antigeen die 0, 25, 50, 75 en 100 % agglutinatie aangeven.

De titer van elk serum wordt uitgedrukt in internationale agglutinerende eenheden per ml. In de test dienen controles te worden opgenomen die worden verricht met behulp van een negatief serum en een positief serum dat zodanig is opgelost dat het 30 internationale agglutinerende eenheden per ml. bevat. »

Gezien om te worden gevoegd bij Ons besluit van 20 januari 1988.

BOUDEWIJN

Van Koningswege :

De Minister van Buitenlandse Betrekkingen,

L. TINDEMANS

De Staatssecretaris voor Landbouw,

P. DE KEERSMAEKER

F. Agglutination du plasma sanguin :

Le plasma sanguin obtenu conformément à la méthode visée à la section E, sous 1, peut être utilisé immédiatement après centrifugation sans qu'il soit nécessaire de procéder à une stabilisation thermique.

On mélange 0,05 ml de plasma à 1 ml d'antigène pour le séro-agglutination à 50 %, ce qui correspond à un degré de dilution de 1 : 20 dans le cas de la séro-agglutination.

On examine le résultat après avoir laissé reposer pendant 18 à 24 h à une température de 37 degrés C. L'épreuve est considérée comme positive si l'agglutination est égale ou supérieure à 50 %.

G. Epreuve de micro-agglutination :

1. Les diluants sont composés d'une solution saline physiologique à 0,85 % phénolée à 0,5 %.

2. L'antigène est préparé conformément aux indications des points 6, 7 et 8 de l'annexe II, point A et le titrage doit être effectué conformément aux indications du point A, paragraphe 5 de la même annexe. Au moment de l'utilisation de l'antigène, on ajoute de la safranine O à 0,02 % (dilution finale).

3. Le sérum standard est le même que celui du point A, paragraphe 1er de la présente annexe.

4. La fourniture du sérum standard doit être assurée par le Bundesgesundheitsamt, Berlin.

5. L'épreuve de micro-agglutination est pratiquée sur des plaques comportant des cupules à fond conique et dont le volume est égal à 0,250 ml. L'épreuve est exécutée de la manière suivante :

a) pré-dilution des serums : on ajoute dans chaque cupule contenant 0,075 ml de diluant 0,050 ml de chaque sérum en examen. Les mélanges sont agités pendant 30 secondes;

b) dilutions graduelles des serums : préparer au moins trois dilutions pour chaque sérum. A cet effet, à partir des pré-dilutions (1 : 2,5) on prélève 0,025 ml de chaque sérum et on les transfère sur une plaque contenant 0,025 ml de diluant. De cette manière, la première dilution est portée à la valeur de 1 : 5 et les dilutions suivantes sont effectuées par redoublement;

c) ajout de l'antigène : on ajoute dans chaque cupule contenant les différentes dilutions des serums en examen de l'antigène à raison de 0,025 ml. Après agitation pendant 30 secondes, les plaques sont fermées par leur couvercle respectif et sont placées à 37 degrés C pendant 20 à 24 heures en atmosphère humidifiée;

d) lecture des résultats : on évalue l'aspect de la sédimentation de l'antigène par un examen du fond de la cupule réfléchi par un miroir concave placé au-dessous de celle-ci. En cas de réaction négative, l'antigène forme des sédiments sous forme d'un bouton compact, aux bords nets et de couleur rouge intense. En cas de réaction positive, par contre, il se forme un voile diffus, de couleur rose et uniformément réparti.

Les différents pourcentages d'agglutination sont déterminés par comparaison avec des contrôles de l'antigène indiquant 0, 25, 50, 75 et 100 % d'agglutination.

Le titre de chaque sérum est exprimé en unités internationales agglutinantes par ml. Il convient d'inclure dans l'épreuve des contrôles à l'aide de sérum négatif et de sérum positif dilué de façon à contenir 30 unités internationales agglutinantes par ml. »

Vu pour être annexé à Notre arrêté du 20 janvier 1985.

BAUDOUIN

Par le Roi :

Le Ministre des Relations extérieures,

L. TINDEMANS

Le Secrétaire d'Etat à l'Agriculture,

P. DE KEERSMAEKER