394D0577

N:o L 221/26 *EUROOPAN YHTEISÖJEN VIRALLINEN LEHTI* 26.8.94

KOMISSION PÄÄTÖS,

tehty 15 päivänä heinäkuuta 1994,

eläinten terveyttä koskevista vaatimuksista ja eläinlääkärintodistuksista naudan siemennesteen tuonnissa kolmansista maista

(94/577/EY)

EUROOPAN YHTEISÖJEN KOMISSIO, joka

ottaa huomioon Euroopan yhteisön perustamissopimuksen,

ottaa huomioon eläinten terveyttä koskevista vaatimuksista yhteisön sisäisessä naudansukuisten kotieläinten pakastetun siemennesteen kaupassa ja tuonnissa 14 päivänä kesäkuuta 1988 annetun neuvoston direktiivin 88/407/ETY([1]), sellaisena kuin se on viimeksi muutettuna direktiivillä 93/60/ETY([2]), ja erityisesti sen 10 ja 11 artiklan,

sekä katsoo, että

luettelo kolmansista maista, joista peräisin olevan kotieläimenä pidetyn naudansukuisen eläimen siemennesteen tuonnin jäsenvaltiot sallivat, jäljempänä 'luettelo', on laadittu komission päätöksellä 90/14/ETY([3]), sellaisena kuin se on muutettuna päätöksellä 91/276/ETY([4]),

Israelin tautitilanne on aiheuttanut tähän maahan kohdistuvan komission päätöksessä 91/277/ETY([5]) määrätyn tuontikiellon,

komission päätöksissä 91/479/ETY([6]), 91/549/ETY([7]), 91/123/ETY([8]), 91/124/ETY([9]), 91/125/ETY([10]), 91/126/ETY([11]), 91/127/ETY([12]), 91/128/ETY([13]), 92/386/ETY([14]), 92/387/ETY([15]) ja 92/455/ETY([16]) määrätään eläinten terveyttä koskevista vaatimuksista ja eläinlääkäritodistuksista tuotaessa naudan siemennestettä, joka on peräisin vastaavassa järjestyksessä Amerikan yhdysvalloista, Kanadasta, Puolasta, Suomesta, Uudesta-Seelannista, Australiasta, Sveitsistä, Ruotsista, Unkarista, Norjasta ja Tsekkoslovakiasta,

direktiivillä 93/60/ETY, joka on pantava täytäntöön jäsenvaltioissa viimeistään 1 päivänä heinäkuuta 1994, muutetaan direktiiviä 88/407/ETY ja siksi on tarpeen muuttaa edellä mainittuja kolmansia maita koskevia päätöksiä; yhteisön tätä alaa koskevan lainsäädännön yksinkertaistamiseksi on aiheellista ryhmitellä edellä mainitut päätökset ja kumota kutakin maata koskevat erilliset päätökset,

ottaen huomioon Euroopan talousalueesta annetut määräykset, ei ole tarpeen säilyttää eläinlääkärintodistuksia tuotaessa Itävallasta, Suomesta, Norjasta ja Ruotsista naudansukuisten eläinten siemennestettä,

eläinlääkintäalan tiedekomitean lausunnon mukaisesti vaaditaan lisäksi uusi koe epitsoottisen verenvuototaudin toteamiseksi,

Kanada on ainoa maa, jossa tehdään rutiinikokeita mainitun taudin toteamiseksi kuuden kuukauden välein ennen siemennesteen keräämistä,

on tarpeen sallia Kanadalle siirtymäaika tämän päätöksen soveltamiselle, jotta Kanadan eläinlääkintäviranomaisilla on tarpeeksi aikaa lisätä uusi koe rutiinitarkastuksiinsa,

ottaen huomioon bluetongue-taudin epidemiologiassa viime aikoina saavutettu kehitys, on mahdollista sallia naudan siemennesteen tuonti Australiasta,

luettelossa olevien kolmansien maiden eläinlääkinnällinen tilanne on hyvä ja sitä valvoo siemennesteen välityksellä tarttuvien tautien osalta rakenteeltaan hyvä ja hyvin järjestetty eläinlääkintätoimi,

luettelossa olevien kolmansien maiden toimivaltaiset eläinlääkintäviranomaiset ovat sitoutuneet 24 tunnin kuluessa ilmoittamaan teleksillä tai telekopiolla Euroopan yhteisön komissiolle ja jäsenvaltioille vahvistuksen jonkin Maailman eläintautijärjestön (OIE) A-luettelossa olevan taudin esiintymisestä tai näihin tauteihin sovellettavien rokotusohjelmien muutoksesta tai ilmoittamaan kohtuullisessa määräajassa OIE:n B-luettelossa olevan taudin esiintymisestä ja kaikista muutosehdotuksista kotieläinten tai niiden siemennesteen tai alkioiden tuontiin sovellettavissa säännöissä,

([1]) EYVL N:o L 194, 22.7.1988, s. 10
([2]) EYVL N:o L 186, 28.7.1993, s. 28
([3]) EYVL N:o L 8, 11.1.1990, s. 71
([4]) EYVL N:o L 135, 30.5.1991, s. 58
([5]) EYVL N:o L 135, 30.5.1991, s. 60
([6]) EYVL N:o L 258, 16.9.1991, s. 1
([7]) EYVL N:o L 298, 29.10.1991, s. 6
([8]) EYVL N:o L 48, 22.2.1992, s. 1
([9]) EYVL N:o L 48, 22.2.1992, s. 10
([10]) EYVl N:o L 48, 22.2.1992, s. 19
([11]) EYVL N:o L 48, 22.2.1992, s. 28
([12]) EYVL N:o L 48, 22.2.1992, s. 37
([13]) EYVL N:o L 48, 22.2.1992, s. 46
([14]) EYVL N:o L 204, 21.7.1992, s. 13
([15]) EYVL N:o L 204, 21.7.1992, s. 22
([16]) EYVL N:o L 247, 27.8.1992, s. 1

luettelossa olevien kolmansien maiden viranomaiset ovat sitoutuneet virallisesti valvomaan tämän päätöksen mukaisten todistusten antamista ja valvomaan, että kaikki todistukset, poikkeukset ja laboratoriokokeiden tulokset, joihin tämä todistus pohjautuu, säilytetään vähintään 12 kuukautta virallisessa arkistossa kyseisen siemennesteen toimituksen jälkeen,

luettelossa olevien kolmansien maiden toimivaltaiset eläinlääkintäviranomaiset ovat sitoutuneet neuvoston direktiivin 88/407/ETY 9 artiklan mukaisesti virallisesti hyväksymään keinosiemennysasemat, joista viedään naudan siemennestettä Euroopan talousyhteisöön,

eläinten terveyttä koskevat vaatimukset ja eläinlääkärintodistukset on mukautettava kyseisen kolmannen maan terveydelliseen tilanteeseen, ja

tässä päätöksessä määrätyt toimenpiteet ovat pysyvän eläinlääkintäkomitean lausunnon mukaiset,

ON TEHNYT TÄMÄN PÄÄTÖKSEN:

1 artikla

Jäsenvaltiot sallivat liitteissä A, B, C ja D olevan 1 osan todistusten ehdot täyttävän ja yksinomaan liitteissä A, B, C ja D olevassa 2 osassa vastaavasti luetelluista maista peräisin olevan naudan siemennesteen tuonnin.

Ne sallivat kuitenkin Kanadasta peräisin olevan, päätöksen 91/549/ETY mukaisesti kerätyn ja käsitellyn naudan siemennesteen tuonnin 31 päivään joulukuuta 1994 asti.

2 artikla

Kumotaan päätökset 91/479/ETY, 92/123/ETY, 92/124/ETY, 92/125/ETY, 92/126/ETY, 92/127/ETY, 92/128/ETY, 92/386/ETY, 92/387/ETY ja 92/455/ETY.

Kumotaan päätös 91/549/ETY 1 päivästä tammikuuta 1995 alkaen.

3 artikla

Edellä 1 artiklan 1 kohdassa tarkoitettuja Kanadaa koskevia määräyksiä sovelletaan 1 päivästä tammikuuta 1995.

4 artikla

Tämä päätös on osoitettu kaikille jäsenvaltioille.

Tehty Brysselissä 15 päivänä heinäkuuta 1994.

Komission puolesta

René STEICHEN

Komission jäsen

LIITE A

1 OSA

TERVEYSTODISTUS

naudan siemennesteen tuontia varten

<table>
<tr><td colspan="2">1. Lähettäjä (koko nimi ja osoite)</td><td>Todistuksen numero

2. Keräysmaana oleva kolmas maa</td></tr>
<tr><td colspan="2">3. Vastaanottaja (koko nimi ja osoite)</td><td>4. Toimivaltainen viranomainen</td></tr>
<tr><td colspan="2">Huomautuksia:
a) Jokaisesta siemenneste-erästä tehdään erillinen todistus
b) Alkuperäisen todistuksen tulee seurata erää vastaanottopaikkaan asti.</td><td>5. Paikallinen toimivaltainen viranomainen</td></tr>
<tr><td colspan="2">6. Lastauspaikka</td><td>7. Keinosiemennysaseman nimi ja osoite</td></tr>
<tr><td colspan="2">8. Kulkuneuvo

9. Määräjäsenvaltio ja -paikka

11. Siemenesteen sisältävän säiliön numero</td><td>10. Keinosiemennysaseman hyväksyntänumero</td></tr>
<tr><td colspan="3">12. Siemennesteen tunnistetiedot

Tuore tai pakaste *

(* tarpeeton yliviivataan)</td></tr>
<tr><td>a) erien lukumäärä

d) luovuttajan tunnistetiedot</td><td>b) keräyspäivä</td><td>c) rotu</td></tr>
</table>

13. Minä allekirjoittanut virkaeläinlääkäri vakuutan luettuani neuvoston direktiivin 88/407/ETY ja perehdyttyäni siihen, että:

a) .....
(viejämaa)

on ollut vapaa karjarutosta ja suu- ja sorkkataudista vientiin tarkoitetun siemennesteen keräystä välittömästi edeltävän 12 kuukauden ajan ja tämän lähettämispäivään asti eikä näitä tauteja vastaan ole tänä samana aikana annettu rokotuksia.

b) Vientiin tarkoitetun siemennesteen keräyksen tehnyt keinosiemennysasema:

i) on hyväksytty direktiivin 88/407/ETY liitteessä A olevan I luvun ehtojen mukaisesti;

ii) hoidetaan ja valvotaan direktiivin 88/407/ETY liitteessä A olevan II luvun ehtojen mukaisesti;

iii) on ollut vapaa raivotaudista, tuberkuloosista, luomistaudista, pernarutosta ja naudan tarttuvasta keuhkorutosta vientiin tarkoitetun sperman keräystä edeltävän 30 päivän ja sitä seuraavan 30 päivän ajan (jos kyseessä on tuore siemenneste, lähetyspäivään asti).

c) Keinosiemennysasemalla olevat naudat:

i) ovat peräisin direktiivin 88/407/ETY liitteessä B olevan I luvun ehdot täyttävistä karjoista ja/tai lehmistä;

ii) niille on tehty direktiivin 88/407/ETY liitteessä B olevan I luvussa luetellut kokeet ennen niiden saapumista eritysasemalle;

iii) ne ovat täyttäneet eristysvaatimukset ja direktiivin 88/407/ETY liitteessä B olevassa I luvussa määrätyt sisäänottoa edeltävien kokeiden tulokset ovat olleet vaatimusten mukaisia;

iv) niille on tehty direktiivin 88/407/ETY liitteessä B olevassa II luvussa määrätyt rutiinitarkastukset, jos ne ovat olleet keinosiemennysasemalla vähintään vuoden.

d) Vientiin tarkoitettu siemenneste:

i) on peräisin luovuttajista, jotka ovat olleet

.....
(viejämaa)

vientiin tarkoitetun ja direktiivin 88/407/ETY liitteessä C määrätyt ehdot täyttävän siemennesteen keräystä välittömästi edeltävän kuuden kuukauden ajan;

ii) on peräisin luovuttajista,

— jotka ovat olleet keinosiemennysasemalla, jossa vientiin tarkoitetun siemennesteen keräystä edeltävän 12 kuukauden aikana naudoille tarttuvan naudan rinotrakeiitin tai tarttuvan pustulaarisen vulvovaginiitin toteamiseksi tehdyn seroneutralisaatiokokeen tai ELISA-kokeen tulos on ollut negatiivinen(1)

tai

— joille vientiin tarkoitetun siemennesteen keräystä edeltävän 12 kuukauden aikana tarttuvan naudan rinotrakeiitin tai tarttuvan pustulaarisen vulvovaginiitin toteamiseksi tehdyn seroneutralisaatiokokeen tai ELISA-kokeen tulos on ollut negatiivinen(1)

tai

— jotka ovat seropositiivisia direktiivin 88/407/ETY(1) liitteessä B olevan II luvun mukaisesti annetun rokotuksen vuoksi ja joille hyväksytyllä keinosiemennysasemalla tehdyn seroneutralisaatiokokeen tai ELISA-kokeen tulos on ollut negatiivinen ennen rokotusta(1)

(1) Tarpeeton yliviivataan.

tai

— joille tarttuvan naudan rinotrakeiitin tai tarttuvan pustulaarisen vulvovaginiitin toteamiseksi tehdyn seroneutralisaatiokokeen tai ELISA-kokeen tulos on ollut positiivinen ja joita ei ole rokotettu direktiivin 88/407/ETY liitteessä B olevan II luvun mukaisesti, mutta joiden jokaisesta vientiin tarkoitetusta siemenneste-erästä vähintään 10 prosenttia (vähintään viisi puikkoa) on ennen vientiä tuottanut negatiivisen tuloksen elävälle eläimelle tehdyssä inokulaatiokokeessa tai viruksen eristämiskokeessa (1);

iii) on käsitelty, varastoitu ja kuljetettu direktiivin 88/407/ETY määräysten mukaisesti.

Tehty .....
(paikka) (päivämäärä)

Leima (2)

Allekirjoitus(2): .....

Nimi suuraakkosin: .....

Virka-asema:.....

(1) Tarpeeton yliviivataan.
(2) Allekirjoituksen ja leiman värin tulee olla painoväristä poikkeavia.

2 OSA

Luettelo maista, joiden sallitaan käyttää liitteessä A olevan 1 osan mukaista terveystodistusta

TSEKIN TASAVALTA

UNKARI

UUSI-SEELANTI

PUOLA

ROMANIA

SVEITSI

SLOVAKIAN TASAVALTA

LIITE B

1 OSA

TERVEYSTODISTUS

Amerikan yhdysvalloista peräisin olevan naudan siemennesteen tuontia varten

<table>
<tr><td colspan="2">1. Lähettäjä (koko nimi ja osoite)</td><td>Todistuksen numero

2. Keräysmaana oleva kolmas maa</td></tr>
<tr><td colspan="2">3. Vastaanottaja (koko nimi ja osoite)</td><td>4. Toimivaltainen viranomainen</td></tr>
<tr><td colspan="2">Huomautuksia:
a) Jokaisesta siemenneste-erästä tehdään erillinen todistus
b) Alkuperäisen todistuksen tulee seurata erää vastaanottopaikkaan asti.</td><td>5. Paikallinen toimivaltainen viranomainen</td></tr>
<tr><td colspan="2">6. Lastauspaikka</td><td>7. Keinosiemennysaseman nimi ja osoite</td></tr>
<tr><td colspan="2">8. Kulkuneuvo</td><td rowspan="3">10. Keinosiemennysaseman hyväksyntänumero</td></tr>
<tr><td colspan="2">9. Määräjäsenvaltio ja -paikka</td></tr>
<tr><td colspan="2">11. Siemenesteen sisältävän säiliön numero</td></tr>
<tr><td colspan="3">12. Siemennesteen tunnistetiedot

Tuore tai pakaste *

(* tarpeeton yliviivataan)</td></tr>
<tr><td>a) erien lukumäärä</td><td rowspan="2">b) keräyspäivä</td><td rowspan="2">c) rotu</td></tr>
<tr><td>d) luovuttajan tunnistetiedot</td></tr>
</table>

13. Minä allekirjoittanut virkaeläinlääkäri vakuutan luettuani neuvoston direktiivin 88/407/ETY ja perehdyttyäni siihen, että:

a) .....
(viejämaa)

on ollut vapaa karjarutosta ja suu- ja sorkkataudista vientiin tarkoitetun siemennesteen keräystä välittömästi edeltävän 12 kuukauden ajan ja tämän lähettämispäivään asti eikä näitä tauteja vastaan ole tänä samana aikana annettu rokotuksia.

b) Vientiin tarkoitetun siemennesteen keräyksen tehnyt keinosiemennysasema:

i) on hyväksytty direktiivin 88/407/ETY liitteessä A olevan I luvun ehtojen mukaisesti;

ii) hoidetaan ja valvotaan direktiivin 88/407/ETY liitteessä A olevan II luvun ehtojen mukaisesti;

iii) on ollut vapaa raivotaudista, tuberkuloosista, luomistaudista, pernarutosta ja naudan tarttuvasta keuhkorutosta vientiin tarkoitetun sperman keräystä edeltävän 30 päivän ja sitä seuraavan 30 päivän ajan (jos kyseessä on tuore siemenneste, lähetyspäivään asti).

c) Keinosiemennysasemalla olevat naudat:

i) ovat peräisin direktiivin 88/407/ETY liitteessä B olevan I luvun ehdot täyttävistä karjoista ja/tai lehmistä;

ii) niille on tehty direktiivin 88/407/ETY liitteessä B olevan I luvussa luetellut kokeet ennen niiden saapumista eritysasemalle;

iii) ne ovat täyttäneet eristysvaatimukset ja direktiivin 88/407/ETY liitteessä B olevassa I luvussa määrätyt sisäänottoa edeltävien kokeiden tulokset ovat olleet vaatimusten mukaisia;

iv) niille on tehty direktiivin 88/407/ETY liitteessä B olevassa II luvussa määrätyt rutiinitarkastukset, jos ne ovat olleet keinosiemennysasemalla vähintään vuoden.

d) Vientiin tarkoitettu siemenneste:

i) on peräisin luovuttajista, jotka ovat olleet

.....
(viejämaa)

vientiin tarkoitetun ja direktiivin 88/407/ETY liitteessä C määrätyt ehdot täyttävän siemennesteen keräystä välittömästi edeltävän kuuden kuukauden ajan;

ii) on peräisin luovuttajista,

— jotka ovat olleet keinosiemennysasemalla, jossa vientiin tarkoitetun siemennesteen keräystä edeltävän 12 kuukauden aikana naudoille tarttuvan naudan rinotrakeiitin tai tarttuvan pustulaarisen vulvovaginiitin toteamiseksi tehdyn seroneutralisaatiokokeen tai ELISA-kokeen tulos on ollut negatiivinen(1)

tai

— joille vientiin tarkoitetun siemennesteen keräystä edeltävän 12 kuukauden aikana tarttuvan naudan rinotrakeiitin tai tarttuvan pustulaarisen vulvovaginiitin toteamiseksi tehdyn seroneutralisaatiokokeen tai ELISA-kokeen tulos on ollut negatiivinen(1)

tai

— jotka ovat seropositiivisia direktiivin 88/407/ETY(1) liitteessä B olevan II luvun mukaisesti annetun rokotuksen vuoksi ja joille hyväksytyllä keinosiemennysasemalla tehdyn seroneutralisaatiokokeen tai ELISA-kokeen tulos on ollut negatiivinen ennen rokotusta(1)

(1) Tarpeeton yliviivataan.

tai

— joille tarttuvan naudan rinotrakeiitin tai tarttuvan pustulaarisen vulvovaginiitin toteamiseksi tehdyn seroneutralisaatiokokeen tai ELISA-kokeen tulos on ollut positiivinen ja joita ei ole rokotettu direktiivin 88/407/ETY liitteessä B olevan II luvun mukaisesti, mutta joiden jokaisesta vientiin tarkoitetusta siemenneste-erästä vähintään 10 prosenttia (vähintään viisi puikkoa) on ennen vientiä tuottanut negatiivisen tuloksen elävälle eläimelle tehdyssä inokulaatiokokeessa tai viruksen eristämiskokeessa (1);

iii) on käsitelty, varastoitu ja kuljetettu direktiivin 88/407/ETY määräysten mukaisesti.

iv) on peräisin sonneista, joille on tehty hyväksytyssä laboratoriossa kaksi kertaa, keräystä ennen ja sen jälkeen, 12 kuukauden välein (keräystä seuraava koe on tehtävä verinäytteestä, joka on otettu vähintään 21 päivää vientiin tarkoitetun siemennesteen keräyksen jälkeen), seuraavat kokeet negatiivisin tuloksin:

— ELISA-koe bluetongue-taudin toteamiseksi liitteen E mukaisesti,

— geeli-immunodiffuusiokoe liitteen E mukaisesti ja seroneutralisaatiokoe kaikkien viejämaassa tunnettujen epitsoottisen verenvuototaudin serotyyppien toteamiseksi.

Tehty .....
(paikka) (päivämäärä)

Leima (2)

Allekirjoitus(2): .....

Nimi suuraakkosin: .....

Virka-asema: .....

(1) Tarpeeton yliviivataan.
(2) Allekirjoituksen ja leiman värin tulee olla painovääristä poikkeavia.

2 OSA

Luettelo maista, joiden sallitaan käyttävän liitteessä B olevan 1 osan mukaista terveystodistusta

AMERIKAN YHDYSVALLAT

LIITE C

1 OSA

TERVEYSTODISTUS

naudan siemennesteen tuontia varten

<table>
<tr><td colspan="2">1. Lähettäjä (koko nimi ja osoite)</td><td>Todistuksen numero</td></tr>
<tr><td colspan="2"></td><td>2. Keräysmaana oleva kolmas maa</td></tr>
<tr><td colspan="2">3. Vastaanottaja (koko nimi ja osoite)</td><td>4. Toimivaltainen viranomainen</td></tr>
<tr><td colspan="2">Huomautuksia:
a) Jokaisesta siemenneste-erästä tehdään erillinen todistus
b) Alkuperäisen todistuksen tulee seurata erää vastaanottopaikkaan asti.</td><td>5. Paikallinen toimivaltainen viranomainen</td></tr>
<tr><td colspan="2">6. Lastauspaikka</td><td>7. Keinosiemennysaseman nimi ja osoite</td></tr>
<tr><td colspan="2">8. Kulkuneuvo</td><td rowspan="3">10. Keinosiemennysaseman hyväksyntänumero</td></tr>
<tr><td colspan="2">9. Määräjäsenvaltio ja -paikka</td></tr>
<tr><td colspan="2">11. Siemenesteen sisältävän säiliön numero</td></tr>
<tr><td colspan="3">12. Siemennesteen tunnistetiedot
Tuore tai pakaste *
(* tarpeeton yliviivataan)</td></tr>
<tr><td>a) erien lukumäärä</td><td rowspan="2">b) keräyspäivä</td><td rowspan="2">c) rotu</td></tr>
<tr><td>d) luovuttajan tunnistetiedot</td></tr>
</table>

13. Minä allekirjoittanut virkaeläinlääkäri vakuutan luettuani neuvoston direktiivin 88/407/ETY ja perehdyttyäni siihen, että:

a) .....
(viejämaa)

on ollut vapaa karjarutosta ja suu- ja sorkkataudista vientiin tarkoitetun siemennesteen keräystä välittömästi edeltävän 12 kuukauden ajan ja tämän lähettämispäivään asti eikä näitä tauteja vastaan ole tänä samana aikana annettu rokotuksia.

b) Vientiin tarkoitetun siemennesteen keräyksen tehnyt keinosiemennysasema:

i) on hyväksytty direktiivin 88/407/ETY liitteessä A olevan I luvun ehtojen mukaisesti;

ii) hoidetaan ja valvotaan direktiivin 88/407/ETY liitteessä A olevan II luvun ehtojen mukaisesti;

iii) on ollut vapaa raivotaudista, tuberkuloosista, luomistaudista, pernarutosta ja naudan tarttuvasta keuhkorutosta vientiin tarkoitetun sperman keräystä edeltävän 30 päivän ja sitä seuraavan 30 päivän ajan (jos kyseessä on tuore siemenneste, lähetyspäivään asti).

c) Keinosiemennysasemalla olevat naudat:

i) ovat peräisin direktiivin 88/407/ETY liitteessä B olevan I luvun ehdot täyttävistä karjoista ja/tai lehmistä;

ii) niille on tehty direktiivin 88/407/ETY liitteessä B olevan I luvussa luetellut kokeet ennen niiden saapumista eritysasemalle;

iii) ne ovat täyttäneet eristysvaatimukset ja direktiivin 88/407/ETY liitteessä B olevassa I luvussa määrätyt sisäänottoa edeltävien kokeiden tulokset ovat olleet vaatimusten mukaisia;

iv) niille on tehty direktiivin 88/407/ETY liitteessä B olevassa II luvussa määrätyt rutiinitarkastukset, jos ne ovat olleet keinosiemennysasemalla vähintään vuoden.

d) Vientiin tarkoitettu siemenneste:

i) on peräisin luovuttajista, jotka ovat olleet

.....
(viejämaa)

vientiin tarkoitetun ja direktiivin 88/407/ETY liitteessä C määrätyt ehdot täyttävän siemennesteen keräystä välittömästi edeltävän kuuden kuukauden ajan;

ii) on peräisin luovuttajista,

— jotka ovat olleet keinosiemennysasemalla, jossa vientiin tarkoitetun siemennesteen keräystä edeltävän 12 kuukauden aikana naudoille tarttuvan naudan rinotrakeiitin tai tarttuvan pustulaarisen vulvovaginiitin toteamiseksi tehdyn seroneutralisaatiokokeen tai ELISA-kokeen tulos on ollut negatiivinen(1)

tai

— joille vientiin tarkoitetun siemennesteen keräystä edeltävän 12 kuukauden aikana tarttuvan naudan rinotrakeiitin tai tarttuvan pustulaarisen vulvovaginiitin toteamiseksi tehdyn seroneutralisaatiokokeen tai ELISA-kokeen tulos on ollut negatiivinen(1)

tai

— jotka ovat seropositiivisia direktiivin 88/407/ETY(1) liitteessä B olevan II luvun mukaisesti annetun rokotuksen vuoksi ja joille hyväksytyllä keinosiemennysasemalla tehdyn seroneutralisaatiokokeen tai ELISA-kokeen tulos on ollut negatiivinen ennen rokotusta(1)

(1) Tarpeeton yliviivataan.

tai

— joille tarttuvan naudan rinotrakeiitin tai tarttuvan pustulaarisen vulvovaginiitin toteamiseksi tehdyn seroneutralisaatiokokeen tai ELISA-kokeen tulos on ollut positiivinen ja joita ei ole rokotettu direktiivin 88/407/ETY liitteessä B olevan II luvun mukaisesti, mutta joiden jokaisesta vientiin tarkoitetusta siemenneste-erästä vähintään 10 prosenttia (vähintään viisi puikkoa) on ennen vientiä tuottanut negatiivisen tuloksen elävälle eläimelle tehdyssä inokulaatiokokeessa tai viruksen eristämiskokeessa (1);

iii) on käsitelty, varastoitu ja kuljetettu direktiivin 88/407/ETY määräysten mukaisesti.

iv) on peräisin sonneista:

— jotka ovat joko olleet hyväksytyllä keinosiemennysasemalla 1 päivänä heinäkuuta 1994,

— tai jotka on tuotu hyväksytylle keinosiemennysasemalle 1 päivän heinäkuuta jälkeen ja joille on ennen asemalle tuloaan tehty hyväksytyssä laboratoriossa seuraavat kokeet bluetongue -taudin ja epitsoottisen verenvuototaudin toteamiseksi negatiivisin tuloksin,

ja joille, kummassakin tapauksessa, on tehty hyväksytyssä laboratoriossa kuuden kuukauden välein negatiivisin tuloksin seuraavat kokeet:

— ELISA-koe bluetongue-taudin toteamiseksi liitteen E mukaisesti,

— geeli-immunodiffuusiokoe liitteen C mukaisesti ja seroneutralisaatiokoe kaikkien viejämaassa tunnettujen epitsoottisen verenvuototaudin serotyyppien toteamiseksi.

Tehty ..... (paikka) ..... (päivämäärä)

Leima (2)

Allekirjoitus(2): .....

Nimi suuraakkosin: .....

Virka-asema: .....

(1) Tarpeeton yliviivataan.
(2) Allekirjoituksen ja leiman värin tulee olla painoväristä poikkeavia.

2 OSA

Luettelo maista, joiden sallitaan käyttävän liitteessä C olevan 1 osan mukaista terveystodistusta

KANADA: lukuun ottamatta Okanaganin laaksoa Brittiläisessä Kolumbiassa, alue määritellään vyöhykkeenä linjan sisällä, joka lähtee Kanadan ja Amerikan yhdysvaltojen rajalta pisteestä 120° 15' pituutta ja 49° leveyttä, jatkuu pohjoiseen pisteeseen 119° 35' pituutta ja 50° 30' leveyttä, koilliseen pisteeseen 119° pituutta ja 50° 45' leveyttä, etelään Kanadan ja Amerikan yhdysvaltojen rajalla sijaitsevaan pisteeseen 118° 15' pituutta ja 49° leveyttä

LIITE D

1 OSA

TERVEYSTODISTUS

Australiasta peräisin olevan naudan siemennesteen tuontia varten

<table>
<tr><td colspan="2">1. Lähettäjä (koko nimi ja osoite)</td><td>Todistuksen numero

2. Keräysmaana oleva kolmas maa</td></tr>
<tr><td colspan="2">3. Vastaanottaja (koko nimi ja osoite)</td><td>4. Toimivaltainen viranomainen</td></tr>
<tr><td colspan="2">Huomautuksia:
a) Jokaisesta siemenneste-erästä tehdään erillinen todistus
b) Alkuperäisen todistuksen tulee seurata erää vastaanottopaikkaan asti.</td><td>5. Paikallinen toimivaltainen viranomainen</td></tr>
<tr><td colspan="2">6. Lastauspaikka</td><td>7. Keinosiemennysaseman nimi ja osoite</td></tr>
<tr><td colspan="2">8. Kulkuneuvo

9. Määräjäsenvaltio ja -paikka

11. Siemenesteen sisältävän säiliön numero</td><td>10. Keinosiemennysaseman hyväksyntänumero</td></tr>
<tr><td colspan="3">12. Siemennesteen tunnistetiedot
Tuore tai pakaste *

(* tarpeeton yliviivataan)</td></tr>
<tr><td>a) erien lukumäärä

d) luovuttajan tunnistetiedot</td><td>b) keräyspäivä</td><td>c) rotu</td></tr>
</table>

13. Minä allekirjoittanut virkaeläinlääkäri vakuutan luettuani neuvoston direktiivin 88/407/ETY ja perehdyttyäni siihen, että:

a) .....
(viejämaa)

on ollut vapaa karjarutosta ja suu- ja sorkkataudista vientiin tarkoitetun siemennesteen keräystä välittömästi edeltävän 12 kuukauden ajan ja tämän lähettämispäivään asti eikä näitä tauteja vastaan ole tänä samana aikana annettu rokotuksia.

b) Vientiin tarkoitetun siemennesteen keräyksen tehnyt keinosiemennysasema:

i) on hyväksytty direktiivin 88/407/ETY liitteessä A olevan I luvun ehtojen mukaisesti;

ii) hoidetaan ja valvotaan direktiivin 88/407/ETY liitteessä A olevan II luvun ehtojen mukaisesti;

iii) on ollut vapaa raivotaudista, tuberkuloosista, luomistaudista, pernarutosta ja naudan tarttuvasta kuumekorutosta vientiin tarkoitetun sperman keräystä edeltävän 30 päivän ja sitä seuraavan 30 päivän ajan (jos kyseessä on tuore siemenneste, lähetyspäivään asti).

c) Keinosiemennysasemalla olevat naudat:

i) ovat peräisin direktiivin 88/407/ETY liitteessä B olevan I luvun ehdot täyttävistä karjoista ja/tai lehmistä;

ii) niille on tehty direktiivin 88/407/ETY liitteessä B olevan I luvussa luetellut kokeet ennen niiden saapumista eritysasemalle;

iii) ne ovat täyttäneet eristysvaatimukset ja direktiivin 88/407/ETY liitteessä B olevassa I luvussa määrätyt sisäänottoa edeltävien kokeiden tulokset ovat olleet vaatimusten mukaisia;

iv) niille on tehty direktiivin 88/407/ETY liitteessä B olevassa II luvussa määrätyt rutiinitarkastukset, jos ne ovat olleet keinosiemennysasemalla vähintään vuoden.

d) Vientiin tarkoitettu siemenneste:

i) on peräisin luovuttajista, jotka ovat olleet

.....
(viejämaa)

vientiin tarkoitetun ja direktiivin 88/407/ETY liitteessä C määrätyt ehdot täyttävän siemennesteen keräystä välittömästi edeltävän kuuden kuukauden ajan;

ii) on peräisin luovuttajista,

— jotka ovat olleet keinosiemennysasemalla, jossa vientiin tarkoitetun siemennesteen keräystä edeltävän 12 kuukauden aikana naudoille tarttuvan naudan rinotrakeiitin tai tarttuvan pustulaarisen vulvovaginiitin toteamiseksi tehdyn seroneutralisaatiokokeen tai ELISA-kokeen tulos on ollut negatiivinen(1)

tai

— joille vientiin tarkoitetun siemennesteen keräystä edeltävän 12 kuukauden aikana tarttuvan naudan rinotrakeiitin tai tarttuvan pustulaarisen vulvovaginiitin toteamiseksi tehdyn seroneutralisaatiokokeen tai ELISA-kokeen tulos on ollut negatiivinen(1)

tai

— jotka ovat seropositiivisia direktiivin 88/407/ETY(1) liitteessä B olevan II luvun mukaisesti annetun rokotuksen vuoksi ja joille hyväksytyllä keinosiemennysasemalla tehdyn seroneutralisaatiokokeen tai ELISA-kokeen tulos on ollut negatiivinen ennen rokotusta(1)

(1) Tarpeeton yliviivataan.

tai

— joille tarttuvan naudan rinotrakeiitin tai tarttuvan pustulaarisen vulvovaginiitin toteamiseksi tehdyn seroneutralisaatiokokeen tai ELISA-kokeen tulos on ollut positiivinen ja joita ei ole rokotettu direktiivin 88/407/ETY liitteessä B olevan II luvun mukaisesti, mutta joiden jokaisesta vientiin tarkoitetusta siemenneste-erästä vähintään 10 prosenttia (vähintään viisi puikkoa) on ennen vientiä tuottanut negatiivisen tuloksen elävälle eläimelle tehdyssä inokulaatiokokeessa tai viruksen eristämiskokeessa(1);

iii) on käsitelty, varastoitu ja kuljetettu direktiivin 88/407/ETY määräysten mukaisesti;

iv) on peräisin sonneista, joille on tehty hyväksytyssä laboratoriossa kaksi kertaa, keräystä ennen ja sen jälkeen, 12 kuukauden välein (keräystä seuraava koe on tehtävä verinäytteestä, joka on otettu vähintään 21 päivää vientiin tarkoitetun siemennesteen keräyksen jälkeen), seuraavat kokeet negatiivisin tuloksin:

— ELISA-koe bluetongue-taudin toteamiseksi liitteen E mukaisesti,

— geeli-immunodiffuusiokoe liitteen E mukaisesti ja seroneutralisaatiokoe kaikkien viejämaassa tunnettujen epitsoottisen verenvuototaudin serotyyppien toteamiseksi,

— seroneutralisaatiokoe akabane-viruksen toteamiseksi.

Tehty .....
(paikka) (päivämäärä)

Leima(2)

Allekirjoitus(2): .....

Nimi suuraakkosin: .....

Virka-asema: .....

(1) Tarpeeton yliviivataan.
(2) Allekirjoituksen ja leiman värin tulee olla painoväristä poikkeavia.

2 OSA

Luettelo maista, joiden sallitaan käyttää liitteessä D olevan 1 osan mukaista terveystodistusta

AUSTRALIA

LIITE E

Toimintaohjeet poissulkevan tai vertailevan entsyymivälitteisen immunosorbenttimäärityksen tekemiseksi ryhmäspesifisen monokloonisen vasta-aineen avulla bluetongue-taudin virusvasta-aineiden toteamiseksi

VERTAILEVA ELISA-KOE BLUETONGUE-TAUDIN TOTEAMISEKSI MONOKLOONISEN 3-17-A3 VASTA-AINEEN AVULLA

Vertailevalla ELISA-kokeella monokloonista 3-17-A3 vasta-ainetta käyttäen voidaan havaita kaikki bluetongue-tautiviruksen (BTV) tunnetut seerumityypit.

Kokeessa on periaatteena, että BTV:n antigeenin ja lajiryhmän (3-17-A3) monokloonisen vasta-aineen reaktio keskeytetään lisäämällä koeseerumin laimennoksia. Koeseerumissa olevat BTV:n vasta-aineet estävät monokloonisen vasta-aineen (MKV) reagoinnin ja entsyymiuutteen lisäys heikentää odotettua värimuutosta.

TARVIKKEET JA REAGENSSIT

1. Tasapohjaiset mikrotitrauslevyt.
2. Antigeeni: valmistetaan jäljempänä esitetyllä menetelmällä.
3. Estopuskuri: 5 % (w/v) "Marvel" kuivattua maitojauhetta, 0,1 % (v/v) Tween-20: tä (polyoksietyleenisorbitoni-monolauraatti-siirapin muodossa) fosfaattipuskuroidussa suolaliuoksessa (PBS).
4. Monoklooninen vasta-aine (MKV): 3-17-A3 (hybridomin kudosviljelmän kelluvana nesteenä) varastoidaan –20 °C:ssa tai kylmäkuivataan, laimennettuna estopuskurilla suhteessa 1/50 ennen käyttöä, kohdistetaan ryhmäspesifistä p7 polypeptidiä vastaan.
5. Konjugaatti: kanin hiirivasta-aine (absorboituna ja eluoituna), retikkaperoksidaasiin konjugoituna ja säilytettynä pimeässä 4 °C:ssa.
6. Substraatti ja kromogeeni: 0,2 g ortofenyleeniä (OPD) liuotettuna puskuriliuokseen, jossa on 2,553 g sitruunahappoa ja 4,574 g dinatriumvetyortofosfaattia joka on saatettu 500 ml:ksi tislatulla vedellä, jaettuna 25 ml:n annoksiksi ja säilytettynä pimeässä –20 °C: ssä, välittömästi ennen käyttöä lisätään 12 µl/25 ml vetyperoksidia (30 % w/v).

   OPD:TÄ ON KÄSITELTÄVÄ VAROEN – ON KÄYTETTÄVÄ KUMIKÄSINEITÄ – TUOTETTA EPÄILLÄÄN MUTAGEENISEKSI.
7. Rikkihappoa, 1 M: 26,6 ml happoa lisätään 473,4 ml:aan tislattua vettä.

   HUOM.: HAPPO ON AINA LISÄTTÄVÄ VETEEN, EI KOSKAAN VETTÄ HAPPOON.
8. Orbital-ravistelija
9. ELISA-levynlukija (koe voidaan lukea silmämääräisesti).

KOEKAAVAKE

	H	G	F	E	D	C	B	A	
Nollaus			Antigeeni + konjugaatti						1
Monoklooninen vasta-aine (MKV)			Antigeeni + MKV + konjugaatti						2
Positiivinen näyte	Antigeeni + positiivinen seerumi + MKV + konjugaatti								3
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	
	Koeseerumit								
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/2	1/4	1/8	1/16	4
									5
									6
Koeseerumit									7
									8
									9
									10
									11
									12

KOEMENETTELY

Nollausrivi

Rivi 1 A: sta H: hon on nollausrivi, joka sisältää BTV-antigeenin ja konjugaatin. Kokeella Elisa-lukija voidaan kalibroida.

MKV-koe

Rivillä 2 A: sta H: hon on monokloonisen vasta-aineen koe ja siihen kuuluvat BTV: n antigeeni, monoklooninen vasta-aine ja konjugaatti. Kysymyksessä on negatiivinen tarkastus. Tämän koerivin optisen tiheyden keskiarvo vastaa 0 prosentin inhibitioarvoa.

Positiivinen tarkastus

Rivillä 3 A:sta H:hon on positiivinen tarkastus. Siihen kuuluvat BTV:n antigeeni, BTV-positiiviset antiseerumilaimennokset, monoklooninen vasta-aine ja konjugaatti. Tällä osoitetaan, että koe sujuu oikein ja että kokeesta toiseen inhibitioarvo on sama.

Koeseerumit

Edellä mainitussa koekaavakkeessa 18 seerumia voidaan testata laimennoksilla 1/2, 1/4, 1/8 ja 1/16. Tulokseksi saadaan tietoja koeseerumien vasta-aineiden pitoisuuksista. Laimennossarjaa voitaisiin vielä laajentaa seerumilaimennosten loppupitoisuuksien saamiseksi. Suuressa mittakaavassa suoritettavissa serologisissa kokeissa yhden (1/4) tai kahden (1/2 ja 1/4) laimennoksen seerumikoetta voitaisiin vaihtoehtoisesti käyttää nopeana seulontakokeena.

MENETTELY

1. BTV-antigeeni laimennetaan pitoisuudeltaan esititrattuun puskuroituun suolaliuokseen (PBS). Käsitellään lyhyesti ultraäänellä yhteen kasautuneiden virusten hajoittamiseksi (ellei tätä laitetta ole käytettävissä, pipetoidaan voimakkaasti) ja liuosta annostellaan 50 µl ELISA-levyn jokaiseen syvennykseen. Reunoja naputtamalla antigeeni jaetaan tasaisesti levylle.

2. Inkuboidaan 37 °C:ssa 60 minuuttia orbital-ravistelijassa. Levyt pestään kolmeen kertaan huuhtelemalla ja syvennykset tyhjennetään epästeriilillä puskuroidulla suolaliuoksella (PBS) ja kuivataan imupaperilla.

3. Estopuskuria annostellaan 50 µl levysyvennystä kohti. Koeseerumit ja yksi positiivinen seerumi pannaan asianomaisiin syvennyksiin ja levyn sisältö laimennetaan monikanavaisen pipetin avulla. Seerumia ei saa lisätä sokeakoe-ja MKV-koekohtiin.

4. Heti koeseerumien lisäämisen jälkeen MTV laimennetaan estopuskurilla (esititrattuun laimennokseen) ja levyn kaikkiin syvennyksiin sokeakoesyvennystä lukuunottamatta lisätään 50 µl.

5. Inkuboidaan 37 °C:ssa 60 minuuttia orbital-ravistelijassa. Levyt pestään kolmeen kertaan puskuroidulla suolaliuoksella (PBS) ja kuivataan imupaperilla.

6. Kanin hiirivasta-aineen konsentraatti laimennetaan suhteessa 1/5 000 estopuskuriin ja levyn kaikkiin syvennyksiin lisätään 50 µl.

7. Inkuboidaan 37 °C:ssa 60 minuuttia orbital-ravistelijassa. Levyt pestään kolmeen kertaan PBS: lla ja kuivataan imupaperilla.

8. OPD sulatetaan ja välittömästi ennen käyttöä lisätään 12 µl 30 %:sta vetyperoksidia jokaista OPD:n 25 ml:aa kohti. Levyn jokaiseen syvennykseen lisätään 50 µl. Värin muuttumista odotetaan noin 10 minuuttia ja reaktio keskeytetään 1 M:lla rikkihapolla (50 µl/syvennys). Värin pitäisi muuttua MKV-koesyvennyksissä ja BTV-vasta-aineettomissa seerumisyvennyksissä.

9. Levyt tutkitaan joko silmämääräisesti tai spektrofotometrin avulla ja tulokset kirjataan.

TULOSTEN MÄÄRITYS

MKV-kokeiden avulla lasketaan OD-keskiarvo. Se vastaa 0 %:n inhibitioarvoa. Koeseerumien optiset tiheysarvot ilmaistaan inhibitioarvoprosentteina seuraavan kaavan mukaisesti:

$$\text{inhibitioarvo \%} = 100 - \frac{\text{OD koeseerumin esiintyessä}}{\text{OD koeseerumin puuttuessa}} \times 100$$

Positiivisena pidetään 1/4-seerumilaimennosta, jonka inhibitioarvot ylittävät 40 %. Silmämääräinen tulosten luku on mahdollista, koska 40 %:n inhibitioarvo on alhaisin paljain silmin luettavissa oleva arvo.

BTV-ELISA-ANTIGEENIN ESIKÄSITTELY

1. Yhtyvien BHK-21:n solujen 10 Roux-pulloa pestään kolme kertaa seerumittomalla Eagle kasvualustalla ja infektoidaan BTV:n serotyypin 1 avulla seerumittomalla Eagle-kasvualustalla.

2. Inkuboidaan 37 °C:ssa ja solutuhovaikutus (cpe) tutkitaan päivittäin.

3. Kun cpe tulee esille 80–90 %:sti jokaisen Roux-pullon solulevyllä, virus kerätään ravistamalla solut irti seinämästä.

4. Solut sentrifugoidaan rakeiksi nopeudella 2 000 tai 3 000 kierrosta minuutissa.

5. Kelluva jae heitetään pois ja solut suspendoidaan uudelleen noin 30 ml:ssa puskuroitua suolaliuosta (PBS), jossa on 1 % "Sarkosyliä" ja 2 ml fenyylimetyylisulfonyylifluoridia (lysis-puskuri). Tämä voi aiheuttaa solujen hyytelöitymistä, jolloin on lisättävä enemmän lysispuskuria.

   Huom! fenyylimetyylisulfonyylifluoridi on vaarallista, sitä on käsiteltävä äärimmäisen huolellisesti.

6. Solut irrotetaan 60 sekunniksi 30 mikronin amplitudilla toimivan ultraäänisondin avulla.

7. Sentrifugoidaan kymmenen minuutin ajan nopeudella 10 000 kierrosta minuutissa.

8. Kelluva jae varastoidaan +4 °C:seen ja jäljellä olevat solurakeet suspendoidaan uudelleen 10–20 ml:aan lysis-puskuria.

9. Sekoitetaan ultraäänilaitteella ja selkeytetään. Kelluva jae varastoidaan kussakin vaiheessa, kaikkiaan kolme kertaa.

10. Kelluvat jakeet yhdistetään ja sentrifugoidaan nopeudella 24 000 kierrosta minuutissa 120 minuutin ajan 4 °C:een lämpötilassa 5 ml:n tyynyllä 40 %:sta sakkaroosia (w/v PBS:ssa) käyttäen Beckmannin 30 ml:n sentrifugiputkia ja SW 28 roottoria.

11. Kelluva jae heitetään pois, putket tyhjennetään hyvin ja rakeet suspendoidaan uudelleen puskuroidussa suolaliuoksessa (PBS) ultraäänen avulla. Antigeeni varastoidaan määräosissa –70 °C:ssa.

BTV-ANTIGEENIN ELISA-TITRAUS

Bluetongue-taudin antigeeni ELISA-koetta varten titrataan epäsuoralla ELISA-tekniikalla. Antigeenin kaksoislaimennokset titrataan monokloonisen vasta-aineen 3-17-A3 vakiolaimennoksella (1/50). Koetapa on seuraava:

MENETTELY

1. BTV-antigeeni laimennetaan PBS:lla mikrotitrauslevyllä kaksoislaimennosten (50 µl/syvennys) sarjana käyttäen monikanavapipettiä.

2. Inkuboidaan orbital-ravistelijassa tunnin ajan 37 °C:ssa.

3. Levyt pestään kolmeen kertaan puskuroidulla suolaliuoksella (PBS).

4. Monokloonista vasta-ainetta 3-17-A3 (laimennos 1/50) lisätään 50 µl mikrotitrauslevyn jokaiseen syvennykseen.

5. Inkuboidaan orbital-ravistelijassa tunnin ajan 37 °C:ssa.

6. Levyt pestään kolmeen kertaan puskuroidulla suolaliuoksella (PBS).

7. Mikrotitrauslevyn jokaiseen syvennykseen pannaan 50 µl kanin hiirivasta-aineglobuliinia retikka-peroksidaasiin konjugoituneena, joka on laimennettu esititrattuun optimaaliseen pitoisuuteen.

8. Inkuboidaan orbital-ravistelijassa tunnin ajan 37 °C:ssa.

9. Lisätään substraatti ja kromogeeni kuten edellä. Reaktio pysäytetään 10 minuutin kuluttua lisäämällä 1 M:sta rikkihappoa (50 µl/syvennys).

Koska vertailukokeessa monokloonista vasta-ainetta on oltava ylimäärin, on valittava antigeenilaimennos, joka on titrauskäyrällä (eikä tasaisella alueella), joka antaa suunnilleen 0,8 OD:n kymmenen minuutin jälkeen.

Toimintaohjeet epitsoottisen verenvuototaudin vasta-aineiden toteamiseksi agargeeli-immunodiffuusiokokeen avulla

Agargeeli-immunodiffuusiokoe tehdään seuraavalla tavalla:

TARVIKKEET JA REAGENSSIT

1. Antigeeni

   Saostava antigeeni valmistetaan millä tahansa soluviljelyjärjestelmällä, jossa solun jakautuminen on yhtä nopeaa kuin Bluetongue-viruksen asianomaisissa serotyypeissä. Suositellaan BHK-tai Vero-soluja. Antigeeni esiintyy viruskasvun lopussa kelluvassa nesteessä, mutta ollakseen tehokas se on väkevöitävä 50–100-kertaiseksi. Tähän päästään millä tahansa proteiinien väkevöinnin standardimenetelmällä, antigeenivirus voidaan inaktivoida lisäämällä 0,3 % (v/v) beetapropiolaktonia.

2. Tunnettu positiivinen tarkastusseerumi

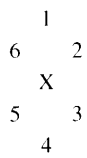
   Kansainvälisestä vertailuseerumista ja antigeenista tehdään kansallinen seerumi, joka standardoidaan optimaalisen suhteen aikaansaamiseksi kansainvälisen seerumin kanssa, ja joka kylmäkuivataan ja jota käytetään kaikkien kokeiden tunnettuna tarkastusseerumina.

3. Koeseerumi

MENETTELY

1. Kaadetaan 1–prosenttista agaroosia boraatti- tai natriumbarbitolipuskurissa, pH 8,5–9,0, vähintään 3,0 mm:n syvyiseen petrimaljaan.

2. Agariin koverretaan seitsemän kosteudesta vapaata, halkaisijaltaan 5,0 mm:n kuoppaa. Kuviossa keskelle tulee yksi kuoppa ja sen ympärille 3 mm:n säteellä 6 kuoppaa.



3. Keskimmäinen kuoppa täytetään standardiantigeenilla. Kehällä olevat kuopat 2, 4 ja 6 täytetään tunnetuilla positiivisilla seerumeilla, kuopat 1, 3 ja 5 koeseerumeilla.

4. Järjestelmää inkuboidaan korkeintaan 72 tuntia huoneenlämmössä kosteassa hyvin suljetussa tilassa.

TULKINTA

Koeseerumi on positiivinen, jos se muodostaa määrätyn presipitiinilinjan antigeenin kanssa sekä täysin samanlaisen linjan tarkastusseerumin kanssa. Koeseerumi on negatiivinen, ellei se muodosta määrättyä linjaa antigeenin kanssa eikä taivuta tarkastusseerumin linjaa. Petrimaljoja on tutkittava tummaa taustaa vasten ja epäsuorassa valossa.