

**16 DECEMBRE 1991. - Arrêté royal relatif à la lutte contre la leucose bovine.**

(NOTE : Consultation des versions antérieures à partir du 11-08-2001 et mise à jour au 05-10-2011)

Source : AGRICULTURE

Publication : 18-01-1992 numéro : 1992016199 page : 909

Dossier numéro : 1991-12-16/33

Entrée en vigueur : 18-01-1992

**Table des matières**

Art. 1

CHAPITRE I. - Définitions.

Art. 2

CHAPITRE II. - (Suspicion.) <Err. M. B. 02-04-1992>

Art. 3-5

CHAPITRE III. - Foyer.

Art. 6-7

CHAPITRE IV. - Abattage obligatoire.

Art. 8-11

CHAPITRE V. - Indemnités.

Art. 12-13

CHAPITRE VI. - Libération du foyer.

Art. 14

B. Tous les bovins sont abattus.

Art. 15

CHAPITRE VII. - Dispositions particulières.

Section 1. - Diagnostic.

Art. 16-17

Section 2. - Qualification des troupeaux.

Art. 18-20

Section 3. - Transport et commercialisation des bovins.

Art. 21-22, 22/1

CHAPITRE VIII. - Dispositions générales.

Art. 23-28, 28/1, 29-31

ANNEXES.

Art. N1-N3

### **Préambule**

Vu la loi du 24 mars 1987 relative à la santé des animaux, modifiée par la loi du 29 décembre 1990;

Vu la directive 90/422 du Conseil des Communautés Européennes, modifiant la directive 64/432 en ce qui concerne la leucose bovine enzootique;

Vu la directive 91/499 du Conseil des Communautés Européennes, modifiant la directive 64/432 en ce qui concerne le diagnostic de la brucellose bovine et de la leucose bovine enzootique;

Vu l'avis du Conseil du Fonds de la santé et de la production des animaux;

Vu l'accord de l'Inspection des Finances du 6 juin 1991;

.....

Vu l'urgence;

Considérant que les modifications des exigences communautaires en ce qui concerne la leucose bovine enzootique nécessitent sans tarder la révision de notre politique de lutte;

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

Article 1. La leucose bovine enzootique 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.

Tout traitement et vaccination contre la leucose sont interdits.

2. La leucose bovine enzootique est désignée en abrégé, dans le présent arrêté, par les lettres majuscules L.B.E.

CHAPITRE I. - Définitions.

Art. 2. Pour l'application du présent arrêté, il faut entendre par :

1° bovin atteint de L.B.E. : tout bovin pour lequel la maladie a été confirmée par l'une des épreuves visées à l'annexe II;

2° bovin suspect d'être atteint de L.B.E. : tout bovin qui présente des symptômes, lésions ou tumeurs permettant de suspecter la L.B.E. ou qui fait partie d'un groupe de bovins dont un échantillon de mélange présente une réaction positive au test ELISA visé à l'annexe II;

3° bovin suspect d'être contaminé de L.B.E. : tout bovin appartenant à un foyer de leucose ou ayant quitté depuis moins de 6 mois un foyer de L.B.E.;

4° troupeau avec statut sanitaire L3 ou indemne de L.B.E. : tout troupeau de bovins qui répond aux conditions de l'annexe I, A;

5° troupeau avec statut sanitaire L2 ou présumé indemne de L.B.E. : tout troupeau de bovins qui répond aux conditions de l'annexe I, B;

6° troupeau avec statut sanitaire L1 : tout troupeau de bovins qui répond aux conditions de l'annexe I, C;

7° foyer de L.B.E. : le troupeau comprenant un ou plusieurs bovins atteints de L.B.E.;

8° troupeau suspect de L.B.E. : le troupeau comprenant un ou plusieurs bovins suspects d'être atteints ou d'être contaminés;

9° Ministre : le Ministre qui a l'agriculture dans ses attributions;

10° service : le service vétérinaire du Ministère de l'Agriculture;

11° I.N.R.V. : l'Institut National de Recherches Vétérinaires;

12° bourgmestre : le bourgmestre de la commune dans laquelle est situé le troupeau.

[1 13° Indice santé : indice des prix calculé pour l'application de l'article 2 de l'arrêté royal du 24 décembre 1993 portant exécution de la loi du 6 janvier 1989 de sauvegarde de la compétitivité du pays, ratifié par la loi du 30 mars 1994 portant des dispositions sociales.]1

-----

(1)<AR 2009-08-29/19, art. 1, 006; En vigueur : 01-07-2008>

## CHAPITRE II. - (Suspicion.) <Err. M. B. 02-04-1992>

Art. 3. Quiconque suspecte ou constate l'existence de la L.B.E. chez un bovin est tenu d'en informer immédiatement l'inspecteur vétérinaire.

Le médecin vétérinaire qui, lors d'une autopsie ou de l'expertise des viandes constate des lésions ou des tumeurs suspectes de L.B.E. les prélève, conformément aux instructions du service, et les transmet sans délai aux laboratoires visés à l'annexe III.

Art. 4. § 1. Le responsable qui est informé par le service de la suspicion de L.B.E. dans son troupeau est tenu de faire examiner sérologiquement, par un médecin vétérinaire agréé de son choix, tous les bovins femelles et taureaux reproducteurs âgés de douze mois et plus de son exploitation dans les 15 jours de l'information.

§ 2. Tout mouvement de bovins vers ou à partir du troupeau suspect de L.B.E. est interdit à l'exception du transfert direct :

1° de bovins destinés à l'abattoir pour y être abattus sans délai, sous couvert d'un sauf-conduit délivré par l'inspecteur vétérinaire;

2° de bovins mâles vers l'étable d'engraissement désignée et ensuite vers un abattoir sous couvert d'un sauf-conduit individuel, délivré par l'inspecteur vétérinaire, mentionnant l'identification du bovin ainsi que l'étable d'engraissement de destination et à condition d'être identifiés par une marque indélébile, conformément aux instructions du service.

Art. 5. Dès qu'il résulte des examens que la suspicion de L.B.E. est infirmée, les mesures en vigueur en vertu de l'article 4, § 2, sont levées par le service qui en informe le responsable.

### CHAPITRE III. - Foyer.

Art. 6. Dès que l'existence de la L.B.E. est confirmée, le troupeau est considéré comme foyer de L.B.E.

L'inspecteur vétérinaire en informe le responsable, le médecin vétérinaire agréé et le bourgmestre.

Art. 7. L'inspecteur vétérinaire prescrit dans le foyer toutes les mesures appropriées afin de prévenir l'extension de la maladie et notamment que :

1° les bovins atteints de L.B.E. soient, en attendant d'être abattus, isolés de manière permanente dans les locaux de l'exploitation;

2° tout mouvement de bovins vers ou à partir du foyer soit interdit à l'exception du transfert direct :

1. de bovins destinés à l'abattoir pour y être abattus sans délai, sous couvert d'un sauf-conduit délivré par l'inspecteur vétérinaire;

2. de bovins mâles vers l'étable d'engraissement désignée et ensuite vers un abattoir sous couvert d'un sauf-conduit individuel, délivré par l'inspecteur vétérinaire, mentionnant l'identification du bovin ainsi que l'étable d'engraissement de destination et à condition d'être identifiés par une marque indélébile, conformément aux instructions du service.

3° les locaux, récipients, installations et autres objets utilisés pour le bétail soient nettoyés et désinfectés régulièrement;

4° le lait provenant de vaches infectées ne soit utilisé pour l'alimentation des animaux qu'après traitement thermique adéquat ou pour livraison à une laiterie afin d'y subir ce traitement;

5° les carcasses, demi-carcasses, quartiers, morceaux et les abats provenant de bovins infectés destinés à l'alimentation des animaux soient traités de manière à éviter toute contamination;

6° le responsable lui notifie la mort ou l'abattage d'urgence de tout bovin de son troupeau.

Il informe le responsable et le bourgmestre de ces mesures.

#### CHAPITRE IV. - Abattage obligatoire.

Art. 8. Dès réception des résultats des examens visés à l'article 4, § 1er, l'inspecteur vétérinaire visite le foyer et notifie ces résultats au responsable. Il contrôle l'inventaire du troupeau et, le cas échéant, le fait mettre à jour sans délai.

Après un éventuel examen complémentaire, il fait procéder au marquage :

- soit des bovins atteints de L.B.E.,
- soit, avec l'accord du Ministre, de tous les bovins du foyer,
- soit, avec l'accord du Ministre, des bovins atteints de L.B.E. et des bovins du foyer considérés comme infectés suite à une enquête épidémiologique.

Il remet au responsable l'ordre d'abattage de ces bovins.

Art. 9. § 1. Pour chaque bovin à abattre par ordre visé à l'article 8, l'inspecteur vétérinaire établit un document mentionnant :

- a) les nom et adresse du responsable;
- b) le signalement et les caractéristiques d'identification du bovin;
- c) la date limite d'abattage;
- d) l'abattoir désigné.

Ce document, auquel est annexé le document d'identification, accompagne l'animal jusqu'à l'abattage.

§ 2. Les bovins visés au § 1er sont transportés directement à partir du troupeau vers l'abattoir désigné dans un moyen de transport scellé par l'inspecteur vétérinaire ou son délégué.

§ 3. La personne responsable, à l'occasion du transport des bovins visés au § 1er, est tenue de remettre au responsable du troupeau une attestation par laquelle elle reconnaît avoir connaissance de l'ordre d'abattage, de la date limite de celui-ci et de l'abattoir désigné.

§ 4. La réception à l'abattoir des bovins à abattre est contrôlée par le médecin vétérinaire expert des viandes qui s'assure également que les bovins sont effectivement abattus au plus tard dans les 3 jours qui suivent le jour du départ de l'exploitation, dimanche et jours fériés non compris.

§ 5. L'inspecteur vétérinaire compétent du lieu d'abattage contrôle et certifie que les animaux ont été abattus.

Art. 10. Les bovins pour lesquels un ordre d'abattage a été délivré doivent être abattus dans l'abattoir désigné au plus tard dans les 30 jours qui suivent la notification du résultat.

Art. 11. Le véhicule ayant servi au transport d'un ou plusieurs bovins à abattre dans le cadre de la L.B.E. doit, avant sa sortie de l'abattoir, être nettoyé et désinfecté conformément aux dispositions de l'article 21 de l'arrêté ministériel du 21 février 1951, relatif à l'assainissement des moyens de transport ayant servi à des animaux, modifié par l'arrêté ministériel du 24 décembre 1990.

#### CHAPITRE V. - Indemnités.

Art. 12. Pour autant qu'un bovin soit abattu conformément aux dispositions du chapitre IV, il est alloué, dans les limites des crédits budgétaires, une indemnité calculée selon les dispositions de l'arrêté royal du 28 novembre 1991 relatif à l'expertise et à l'indemnisation des bovins abattus dans le cadre de la police sanitaire.

Toutefois, l'indemnité n'est pas due pour les bovins qui se sont révélés être atteints de la leucose bovine enzootique à l'occasion de l'examen effectué en exécution de l'article 21, § 2, de cet arrêté.

Art. 13. Sans préjudice de poursuites pénales, l'ayant-droit perd tout bénéfice de l'indemnité s'il enfreint les dispositions du présent arrêté ou s'il enfreint les instructions données par l'inspecteur vétérinaire en exécution du présent arrêté.

#### CHAPITRE VI. - Libération du foyer.

A. Tous les bovins ne sont pas abattus.

Art. 14. § 1. L'inspecteur vétérinaire lève les mesures dans le foyer et décide de sa libération lorsque trois bilans sérologiques consécutifs effectués sur tous les bovins âgés de douze mois et plus par un médecin vétérinaire agréé à quatre mois d'intervalle, le premier étant effectué quatre mois après le départ de l'exploitation du dernier bovin à abattre par ordre, ont infirmé la présence de L.B.E.

§ 2. En dérogation à l'article 7, alinéa 1er, 2°, l'inspecteur vétérinaire peut autoriser le repeuplement du foyer après le premier bilan de contrôle avec résultat négatif.

B. Tous les bovins sont abattus.

Art. 15. L'inspecteur vétérinaire lève les mesures dans le foyer lorsque :

1. tous les bovins du troupeau ont été abattus;
2. les abris, locaux et matériels utilisés pour le troupeau ont été nettoyés et désinfectés conformément aux instructions de l'inspecteur vétérinaire.

## CHAPITRE VII. - Dispositions particulières.

### Section 1. - Diagnostic.

Art. 16. § 1. L'I.N.R.V. 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 L.B.E. Ils communiquent tous les résultats de ces épreuves à l'inspecteur vétérinaire.

Seuls les résultats des épreuves effectuées dans ces laboratoires sont pris en considération pour l'application des dispositions du présent arrêté.

§ 2. En dérogation au § 1er, le Ministre peut autoriser d'autres laboratoires à exécuter les épreuves visées au § 1er à des fins de recherches ou d'enseignement.

Art. 17. Les laboratoires visés au § 1er de l'article 16 effectuent les épreuves visées à l'annexe II conformément aux dispositions de ladite annexe et aux instructions du service, sous la surveillance technique de l'I.N.R.V.

### Section 2. - Qualification des troupeaux.

Art. 18. Lorsqu'un bovin provenant d'un troupeau avec statut L2 est introduit dans un troupeau avec statut sanitaire L3, ce dernier se voit ramené au statut L2 pour une période de deux ans à partir de la date d'introduction du bovin.

Art. 19. Tout responsable soumet les troupeaux avec statut L1 et L2 aux épreuves nécessaires afin qu'ils acquièrent dans les plus brefs délais le statut L3.

Art. 20. En dérogation à l'article 2, 7°, et à l'article 6 du présent arrêté le troupeau indemne de L.B.E. dans lequel un seul bovin est atteint de L.B.E., peut ne pas être déclaré foyer à condition que ce bovin et, le cas échéant, sa descendance soient abattus immédiatement. Le statut du troupeau est alors suspendu provisoirement. Le statut L3 est rétabli si une épreuve effectuée 3 mois après l'abattage du ou des bovins concernés, sur tous les bovins de plus d'un an se révèle négative.

### Section 3. - Transport et commercialisation des bovins.

Art. 21.§ 1. [1 ...]1

§ 2. Le médecin vétérinaire agréé appelé en application de l'article 43, 2°, de l'arrêté royal du 6 décembre 1978 relatif à la lutte contre la brucellose bovine est tenu de prélever les substances nécessaires au diagnostic de la L.B.E., conformément aux instructions du service et de les faire parvenir, sous sa responsabilité, au laboratoire visé à l'annexe III et indiqué en regard de la province du troupeau.

§ 3. Sans préjudice des conditions requises pour d'autres maladies, le responsable ne peut introduire de bovin dans son troupeau qu'à la condition que les examens visés au § 2 aient donné des résultats négatifs.

-----

(1)<AR 2011-03-23/10, art. 54, 008; En vigueur : 25-04-2011>

Art. 22. Si, à l'occasion d'un transfert, d'un transport ou d'une introduction, des bovins provenant de troupeaux avec statuts différents ont des contacts, le statut le plus bas remplace le statut sur les attestations des autres bovins.

Art. 22/1. [1 Si tout le territoire est officiellement indemne de la leucose bovine enzootique, dénommée ci-après L.B.E.', l'article 21 et l'article 22 ne sont plus d'application.

L'article 21 et l'article 22 restent toutefois applicables lorsqu'un éleveur de bovins acquiert un bovin d'élevage ou de rente par importation en provenance d'un pays tiers ou via des échanges intracommunautaires, si ce bovin est né dans ou provient d'un Etat membre qui n'est pas officiellement indemne de L.B.E.]1

-----

(1)<Inséré par AR 2010-02-09/02, art. 3, 007; En vigueur : 19-02-2010>

## CHAPITRE VIII. - Dispositions générales.

Art. 23. Tout responsable peut consulter l'inspecteur vétérinaire au sujet de la prophylaxie antileucosique dans son troupeau.

Il doit observer les prescriptions données par l'inspecteur vétérinaire en matière de lutte contre la L.B.E. A défaut d'y satisfaire, chacun de ses bovins est considéré comme suspect d'être atteint de L.B.E. et son exploitation comme foyer de L.B.E.

Art. 24. Lorsque le responsable refuse d'exécuter les mesures ou injonctions, l'inspecteur vétérinaire les fait exécuter d'office.

Art. 25. Tout médecin vétérinaire doit, en matière de L.B.E., observer les instructions données par l'inspecteur vétérinaire et lui donner à tout moment les renseignements demandés.

Art. 26. Aux médecins vétérinaires agréés, il est alloué, à charge du Fonds de la santé et de la production des animaux, les indemnités suivantes pour le prélèvement de sang en vue du diagnostic de la L.B.E. pour autant que ce prélèvement soit imposé par le présent arrêté ou soit requis par l'inspecteur vétérinaire et pour autant qu'il soit effectué au moment opportun et conformément aux instructions du Service :

a) [2 13,99 EUR]2 par exploitation; <AR 2007-03-06/48, art. 1, 005; En vigueur : 01-10-2006>

b) [2 2,10 EUR]2 pour chaque bovin faisant l'objet d'un prélèvement. <AR 2007-03-06/48, art. 1, 005; En vigueur : 01-10-2006>

Le montant de ces indemnités couvre tous les frais de vacations, déplacements et envois des échantillons au laboratoire agréé. Ces indemnités sont payées directement aux médecins vétérinaires agréés au vu d'états trimestriels dûment justifiés et certifiés exacts par l'inspecteur vétérinaire.

Les états trimestriels doivent, (a peine) de déchéance, parvenir à l'inspecteur vétérinaire dans les soixante jours calendrier suivant le dernier jour du trimestre auxquels ils se rapportent. <Err. M. B. 02-04-1992>

[1 Dans les limites de l'article budgétaire prévu à cette fin, les indemnités mentionnées aux points a) et b) sont annuellement ajustées sur base de l'indice santé du mois de juillet de l'année en cours.

Toutefois, pour la première application de cette indexation, les montants figurant aux points a) et b) seront indexés sur base des indices de santé du mois de septembre 2006 et juillet 2008.

La nouvelle indexation des indemnités entre en application le 1er octobre de chaque année.]1

Le présent article ne s'applique pas dans le cadre de l'exécution des dispositions prévues par les articles 19 et 21, § 2.

-----

(1)<AR 2009-08-29/19, art. 2, 006; En vigueur : 01-07-2008>

(2)<DIVERS 2011-09-28/01, art. M, 009; En vigueur : 01-10-2011>

Art. 27. Tout cas urgent, non prévu par le présent arrêté, est tranché par l'inspecteur vétérinaire.

Art. 28. Les annexes du présent arrêté peuvent être modifiées et complétées par le Ministre. Il arrête, s'il le juge utile, des dispositions complémentaires réglant le dépistage de la leucose bovine et peut les rendre obligatoires dans les parties du territoire qu'il désigne.

Il arrête les provinces indemnes de L.B.E. conformément au point D de l'annexe I.

Art. 28/1. [1 Si tout le territoire est officiellement indemne de L.B.E., les dispositions de l'Annexe Ire, A, point 1, ii, iii et iv ne sont pas d'application.

L'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire organise annuellement un programme de surveillance pour le maintien du statut 'officiellement indemne' de L.B.E.

Dans le cadre de ce programme de surveillance, un échantillonnage est effectué annuellement sur plusieurs animaux d'une partie des troupeaux bovins. Ces troupeaux sont sélectionnés de manière aléatoire ou de manière ciblée sur base d'une évaluation du risque. Les troupeaux suivants entrent en considération lors de cette sélection ciblée :

1. les troupeaux qui, sur base annuelle, ont acquis un grand nombre de bovins d'élevage ou de rente;
2. les troupeaux en raison de liens sanitaires ou épidémiologiques.]1

-----

(1)<Inséré par AR 2010-02-09/02, art. 4, 007; En vigueur : 19-02-2010>

Art. 29. - <Disposition abrogatoire de l'AR 1969-05-07/30>

- <Disposition abrogatoire des art. 3, 4, 5 et des annexes II et III de l'AM 1989-02-16/36>

Art. 30. Le présent arrêté entre en vigueur le jour de sa publication au Moniteur belge.

Art. 31. Notre Ministre des Affaires étrangères et Notre Secrétaire d'Etat à l'Agriculture sont chargés, chacun en ce qui le concerne, de l'exécution du présent arrêté.

#### ANNEXES.

(NOTE : Pour des motifs techniques et pratiques, JUSTEL a subdivisé ces annexes en articles fictifs numérotés N1 à N3. L'annexe 2 a aussi été subdivisée en articles fictifs 1N2, 2N2, 3N2 et 4N2)

Art. N1. Annexe 1. (Statut sanitaire) des troupeaux. <Err. M. B. 02-04-1992>

A. Par troupeau avec statut sanitaire L3, on entend :

1. un troupeau dans lequel :

i) aucun cas de L.B.E. n'a été mis en évidence, que ce soit cliniquement ou à la suite de l'une des épreuves pratiquées conformément à l'annexe II, ni confirmé au cours des deux dernières années;

ii) tous les bovins de plus de 24 mois ont réagi négativement au cours des douze derniers mois à deux épreuves pratiquées conformément à l'annexe II, à un intervalle de 4 mois;

iii) après achèvement des tests visés sous ii), ne se trouvent plus que les bovins qui y sont nés ou qui proviennent d'un troupeau indemne de leucose bovine enzootique;

iv) après sa qualification, les bovins de plus de 24 mois ont continué de réagir négativement à l'une des épreuves pratiquées conformément à l'annexe II, à intervalle de 3 ans et les conditions prévues sous i) et iii) continuent d'être remplies;

(2. Un troupeau situé dans une province indemne de E.B.L.) <Err. M. B. 02-04-1992>

ou

B. Par troupeau avec statut L2 on entend : un troupeau dans lequel :

i) aucun cas de L.B.E. n'a été mis en évidence depuis un an au moins;

ii) les bovins d'un an ou plus ont subi une épreuve diagnostique visée à l'annexe II du présent arrêté avec résultat négatif;

iii) aucun bovin ne provenant pas d'un troupeau possédant le statut L2 ou L3 n'a été introduit depuis l'attribution du statut L2 au troupeau.

C. Par troupeau avec statut L1 on entend : un troupeau dans lequel les antécédents cliniques et le statut sérologique sont inconnus, au point de vue L.B.E.

D. Par province indemne de L.B.E., on entend une province :

1. dans laquelle :

a) Au moins 99,8 % des troupeaux sont indemnes de L.B.E.;

b) ou d'une part au cours des trois dernières années, aucun cas de L.B.E. (n'a été mis en évidence) et d'autre part, au cours des deux dernières années : <Err. M. B. 02-04-1992>

i) des contrôles aléatoires pratiqués sur l'ensemble de la province sur tous les animaux d'au moins 10 % des troupeaux ont donné des résultats négatifs;

ii) tous les animaux de plus de 24 mois ont réagi négativement à l'une des épreuves pratiquées conformément à l'annexe II.

2. dans laquelle, après avoir satisfait aux conditions prévues en 1. :

a) chaque année, soit (un échantillon aléatoire), donnant un taux de certitude de 99 % démontre que moins de 0,2 % des troupeaux sont infectés, soit des épreuves pratiquées conformément à l'annexe II sur 20 % des bovins de plus de deux ans donnent des résultats négatifs et <Err. M. B. 02-04-1992>

b) les conditions énoncées au point A. 1. continuent à être remplies.

Art. N2. Annexe II. Epreuves pour le dépistage. <Pour des raisons techniques cette annexe a été subdivisée en articles fictifs : 1N2-4N2>

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

Le Ministre agrée les tests de diagnostic.

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

Art. 1N2. A. Epreuves d'immunodiffusion sur plaque de gelose :

1. L'antigène à utiliser dans cette épreuve doit contenir la glycoprotéine de l'enveloppe du virus de la L.B.E. L'antigène doit être standardisé par rapport à un sérum étalon fourni par le Laboratoire Vétérinaire National de Copenhague.

2. L'I.N.R.V. est chargé d'étalonner l'antigène standard de travail des laboratoires par rapport au sérum étalon officiel C.E.E. fourni par le Laboratoire Vétérinaire National de Copenhague.

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

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

a) antigène : l'antigène doit contenir la glycoprotéine de l'enveloppe du virus de la L.B.E. qui a été standardisé par rapport au sérum officiel C.E.E.;

b) le sérum à tester;

c) un sérum de contrôle positif connu;

d) gélose :

0,8 % agar

8,5 % NaCl

tampon Tris 0,05 M, pH 7,2

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

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

Diamètre de la loge centrale : 4 mm.

Diamètre des loges périphériques : 6 mm.

Distance entre les loges centrales et périphériques : 3 mm.

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

7. Les quantités obtenues sont les suivantes :

antigène : 32 microlitres;

sérum de contrôle : 73 microlitres;

sérum à tester : 73 microlitres.

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

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

a) un sérum à tester est positif s'il forme une ligne de précipitation, spécifique avec l'antigène du virus de la L.B.E., c.-à-d. si cette ligne coïncide avec celle du sérum de contrôle;

b) un sérum à tester est négatif s'il ne donne pas de ligne de précipitation spécifique avec l'antigène du virus de la L.B.E. et s'il n'infléchit pas la ligne du sérum de contrôle;

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

(i) elle infléchit la ligne du sérum de contrôle vers la loge de l'antigène du virus de la L.B.E., sans former une ligne de précipitation visible avec l'antigène, ou

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

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

Art. 2N2. B. Méthode de standardisation de l'antigène :

Solutions et matériels nécessaires :

1. 40 ml de gélose à 1,6 % dans un tampon Tris 0,05 M/HCl, pH 7,2 avec 8,5 % de NaCl;
2. 15 ml d'un sérum de L.B.E. n'ayant d'anti-corps qu'à l'égard de la glycoprotéine de l'enveloppe du virus de la L.B.E., sérum dilué au 1/10 dans un tampon Tris 0,05 M/HCl, pH 7,2 avec 8,5 % de NaCl;
3. 15 ml d'un sérum de la L.B.E. n'ayant d'anticorps qu'à l'égard de la glyco-protéine de l'enveloppe du virus de la L.B.E., sérum dilué au 1/15 dans un tampon Tris 0,05 M/HCl, pH 7,2 avec 8,5 % de NaCl;
4. quatre boîtes de Petri en matière plastique, d'un diamètre de 85 mm;
5. un poinçon d'un diamètre de 4 à 6 mm;
6. un antigène de référence;
7. l'antigène à standardiser;
8. un bain d'eau chaude (56 °C).

Mode opératoire :

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

Mélanger ensuite 15 ml de la solution de gélose à 56 °C avec les 15 ml de sérum de la L.B.E. (1:10), agiter rapidement et verser dans deux boîtes de Petri, à raison de 15 ml par boîte. Recommencer les opérations précédemment décrites avec le sérum de la L.B.E. dilué au 1/5. Lorsque la gélose a durci, les trous y sont pratiqués de la manière suivante :

<Schémas non repris pour des raisons techniques. Voir MB 18-01-1992, p. 916-917>

Addition d'antigènes :

1. Boîtes de Petri n°s 1 et 3 :

Loge A = antigène de référence non dilué;

Loge B = antigène de référence dilué à 1/2;

Loge C + E = antigène de référence;

Loge D = antigène à tester, non dilué.

2. Boîte de Petri n°s 2 et 4 :

Loge A = antigène à tester, non dilué;

Loge B = antigène à tester, dilué à 1/2;

Loge C = antigène à tester, dilué à 1/4;

Loge D = antigène à tester, dilué à 1/8.

Instructions complémentaires :

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

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

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

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

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

Art. 3N2. C. Epreuve immuno-enzymatique (Elisa) pour le dépistage de la L.B.E. :

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

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

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

c) le liquide biologique à examiner;

d) un contrôle positif et négatif;

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

f) une enzyme conjuguée pour essais utilisant des préparations d'immunoglobines biotinylées (l'avidine ou assimilée);

g) un substrat adapté à l'enzyme utilisé;

h) une solution d'obturation;

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

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

## 2. Epreuve de standardisation et de sensibilité :

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

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

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

## 3. Conditions d'utilisation du test Elisa :

La méthode Elisa peut être utilisée sur un échantillon de lait prélevé sur la collecte de lait provenant d'une exploitation comprenant au moins 30 % de vaches laitières en lactation.

La méthode Elisa peut également être utilisée sur un échantillon de mélange de sérum provenant de sang prélevé sur un maximum de 50 animaux.

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

## 4. Agrément des tests Elisa :

Les tests Elisa destinés au diagnostic de la LBE sont soumis lot par lot, pour contrôle à l'I.N.R.V.

Pour obtenir l'agrément de son test Elisa par le Ministre, le fabricant ou le vendeur doit :

1. introduire une demande écrite;
2. mettre gratuitement à disposition de l'I.N.R.V. le matériel nécessaire pour les contrôles d'agrément;
3. tenir un registre des livraisons effectuées mentionnant le nombre et les numéros des lots des tests et à présenter le double des factures sur demande au Service;
4. à présenter au Service, au plus tard le 31 mars de chaque année, (une copie d'un récapitulatif) des livraisons effectuées au cours de l'année précédente; <AR 2006-02-13/33, art. 3, 004; En vigueur : 05-03-2006>
5. à ne pas vendre en Belgique des tests Elisa qui ne répondraient pas aux conditions de cet arrêté.

L'agrément est retiré par le Ministère lorsque le fabricant ou le vendeur ne respecte pas les dispositions du présent arrêté.

(En cas de doute légitime sur l'authenticité de la copie visée à l'annexe 2, C, 4, 4°, le Service peut interpellé, de façon directe, le fabricant.

Si cette interpellation entraîne une charge disproportionnée pour le fabricant ou si le contact direct avec le fabricant s'avère impossible, le Service peut inviter celui-ci, par lettre recommandée à la poste avec accusé de réception, à produire le document original. Dans cette lettre recommandée, la raison de

la demande de remise du document original sera exposée. Tant que le document original demandé n'est pas produit, la procédure dans laquelle cadre la remise de ce document, est suspendue.) <AR 2006-02-13/33, art. 4; En vigueur : 05-03-2006>

Art. N3. Annexe III. - Liste des laboratoires agréés.

Denomination

1. Laboratoire erige auprès de " Het Provinciaal Provincie de Flandre  
Verbond voor Dierziektenbestrijding ", a occidentale  
Torhout, Industrielaan 17
2. Laboratoire erige auprès de " Het Provinciaal Provincie de Flandre  
Verbond voor Dierziektenbestrijding ", a orientale  
Drongen, Drongenstationstraat 71
3. Laboratoire erige auprès de " Het Provinciaal Provincie d'Anvers  
Verbond voor Dierziektenbestrijding ", a Lier, Provincie de Brabant :  
Hagenbroeksesteenweg 167 arrondissements de  
Louvain et  
Bruxelles-Hal-Vilvorde a  
l'exclusion de  
Bruxelles-Capitale
4. Laboratoire erige auprès de " Het Provinciaal Provincie de Limbourg  
Verbond voor Dierziektenbestrijding ", a Alken,  
Wetserstraet 14 <Err. M. B. 02-04-1992>
5. Laboratoire erige auprès de la " Federation de Provincie de Liege  
lutte contre les maladies du betail ", a Liege,  
avenue Alfred Deponthiere 40
6. Laboratoire erige auprès de la " Federation de Provincie de Hainaut  
lutte contre les maladies du betail ", a Mons,  
dreve du Prophete 2

7. Laboratoire erige auprès de la " Federation de Province de Namur

lutte contre les maladies du bétail ", a Province de Brabant :

Erpent, chaussée de Marche 604 arrondissement de

Nivelles

8. Laboratoire erige auprès de la " Federation de Province de Luxembourg

lutte contre les maladies du bétail ", a

Marloie, rue du Carmel 2

9. " L'Institut National de Recherches Bruxelles-Capitale

Vétérinaires ", Groeselenberg 99, a 1180

Bruxelles