

DECISÃO DA COMISSÃO

de 10 de Dezembro de 2008

que altera o Anexo C da Directiva 64/432/CEE do Conselho e a Decisão 2004/226/CE no que se refere aos testes para diagnóstico da brucelose bovina

[notificada com o número C(2008) 7642]

(Texto relevante para efeitos do EEE)

(2008/984/CE)

A COMISSÃO DAS COMUNIDADES EUROPEIAS,

Tendo em conta o Tratado que institui a Comunidade Europeia,

Tendo em conta a Directiva 64/432/CEE do Conselho, de 26 de Junho de 1964, relativa a problemas de fiscalização sanitária em matéria de comércio intracomunitário de animais das espécies bovina e suína⁽¹⁾, nomeadamente o n.º 2, alínea b), do artigo 6.º e o n.º 1, segundo parágrafo, do artigo 16.º,

Considerando o seguinte:

(1) O Anexo C da Directiva 64/432/CEE define os métodos para o diagnóstico da brucelose bovina a utilizar para o controlo e a erradicação daquela doença, para a vigilância e o acompanhamento, para a criação e a manutenção de um estatuto de efectivos oficialmente indemnes de brucelose e ainda para a certificação exigida para o comércio intracomunitário de bovinos.

(2) A Decisão 2004/226/CE da Comissão, de 4 de Março de 2004, que aprova testes de detecção de anticorpos da brucelose bovina no âmbito da Directiva 64/432/CEE do Conselho⁽²⁾ aprova determinados testes de detecção da brucelose bovina que podem ser utilizados em alternativa ao teste de sero-aglutinação (SAT) obrigatório para a certificação de bovinos, em conformidade com o n.º 2, alínea b), do artigo 6.º da Directiva 64/432/CEE.

(3) O ensaio com fluorescência polarizada (FPA) é um novo teste para o diagnóstico que foi incluído como um teste prescrito para o comércio internacional no capítulo 2.4.3 (brucelose bovina) da sexta edição (2008) do Manual de testes de diagnóstico e vacinas da Organização Mundial da Saúde Animal (OIE).

(4) A Comissão solicitou à Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) a elaboração de um parecer científico sobre a adequabilidade do FPA para inclusão no Anexo C da Directiva 64/432/CEE.

(5) Além disso, a Comissão solicitou à EFSA a avaliação da adequabilidade do FPA e dos testes indicados no artigo 1.º da Decisão 2004/226/CE para efeitos de certificação de bovinos para o comércio intracomunitário.

(6) Em 11 de Dezembro de 2006, o Painel da saúde e do bem-estar animal adoptou um parecer científico sobre os métodos de diagnóstico da brucelose nos bovinos⁽³⁾, no qual concluiu que, com excepção do SAT, os testes de diagnóstico da brucelose bovina incluídos no Anexo C da Directiva 64/432/CEE são adequados e devem permanecer como testes-padrão para efeitos de certificação dos bovinos destinados ao comércio intracomunitário.

(7) Todavia, visto que o SAT é o teste prévio ao transporte no que se refere ao comércio de bovinos prescrito no n.º 2, alínea b), do artigo 6.º da Directiva 64/432/CEE, deve estar disponível uma especificação técnica no Anexo C da referida directiva.

(8) Além disso, o parecer científico de 11 de Dezembro de 2006 concluiu que a sensibilidade e a especificidade do FPA são comparáveis às dos testes incluídos no Anexo C da Directiva 64/432/CEE e foi também considerado adequado para inclusão no referido anexo como um teste normalizado para o diagnóstico da brucelose nesses animais para o comércio intracomunitário.

(9) Os métodos de polimerização em cadeia recentemente desenvolvidos, tal como descritos na secção 1, alínea d), do capítulo 2.4.3 da sexta edição (2008) do Manual de testes de diagnóstico e vacinas da OIE, constituem meios adicionais de detecção e identificação da *Brucella* spp. e devem, por conseguinte, ser incluídos no Anexo C da Directiva 64/432/CEE.

(10) O Anexo C da Directiva 64/432/CEE e a Decisão 2004/226/CE devem, por conseguinte, ser alteradas em conformidade.

(11) As medidas previstas na presente decisão estão em conformidade com o parecer do Comité Permanente da Cadeia Alimentar e da Saúde Animal,

⁽¹⁾ JO 121 de 29.7.1964, p. 1977/64.

⁽²⁾ JO L 68 de 6.3.2004, p. 36.

⁽³⁾ http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1178620772731.htm

ADOPTOU A PRESENTE DECISÃO:

Artigo 1.º

O Anexo C da Directiva 64/432/CEE é substituído pelo texto do anexo constante da presente decisão.

Artigo 2.º

O artigo 1.º da Decisão 2004/226/CE passa a ter a seguinte redacção:

«*Artigo 1.º*

São aprovados, para efeitos de certificação, os testes de fixação do complemento, do antigénio *brucélico* tamponado [teste do Rosa Bengala (RBT)], ELISA e o ensaio com fluorescência

polarizada (FPA), efectuados em conformidade com o disposto no Anexo C da Directiva 64/432/CEE.».

Artigo 3.º

Os Estados-Membros são os destinatários da presente decisão.

Feito em Bruxelas, em 10 de Dezembro de 2008.

Pela Comissão

Androulla VASSILIOU

Membro da Comissão

ANEXO

1. No anexo C da Directiva 64/432/CEE, os pontos 1, 2 e 3 são substituídos pelo seguinte:

«ANEXO C

BRUCELOSE

1. IDENTIFICAÇÃO DO AGENTE

A demonstração, através de coloração ácido-resistente modificada ou imunospecífica, de organismos com a morfologia da *Brucella* em material de aborto, corrimentos vaginais ou no leite constitui um dado sugestivo de brucelose, especialmente se for corroborada por testes serológicos. Os métodos de polimerização em cadeia (PCR) constituem também meios adicionais de detecção.

Sempre que possível, a *Brucella* spp. deve ser isolada com recurso a meios simples ou selectivos por cultura de corrimentos uterinos, fetos abortados, secreções do úbere ou tecidos seleccionados, tais como nódulos linfáticos e órgãos reprodutores masculinos e femininos.

Após o isolamento, há que identificar a espécie e biovar, através de lise com fagos e/ou de testes do metabolismo oxidativo ou critérios de cultura, bioquímicos e serológicos. A PCR pode constituir um método quer complementar quer de biotipagem, com base em sequências genómicas específicas.

A técnica e meios utilizados, a sua normalização e a interpretação dos resultados devem ser conformes às especificações dos capítulos 2.4.3 (brucelose bovina), 2.7.2 (brucelose ovina e caprina) e 2.8.5 (brucelose suína) da sexta edição (2008) do Manual de testes de diagnóstico e vacinas da OIE.

2. TESTES IMUNOLÓGICOS

2.1. Normas

2.1.1. Para a preparação de todo o antigénio utilizado nos testes do Rosa Bengala (RBT), de sero-aglutinação (SAT), de fixação do complemento (CFT) e do anel em leite (MRT) deve usar-se a estirpe n.º 99 (Weybridge) ou 1119-3 (USDA) da *Brucella abortus* biovar 1.

2.1.2. O soro-padrão de referência para os testes RBT, SAT, CFT e MRT é o soro-padrão de referência internacional do OIE (OIEISS), anteriormente designado segundo soro-padrão anti-*Brucella abortus* da OMS (ISAbS).

2.1.3. Os soros-padrão de referência para os ensaios de imunoabsorção enzimática (ELISA) são os seguintes:

- o OIEISS
- o soro-padrão ELISA fracamente positivo do OIE (OIEELISA_{WPSS}),
- o soro-padrão ELISA fortemente positivo do OIE (OIEELISA_{SPSS}),
- o soro-padrão ELISA negativo do OIE (OIEELISA_{NSS}).

2.1.4. Os soros-padrão de referência para os ensaios com fluorescência polarizada (FPA) são os seguintes:

- o soro-padrão ELISA fracamente positivo do OIE (OIEELISA_{WPSS}),
- o soro-padrão ELISA fortemente positivo do OIE (OIEELISA_{SPSS}),
- o soro-padrão ELISA negativo do OIE (OIEELISA_{NSS}).

2.1.5. Os soros-padrão enumerados nos pontos 2.1.3 e 2.1.4 encontram-se disponíveis no laboratório comunitário de referência para a brucelose ou na Veterinary Laboratories Agency (VLA) de Weybridge (Reino Unido).

- 2.1.6. O OIEISS, o OIEELISA_{WP}SS, o OIEELISA_{SP}SS e o OIEELISA_NSS são padrões primários internacionais, a partir dos quais devem ser estabelecidos padrões secundários de referência nacionais de soros ("padrões de trabalho") para cada um dos testes referidos no ponto 2.1.1 em cada um dos Estados-Membros.
- 2.2. **Ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) ou outras provas de aglutinação para a detecção da brucelose bovina no soro ou no leite.**
- 2.2.1. *Material e reagentes*
- A técnica utilizada e a interpretação dos resultados devem ter sido validadas em conformidade com os princípios estabelecidos no capítulo 1.1.4 da sexta edição (2008) do Manual de testes de diagnóstico e vacinas da OIE e tem de, no mínimo, abranger testes laboratoriais e de diagnóstico.
- 2.2.2. *Normalização do teste*
- 2.2.2.1. Normalização do procedimento de teste de amostras séricas específicas:
- uma pré-diluição de 1:150 ⁽¹⁾ do OIEISS, de 1:2 do OIEELISA_{WP}SS ou de 1:16 do OIEELISA_{SP}SS utilizando-se um soro negativo (ou um agregado de soros negativos) tem de apresentar uma reacção positiva;
 - Uma pré-diluição de 1:600 do OIEISS, de 1:8 do OIEELISA_{WP}SS ou de 1:64 do OIEELISA_{SP}SS utilizando-se um soro negativo (ou um agregado de soros negativos) tem de apresentar uma reacção negativa;
 - O OIEELISA_NSS tem de apresentar sempre uma reacção negativa.
- 2.2.2.2. Normalização do procedimento de teste de amostras de agregados de soro:
- Uma pré-diluição de 1:150 do OIEISS, de 1:2 do OIEELISA_{WP}SS ou de 1:16 do OIEELISA_{SP}SS utilizando-se um soro negativo (ou um agregado de soros negativos), subsequentemente diluída em soros negativos o número de vezes correspondente ao número de amostras que compõem o agregado, tem de apresentar uma reacção positiva;
 - O OIEELISA_NSS tem de apresentar sempre uma reacção negativa;
 - O teste deve ser adequado para detectar dados sugestivos de infecção num só animal de um grupo de animais cujas amostras de soro foram agregadas.
- 2.2.2.3. Normalização do procedimento de teste de amostras de agregados de leite ou soro de leite:
- uma pré-diluição de 1:1 000 do OIEISS, de 1:16 do OIEELISA_{WP}SS ou de 1:125 do OIEELISA_{SP}SS utilizando-se um soro negativo (ou um agregado de soros negativos), subsequentemente diluída a 1:10 em leite negativo, tem de apresentar uma reacção positiva;
 - O OIEELISA_NSS diluído a 1:10 em leite negativo tem de apresentar sempre uma reacção negativa;
 - O teste deve ser adequado para detectar dados sugestivos de infecção num só animal de um grupo de animais cujas amostras de soro foram agregadas.
- 2.2.3. *Condições de utilização do teste ELISA no diagnóstico da brucelose bovina*
- 2.2.3.1. Nas condições de calibração indicadas nos pontos 2.2.2.1 e 2.2.2.2 para os testes ELISA de amostras séricas, a sensibilidade diagnóstica dos testes ELISA deve ser superior ou igual à dos testes RBT ou CFT, tendo em conta a situação epidemiológica em que são utilizados.
- 2.2.3.2. Nas condições de calibração indicadas no ponto 2.2.2.3 para os testes ELISA de amostras de agregados de leite, a sensibilidade diagnóstica dos testes ELISA deve ser superior ou igual à dos testes MRT, tendo em conta não só a situação epidemiológica, como também os sistemas de criação médios e extremos previstos.
- 2.2.3.3. Se os testes ELISA forem utilizados para efeitos de certificação, em conformidade com o disposto no n.º 1 do artigo 6.º, ou para a determinação e manutenção do estatuto dos efectivos, em conformidade com o disposto no ponto II.10 do anexo A, a agregação de amostras séricas deve efectuar-se de molde a que os resultados dos testes possam ser indubitavelmente relacionados com o animal específico incluído no agregado. Os testes de confirmação devem ser efectuados em amostras séricas de animais específicos.

⁽¹⁾ Para efeitos do disposto no presente anexo, uma diluição indicada para a elaboração de reagentes líquidos expressa, por exemplo, sob a forma de 1:150 refere-se a uma diluição de 1 para 150.

2.2.3.4. O teste ELISA pode ser utilizado numa amostra de leite retirada de uma colheita de leite proveniente de uma exploração com pelo menos 30 % das vacas leiteiras em lactação. Se se recorrer àquele método, têm de ser tomadas medidas que garantam que as amostras recolhidas para análise possam ser indubitavelmente relacionadas com os animais de que o leite provém. Os testes de confirmação devem ser efectuados em amostras séricas de animais específicos.

2.3. Teste de fixação do complemento (CFT)

2.3.1. O antigénio é constituído por uma suspensão bacteriana em fenol-soro fisiológico [NaCl a 0,85 % (m/v) e fenol a 0,5 % (v/v)] ou num tampão veronal. Os antigénios podem ser fornecidos concentrados, desde que o factor de diluição a utilizar esteja indicado no rótulo do frasco. O antigénio deve ser conservado a 4 °C e não deve ser congelado.

2.3.2. Os soros devem ser inactivados do seguinte modo:

— soro de bovino: 56 a 60 °C durante 30 a 50 minutos;

— soro de suíno: 60 °C durante 30 a 50 minutos.

2.3.3. Para que haja uma reacção genuína no âmbito do teste, deve-se utilizar uma dose complementar superior à dose mínima necessária para a hemólise total.

2.3.4. O teste de fixação do complemento deve ser sempre acompanhado dos seguintes controlos:

a) Controlo do efeito anticomplementar do soro;

b) Controlo do antigénio;

c) Controlo dos eritrócitos sensibilizados;

d) Controlo do complemento;

e) Controlo da sensibilidade no início da reacção, utilizando-se um soro positivo;

f) Controlo da especificidade da reacção, utilizando-se um soro negativo.

2.3.5. Cálculo dos resultados

O OIEISS contém 1 000 unidades internacionais CFT (ICFTU) por ml. Se, num dado método, o OIEISS for testado, o resultado deve ser apresentado sob a forma de título (ou seja, a diluição directa mais elevada do OIEISS dando 50 % de hemólise, T_{OIEISS}). O resultado do soro testado, apresentado sob a forma de título (Tsoro testado), deve ser expresso em ICFTU por ml. Para converter o título em ICFTU, o factor (F) necessário para a conversão em ICFTU do título de soro testado (Tsoro testado) por tal método é dado pela seguinte fórmula:

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

e o teor de unidades internacionais CFT por ml de soro testado (ICFTU_{SORO TESTADO}) é dado pelo seguinte fórmula:

$$\text{ICFTU}_{\text{SORO TESTADO}} = F \times T_{\text{SORO TESTADO}}$$

2.3.6. Interpretação dos resultados

É considerado positivo um soro com 20 ou mais UI por ml.

2.4. Teste do anel em leite (MRT)

2.4.1. O antigénio é constituído por uma suspensão bacteriana em fenol-soro fisiológico [NaCl a 0,85 % (m/v) e fenol a 0,5 % (v/v)] corada com hematoxilina. O antigénio deve ser conservado a 4 °C e não deve ser congelado.

2.4.2. A sensibilidade do antigénio tem de ser normalizada tomando como padrão o OIEISS, por forma a que o antigénio produza uma reacção positiva numa diluição a 1:500 do OIEISS em leite negativo e uma reacção negativa numa diluição a 1:1 000.

- 2.4.3. Devem ser submetidas à prova do anel amostras representativas do conteúdo de cada batedeira ou de cada cisterna de leite da exploração.
- 2.4.4. As amostras de leite não devem ter sido congeladas, aquecidas ou sujeitas a agitação violenta.
- 2.4.5. A reacção deve efectuar-se de acordo com um dos seguintes métodos:
- numa coluna de leite de, pelo menos, 25 mm de altura e com um volume de leite de 1 ml, ao qual se adicionaram 0,03 ou 0,05 ml de um dos antigénios corados padronizados,
 - numa coluna de leite de, pelo menos, 25 mm de altura e com um volume de leite de 2 ml, ao qual se adicionaram 0,05 ml de um dos antigénios corados padronizados,
 - num volume de leite de 8 ml ao qual se adicionaram 0,08 ml de um dos antigénios corados padronizados.
- 2.4.6. A mistura de leite e antigénio deve ser incubada a 37 °C durante 60 minutos, junto com padrões de trabalho positivos e negativos. A incubação a 4 °C 16 a 24 horas depois aumenta a sensibilidade do teste.
- 2.4.7. Interpretação dos resultados:
- a) Reacção negativa: leite corado e nata não corada;
 - b) Reacção positiva:
 - leite e nata com coloração idêntica, ou
 - leite não corado e nata corada.
- 2.5. **Teste do antigénio brucélico tamponado [teste do Rosa Bengala (RBT)]**
- 2.5.1. O antigénio é constituído por uma suspensão bacteriana num diluente de antigénio brucélico tamponado com pH de $3,65 \pm 0,05$, corada com o corante Rosa Bengala. O antigénio deve ser fornecido pronto a ser utilizado e deve ser armazenado a 4 °C, sem ser congelado.
- 2.5.2. O antigénio deve ser preparado sem referência à concentração de células, devendo a sua sensibilidade ser aferida por comparação com o OIEISS, por forma a que o antigénio produza uma reacção positiva com uma diluição sérica de 1:45 e uma reacção negativa com uma diluição de 1:55.
- 2.5.3. O teste RBT deve ser efectuado do seguinte modo:
- a) Misturam-se volumes iguais (20-30 µl) de soro e antigénio numa placa de porcelana ou esmaltada, por forma a criar uma zona com aproximadamente 2 cm de diâmetro. A mistura é agitada suavemente durante quatro minutos à temperatura ambiente, pesquisando-se então a aglutinação com uma boa fonte de luz;
 - b) Podem ser utilizados métodos automatizados, desde que sejam pelo menos tão sensíveis e precisos como o método manual.
- 2.5.4. *Interpretação dos resultados*
- Considera-se positiva qualquer reacção visível, a menos que se verifique dessecação excessiva na periferia.
- Todas as séries de testes devem incluir padrões de trabalho positivos e negativos.
- 2.6. **Teste de sero-aglutinação (SAT)**
- 2.6.1. O antigénio é uma suspensão bacteriana em fenol-soro fisiológico [NaCl a 0,85 % (m/v) e fenol a 0,5 % (v/v)].
- Não deve ser utilizado formaldeído.
- Os antigénios podem ser fornecidos concentrados, desde que o factor de diluição a utilizar esteja indicado no rótulo do frasco.
- Pode adicionar-se EDTA à suspensão de antigénio, até uma diluição final de 5 mM, para diminuir o número de falsos positivos no teste de sero-aglutinação. Subsequentemente, a suspensão bacteriana deve ser reajustada para um pH de 7,2.

- 2.6.2. O OIEISS contém 1 000 unidades internacionais de aglutinação.
- 2.6.3. O antigénio deve ser preparado sem referência à concentração de células, devendo a sua sensibilidade ser aferida por comparação com o OIEISS, por forma a que o antigénio produza uma aglutinação de 50 % com uma diluição sérica final de 1:600 a 1:1 000, ou uma aglutinação de 75 % com uma diluição sérica final de 1:500 a 1:750.

Pode ser igualmente aconselhável comparar a reactividade dos novos lotes de antigénio com a dos já anteriormente padronizados, através de um painel de soros bem definidos.

- 2.6.4. O teste deve ser efectuado em tubos ou em microplacas. A mistura de diluições de antigénio e soro deve ser incubada durante 16 a 24 horas a 37 °C.

Devem ser preparadas pelo menos três diluições para cada soro. As diluições do soro suspeito devem ser feitas de forma a que a leitura da reacção no limite de positividade seja feita no tubo mediano (ou poço, caso seja utilizada uma microplaca).

2.6.5. *Interpretação dos resultados*

O grau de aglutinação brucélica do soro deve ser expresso em UI por ml.

É considerado positivo um soro com 30 ou mais UI por ml.

2.7. **Ensaio com fluorescência polarizada (FPA)**

- 2.7.1. O FPA pode ser efectuado em tubos de vidro ou numa placa de 96 poços. A técnica utilizada, a sua normalização e a interpretação dos resultados têm de ser conformes às especificações do capítulo 2.4.3 (brucelose bovina) da sexta edição (2008) do Manual de testes de diagnóstico e vacinas da OIE.

2.7.2. *Normalização do teste*

O FPA deve ser normalizado de forma a que:

- a) O OIEELISA_{SpSS} e o OIEELISA_{WpSS} apresentem resultados positivos de forma coerente;
- b) Uma pré-diluição de 1:8 do OIEELISA_{WpSS} ou de 1:64 do OIEELISA_{SpSS} utilizando-se um soro negativo (ou um agregado de soros negativos) apresentem sempre uma reacção negativa;
- c) O OIEELISA_{NSS} apresente sempre uma reacção negativa.

Devem incluir-se em cada lote de testes: um soro fortemente positivo, um soro fracamente positivo e um soro-padrão de trabalho negativo (calibrados em função dos soros padrão ELISA da OIE).

3. TESTES COMPLEMENTARES

3.1. **Prova cutânea da brucelose (BST)**

3.1.1. *Condições de utilização da BST:*

- a) A prova cutânea da brucelose não deve ser utilizada na certificação com vista ao comércio intracomunitário;
- b) A prova cutânea da brucelose é um dos testes mais específicos para a detecção de brucelose em animais não vacinados, no entanto, o diagnóstico não pode assentar apenas em provas intradérmicas positivas;
- c) Devem ser considerados infectados ou suspeitos de estarem infectados os bovinos com resultados negativos num dos testes serológicos definidos no presente anexo e com resultado positivo na BST;
- d) Os bovinos com um resultado positivo num dos testes serológicos definidos no presente anexo podem ser sujeitos à BST, para interpretar os resultados dos testes serológicos, nomeadamente se não puder ser excluída uma reacção cruzada com outras bactérias em efectivos bovinos oficialmente indemnes ou indemnes de brucelose.

- 3.1.2. A prova deve utilizar uma preparação normalizada e definida de alérgeno da brucelose isenta de antígeno lipopolissacárido (LPS) liso, visto que este pode causar reacções inflamatórias inespecíficas ou interferir com testes serológicos subsequentes.

Os requisitos para a produção de Brucellin devem cumprir o disposto na secção C.1 do capítulo 2.4.3 da sexta edição (2008) do Manual de testes de diagnóstico e vacinas da OIE.

3.1.3. *Procedimento de ensaio*

- 3.1.3.1. Injecta-se intradermicamente na prega caudal, na pele do flanco ou na parte lateral do pescoço 0,1 ml de alérgeno da brucelose.

- 3.1.3.2. Procede-se à leitura dos resultados após 48-72 horas.

- 3.1.3.3. Antes da injeção e aquando da repetição do exame, mede-se a espessura da pele no local de injeção com um compasso de Vernier.

- 3.1.3.4. Interpretação dos resultados:

As reacções fortes são facilmente identificáveis pela tumefacção e endurecimento locais.

Na BST, um aumento da espessura da pele de 1,5 a 2 mm deve ser considerado uma reacção positiva.

3.2. **Ensaio de imunoabsorção enzimática competitiva (cELISA)**

- 3.2.1. *Condições de utilização do ensaio cELISA*

O ensaio cELISA não deve ser utilizado com vista à certificação para o comércio intracomunitário;

Os bovinos com um resultado positivo num dos testes serológicos definidos no presente anexo podem ser sujeitos a um ensaio cELISA, para confirmar a interpretação dos resultados dos testes serológicos, nomeadamente se não puder ser excluída uma reacção cruzada com outras bactérias em efectivos bovinos oficialmente indemnes ou indemnes de brucelose nem eliminar reacções devidas a anticorpos residuais produzidos em resposta à vacinação com S19.

- 3.2.2. *Procedimento de ensaio*

O ensaio deve ser efectuado em conformidade com o prescrito na secção B.2 do capítulo 2.4.3 da sexta edição (2008) do Manual de testes de diagnóstico e vacinas da OIE.»

2. No anexo C da Directiva 64/432/CEE, o ponto 4.1 é substituído pelo seguinte:

«4.1. **Tarefas e responsabilidades**

Incumbe aos laboratórios nacionais de referência:

- a) A aprovação dos resultados dos testes de validação que comprovam a fiabilidade do método de teste utilizado no Estado-Membro;
 - b) A determinação do número máximo de amostras que podem ser agregadas nos kits ELISA utilizados;
 - c) A calibração de padrões de trabalho, tal como referido no ponto 2.1.6;
 - d) Controlos de qualidade de todos os lotes de antígenos e kits ELISA utilizados no Estado-Membro;
 - e) Cooperar com o laboratório comunitário de referência para a brucelose e seguir as suas recomendações.»
-