II

(Atti per i quali la pubblicazione non è una condizione di applicabilità)

COMMISSIONE

DECISIONE DELLA COMMISSIONE

del 15 luglio 1994

che stabilisce le norme sanitarie e di certificazione veterinaria per l'importazione di sperma bovino da paesi terzi

(94/577/CE)

LA COMMISSIONE DELLE COMUNITÀ EUROPEE,

visto il trattato che istituisce la Comunità europea,

vista la direttiva 88/407/CEE del Consiglio, del 14 giugno 1988, che stabilisce le esigenze di polizia sanitaria applicabili agli scambi intracomunitari ed alle importazioni di sperma di animali della specie bovina [1], modificata da ultimo dalla direttiva 93/60/CEE [2], in particolare gli articoli 10 e 11,

considerando che l'elenco dei paesi terzi da cui gli Stati membri autorizzano l'importazione di sperma surgelato di animali della specie bovina, in prosieguo denominato « l'elenco », è definito dalla decisione 90/14/CEE della Commissione [3], modificata dalla decisione 91/276/CEE [4];

considerando che la situazione sanitaria in Israele ha condotto a vietare le importazioni da quel paese con decisione 91/277/CEE della Commissione [5];

considerando che le decisioni 91/479/CEE [6], 91/549/CEE [7], 92/123/CEE [8], 92/124/CEE [9], 92/125/CEE [10], 92/126/CEE [11], 92/127/CEE [12], 92/128/CEE [13], 92/386/CEE [14], 92/387/CEE [15] e 92/445/CEE [16] della Commissione fissano le norme sanitarie e di certificazione veterinaria per l'importazione di sperma bovino rispettivamente dagli Stati Uniti d'America, dal Canada, dalla Polonia, dalla Finlandia, dalla Nuova Zelanda, dall'Austria, dalla Svizzera, dalla Svezia, dall'Ungheria, dalla Norvegia e dalla Cecoslovacchia;

considerando che la direttiva 93/60/CEE del Consiglio, che deve essere attuata negli Stati membri prima del 1° luglio 1994, modifica la direttiva 88/407/CEE e impone pertanto la necessità di modificare le predette decisioni concernenti i paesi terzi; che per semplificare la legislazione comunitaria in materia ed eliminare ambiguità è necessario unificare le predette decisioni ed abrogare quelle relative ad ogni singolo paese;

considerando che, attese le disposizioni dell'accordo sullo Spazio economico europeo, non è più necessario prevdere certificati di polizia sanitaria per le importazioni di sperma bovino in provenienza da Austria, Finlandia, Norvegia e Svezia;

considerando che, secondo il parere del comitato scientifico veterinario, è richiesto un test supplementare per la malattia emorragica epizootica;

considerando che, limitatamente al Canada, vengono effettuati test di routine preraccolta per questa malattia con periodicità semestrale; che è pertanto necessario

(1) GU n. L 194 del 22. 7. 1988, pag. 10.
(2) GU n. L 186 del 28. 7. 1993, pag. 28.
(3) GU n. L 8 dell'11. 1. 1990, pag. 71.
(4) GU n. L 135 del 30. 5. 1991, pag. 58.
(5) GU n. L 135 del 30. 5. 1991, pag. 60.
(6) GU n. L 258 del 16. 9. 1991, pag. 1.
(7) GU n. L 298 del 29. 10. 1991, pag. 6.
(8) GU n. L 48 del 22. 2. 1992, pag. 1.
(9) GU n. L 48 del 22. 2. 1992, pag. 10.
(10) GU n. L 48 del 22. 2. 1992, pag. 19.
(11) GU n. L 48 del 22. 2. 1992, pag. 28.
(12) GU n. L 48 del 22. 2. 1992, pag. 37.
(13) GU n. L 48 del 22. 2. 1992, pag. 46.
(14) GU n. L 204 del 21. 7. 1992, pag. 13.
(15) GU n. L 204 del 21. 7. 1992, pag. 22.
(16) GU n. L 247 del 27. 8. 1992, pag. 1.

prevedere un periodo transitorio per l'applicazione della presente decisione nei confronti del Canada, onde accordare alle autorità canadesi un lasso di tempo sufficiente per introdurre il nuovo test nel loro programma di routine;

considerando che inoltre, sulla scorta dei recenti progressi epidemiologici della febbre catarrale, può essere ora autorizzata l'importazione di sperma bovino dall'Australia;

considerando che la situazione sanitaria degli animali nei paesi terzi indicati nell'elenco risulta essere buona e controllata da servizi veterinari ben strutturati ed organizzati per quanto riguarda le malattie trasmissibili attraverso lo sperma;

considerando che le competenti autorità veterinarie dei paesi terzi di cui all'elenco si sono impegnate a comunicare alla Commissione e agli Stati membri, per telex o telefax entro le 24 ore successive, la conferma della comparsa di una delle malattie indicate nell'elenco A dell'Ufficio internazionale delle epizoozie (UIE) ovvero qualsiasi modifica dei programmi di vaccinazione relativi alle suddette malattie oppure, in tempo opportuno, la comparsa di malattie elencate nell'elenco B dall'UIE nonché le eventuali proposte di modifica delle norme in materia di importazione di animali domestici o di loro sperma o embrioni;

considerando che le competenti autorità veterinarie dei paesi terzi indicati si sono impegnate a controllare ufficialmente il rilascio dei certificati previsti dalla presente decisione e a garantire che tutti i pertinenti certificati, le deroghe ed i risultati di laboratorio sui quali è basata la certificazione siano conservati su un registro ufficiale almeno per i 12 mesi successivi alla spedizione dello sperma cui si riferiscono;

considerando che le competenti autorità veterinarie dei paesi terzi indicati nell'elenco si sono impegnate a riconoscere ufficialmente i centri di raccolta di sperma bovino destinato all'esportazione nella Comunità europea come previsto all'articolo 9 della direttiva 88/407/CEE;

considerando che le norme sanitarie e di certificazione veterinaria devono essere adeguate alla situazione sanitaria degli animali nel paese terzo in questione;

considerando che le misure previste dalla presente decisione sono conformi al parere del comitato permanente veterinario,

HA ADOTTATO LA PRESENTE DECISIONE:

Articolo 1

Gli Stati membri autorizzano le importazioni di sperma bovino solo se accompagnate da certificati conformi ai modelli di cui alla parte 1 degli allegati A, B, C e D e solo se provenienti dai paesi terzi indicati rispettivamente nella parte 2 degli allegati A, B, C e D.

Tuttavia, essi autorizzano fino al 31 dicembre 1994 l'importazione in provenienza dal Canada di sperma bovino raccolto e trattato conformemente alla decisione 91/549/CEE.

Articolo 2

Le decisioni 91/479/CEE, 92/123/CEE, 92/124/CEE, 92/125/CEE, 92/126/CEE, 92/127/CEE, 92/128/CEE, 92/386/CEE, 92/387/CEE e 92/445/CEE sono abrogate. La decisione 91/549/CEE è abrogata dal 1° gennaio 1995.

Articolo 3

Le disposizioni dell'articolo 1, primo comma riguardanti il Canada si applicano a decorrere dal 1° gennaio 1995.

Articolo 4

Gli Stati membri sono destinatari della presente decisione.

Fatto a Bruxelles, il 15 luglio 1994.

Per la Commissione

René STEICHEN

Membro della Commissione

ALLEGATO A

PARTE 1

CERTIFICATO DI POLIZIA SANITARIA

per l'importazione di sperma bovino

1. Speditore (nome e indirizzo completi)	Certificato sanitario n.
	2. Paese terzo di raccolta
3. Destinatario (nome e indirizzo completi)	4. Autorità competente
	5. Autorità locale competente
6. Località di carico	7. Nome e indirizzo del centro di raccolta di sperma
8. Mezzo di trasporto	10. Numero di riconoscimento del centro di raccolta dello sperma
9. Località e stato membro di destinazione	
11. Numero di sigillo dei recipienti contenenti lo sperma	
12. Identificazione dello sperma	Fresco — Surgelato (*)

(*) cancellare la dicitura inutile

a) Numero di dosi	b) Data/e di raccolta	c) Razza
d) Identificazione dell'animale donatore		

13. Il sottoscritto veterinario ufficiale, in perfetta conoscenza delle disposizioni della direttiva 88/407/CEE del Consiglio modificata, certifica che :

a) .....

(nome del paese esportatore)

è stato indenne da peste bovina e da afta epizootica negli ultimi 12 mesi precedenti la raccolta dello sperma da esportare e sino alla data della sua spedizione ; in questo stesso periodo non sono state praticate vaccinazioni contro le suddette malattie ;

b) il centro di raccolta di sperma presso il quale è stato raccolto lo sperma da esportare :

i) è stato autorizzato conformemente all'allegato A, capitolo I della direttiva 88/407/CEE ;

ii) ha operato ed è stato controllato conformemente all'allegato A, capitolo II della direttiva 88/407/CEE ;

iii) è stato indenne da rabbia, tubercolosi, brucellosi, antrace e pleuropolmonite contagiosa dei bovini nel periodo avente inizio 30 giorni prima della data di raccolta dello sperma da esportare e avente termine 30 giorni dopo la raccolta (in caso di sperma fresco, sino al giorno della spedizione) ;

c) i bovini presenti nel centro di raccolta dello sperma :

i) provengono da allevamenti e/o sono nati da genitrici che soddisfano le condizioni specificate nell'allegato B, capitolo I della direttiva 88/407/CEE ;

ii) sono stati sottoposti, prima del loro isolamento, ai test specificati nell'allegato B, capitolo I della direttiva 88/407/CEE ;

iii) hanno soddisfatto i requisiti relativi all'isolamento precedente la loro entrata e relativi ai test specificati nell'allegato B, capitolo I della direttiva 88/407/CEE ;

iv) sono stati sottoposti, qualora residenti da almeno un anno nel centro, ai test di routine conformemente all'allegato B, capitolo II della direttiva 88/407/CEE ;

d) lo sperma da esportare :

i) è stato ottenuto da donatori che hanno soggiornato in

.....

(nome del paese esportatore)

durante i 6 mesi immediatamente precedenti la raccolta dello sperma destinato all'esportazione e che soddisfano alle condizioni specificate nell'allegato C della direttiva 88/407/CEE ;

ii) è stato ottenuto da donatori che :

— si trovano in un centro di raccolta nel quale tutti i bovini, nei 12 mesi precedenti la raccolta dello sperma destinato all'esportazione, sono stati sottoposti con esito negativo ad un test di sieroneutralizzazione o Elisa per la rinotracheite bovina infettiva/vulvovaginite pustolosa infettiva (1),

oppure

— risultano negativi al test di sieroneutralizzazione o Elisa per la rinotracheite bovina infettiva/vulvovaginite pustolosa infettiva effettuato nei 12 mesi precedenti la raccolta dello sperma destinato all'esportazione (1),

oppure

— risultano sieropositivi dopo essere stati vaccinati a norma dell'allegato B, capitolo II della direttiva 88/407/CEE e sono risultati negativi al test di sieroneutralizzazione o Elisa effettuato nel centro riconosciuto di raccolta di sperma prima della vaccinazione (1),

(1) Cancellare la voce non pertinente.

oppure

— risultano sieropositivi al test di sieroneutralizzazione o Elisa per la rinotracheite bovina infettiva/vulvovaginite pustolosa infettiva, non sono stati vaccinati a norma dell'allegato B, capitolo II della direttiva 88/407/CEE e almeno il 10 % di ciascun eiaculato di sperma destinato all'esportazione (con un minimo di 5 paillettes) è stato sottoposto ad un test d'inoculazione animale o ad un test d'isolamento di virus con esito negativo prima dell'esportazione (1);

iii) è stato trattato, conservato e trasportato in condizioni soddisfacenti al disposto della direttiva 88/407/CEE.

Fatto a ....., il .....
(luogo) (data)

(Timbro) (2)

Firma (2): .....

Nome (in stampatello): .....

Qualifica ufficiale: .....

(1) Cancellare la voce non pertinente.
(2) Il colore della firma e del timbro deve essere differente da quello del testo stampato.

PARTE 2

Elenco di paesi autorizzati ad usare il modello di certificato di polizia sanitaria di cui all'allegato A, parte 1

REPUBBLICA CECA

UNGHERIA

NUOVA ZELANDA

POLONIA

ROMANIA

SVIZZERA

REPUBBLICA SLOVACCA

ALLEGATO B

PARTE 1

CERTIFICATO DI POLIZIA SANITARIA

per l'importazione di sperma bovino proveniente dagli Stati Uniti d'America

<table>
<tr><td colspan="2">1. Speditore (nome e indirizzo completi)</td><td>Certificato sanitario n.
2. Paese terzo di raccolta</td></tr>
<tr><td colspan="2">3. Destinatario (nome e indirizzo completi)</td><td>4. Autorità competente</td></tr>
<tr><td colspan="2"></td><td>5. Autorità locale competente</td></tr>
<tr><td colspan="2">6. Località di carico</td><td>7. Nome e indirizzo del centro di raccolta di sperma</td></tr>
<tr><td colspan="2">8. Mezzo di trasporto</td><td rowspan="3">10. Numero di riconoscimento del centro di raccolta dello sperma</td></tr>
<tr><td colspan="2">9. Località e stato membro di destinazione</td></tr>
<tr><td colspan="2">11. Numero di sigillo dei recipienti contenenti lo sperma</td></tr>
<tr><td colspan="3">12. Identificazione dello sperma
Fresco — Surgelato (*)
(*) cancellare la dicitura inutile</td></tr>
<tr><td>a) Numero di dosi</td><td rowspan="2">b) Data/e di raccolta</td><td rowspan="2">c) Razza</td></tr>
<tr><td>d) Identificazione dell'animale donatore</td></tr>
</table>

13. Il sottoscritto veterinario ufficiale, in perfetta conoscenza delle disposizioni della direttiva 88/407/CEE del Consiglio modificata, certifica che :

a) .....

(nome del paese esportatore)

è stato indenne da peste bovina e da afta epizootica negli ultimi 12 mesi precedenti la raccolta dello sperma da esportare e sino alla data della sua spedizione ; in questo stesso periodo non sono state praticate vaccinazioni contro le suddette malattie ;

b) il centro di raccolta di sperma presso il quale è stato raccolto lo sperma da esportare :

i) è stato autorizzato conformemente all'allegato A, capitolo I della direttiva 88/407/CEE ;

ii) ha operato ed è stato controllato conformemente all'allegato A, capitolo II della direttiva 88/407/CEE ;

iii) è stato indenne da rabbia, tubercolosi, brucellosi, antrace e pleuropolmonite contagiosa dei bovini nel periodo avente inizio 30 giorni prima della data di raccolta dello sperma da esportare e avente termine 30 giorni dopo la raccolta (in caso di sperma fresco, sino al giorno della spedizione) ;

c) i bovini presenti nel centro di raccolta dello sperma :

i) provengono da allevamenti e/o sono nati da genitrici che soddisfano le condizioni specificate nell'allegato B, capitolo I della direttiva 88/407/CEE ;

ii) sono stati sottoposti, prima del loro isolamento, ai test specificati nell'allegato B, capitolo I della direttiva 88/407/CEE ;

iii) hanno soddisfatto i requisiti relativi all'isolamento precedente la loro entrata e relativi ai test specificati nell'allegato B, capitolo I della direttiva 88/407/CEE ;

iv) sono stati sottoposti, qualora residenti da almeno un anno nel centro, ai test di routine conformemente all'allegato B, capitolo II della direttiva 88/407/CEE ;

d) lo sperma da esportare :

i) è stato ottenuto da donatori che hanno soggiornato in

.....

(nome del paese esportatore)

durante i 6 mesi immediatamente precedenti la raccolta dello sperma destinato all'esportazione e che soddisfano alle condizioni specificate nell'allegato C della direttiva 88/407/CEE ;

ii) è stato ottenuto da donatori che :

— si trovano in un centro di raccolta nel quale tutti i bovini, nei 12 mesi precedenti la raccolta dello sperma destinato all'esportazione, sono stati sottoposti con esito negativo ad un test di sieroneutralizzazione o Elisa per la rinotracheite bovina infettiva/vulvovaginite pustolosa infettiva (1),

oppure

— risultano negativi al test di sieroneutralizzazione o Elisa per la rinotracheite bovina infettiva/vulvovaginite pustolosa infettiva effettuato nei 12 mesi precedenti la raccolta dello sperma destinato all'esportazione (1),

oppure

— risultano sieropositivi dopo essere stati vaccinati a norma dell'allegato B, capitolo II della direttiva 88/407/CEE e sono risultati negativi al test di sieroneutralizzazione o Elisa effettuato nel centro riconosciuto di raccolta di sperma prima della vaccinazione (1),

(1) Cancellare la voce non pertinente.

oppure

— risultano sieropositivi al test di sieroneutralizzazione o Elisa per la rinotracheite bovina infettiva/vulvovaginite pustolosa infettiva, non sono stati vaccinati a norma dell'allegato B, capitolo II della direttiva 88/407/CEE e almeno il 10 % di ciascun eiaculato di sperma destinato all'esportazione (con un minimo di 5 paillettes) è stato sottoposto ad un test d'inoculazione animale o ad un test d'isolamento di virus con esito negativo prima dell'esportazione (1);

iii) è stato trattato, conservato e trasportato in condizioni soddisfacenti al disposto della direttiva 88/407/CEE;

iv) è stato ottenuto da tori che sono stati sottoposti in un laboratorio riconosciuto per due volte e non da oltre 12 mesi ai seguenti test preraccolta e postraccolta con risultato negativo (il test postraccolta dev'essere effettuato su un campione di sangue prelevato dopo almeno 21 giorni dopo la raccolta dello sperma da esportare):

— prova di arresto Elisa per la febbre catarrale conformemente all'allegato E;

— reazione di immunodiffusione su gel di agar conformemente all'allegato E e prova di neutralizzazione del virus per tutti i sierotipi di malattia emorragica epizootica (EHD) riscontrati nel paese esportatore.

Fatto a ....., il .....
(luogo) (data)

(Timbro) (2)

Firma (2): .....

Nome (in stampatello): .....

Qualifica ufficiale: .....

(1) Cancellare la voce non pertinente.
(2) Il colore della firma e del timbro deve essere differente da quello del testo stampato.

PARTE 2

Elenco di paesi autorizzati ad usare il modello di certificato di polizia sanitaria di cui all'allegato B, parte 1

STATI UNITI D'AMERICA

ALLEGATO C

PARTE 1

CERTIFICATO DI POLIZIA SANITARIA

per l'importazione di sperma bovino

<table>
<tr><td colspan="2">1. Speditore (nome e indirizzo completi)</td><td>Certificato sanitario n.
2. Paese terzo di raccolta</td></tr>
<tr><td colspan="2">3. Destinatario (nome e indirizzo completi)</td><td>4. Autorità competente</td></tr>
<tr><td colspan="2"></td><td>5. Autorità locale competente</td></tr>
<tr><td colspan="2">6. Località di carico</td><td>7. Nome e indirizzo del centro di raccolta di sperma</td></tr>
<tr><td colspan="2">8. Mezzo di trasporto</td><td rowspan="3">10. Numero di riconoscimento del centro di raccolta dello sperma</td></tr>
<tr><td colspan="2">9. Località e stato membro di destinazione</td></tr>
<tr><td colspan="2">11. Numero di sigillo dei recipienti contenenti lo sperma</td></tr>
<tr><td colspan="3">12. Identificazione dello sperma
Fresco — Surgelato (*)
(*) cancellare la dicitura inutile</td></tr>
<tr><td>a) Numero di dosi</td><td rowspan="2">b) Data/e di raccolta</td><td rowspan="2">c) Razza</td></tr>
<tr><td>d) Identificazione dell'animale donatore</td></tr>
</table>

13. Il sottoscritto veterinario ufficiale, in perfetta conoscenza delle disposizioni della direttiva 88/407/CEE del Consiglio modificata, certifica che :

a) .....

(nome del paese esportatore)

è stato indenne da peste bovina e da afta epizootica negli ultimi 12 mesi precedenti la raccolta dello sperma da esportare e sino alla data della sua spedizione ; in questo stesso periodo non sono state praticate vaccinazioni contro le suddette malattie ;

b) il centro di raccolta di sperma presso il quale è stato raccolto lo sperma da esportare :

i) è stato autorizzato conformemente all'allegato A, capitolo I della direttiva 88/407/CEE ;

ii) ha operato ed è stato controllato conformemente all'allegato A, capitolo II della direttiva 88/407/CEE ;

iii) è stato indenne da rabbia, tubercolosi, brucellosi, antrace e pleuropolmonite contagiosa dei bovini nel periodo avente inizio 30 giorni prima della data di raccolta dello sperma da esportare e avente termine 30 giorni dopo la raccolta (in caso di sperma fresco, sino al giorno della spedizione) ;

c) i bovini presenti nel centro di raccolta dello sperma :

i) provengono da allevamenti e/o sono nati da genitrici che soddisfano le condizioni specificate nell'allegato B, capitolo I della direttiva 88/407/CEE ;

ii) sono stati sottoposti, prima del loro isolamento, ai test specificati nell'allegato B, capitolo I della direttiva 88/407/CEE ;

iii) hanno soddisfatto i requisiti relativi all'isolamento precedente la loro entrata e relativi ai test specificati nell'allegato B, capitolo I della direttiva 88/407/CEE ;

iv) sono stati sottoposti, qualora residenti da almeno un anno nel centro, ai test di routine conformemente all'allegato B, capitolo II della direttiva 88/407/CEE ;

d) lo sperma da esportare :

i) è stato ottenuto da donatori che hanno soggiornato in

.....

(nome del paese esportatore)

durante i 6 mesi immediatamente precedenti la raccolta dello sperma destinato all'esportazione e che soddisfano alle condizioni specificate nell'allegato C della direttiva 88/407/CEE ;

ii) è stato ottenuto da donatori che :

— si trovano in un centro di raccolta nel quale tutti i bovini, nei 12 mesi precedenti la raccolta dello sperma destinato all'esportazione, sono stati sottoposti con esito negativo ad un test di sieroneutralizzazione o Elisa per la rinotracheite bovina infettiva/vulvovaginite pustolosa infettiva (1),

oppure

— risultano negativi al test di sieroneutralizzazione o Elisa per la rinotracheite bovina infettiva/vulvovaginite pustolosa infettiva effettuato nei 12 mesi precedenti la raccolta dello sperma destinato all'esportazione (1),

oppure

— risultano sieropositivi dopo essere stati vaccinati a norma dell'allegato B, capitolo II della direttiva 88/407/CEE e sono risultati negativi al test di sieroneutralizzazione o Elisa effettuato nel centro riconosciuto di raccolta di sperma prima della vaccinazione (1),

(1) Cancellare la voce non pertinente.

oppure

— risultano sieropositivi al test di sieroneutralizzazione o Elisa per la rinotracheite bovina infettiva/vulvovaginite pustolosa infettiva, non sono stati vaccinati a norma dell'allegato B, capitolo II della direttiva 88/407/CEE e almeno il 10 % di ciascun eiaculato di sperma destinato all'esportazione (con un minimo di 5 paillettes) è stato sottoposto ad un test d'inoculazione animale o ad un test d'isolamento di virus con esito negativo prima dell'esportazione (1);

iii) è stato trattato, conservato e trasportato in condizioni soddisfacenti al disposto della direttiva 88/407/CEE;

iv) è stato ottenuto da tori che:

— si trovano presso il centro riconosciuto il 1° luglio 1994,

oppure

— sono stati ammessi nel centro riconosciuto dopo il 1° luglio 1994 dopo essere stati sottoposti ai seguenti test per la febbre catarrale e per la malattia emorragica epizootica in un laboratorio riconosciuto con esito negativo prima della della loro ammissione nel centro e in entrambi i casi sono stati sottoposti ogni 6 mesi ai seguenti test in un laboratorio riconosciuto, con esito negativo:

— prova di arresto Elisa per la febbre catarrale conformemente all'allegato E;

— reazione di immunodiffusione su gel di agar conformemente all'allegato E e prova di neutralizzazione del virus per tutti i sierotipi di malattia emorragica epizootica (EHD) riscontrati nel paese esportatore.

Fatto a ....., il .....
(luogo) (data)

(Timbro) (2)

Firma (2): .....

Nome (in stampatello): .....

Qualifica ufficiale: .....

(1) Cancellare la voce non pertinente.
(2) Il colore della firma e del timbro deve essere differente da quello del testo stampato.

PARTE 2

Elenco di paesi autorizzati ad usare il modello di certificato di polizia sanitaria di cui all'allegato C, parte 1

CANADA: esclusa la regione Okanagan Valley della Columbia Britannica, regione deliminatata da una linea tracciata da un punto sulla frontiera tra Canada e Stati Uniti longitudine 120° 15′ latitudine 49° verso nord ad un punto longitudine 119° 35′ latitudine 50° 30′ verso nordest ad un punto longitudine 119° latitudine 50° 45′ verso sud ad un punto sulla frontiera tra Canada e Stati Uniti longitudine 118° 15′ latitudine 49°.

ALLEGATO D

PARTE 1

CERTIFICATO DI POLIZIA SANITARIA

per l'importazione di sperma bovino

<table>
<tr><td colspan="2">1. Speditore (nome e indirizzo completi)</td><td>Certificato sanitario n.
2. Paese terzo di raccolta</td></tr>
<tr><td colspan="2">3. Destinatario (nome e indirizzo completi)</td><td>4. Autorità competente</td></tr>
<tr><td colspan="2"></td><td>5. Autorità locale competente</td></tr>
<tr><td colspan="2">6. Località di carico</td><td>7. Nome e indirizzo del centro di raccolta di sperma</td></tr>
<tr><td colspan="2">8. Mezzo di trasporto</td><td rowspan="3">10. Numero di riconoscimento del centro di raccolta dello sperma</td></tr>
<tr><td colspan="2">9. Località e stato membro di destinazione</td></tr>
<tr><td colspan="2">11. Numero di sigillo dei recipienti contenenti lo sperma</td></tr>
<tr><td colspan="3">12. Identificazione dello sperma
Fresco — Surgelato (*)
(*) cancellare la dicitura inutile</td></tr>
<tr><td>a) Numero di dosi</td><td>b) Data/e di raccolta</td><td>c) Razza</td></tr>
<tr><td>d) Identificazione dell'animale donatore</td><td></td><td></td></tr>
</table>

13. Il sottoscritto veterinario ufficiale, in perfetta conoscenza delle disposizioni della direttiva 88/407/CEE del Consiglio modificata, certifica che :

a) .....

(nome del paese esportatore)

è stato indenne da peste bovina e da afta epizootica negli ultimi 12 mesi precedenti la raccolta dello sperma da esportare e sino alla data della sua spedizione ; in questo stesso periodo non sono state praticate vaccinazioni contro le suddette malattie ;

b) il centro di raccolta di sperma presso il quale è stato raccolto lo sperma da esportare :

i) è stato autorizzato conformemente all'allegato A, capitolo I della direttiva 88/407/CEE ;

ii) ha operato ed è stato controllato conformemente all'allegato A, capitolo II della direttiva 88/407/CEE ;

iii) è stato indenne da rabbia, tubercolosi, brucellosi, antrace e pleuropolmonite contagiosa dei bovini nel periodo avente inizio 30 giorni prima della data di raccolta dello sperma da esportare e avente termine 30 giorni dopo la raccolta (in caso di sperma fresco, sino al giorno della spedizione) ;

c) i bovini presenti nel centro di raccolta dello sperma :

i) provengono da allevamenti e/o sono nati da genitrici che soddisfano le condizioni specificate nell'allegato B, capitolo I della direttiva 88/407/CEE ;

ii) sono stati sottoposti, prima del loro isolamento, ai test specificati nell'allegato B, capitolo I della direttiva 88/407/CEE ;

iii) hanno soddisfatto i requisiti relativi all'isolamento precedente la loro entrata e relativi ai test specificati nell'allegato B, capitolo I della direttiva 88/407/CEE ;

iv) sono stati sottoposti, qualora residenti da almeno un anno nel centro, ai test di routine conformemente all'allegato B, capitolo II della direttiva 88/407/CEE ;

d) lo sperma da esportare :

i) è stato ottenuto da donatori che hanno soggiornato in

.....

(nome del paese esportatore)

durante i 6 mesi immediatamente precedenti la raccolta dello sperma destinato all'esportazione e che soddisfano alle condizioni specificate nell'allegato C della direttiva 88/407/CEE ;

ii) è stato ottenuto da donatori che :

— si trovano in un centro di raccolta nel quale tutti i bovini, nei 12 mesi precedenti la raccolta dello sperma destinato all'esportazione, sono stati sottoposti con esito negativo ad un test di sieroneutralizzazione o Elisa per la rinotracheite bovina infettiva/vulvovaginite pustolosa infettiva (1),

oppure

— risultano negativi al test di sieroneutralizzazione o Elisa per la rinotracheite bovina infettiva/vulvovaginite pustolosa infettiva effettuato nei 12 mesi precedenti la raccolta dello sperma destinato all'esportazione (1),

oppure

— risultano sieropositivi dopo essere stati vaccinati a norma dell'allegato B, capitolo II della direttiva 88/407/CEE e sono risultati negativi al test di sieroneutralizzazione o Elisa effettuato nel centro riconosciuto di raccolta di sperma prima della vaccinazione (1),

(1) Cancellare la voce non pertinente.

oppure

— risultano sieropositivi al test di sieroneutralizzazione o Elisa per la rinotracheite bovina infettiva/vulvovaginite pustolosa infettiva, non sono stati vaccinati a norma dell'allegato B, capitolo II della direttiva 88/407/CEE e almeno il 10 % di ciascun eiaculato di sperma destinato all'esportazione (con un minimo di 5 paillettes) è stato sottoposto ad un test d'inoculazione animale o ad un test d'isolamento di virus con esito negativo prima dell'esportazione (1);

iii) è stato trattato, conservato e trasportato in condizioni soddisfacenti al disposto della direttiva 88/407/CEE;

iv) è stato ottenuto da tori che sono stati sottoposti in un laboratorio riconosciuto per due volte e non da oltre 12 mesi ai seguenti test preraccolta e postraccolta con esito negativo (il test postraccolta dev'essere effettuato su un campione di sangue prelevato dopo almeno 21 giorni dopo la raccolta dello sperma da esportare):

— prova di arresto Elisa per la febbre catarrale conformemente all'allegato E;

— reazione di immunodiffusione su gel di agar conformemente all'allegato E e prova di neutralizzazione del virus per tutti i sierotipi di malattia emorragica epizootica (EHD) riscontrati nel paese esportatore;

— test di sieroneutralizzazione per il virus di Akabane.

Fatto a ....., il .....
(luogo) (data)

(Timbro) (2)

Firma (2): .....

Nome (in stampatello): .....

Qualifica ufficiale: .....

(1) Cancellare la voce non pertinente.
(2) Il colore della firma e del timbro deve essere differente da quello del testo stampato.

PARTE 2

Elenco di paesi autorizzati ad usare il modello di certificato di polizia sanitaria di cui all'allegato D, parte 1

AUSTRALIA

ALLEGATO E

Protocollo relativo a un saggio di immunoassorbimento enzimatico bloccante o competitivo eseguito con un anticorpo monoclonale specifico del gruppo per la ricerca degli anticorpi del virus della febbre catarrale maligna

SAGGIO COMPETITIVO ELISA PER LA FEBBRE CATARRALE MALIGNA MEDIANTE ANTICORPO MONOCLONALE 3-17-A3

Il saggio è atto a individuare anticorpi di tutti i sierotipi noti del virus della febbre catarrale maligna (BTV).

Il principio su cui si basa detto saggio è l'interruzione della reazione tra l'antigene BTV e un anticorpo monoclonale specifico del gruppo (3-17-A3) mediante aggiunta di diluizioni del siero in esame. Gli anticorpi del BTV presenti nel siero in esame bloccano la reattività dell'anticorpo monoclonale (Mab) e determinano una riduzione dello sviluppo di colore previsto dietro aggiunta di un substrato enzimatico.

MATERIALE E REATTIVI

1. Piastre per microtitolazioni a fondo piatto.
2. Antigene : preparato come descritto qui di seguito.
3. Tampone di arresto : latte essiccato in polvere « Marvel » al 5 % (p/v), Tween-20 (fornito come sciroppo al poliossietilen-sorbitan-monolaurato) in soluzione salina tamponata al fosfato.
4. Anticorpo monoclonale : 3-17-A3 (fornito come supernatante di coltura tissulare di ibridoma) conservato a − 20 °C o surgelato, diluito a 1/50 con tampone bloccante prima dell'uso, diretto contro il polipeptide p7 specifico del gruppo.
5. Coniugato : globulina di coniglio anti-topo (absorbita ed eluita), coniugata con perossidasi del rafano e tenuta al buio a 4 °C.
6. Substrato e cromogeno : 0,2 g di ortofenilendiamina (OPD) sciolta in un tampone costituito da 2,553 g di acido critico e 4,574 g di idrogenortofosfato disodico (fosfato monoacido di sodio) portati a un volume di 500 ml con acqua distillata, divisi in aliquote di 25 ml e tenuti al buio a − 20 °C con 12 µl/25 ml di acqua ossigenata (30 % p/v) aggiunta immediatamente prima dell'uso.

   TRATTARE L'OPD CON CAUTELA — INDOSSARE GUANTI DI GOMMA — SOSPETTO MUTAGENO
7. Acido solforico 1 molare : 26,6 ml di acido aggiunti a 473,4 ml di acqua distillata.

   RICORDARSI DI AGGIUNGERE SEMPRE L'ACIDO ALL'ACQUA, MAI L'ACQUA ALL'ACIDO
8. Agitatore orbitale.
9. Lettore di piastra Elisa (la prova può essere letta visivamente).

SCHEMA DELLA PROVA

	H	G	F	E	D	C	B	A	
Bianco			Antigene + Coniugato						1
Controllo Mab			Antigene + Mab + Coniugato						2
Controllo positivo	Antigene + siero positivo + Mab + Coniugato								3
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	
	Sieri di riferimento								
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/2	1/4	1/8	1/16	4
									5
									6
Prova Sieri									7
									8
									9
									10
									11
									12

PROTOCOLLO DI RIFERIMENTO

Controllo in bianco

La serie 1A - H è un termine di controllo in bianco consistente in antigene BTV e coniugato. Essa può essere usata come bianco per il lettore Elisa.

Controllo Mab

La serie 2A - H è un termine di controllo dell'anticorpo monoclonale ed è costituito da antigene BTV, anticorpo monoclonale e coniugato. Esso rappresenta un termine di controllo negativo. La media delle letture di densità ottica da questa serie di controllo rappresenta un valore di inibizione pari allo 0 %.

Controllo positivo

La serie 3A - H è un controllo positivo. Essa consiste in antigene BTV, diluizione di antisiero positivo BTV, Mab e coniugato. Essa sta ad indicare che la prova funziona adeguatamente e che livelli analoghi di inibizione dovrebbero essere ottenuti da prova a prova.

Sieri di riferimento

Nello schema sperimentale di cui sopra 18 sieri possono essere analizzati ad un tasso di diluizione di 1/2, 1/4, 1/8 e 1/16. Ciò fornirà qualche indicazione sul titolo dell'anticorpo nel siero di riferimento. La gamma di diluizione potrebbe essere ulteriormente estesa per ottenere titoli finali della diluizione del siero. Alternativamente, per esami sierologici su vasta scala i sieri potrebbero essere analizzati a una singola diluizione (1/4) o a due diluizioni (1/2 e 1/4) come una rapida prova di selezione.

PROCEDIMENTO

1. Diluire l'antigene BTV a una concentrazione pretitolata in PBS, sottoporre brevemente agli ultrasuoni per disperdere il virus aggregato (se gli ultrasuoni non sono disponibili, pipettare vigorosamente) e aggiungere 50 µl in tutti i pozzetti della piastra Elisa. Picchiettare i bordi della piastra per disperdere l'antigene.

2. Incubare a 37 °C per 60 minuti su un agitatore orbitale. Lavare le piastre tre volte, immergendole e vuotando i pozzetti con PBS non sterile e asciugare su carta assorbente.

3. Aggiungere 50 µl di tampone bloccante per pozzetto. Aggiungere i sieri di riferimento ed il siero positivo negli opportuni pozzetti e diluire attraverso la piastra usando una pipetta a più canali. Non aggiungere i sieri al controllo in bianco o al controllo del Mab.

4. Immediatamente dopo l'aggiunta dei sieri di riferimento, diluire il Mab in tampone bloccante (alla diluizione pretitolata) ed aggiungere 50 µl a tutti i pozzetti della piastra, eccettuato il controllo in bianco.

5. Incubare a 37 °C per 60 minuti su un agitatore orbitale. Lavare tre volte con PBS e asciugare.

6. Diluire il concentrato di coniglio anti-topo a 1/5 000 in tampone bloccante ed aggiungere 50 µl a tutti i pozzetti della piastra.

7. Incubare a 37 °C per 60 minuti su agitatore orbitale. Lavare tre volte con PBS e asciugare.

8. Sgelare l'OPD e immediatamente prima dell'uso aggiungere 12 µl di acqua ossigenata al 30 % a ogni porzione di 25 ml di OPD. Aggiungere 50 µl a tutti i pozzetti della piastra. Lasciar sviluppare il colore per circa 10 minuti e interrompere la reazione con acido solforico 1 M (50 µl per pozzetto). Il colore dovrebbe svilupparsi nei pozzetti di controllo del Mab ed in quei pozzetti che contengono siero nel quale NON vi sono anticorpi del BTV.

9. Esaminare e registrare le piastre visivamente oppure facendo uso di un lettore spettrofotometrico.

ANALISI DEI RISULTATI

Calcolare la lettura media OD dai termini di riferimento Mab. Essa rappresenta un valore di inibizione dello 0 %. Le letture di densità ottica (OD) dei sieri di riferimento vengono espresse come valori di inibizione percentuali usando la seguente formula:

$$\text{Valore di inibizione percentuale} = 100 - \frac{\text{OD in presenza di siero di riferimento}}{\text{OD in assenza di siero di riferimento}} \times 100$$

Valori di inibizione superiori al 40 % a una diluizione di siero di 1/4 vengono considerati positivi. La lettura visiva è possibile, dato che una inibizione del 40 % è il valore più basso facilmente apprezzabile dall'occhio.

PREPARAZIONE DELL'ANTIGENE ELISA BTV

1. Lavare 10 unità di cellule confluenti BHK-21 tre volte con mezzo di Eagle esente da siero ed infettare con sierotipo 1 del virus della febbre catarrale maligna in mezzo di Eagle esente da siero.
2. Incubare a 37 °C ed esaminare quotidianamente l'effetto citopatico (cpe).
3. Quando il cpe è evidente nell'80-90 % dello strato di cellule di ciascuna unità, raccogliere il virus scuotendo dal recipiente eventuali cellule ancora attaccate.
4. Centrifugare a 2 000-3 000 giri al minuto per agglomerare le cellule.
5. Allontanare il supernatante e risospendere le cellule in circa 30 ml di PBS contenente l'1 % di « Sarkosyl » e 2 ml di fenilmetilsolfonilfluoruro (tampone di lisi). Ciò può far sì che le cellule formino un gel ed è possibile aggiungere più tampone di lisi per ridurre questo effetto.

   NOTA. Il fenilmetilsolfonilfluoruro è pericoloso : trattare con estrema cautela.
6. Frantumare le cellule per 60 secondi usando una sonda ultrasonica ad una ampiezza di 30 micron.
7. Centrifugare a 10 000 giri al minuto per 10 minuti.
8. Conservare il supernatante a + 4 °C e risospendere l'agglomerato di cellule in 10-20 ml di tampone di lisi.
9. Sottoporre ad ultrasuoni e chiarificare, conservando il supernatante ogni volta, per un totale di tre volte.
10. Raccogliere i supernatanti e centrifugare a 24 000 giri al minuto per 120 minuti a + 4 °C sopra uno strato costituito da 5 ml di saccarosio al 40 % (p/v in PBS) usando provette da centrifuga Beckmann da 30 ml ed un rotore SW 28.
11. Eliminare il supernatante, asciugare accuratamente le provette e risospendere l'agglomerato in PBS mediante ultrasuoni. Conservare l'antigene in varie porzioni a − 70 °C.

TITOLAZIONE DELL'ANTIGENE ELISA BTV

L'antigene Elisa per la febbre catarrale maligna viene titolato mediante Elisa indiretto. Diluizioni doppie di antigene vengono titolate rispetto a una diluizione costante (1/50) di anticorpo monoclonale 3-17-A3. Il protocollo è il seguente :

PROCEDIMENTO

1. Diluire l'antigene BTV in PBS attraverso una piastra di microtitolazione in una serie di diluizioni doppie (50 µl/pozzetto) usando una pipetta a molti canali.
2. Incubare per un'ora a 37 °C su un agitatore orbitale.
3. Lavare le piastre tre volte con PBS.
4. Aggiungere 50 µl di anticorpo monoclonale 3-17-A3 (diluito a 1/50) in ciascun pozzetto della piastra di microtitolazione.
5. Incubare per un'ora a 37 °C su agitatore orbitale.
6. Lavare tre volte le piastre con PBS.
7. Aggiungere 50 µl di globulina di coniglio anti-topo coniugata con perossidasi di rafano, diluita a una concentrazione ottimale pretitolata, in ciascun pozzetto della piastra di microtitolazione.
8. Incubare per un'ora a 37 °C su agitatore orbitale.
9. Aggiungere substrato e cromogeno come descritto in precedenza. Arrestare la reazione dopo 10 minuti aggiungendo acido solforico 1 Molare (50 µl/pozzetto).

Nella prova competitiva l'anticorpo monoclonale deve essere in eccesso, per cui viene scelta una diluizione di antigene tale da ricadere sulla curva di titolazione (non sulla zona piatta) e da dare approssimativamente un valore di 0,8 OD dopo 10 minuti.

Protocollo per una reazione di immunodiffusione su gel di agar per la ricerca degli anticorpi della malattia emorragica epizootica

La reazione di immunodiffusione su gel di agar viene effettuata secondo il seguente protocollo :

MATERIALI E REATTIVI

1. Antigene

   L'antigene precipitante viene preparato in qualsiasi sistema di coltura cellulare che favorisce la rapida moltiplicazione del (dei) sierotipo(i) opportuno(i) del virus della malattia emorragica epizootica. Si raccomandano le cellule BHK oppure Vero. L'antigene è presente nel liquido supernatante alla fine della crescita virale, ma richiede una concentrazione da 50 a 100 volte per poter agire. Ciò può essere ottenuto mediante qualsiasi procedura standard di concentrazione delle proteine ; il virus dell'antigene può essere inattivato mediante aggiunta di beta-propiolattone allo 0,3 % (v/v).

2. Siero di controllo positivo noto

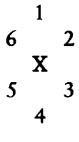
   Facendo uso del siero di riferimento internazionale e dell'antigene viene prodotto un nuovo siero di riferimento nazionale. Questo viene standardizzato per trovare la proporzione ottimale rispetto al siero di riferimento internazionale, viene liofilizzato e usato in ciascuna prova come siero di riferimento noto.

3. Siero in esame.

PROCEDIMENTO

1. Versare agarosio all'1 %, preparato in tampone borato o sodio barbital, pH 8,5-9,0, in una scatola di Petri a una profondità minima di 3 mm.

2. Ricavare nell'agar 7 pozzetti esenti da umidità, ciascuno avente 5,0 mm di diametro. Di questi pozzetti uno deve trovarsi in centro e sei altri devono essere sistemati attorno ad esso in un cerchio avente un raggio di 3 mm.



3. Riempire il pozzetto centrale di antigene standard. Riempire i pozzetti periferici 2, 4 e 6 con siero positivo noto ed i pozzetti 1, 3 e 5 col siero in esame.

4. Incubare il sistema fino a 72 ore a temperatura ambiente in atmosfera confinata ed umida.

INTERPRETAZIONE

Il siero in esame è positivo se forma una linea specifica di precipitine con l'antigene e una linea completa di identità col siero di riferimento. Un siero in esame è negativo se non forma una linea specifica con l'antigene e se non provoca l'incurvamento della linea del siero di riferimento. Le scatole di Petri devono essere esaminate su sfondo scuro e usando illuminazione indiretta.