

4. Et serum, der indeholder 20 sensibiliserende EØF-enheder eller mere (altså en aktivitet på lig med 20 0/00 af standardserumets) per milliliter skal betragtes som værende positiv.

5. Seraene skal inaktiveres på følgende måde:

- a) bovin-serum: 56 til 60° C i fra 30 til 50 minutter
- b) svine-serum: 60° C i fra 30 til 50 minutter

6. Til fremstilling af antigenet skal der anvendes Weybridge nr. 99 eller USDA 1119 stammer. Antigenet består af en bakterieopløsning i en 0,85 pct.'s fysiologisk kogsaltopløsning eller i en stødpude veronal opløsning.

7. Til at foretage reaktionen er det passende at anvende en komplementdosis, der ligger over det nødvendige minimum for en total hæmolyse.

8. Når man foretager komplementbindingsreaktionen er det nødvendigt hver gang at foretage følgende afprøvninger:

- a) kontrol med serumets anti-komplementvirkning
- b) kontrol med antigenet
- c) kontrol med de sensibiliserede røde blodlegemer
- d) kontrol med komplementet
- e) kontrol, ved hjælp af et positivt serum, med sensibiliteten ved begyndelsen af reaktionen
- f) kontrol med reaktionens specificitet ved hjælp af et negativt serum

9. Overvågen og officiel kontrol med standard-sera og antigener foretages af de organer, der er omtalt i punkt A 9 i nærværende bilag.

10. Antigenerne kan leveres i koncentreret stand for så vidt som den opløsningsfaktor, som skal anvendes, nævnes på flakonens etikette.«¹⁾

C. Ringprøven (ring-test)

1. Ringprøven skal foretages på indholdet af hver enkelt mælkejunge på bedriften.

2. Det standard-antigen som skal anvendes må stamme fra en af de institutioner, som er nævnt i punkt 9 afsnit a) og f).

3. Antigenet må kun farves med hæmatoxylin eller med tetrazolium; man skal helst vælge hæmatoxylin.

4. Reaktionen skal foretages i reagensglas med en diameter på fra 8 til 10 mm.

5. Reaktionen skal gennemføres med 1 ml. mælk hvortil sættes 0,05 ml. af et farvet antigen.

6. Blandingen af mælk og antigen skal henstilles i en varmeovn ved 37° C i mindst 45 minutter og højst 60 minutter.

7. Reaktionen skal gennemføres omkring ved den 18. time efter malkningen og bedømmes efter følgende kriterier:

- a) Negativ reaktion: mælken farvet, fløden affarvet
- b) Positiv reaktion: mælk og fløde farvet på samme måde eller mælken affarvet og fløden farvet.

8. Der må ikke tilsættes formalin til prøven. Det eneste stof, som må tilsættes, er kviksølvklorid i en opløsning på 0,2 pct., og i et sådant tilfælde skal forholdet mellem mælk og kviksølvkloridopløsning være 10 til 1.

¹⁾ Som indsat ved RD 71/285