

en los supuestos de fusiones y absorciones de Mutuas de Accidentes de Trabajo y Enfermedades Profesionales.

A estos efectos, y en tanto son dictadas las oportunas normas que tengan en cuenta la modificación introducida en el artículo 203 de la Ley General de la Seguridad Social, por la disposición adicional decimocuarta de la Ley 4/1990, de 29 de junio, el ámbito de actuación que se podrá computar en el coeficiente multiplicador que prevé el apartado b) del aludido artículo 1.º de la Orden de 8 de mayo de 1977 será aquel que cada Entidad tenga expresamente autorizado a 31 de diciembre de 1992.

Cuarta.—Oportunamente se diseñarán los modelos normalizados en que habrá de realizarse la rendición de cuentas o, en su caso, se autorizará la disposición y contenido de los soportes informáticos que contengan la información económico-contable a que se refieren los preceptos anteriores.

Madrid, 30 de noviembre de 1992.

MARTINEZ NOVAL

Imos. Sres. Secretario general para la Seguridad Social, Directora general de Planificación y Ordenación Económica de la Seguridad Social, Interventor general de la Seguridad Social, Directores generales de las Entidades gestoras y Tesorería General de la Seguridad Social, y Sres. Presidentes de las Mutuas de Accidentes de Trabajo y Enfermedades Profesionales de la Seguridad Social.

## MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACION

**26892** *ORDEN de 1 de diciembre de 1992 por la que se modifica la Orden de 28 de febrero de 1986 por la que se establecen normas para el desarrollo de las campañas de saneamiento ganadero, respecto del diagnóstico de la brucelosis bovina y de la leucosis bovina enzoótica.*

La Directiva 64/432/CEE, del Consejo, de 26 de junio, relativa a problemas de policía sanitaria en materia de intercambios intracomunitarios de animales de las especies bovina y porcina, fue incorporada al ordenamiento jurídico español mediante Orden de este Departamento de 28 de febrero de 1986, por la que se establecen normas para el desarrollo de las campañas de saneamiento ganadero.

Esta Directiva fue modificada por la Directiva 88/406/CEE, del Consejo, de 14 de junio, en lo referente a la leucosis bovina enzoótica, lo que motivó que la Orden citada fuera modificada mediante Orden de 1 de febrero de 1986.

Por último, la Directiva 64/432/CEE ha sido modificada por la Directiva 91/499/CEE, del Consejo, de 26 de junio, respecto al diagnóstico de la brucelosis bovina y de la leucosis bovina enzoótica, por lo que resulta necesario modificar nuevamente la Orden de 28 de febrero de 1986, para adaptarla a la normativa comunitaria.

En su virtud, dispongo:

Artículo 1.º Se modifica el apartado F del anexo B de la Orden de 28 de febrero de 1986, que quedará redactado de la siguiente forma:

«El Laboratorio de Sanidad Animal de Granada actuará como Centro Nacional de Referencia para las brucelosis animales.»

Art. 2.º En el anexo B de la Orden de 28 de febrero de 1986 se añade el apartado G, con la siguiente redacción:

«G) Prueba de inmunoabsorción enzimática (ELISA) para la detección de la brucelosis bovina.

1. Los materiales reactivos que habrán de utilizarse en el método ELISA son los siguientes:

- Microplacas de fase sólida, platillos o cualquier otra fase sólida.
- El antígeno se fijará a la fase sólida con o sin ayuda de anticuerpos captadores policlonales o monoclonales.
- El líquido biológico que deba examinarse.
- Un control positivo y negativo.
- El conjugado.
- Un sustrato adaptado a los enzimas utilizados.
- En su caso, una solución de parada.
- Soluciones para la dilución de muestras de ensayo, para las preparaciones de reactivos y para el lavado.
- Un sistema de lectura apropiado al sustrato utilizado.

2. Condiciones de utilización e interpretación de la prueba ELISA para la detección de brucelosis bovina:

a) El método ELISA podrá practicarse sobre muestras de suero, de lactosuero, o de leche a granel, siempre que ésta proceda de una explotación donde al menos el 30 por 100 de las vacas lecheras estén en periodo de lactación.

b) Cuando se utiliza una de las posibilidades antes citadas, deberán adoptarse las medidas que garanticen la correspondencia entre muestras tomadas y los animales de los que procedan la leche o suero que se examinan.

c) Las muestras de leche a granel se considerarán negativas cuando den una reacción inferior al 50 por 100 de la que ofrezca una dilución de leche negativa de 1 en 10.000 del segundo suero patrón internacional de brucelosis.

d) Las muestras individuales de suero se considerarán negativas cuando den una reacción inferior al 10 por 100 de la que ofrezca una dilución en solución salina de 1 en 200 del segundo suero patrón internacional de brucelosis reconocida.

e) Si una de las muestras diera una reacción positiva, se aplicarán controles serológicos individuales hasta obtener un resultado negativo en al menos dos pruebas individuales practicadas con intervalos de tres meses como mínimo y de doce como máximo, de conformidad con las disposiciones anteriormente citadas, y en un laboratorio directamente supervisado por el Centro Nacional de Referencia.

El suero patrón de la prueba ELISA y el resto de pruebas serológicas para la detección de brucelosis será preparado por el Centro Nacional de Referencia de brucelosis de Granada, de acuerdo con el patrón del Laboratorio Veterinario de Weybridge (Inglaterra). Dicho suero deberá contener 1.000 U.I. aglutinantes por mililitro de suero bovino.»

Art. 3.º El anexo C de la Orden de 28 de febrero de 1986, en su redacción dada por la Orden de 1 de febrero de 1990, quedará redactado de la siguiente forma:

### «ANEXO C

1. El diagnóstico de leucosis bovina enzoótica se efectuará mediante la realización de la prueba de inmunodifusión o mediante la prueba de inmunoabsorción enzimática (ELISA). El método de inmunodifusión sólo se aplicará en las pruebas individuales.

En caso de que cuestionasen los resultados de las pruebas, se llevará a cabo una prueba de inmunodifusión como control suplementario.

A) Prueba de inmunodifusión en gel de agar:

1. El antígeno a utilizar deberá contener glicoproteínas del virus de la leucosis bovina. El antígeno deberá estar estandarizado en comparación con un suero patrón, suministrado por el Statens Veterinaere Serum Laboratorium de Copenhague.

2. La prueba podrá ser leída a las veinticuatro y cuarenta y ocho horas, pero el resultado final deberá obtenerse a las setenta y dos horas de iniciada la incubación.

3. Criterios de interpretación:

a) Un suero problema es positivo cuando forma una curva de precipitación específica con el antígeno del virus de la leucosis bovina enzoótica y si esta curva coincide con el suero control.

b) Un suero problema es negativo si no forma una curva de precipitación específica con el antígeno del virus de la leucosis bovina enzoótica y no desvía la curva del suero control.

c) La reacción no será considerada como concluyente si:

i) Se desvía la curva del suero control hacia el pocillo del antígeno sin formar una curva de precipitación visible con el antígeno.

ii) Si no es posible interpretarla como positiva o negativa.

Para reacciones no concluyentes, se podrá repetir la prueba y utilizar suero concentrado.

B) Prueba de inmunoabsorción enzimática (ELISA).

1. Los materiales y reactivos que han de utilizarse en el método ELISA, son los siguientes:

- Microplacas de fase sólida, platillos o cualquier otra fase sólida.
- El antígeno se fijará a la fase sólida con o sin ayuda de anticuerpos captadores policlonales o monoclonales. Si el antígeno se asocia directamente a la fase sólida, y tratándose de la leucosis bovina enzoótica, todas las muestras de ensayo que den reacciones positivas deberán someterse a nuevas pruebas con el antígeno de control.

El antígeno de control deberá ser idéntico al antígeno examinado, excepto en el caso de los antígenos VLB (virus de la leucosis bovina). Si los anticuerpos captadores están asociados a la fase sólida, los anticuerpos sólo deben reaccionar ante antígenos VLB.

- El líquido biológico que deba examinarse.
- Un control positivo y negativo.
- El conjugado.
- Un sustrato adaptado a los enzimas utilizados.
- En su caso, una solución de parada.

h) Soluciones para la dilución de las muestras de ensayo, para las preparaciones de reactivos y para el lavado.

i) Un sistema de lectura apropiado al sustrato utilizado.

2. El método ELISA también podrá aplicarse sobre muestras de lactosuero o de leche a granel, siempre que éstas procedan de una explotación donde, al menos, el 30 por 100 de las vacas lecheras estén en periodo de lactación.

Cuando se utiliza una de las posibilidades antes citadas, deberán adoptarse las medidas que garanticen la correspondencia entre muestras tomadas y los animales de los que procedan la leche o suero que se examinan.

3. Sensibilidad de la prueba: Cuando se examinen mezclas de muestras (suero o leche), la sensibilidad de la prueba ELISA para la detección de leucosis bovina enzoótica deberá ser de un nivel tal que el suero E4 dé positivo tras diluirse 10 veces más (muestras de suero) o 250 veces más (muestras de leche) que la dilución empleada con las muestras puestas en común.

Cuando las muestras (suero o leche) se analizan individualmente, el suero E4 diluido en una proporción de 1 a 10 en suero negativo o de 1 a 250 en leche negativa, deberá dar positivo cuando se haga la prueba a la misma dilución de ensayo que la utilizada para las muestras individuales.

El Centro Nacional de Referencia realizará el control de calidad de cada lote de producción de los materiales y reactivos que intervienen en el diagnóstico.

4. Si una de las muestras diera reacción positiva, el ganado bovino de la explotación deberá quedar bajo control oficial hasta que se haya podido registrar un resultado negativo en al menos dos pruebas individuales efectuadas en un intervalo de cuatro meses como mínimo en todos los bovinos de más de seis meses, de conformidad con las disposiciones anteriormente citadas, y en un laboratorio directamente supervisado por el Centro Nacional de Referencia.

5. El Laboratorio de Sanidad y Producción Animal de Algete (Madrid), actuará como Centro Nacional de Referencia para leucosis bovina enzoótica.»

#### DISPOSICION FINAL

Esta Orden entrará en vigor el día siguiente al de su publicación en el «Boletín Oficial del Estado».

Madrid, 1 de diciembre de 1992.

SOLBES MIRA

Imos. Sres. Secretario general de Producciones y Mercados Agrarios y Director general de Sanidad de la Producción Agraria.

## MINISTERIO DE RELACIONES CON LAS CORTES Y DE LA SECRETARIA DEL GOBIERNO

**26893** ORDEN de 30 de noviembre de 1992 por la que se regula el horario legal en los años 1993 y 1994.

En cumplimiento de lo previsto en la Sexta Directiva del Consejo de 26 de marzo de 1992, relativa a las disposiciones sobre la hora de verano (92/20/CEE), resulta preciso adoptar las medidas oportunas

sobre la regulación del horario legal que ha de regir durante el bienio 1993-1994.

En su virtud, he tenido a bien disponer:

Primero.—Durante los años 1993 y 1994 la hora oficial se adelantará en sesenta minutos el último domingo del mes de marzo, y se retrasará igualmente en sesenta minutos el último domingo del mes de septiembre.

Segundo.—De acuerdo con lo dispuesto en el número anterior, a las dos horas de los días 28 de marzo de 1993 y 27 de marzo de 1994 se adelantará la hora oficial en sesenta minutos, retrasándose igualmente en sesenta minutos a las tres horas de los días 26 de septiembre de 1993 y 25 de septiembre de 1994.

Tercero.—Los Departamentos ministeriales de que dependan servicios públicos a los que afecten estas medidas dispondrán lo necesario para su cumplimiento.

Madrid, 30 de noviembre de 1992.

ZAPATERO GOMEZ