II

(Πράξεις για την ισχύ των οποίων δεν απαιτείται δημοσίευση)

ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΑΠΟΦΑΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

της 15ης Ιουλίου 1994

σχετικά με τις υγειονομικές προϋποθέσεις και την κτηνιατρική πιστοποίηση για την εισαγωγή σπέρματος βοοειδών από τρίτες χώρες

(94/577/ΕΚ)

Η ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΤΩΝ ΕΥΡΩΠΑΪΚΩΝ ΚΟΙΝΟΤΗΤΩΝ,

Έχοντας υπόψη:

τη συνθήκη για την ίδρυση της Ευρωπαϊκής Κοινότητας,

την οδηγία 88/407/ΕΟΚ του Συμβουλίου της 14ης Ιουνίου 1988 για τον καθορισμό των απαιτήσεων υγειονομικού ελέγχου που ισχύουν στις ενδοκοινοτικές συναλλαγές και στις εισαγωγές σπέρματος βοοειδών [1], όπως τροποποιήθηκε τελευταία από την οδηγία 93/60/ΕΟΚ [2], και ιδίως τα άρθρα 10 και 11,

Εκτιμώντας:

ότι, βάσει της απόφασης 90/14/ΕΟΚ της Επιτροπής [3], όπως τροποποιήθηκε τελευταία από την απόφαση 91/276/ΕΟΚ [4], θεσπίστηκε κατάλογος τρίτων χωρών, εφεξής αναφερόμενος ως «κατάλογος τρίτων χωρών», από τις οποίες τα κράτη μέλη επιτρέπουν την εισαγωγή σπέρματος εκτρεφόμενων βοοειδών·

ότι η υγειονομική κατάσταση στο Ισραήλ έχει ως αποτέλεσμα τον αποκλεισμό των εισαγωγών από τη χώρα αυτή βάσει της απόφασης 91/277/ΕΟΚ της Επιτροπής [5]·

ότι οι αποφάσεις 91/479/ΕΟΚ [6], 91/549/ΕΟΚ [7], 92/123/ΕΟΚ [8], 92/124/ΕΟΚ [9], 92/125/ΕΟΚ [10], 92/126/ΕΟΚ [11], 92/127/ΕΟΚ [12], 92/128/ΕΟΚ [13], 92/386/ΕΟΚ [14], 92/387/ΕΟΚ [15] και 92/445/ΕΟΚ [16] της Επιτροπής, καθορίζουν τις υγειονομικές προϋποθέσεις και την κτηνιατρική πιστοποίηση για την εισαγωγή βόειου σπέρματος από τις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής, τον Καναδά, την Πολωνία, τη Φινλανδία, τη Νέα Ζηλανδία, την Αυστρία, την Ελβετία, τη Σουηδία, την Ουγγαρία, τη Νορβηγία και την Τσεχοσλοβακία αντίστοιχα·

ότι η οδηγία 93/60/ΕΟΚ, η οποία πρέπει να τεθεί σε ισχύ στα κράτη μέλη το αργότερο μέχρι την 1η Ιουλίου 1994, τροποποιεί την οδηγία 88/407/ΕΟΚ, με αποτέλεσμα να κρίνεται απαραίτητη η τροποποίηση των ανωτέρω αποφάσεων σχετικά με τις τρίτες χώρες· ότι, για να απλουστευθεί και να διασαφηνιστεί η κοινοτική νομοθεσία σχετικά με τα θέματα αυτά, είναι αναγκαίο να συγκεντρωθούν οι ανωτέρω αποφάσεις σε ένα κείμενο και να καταργηθούν αυτές που ισχύουν για κάθε χώρα χωριστά·

ότι, λαμβανομένων υπόψη των διατάξεων της συμφωνίας για τον Ευρωπαϊκό Οικονομικό Χώρο, δεν είναι αναγκαίο να διατηρηθούν τα κτηνιατρικά πιστοποιητικά για τις εισαγωγές σπέρματος βοοειδών από την Αυστρία, Φινλανδία, Νορβηγία και Σουηδία·

ότι σύμφωνα με τη γνώμη της επιστημονικής κτηνιατρικής επιτροπής, απαιτείται συμπληρωματική εξέταση για επιζωοτική αιμορραγική νόσο·

ότι ο Καναδάς είναι η μόνη χώρα που οι συνήθεις εξετάσεις για την εν λόγω νόσο γίνονται προ της συλλογής του σπέρματος ανά εξάμηνο· ότι, γι' αυτόν το λόγο, είναι ανάγκη να

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

χορηγηθεί μια μεταβατική περίοδος για τη θέση σε ισχύ της παρούσας απόφασης σε ό,τι αφορά τον Καναδά, ώστε οι καναδικές κτηνιατρικές αρχές να έχουν αρκετό χρόνο για να εισαγάγουν τις νέες δοκιμές στο σύνηθες πρόγραμμά τους·

ότι, εξάλλου, μετά από τις πρόσφατες προόδους όσον αφορά την κατανόηση της επιδημιολογίας της νόσου της bluetongue, μπορεί πλέον να επιτραπεί η εισαγωγή βόειου σπέρματος από την Αυσταλία·

ότι, ως φαίνεται, η υγειονομική κατάσταση των ζώων στις χώρες του καταλόγου τρίτων χωρών είναι καλή και ελεγχόμενη βάσει σωστά διαρθρωμένων και οργανωμένων κτηνιατρικών υπηρεσιών όσον αφορά τις νόσους που μεταδίδονται με το σπέρμα·

ότι οι υπεύθυνες κτηνιατρικές αρχές των τρίτων χωρών έχουν αναλάβει να κοινοποιούν στην Επιτροπή και στα κράτη μέλη, εντός 24 ωρών, με τηλετύπημα ή τηλεομοιοτυπία, την επιβεβαίωση της εκδήλωσης μιας εκ των νόσων που αναφέρονται στον κατάλογο Α του διεθνούς γραφείου επιζωοτιών (OIE) ή οποιαδήποτε αλλαγή στο πρόγραμμα εμβολιασμών που αφορά οποιαδήποτε εξ αυτών των νόσων ή, εν ευθέτω χρόνω, την εμφάνιση νόσων του καταλόγου Β του OIE και την οποιαδήποτε αλλαγή των κανόνων εισαγωγής που αφορούν εκτρεφόμενα ζώα ή σπέρμα ή έμβρυα των ζώων αυτών·

ότι οι υπεύθυνες κτηνιατρικές αρχές των χωρών που αναφέρονται στον κατάλογο των τρίτων χωρών, έχουν αναλάβει να εποπτεύουν επισήμως την έκδοση των πιστοποιητικών που αναφέρονται στην παρούσα απόφαση και να μεριμνούν ώστε όλα τα σχετικά πιστοποιητικά, οι παρεκκλίσεις και τα αποτελέσματα των εργαστηριακών εξετάσεων, στα οποία είναι δυνατόν να έχει βασιστεί η πιστοποίηση, να παραμένουν σε επίσημο φάκελο, επί δώδεκα μήνες τουλάχιστον, μετά την αποστολή του σπέρματος στο οποίο αναφέρονται·

ότι οι υπεύθυνες κτηνιατρικές αρχές των τρίτων χωρών έχουν αναλάβει να εγκρίνουν επισήμως τα κέντρα συλλογής σπέρματος για την εξαγωγή βόειου σπέρματος προς την Ευρωπαϊκή Κοινότητα, όπως απαιτείται βάσει του άρθρου 9 της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ·

ότι οι υγειονομικές προϋποθέσεις και η κτηνιατρική πιστοποίηση πρέπει να προσαρμόζονται ανάλογα με την κατάσταση της υγείας των ζώων στην αντίστοιχη τρίτη χώρα·

ότι τα μέτρα που προβλέπονται στην παρούσα απόφαση είναι σύμφωνα με τη γνώμη της Μόνιμης Κτηνιατρικής Επιτροπής,

ΕΞΕΔΩΣΕ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΑ ΑΠΟΦΑΣΗ:

Άρθρο 1

Τα κράτη μέλη επιτρέπουν την εισαγωγή βόειου σπέρματος το οποίο πληροί τους όρους που αναφέρονται στα πιστοποιητικά του μέρους 1 των παραρτημάτων Α, Β, Γ και Δ και μόνον από τις τρίτες χώρες που εμφαίνονται στο μέρος 2 των παραρτημάτων Α, Β, Γ και Δ.

Εντούτοις, τα κράτη μέλη επιτρέπουν την εισαγωγή από τον Καναδά και μέχρι τις 31 Δεκεμβρίου 1994, σπέρματος βοοειδών που συλλέχθηκε και υποβλήθηκε σε επεξεργασία σύμφωνα με την απόφαση 91/549/ΕΟΚ.

Άρθρο 2

Οι αποφάσεις 91/479/ΕΟΚ, 92/123/ΕΟΚ, 92/124/ΕΟΚ, 92/125/ΕΟΚ, 92/126/ΕΟΚ, 92/127/ΕΟΚ, 92/128/ΕΟΚ, 92/386/ΕΟΚ, 92/387/ΕΟΚ και 92/445/ΕΟΚ καταργούνται. Η απόφαση 91/549/ΕΟΚ καταργείται από την 1η Ιανουαρίου 1995.

Άρθρο 3

Ωστόσο, οι διατάξεις που αφορούν τον Καναδά και αναφέρονται στο άρθρο 1 πρώτο εδάφιο, εφαρμόζονται από την 1η Ιανουαρίου 1995.

Άρθρο 4

Η παρούσα απόφαση απευθύνεται στα κράτη μέλη.

Βρυξέλλες, 15 Ιουλίου 1994.

Για την Επιτροπή

René STEICHEN

Μέλος της Επιτροπής

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α

ΜΕΡΟΣ 1

ΠΙΣΤΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΥΓΕΙΑΣ ΤΩΝ ΖΩΩΝ

για εισαγωγή σπέρματος βοοειδών

<table>
<tr><td colspan="2">1. Αποστολέας (όνομα και πλήρης διεύθυνση)</td><td>Αριθμός πιστοποιητικού
2. Τρίτη χώρα συλλογής</td></tr>
<tr><td colspan="2">3. Παραλήπτης (όνομα και πλήρης διεύθυνση)</td><td>4. Αρμόδια αρχή</td></tr>
<tr><td colspan="2"></td><td>5. Αρμόδια τοπική αρχή</td></tr>
<tr><td colspan="2">6. Τόπος φόρτωσης</td><td>7. Όνομα και διεύθυνση του κέντρου συλλογής σπέρματος</td></tr>
<tr><td colspan="2">8. Μέσα μεταφοράς</td><td rowspan="3">10. Αριθμός εγκρίσεως του κέντρου συλλογής σπέρματος</td></tr>
<tr><td colspan="2">9. Τόπος και κράτος μέλος προορισμού</td></tr>
<tr><td colspan="2">11. Αριθμός σφραγίδας των περιεκτών σπέρματος</td></tr>
<tr><td colspan="3">12. Στοιχεία ταυτοποίησης του σπέρματος
Νωπό ή κατεψυγμένο *
(* διαγράφεται η περιττή ένδειξη)</td></tr>
<tr><td>α) Αριθμός δόσεων</td><td>β) ημερομηνία(ες) συλλογής</td><td>γ) Φυλή</td></tr>
<tr><td>δ) Ταυτοποίηση του ζώου δότη</td><td></td><td></td></tr>
</table>

13. Ο υπογεγραμμένος, επίσημος κτηνίατρος έχω διαβάσει και γνωρίζω πολύ καλά την οδηγία 88/407/ΕΟΚ, όπως τροποποιήθηκε και πιστοποιώ ότι:

α) .....

(όνομα της χώρας εξαγωγής)

ήταν απαλλαγμένο από τις νόσους της πανώλους των βοοειδών και του αφθώδους πυρετού κατά τους δώδεκα μήνες που προηγούνται άμεσα από τη συλλογή του σπέρματος για εξαγωγή και έως την ημερομηνία αποστολής του, καθώς και ότι δεν πραγματοποιήθηκε εμβολιασμός κατά των νόσων αυτών κατά την αυτή περίοδο·

β) το κέντρο συλλογής σπέρματος στο οποίο συλλέχθηκε το προς εξαγωγή σπέρμα ήταν:

i) εγκεκριμένο βάσει των όρων που καθορίζονται στο παράρτημα Α κεφάλαιο Ι της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ,

ii) σε λειτουργία και υπό εποπτεία βάσει των όρων πού καθορίζονται στο παράρτημα Α κεφάλαιο ΙΙ της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ,

iii) κατά την περίοδο που αρχίζει 30 ημέρες πριν από την ημερομηνία συλλογής του προς εξαγωγή σπέρματος έως 30 ημέρες μετά τη συλλογή (στην περίπτωση νωπού σπέρματος έως την ημερομηνία αποστολής), ήταν απαλλαγμένο από τις νόσους της λύσσας, της φυματίωσης, της βρουκέλλωσης, του άνθρακα και της μεταδοτικής πλευροπνευμονίας των βοοειδών·

γ) τα βοοειδή που παραμένουν στο κέντρο συλλογής σπέρματος:

i) προέρχονται από αγέλες ή/και από θηλυκούς γεννήτορες που πληρούν τους όρους του παραρτήματος Β κεφάλαιο Ι της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ,

ii) έχουν, πριν τεθούν σε απομόνωση, υποβληθεί σε ελέγχους που απαιτούνται βάσει του παραρτήματος Β κεφάλαιο Ι της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ,

iii) πληρούσαν τις προϋποθέσεις που ισχύουν για την περίοδο πριν από την είσοδο σε απομόνωση και για τους ελέγχους, οι οποίες καθορίζονται βάσει του παραρτήματος Β κεφάλαιο Ι της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ,

iv) σε περίπτωση που παρέμειναν στο κέντρο συλλογής για περίοδο ενός έτους τουλάχιστον, έχουν υποβληθεί στους συνήθεις ελέγχους βάσει του παραρτήματος Β κεφάλαιο ΙΙ της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ·

δ) Το σπέρμα προς εξαγωγή:

i) ελήφθη από δότες που εκτράφηκαν στ

.....

(όνομα της χώρας εξαγωγής)

— για την περίοδο των έξι μηνών που προηγούνται της συλλογής του σπέρματος για εξαγωγή και πληρούν τους όρους που καθορίζονται βάσει του παραρτήματος Γ της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ,

ii) ελήφθη από δότες που:

— παραμένουν σε κέντρο συλλογής σπέρματος στο οποίο όλα τα βοοειδή έχουν κατά τους δώδεκα μήνες που προηγούνται της συλλογής σπέρματος προς εξαγωγή υποβληθεί, με αρνητικά αποτελέσματα, σε δοκιμασία οροεξουδετέρωσης ή δοκιμασία ELISA για λοιμώδη ρινοτραχειίτιδα/λοιμώδη φλυκταινώδη αιδοιοκολπίτιδα (1)

είτε

— υποβλήθηκαν, με αρνητικά αποτελέσματα, κατά τους δώδεκα μήνες που προηγήθηκαν της συλλογής σπέρματος προς εξαγωγή, σε δοκιμασία οροεξουδετέρωσης ή σε δοκιμασία ELISA για λοιμώδη ρινοτραχειίτιδα/λοιμώδη φλυκταινώδη αιδοιοκολπίτιδα (1)

είτε

— ήταν οροθετικά και υποβλήθηκαν σε εμβολιασμό σύμφωνα με το παράρτημα Β κεφάλαιο ΙΙ της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ και εφόσον έδωσαν αρνητικά αποτελέσματα, στη δοκιμασία οροεξουδετέρωσης ή δοκιμασία ELISA που πραγματοποιήθηκε σε εγκεκριμένο κέντρο συλλογής σπέρματος προ του εμβολιασμού (1)

(1) Η περιττή ένδειξη διαγράφεται.

είτε

— βρέθηκαν θετικά στη δοκιμασία οροεξουδετέρωσης ή στη δοκιμασία ELISA για λοιμώδη ρινοτραχειίτιδα/λοιμώδη φλυκταινώδη αιδοιοκολπίτιδα, δεν εμβολιάστηκαν σύμφωνα με το παράρτημα Β κεφάλαιο ΙΙ της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ και τουλάχιστον 10 % κάθε έγχυσης σπέρματος προς εξαγωγή με τουλάχιστον πέντε ατομικά δοχεία (τριχοειδείς σωλήνες) έχει υποβληθεί προ της εξαγωγής σε δοκιμασία ζωικού ενοφθαλμισμού ή σε δοκιμασία απομόνωσης ιού με αρνητικό αποτέλεσμα (1),

iii) υποβλήθηκε σε επεξεργασία, αποθηκεύτηκε και μεταφέρθηκε υπό συνθήκες που πληρούν τους κανόνες της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ.

....

(τόπος) (ημερομηνία)

(Σφραγίδα) (2)

Υπογραφή (2): .....

Όνομα με κεφαλαία: .....

Επίσημη ιδιότητα: .....

(1) Η περιττή ένδειξη διαγράφεται.
(2) Η υπογραφή και η σφραγίδα πρέπει να είναι χρώματος διαφορετικού από αυτό της εκτύπωσης.

ΜΕΡΟΣ 2

Κατάλογος των χωρών οι οποίες επιτρέπεται να χρησιμοποιούν το υπόδειγμα του κτηνιατρικού πιστοποιητικού του μέρους 1 του παραρτήματος Α

ΤΣΕΧΙΑ

ΟΥΓΓΑΡΙΑ

ΝΕΑ ΖΗΛΑΝΔΙΑ

ΠΟΛΩΝΙΑ

ΡΟΥΜΑΝΙΑ

ΕΛΒΕΤΙΑ

ΣΛΟΒΑΚΙΑ

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Β

ΜΕΡΟΣ 1

ΠΙΣΤΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΥΓΕΙΑΣ ΤΩΝ ΖΩΩΝ

για εισαγωγή σπέρματος βοοειδών από τις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής

<table>
<tr><td colspan="2">1. Αποστολέας (όνομα και πλήρης διεύθυνση)</td><td>Αριθμός πιστοποιητικού
2. Τρίτη χώρα συλλογής</td></tr>
<tr><td colspan="2">3. Παραλήπτης (όνομα και πλήρης διεύθυνση)</td><td>4. Αρμόδια αρχή</td></tr>
<tr><td colspan="2"></td><td>5. Αρμόδια τοπική αρχή</td></tr>
<tr><td colspan="2">6. Τόπος φόρτωσης</td><td>7. Όνομα και διεύθυνση του κέντρου συλλογής σπέρματος</td></tr>
<tr><td colspan="2">8. Μέσα μεταφοράς</td><td rowspan="3">10. Αριθμός εγκρίσεως του κέντρου συλλογής σπέρματος</td></tr>
<tr><td colspan="2">9. Τόπος και κράτος μέλος προορισμού</td></tr>
<tr><td colspan="2">11. Αριθμός σφραγίδας των περιεκτών σπέρματος</td></tr>
<tr><td colspan="3">12. Στοιχεία ταυτοποίησης του σπέρματος
Νωπό ή κατεψυγμένο *
(* διαγράφεται η περιττή ένδειξη)</td></tr>
<tr><td>α) Αριθμός δόσεων</td><td>β) ημερομηνία(ες) συλλογής</td><td>γ) Φυλή</td></tr>
<tr><td>δ) Ταυτοποίηση του ζώου δότη</td><td></td><td></td></tr>
</table>

13. Ο υπογεγραμμένος, επίσημος κτηνίατρος έχω διαβάσει και γνωρίζω πολύ καλά την οδηγία 88/407/ΕΟΚ, όπως τροποποιήθηκε και πιστοποιώ ότι:

α) .....

(όνομα της χώρας εξαγωγής)

ήταν απαλλαγμένο από τις νόσους της πανώλους των βοοειδών και του αφθώδους πυρετού κατά τους δώδεκα μήνες που προηγούνται άμεσα από τη συλλογή του σπέρματος για εξαγωγή και έως την ημερομηνία αποστολής του, καθώς και ότι δεν πραγματοποιήθηκε εμβολιασμός κατά των νόσων αυτών κατά την αυτή περίοδο·

β) το κέντρο συλλογής σπέρματος στο οποίο συλλέχθηκε το προς εξαγωγή σπέρμα ήταν:

i) εγκεκριμένο βάσει των όρων που καθορίζονται στο παράρτημα Α κεφάλαιο Ι της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ,

ii) σε λειτουργία και υπό εποπτεία βάσει των όρων που καθορίζονται στο παράρτημα Α κεφάλαιο ΙΙ της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ,

iii) κατά την περίοδο που αρχίζει 30 ημέρες πριν από την ημερομηνία συλλογής του προς εξαγωγή σπέρματος έως 30 ημέρες μετά τη συλλογή (στην περίπτωση νωπού σπέρματος έως την ημερομηνία αποστολής), ήταν απαλλαγμένο από τις νόσους της λύσσας, της φυματίωσης, της βρουκέλλωσης, του άνθρακα και της μεταδοτικής πλευροπνευμονίας των βοοειδών·

γ) τα βοοειδή που παραμένουν στο κέντρο συλλογής σπέρματος:

i) προέρχονται από αγέλες ή/και από θηλυκούς γεννήτορες που πληρούν τους όρους του παραρτήματος Β κεφάλαιο Ι της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ,

ii) έχουν, πριν τεθούν σε απομόνωση, υποβληθεί σε ελέγχους που απαιτούνται βάσει του παραρτήματος Β κεφάλαιο Ι της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ,

iii) πληρούσαν τις προϋποθέσεις που ισχύουν για την περίοδο πριν από την είσοδο σε απομόνωση και για τους ελέγχους, οι οποίες καθορίζονται βάσει του παραρτήματος Β κεφάλαιο Ι της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ,

iv) σε περίπτωση που παρέμειναν στο κέντρο συλλογής για περίοδο ενός έτους τουλάχιστον, έχουν υποβληθεί στους συνήθεις ελέγχους βάσει του παραρτήματος Β κεφάλαιο ΙΙ της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ·

δ) Το σπέρμα προς εξαγωγή:

i) ελήφθη από δότες που εκτράφηκαν στ

.....

(όνομα της χώρας εξαγωγής)

— για την περίοδο των έξι μηνών που προηγούνται της συλλογής του σπέρματος για εξαγωγή και πληρούν τους όρους που καθορίζονται βάσει του παραρτήματος Γ της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ,

ii) ελήφθη από δότες που:

— παραμένουν σε κέντρο συλλογής σπέρματος στο οποίο όλα τα βοοειδή έχουν κατά τους δώδεκα μήνες που προηγούνται της συλλογής σπέρματος προς εξαγωγή υποβληθεί, με αρνητικά αποτελέσματα, σε δοκιμασία οροεξουδετέρωσης ή δοκιμασία ELISA για λοιμώδη ρινοτραχειίτιδα/λοιμώδη φλυκταινώδη αιδοιοκολπίτιδα (1)

είτε

— υποβλήθηκαν, με αρνητικά αποτελέσματα, κατά τους δώδεκα μήνες που προηγήθηκαν της συλλογής σπέρματος προς εξαγωγή, σε δοκιμασία οροεξουδετέρωσης ή σε δοκιμασία ELISA για λοιμώδη ρινοτραχειίτιδα/λοιμώδη φλυκταινώδη αιδοιοκολπίτιδα (1)

είτε

— ήταν οροθετικά και υποβλήθηκαν σε εμβολιασμό σύμφωνα με το παράρτημα Β κεφάλαιο ΙΙ της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ και εφόσον έδωσαν αρνητικά αποτελέσματα, στη δοκιμασία οροεξουδετέρωσης ή δοκιμασία ELISA που πραγματοποιήθηκε σε εγκεκριμένο κέντρο συλλογής σπέρματος προ του εμβολιασμού (1)

(1) Η περιττή ένδειξη διαγράφεται.

είτε

— βρέθηκαν θετικά στη δοκιμασία οροεξουδετέρωσης ή στη δοκιμασία ELISA για λοιμώδη ρινοτραχειίτιδα/λοιμώδη φλυκταινώδη αιδοιοκολπίτιδα, δεν εμβολιάστηκαν σύμφωνα με το παράρτημα Β κεφάλαιο ΙΙ της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ και τουλάχιστον 10 % κάθε έγχυσης σπέρματος προς εξαγωγή με τουλάχιστον πέντε ατομικά δοχεία (τριχοειδείς σωλήνες) έχει υποβληθεί προ της εξαγωγής σε δοκιμασία ζωικού ενοφθαλμισμού ή σε δοκιμασία απομόνωσης ιού με αρνητικό αποτέλεσμα (1),

iii) υποβλήθηκε σε επεξεργασία, αποθηκεύτηκε και μεταφέρθηκε υπό συνθήκες που πληρούν τους κανόνες της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ.

iv) ελήφθη από ταύρους δότες που υποβλήθηκαν δύο φορές, με διάστημα μεταξύ τους το ανώτερο δώδεκα μηνών, στις ακόλουθες δοκιμές, πριν και μετά από τη συλλογή με αρνητικά αποτελέσματα και σε εγκεκριμένο εργαστήριο (η μετά τη συλλογή δοκιμή πρέπει να γίνει σε δείγμα αίματος το οποίο ελήφθη τουλάχιστον 21 ημέρες μετά από τη συλλογή του προς εξαγωγή σπέρματος):

— παρεμποδιστική δοκιμή ELISA για τη νόσο της bluetongue, σύμφωνα με το παράρτημα Ε,

— δοκιμή ανοσοδιάχυσης σε αγάρ αγάρ σύμφωνα με το παράρτημα Ε και δοκιμή εξουδετέρωσης του ιού για όλους του ορότυπους της επιζωοτικής αιμορραγικής νόσου (EHD) που είναι γνωστό ότι υπάρχει στη χώρα εξαγωγής.

....

(τόπος) (ημερομηνία)

(Σφραγίδα) (2)

Υπογραφή (2): .....

Όνομα με κεφαλαία: .....

Επίσημη ιδιότητα: .....

(1) Η περιττή ένδειξη διαγράφεται.

(2) Η υπογραφή και η σφραγίδα πρέπει να είναι χρώματος διαφορετικού από αυτό της εκτύπωσης.

ΜΕΡΟΣ 2

Κατάλογος των χωρών οι οποίες επιτρέπεται να χρησιμοποιούν το υπόδειγμα του κτηνιατρικού πιστοποιητικού του μέρους 1 του παραρτήματος Β

ΗΝΩΜΕΝΕΣ ΠΟΛΙΤΕΙΕΣ ΤΗΣ ΑΜΕΡΙΚΗΣ

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Γ

ΜΕΡΟΣ 1

ΠΙΣΤΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΥΓΕΙΑΣ ΤΩΝ ΖΩΩΝ

για εισαγωγή σπέρματος βοοειδών

<table>
<tr><td colspan="2">1. Αποστολέας (όνομα και πλήρης διεύθυνση)</td><td>Αριθμός πιστοποιητικού
2. Τρίτη χώρα συλλογής</td></tr>
<tr><td colspan="2">3. Παραλήπτης (όνομα και πλήρης διεύθυνση)</td><td>4. Αρμόδια αρχή</td></tr>
<tr><td colspan="2"></td><td>5. Αρμόδια τοπική αρχή</td></tr>
<tr><td colspan="2">6. Τόπος φόρτωσης</td><td>7. Όνομα και διεύθυνση του κέντρου συλλογής σπέρματος</td></tr>
<tr><td colspan="2">8. Μέσα μεταφοράς
9. Τόπος και κράτος μέλος προορισμού
11. Αριθμός σφραγίδας των περιεκτών σπέρματος</td><td>10. Αριθμός εγκρίσεως του κέντρου συλλογής σπέρματος</td></tr>
<tr><td colspan="3">12. Στοιχεία ταυτοποίησης του σπέρματος
Νωπό ή κατεψυγμένο *
(* διαγράφεται η περιττή ένδειξη)</td></tr>
<tr><td>α) Αριθμός δόσεων
δ) Ταυτοποίηση του ζώου δότη</td><td>β) ημερομηνία(ες) συλλογής</td><td>γ) Φυλή</td></tr>
</table>

13. Ο υπογεγραμμένος, επίσημος κτηνίατρος έχω διαβάσει και γνωρίζω πολύ καλά την οδηγία 88/407/ΕΟΚ, όπως τροποποιήθηκε και πιστοποιώ ότι:

α) .....

(όνομα της χώρας εξαγωγής)

ήταν απαλλαγμένο από τις νόσους της πανώλους των βοοειδών και του αφθώδους πυρετού κατά τους δώδεκα μήνες που προηγούνται άμεσα από τη συλλογή του σπέρματος για εξαγωγή και έως την ημερομηνία αποστολής του, καθώς και ότι δεν πραγματοποιήθηκε εμβολιασμός κατά των νόσων αυτών κατά την αυτή περίοδο·

β) το κέντρο συλλογής σπέρματος στο οποίο συλλέχθηκε το προς εξαγωγή σπέρμα ήταν:

i) εγκεκριμένο βάσει των όρων που καθορίζονται στο παράρτημα Α κεφάλαιο Ι της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ,

ii) σε λειτουργία και υπό εποπτεία βάσει των όρων που καθορίζονται στο παράρτημα Α κεφάλαιο ΙΙ της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ,

iii) κατά την περίοδο που αρχίζει 30 ημέρες πριν από την ημερομηνία συλλογής του προς εξαγωγή σπέρματος έως 30 ημέρες μετά τη συλλογή (στην περίπτωση νωπού σπέρματος έως την ημερομηνία αποστολής), ήταν απαλλαγμένο από τις νόσους της λύσσας, της φυματίωσης, της βρουκέλλωσης, του άνθρακα και της μεταδοτικής πλευροπνευμονίας των βοοειδών·

γ) τα βοοειδή που παραμένουν στο κέντρο συλλογής σπέρματος:

i) προέρχονται από αγέλες ή/και από θηλυκούς γεννήτορες που πληρούν τους όρους του παραρτήματος Β κεφάλαιο Ι της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ,

ii) έχουν, πριν τεθούν σε απομόνωση, υποβληθεί σε ελέγχους που απαιτούνται βάσει του παραρτήματος Β κεφάλαιο Ι της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ,

iii) πληρούσαν τις προϋποθέσεις που ισχύουν για την περίοδο πριν από την είσοδο σε απομόνωση και για τους ελέγχους, οι οποίες καθορίζονται βάσει του παραρτήματος Β κεφάλαιο Ι της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ,

iv) σε περίπτωση που παρέμειναν στο κέντρο συλλογής για περίοδο ενός έτους τουλάχιστον, έχουν υποβληθεί στους συνήθεις ελέγχους βάσει του παραρτήματος Β κεφάλαιο ΙΙ της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ·

δ) Το σπέρμα προς εξαγωγή:

i) ελήφθη από δότες που εκτράφηκαν στ

.....

(όνομα της χώρας εξαγωγής)

— για την περίοδο των έξι μηνών που προηγούνται της συλλογής του σπέρματος για εξαγωγή και πληρούν τους όρους που καθορίζονται βάσει του παραρτήματος Γ της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ,

ii) ελήφθη από δότες που:

— παραμένουν σε κέντρο συλλογής σπέρματος στο οποίο όλα τα βοοειδή έχουν κατά τους δώδεκα μήνες που προηγούνται της συλλογής σπέρματος προς εξαγωγή υποβληθεί, με αρνητικά αποτελέσματα, σε δοκιμασία οροεξουδετέρωσης ή δοκιμασία ELISA για λοιμώδη ρινοτραχειίτιδα/λοιμώδη φλυκταινώδη αιδοιοκολπίτιδα (1)

είτε

— υποβλήθηκαν, με αρνητικά αποτελέσματα, κατά τους δώδεκα μήνες που προηγήθηκαν της συλλογής σπέρματος προς εξαγωγή, σε δοκιμασία οροεξουδετέρωσης ή σε δοκιμασία ELISA για λοιμώδη ρινοτραχειίτιδα/λοιμώδη φλυκταινώδη αιδοιοκολπίτιδα (1)

είτε

— ήταν οροθετικά και υποβλήθηκαν σε εμβολιασμό σύμφωνα με το παράρτημα Β κεφάλαιο ΙΙ της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ και εφόσον έδωσαν αρνητικά αποτελέσματα, στη δοκιμασία οροεξουδετέρωσης ή δοκιμασία ELISA που πραγματοποιήθηκε σε εγκεκριμένο κέντρο συλλογής σπέρματος προ του εμβολιασμού (1)

(1) Η περιττή ένδειξη διαγράφεται.

είτε

— βρέθηκαν θετικά στη δοκιμασία οροεξουδετέρωσης ή στη δοκιμασία ELISA για λοιμώδη ρινοτραχειίτιδα/λοιμώδη φλυκταινώδη αιδοιοκολπίτιδα, δεν εμβολιάστηκαν σύμφωνα με το παράρτημα Β κεφάλαιο ΙΙ της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ και τουλάχιστον 10 % κάθε έγχυσης σπέρματος προς εξαγωγή με τουλάχιστον πέντε ατομικά δοχεία (τριχοειδείς σωλήνες) έχει υποβληθεί προ της εξαγωγής σε δοκιμασία ζωικού ενοφθαλμισμού ή σε δοκιμασία απομόνωσης ιού με αρνητικό αποτέλεσμα (1),

iii) υποβλήθηκε σε επεξεργασία, αποθηκεύτηκε και μεταφέρθηκε υπό συνθήκες που πληρούν τους κανόνες της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ,

iv) ελήφθη από ταύρους δότες οι οποίοι:

— είτε παραμένουν στο εγκεκριμένο κέντρο από 1ης Ιουλίου 1994,

— είτε εισήχθησαν στο εγκεκριμένο κέντρο μετά την 1η Ιουλίου 1994 και υποβλήθηκαν στις ακόλουθες δοκιμασίες για τη νόσο bluetongue και την επιζωοτική αιμορραγική νόσο σε εγκεκριμένο εργαστήριο, με αρνητικά αποτελέσματα, πριν από την εισοδό τους και, σε κάθε περίπτωση, υποβάλλονται κάθε έξι μήνες στις ακόλουθες δοκιμασίες σε εγκεκριμένο εργαστήριο και με αρνητικά αποτελέσματα:

— παρεμποδιστική δοκιμή ELISA για τη νόσο της bluetongue, σύμφωνα με το παράρτημα Ε,

— δοκιμή ανοσοδιάχυσης σε αγάρ αγάρ σύμφωνα με το παράρτημα Ε και δοκιμή εξουδετέρωσης του ιού για όλους του ορότυπους της επιζωοτικής αιμορραγικής νόσου (EHD) που είναι γνωστό ότι υπάρχει στη χώρα εξαγωγής.

....

(τόπος) (ημερομηνία)

(Σφραγίδα) (2)

Υπογραφή (2): .....

Όνομα με κεφαλαία: .....

Επίσημη ιδιότητα: .....

(1) Η περιττή ένδειξη διαγράφεται.
(2) Η υπογραφή και η σφραγίδα πρέπει να είναι χρώματος διαφορετικού από αυτό της εκτύπωσης.

ΜΕΡΟΣ 2

Κατάλογος των χωρών οι οποίες επιτρέπεται να χρησιμοποιούν το υπόδειγμα του κτηνιατρικού πιστοποιητικού του μέρους 1 του παραρτήματος Γ

ΚΑΝΑΔΑΣ Εκτός από την περιφέρεια της κοιλάδας Okanagan της Βρετανικής Κολομβίας η οποία ορίζεται ως η περιοχή που περικλείεται από τη γραμμή που ξεκινά από τα σύνορα Καναδά/Ηνωμένων Πολιτειών με γεωγραφικές συντεταγμένες 120°15′ γεωγραφικό μήκος, 49° γεωγραφικό πλάτος βορείως έως σημείο γεωγραφικού μήκους 119°35′, γεωγραφικού πλάτους 50°30′ βορειοανατολικά έως σημείο γεωγραφικού μήκους 119°, 50°45′ γεωγραφικού πλάτους νοτίως έως το σημείο των συνόρων Καναδά/Ηνωμένων Πολιτειών με συντεταγμένες 118°15′ γεωγραφικό μήκος και 49° γεωγραφικό πλάτος.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Δ

ΜΕΡΟΣ 1

ΠΙΣΤΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΥΓΕΙΑΣ ΤΩΝ ΖΩΩΝ

για εισαγωγή σπέρματος βοοειδών

<table>
<tr><td colspan="2">1. Αποστολέας (όνομα και πλήρης διεύθυνση)</td><td>Αριθμός πιστοποιητικού
2. Τρίτη χώρα συλλογής</td></tr>
<tr><td colspan="2">3. Παραλήπτης (όνομα και πλήρης διεύθυνση)</td><td>4. Αρμόδια αρχή</td></tr>
<tr><td colspan="2"></td><td>5. Αρμόδια τοπική αρχή</td></tr>
<tr><td colspan="2">6. Τόπος φόρτωσης</td><td>7. Όνομα και διεύθυνση του κέντρου συλλογής σπέρματος</td></tr>
<tr><td colspan="2">8. Μέσα μεταφοράς
9. Τόπος και κράτος μέλος προορισμού
11. Αριθμός σφραγίδας των περιεκτών σπέρματος</td><td>10. Αριθμός εγκρίσεως του κέντρου συλλογής σπέρματος</td></tr>
<tr><td colspan="3">12. Στοιχεία ταυτοποίησης του σπέρματος
Νωπό ή κατεψυγμένο *
(* διαγράφεται η περιττή ένδειξη)</td></tr>
<tr><td>α) Αριθμός δόσεων
δ) Ταυτοποίηση του ζώου δότη</td><td>β) ημερομηνία(ες) συλλογής</td><td>γ) Φυλή</td></tr>
</table>

13. Ο υπογεγραμμένος, επίσημος κτηνίατρος έχω διαβάσει και γνωρίζω πολύ καλά την οδηγία 88/407/ΕΟΚ, όπως τροποποιήθηκε και πιστοποιώ ότι:

α) .....

(όνομα της χώρας εξαγωγής)

ήταν απαλλαγμένο από τις νόσους της πανώλους των βοοειδών και του αφθώδους πυρετού κατά τους δώδεκα μήνες που προηγούνται άμεσα από τη συλλογή του σπέρματος για εξαγωγή και έως την ημερομηνία αποστολής του, καθώς και ότι δεν πραγματοποιήθηκε εμβολιασμός κατά των νόσων αυτών κατά την αυτή περίοδο·

β) το κέντρο συλλογής σπέρματος στο οποίο συλλέχθηκε το προς εξαγωγή σπέρμα ήταν:

i) εγκεκριμένο βάσει των όρων που καθορίζονται στο παράρτημα Α κεφάλαιο Ι της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ,

ii) σε λειτουργία και υπό εποπτεία βάσει των όρων που καθορίζονται στο παράρτημα Α κεφάλαιο ΙΙ της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ,

iii) κατά την περίοδο που αρχίζει 30 ημέρες πριν από την ημερομηνία συλλογής του προς εξαγωγή σπέρματος έως 30 ημέρες μετά τη συλλογή (στην περίπτωση νωπού σπέρματος έως την ημερομηνία αποστολής), ήταν απαλλαγμένο από τις νόσους της λύσσας, της φυματίωσης, της βρουκέλλωσης, του άνθρακα και της μεταδοτικής πλευροπνευμονίας των βοοειδών·

γ) τα βοοειδή που παραμένουν στο κέντρο συλλογής σπέρματος:

i) προέρχονται από αγέλες ή/και από θηλυκούς γεννήτορες που πληρούν τους όρους του παραρτήματος Β κεφάλαιο Ι της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ,

ii) έχουν, πριν τεθούν σε απομόνωση, υποβληθεί σε ελέγχους που απαιτούνται βάσει του παραρτήματος Β κεφάλαιο Ι της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ,

iii) πληρούσαν τις προϋποθέσεις που ισχύουν για την περίοδο πριν από την είσοδο σε απομόνωση και για τους ελέγχους, οι οποίες καθορίζονται βάσει του παραρτήματος Β κεφάλαιο Ι της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ,

iv) σε περίπτωση που παρέμειναν στο κέντρο συλλογής για περίοδο ενός έτους τουλάχιστον, έχουν υποβληθεί στους συνήθεις ελέγχους βάσει του παραρτήματος Β κεφάλαιο ΙΙ της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ·

δ) Το σπέρμα προς εξαγωγή:

i) ελήφθη από δότες που εκτράφηκαν στ

.....

(όνομα της χώρας εξαγωγής)

— για την περίοδο των έξι μηνών που προηγούνται της συλλογής του σπέρματος για εξαγωγή και πληρούν τους όρους που καθορίζονται βάσει του παραρτήματος Γ της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ,

ii) ελήφθη από δότες που:

— παραμένουν σε κέντρο συλλογής σπέρματος στο οποίο όλα τα βοοειδή έχουν κατά τους δώδεκα μήνες που προηγούνται της συλλογής σπέρματος προς εξαγωγή υποβληθεί, με αρνητικά αποτελέσματα, σε δοκιμασία οροεξουδετέρωσης ή δοκιμασία ELISA για λοιμώδη ρινοτραχειίτιδα/λοιμώδη φλυκταινώδη αιδοιοκολπίτιδα (1)

είτε

— υποβλήθηκαν, με αρνητικά αποτελέσματα, κατά τους δώδεκα μήνες που προηγήθηκαν της συλλογής σπέρματος προς εξαγωγή, σε δοκιμασία οροεξουδετέρωσης ή σε δοκιμασία ELISA για λοιμώδη ρινοτραχειίτιδα/λοιμώδη φλυκταινώδη αιδοιοκολπίτιδα (1)

είτε

— ήταν οροθετικά και υποβλήθηκαν σε εμβολιασμό σύμφωνα με το παράρτημα Β κεφάλαιο ΙΙ της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ και εφόσον έδωσαν αρνητικά αποτελέσματα, στη δοκιμασία οροεξουδετέρωσης ή δοκιμασία ELISA που πραγματοποιήθηκε σε εγκεκριμένο κέντρο συλλογής σπέρματος προ του εμβολιασμού (1)

(1) Η περιττή ένδειξη διαγράφεται.

είτε

— βρέθηκαν θετικά στη δοκιμασία οροεξουδετέρωσης ή στη δοκιμασία ELISA για λοιμώδη ρινοτραχειίτιδα/λοιμώδη φλυκταινώδη αιδοιοκολπίτιδα, δεν εμβολιάστηκαν σύμφωνα με το παράρτημα Β κεφάλαιο ΙΙ της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ και τουλάχιστον 10 % κάθε έγχυσης σπέρματος προς εξαγωγή με τουλάχιστον πέντε ατομικά δοχεία (τριχοειδείς σωλήνες) έχει υποβληθεί προ της εξαγωγής σε δοκιμασία ζωικού ενοφθαλμισμού ή σε δοκιμασία απομόνωσης ιού με αρνητικό αποτέλεσμα (1),

iii) υποβλήθηκε σε επεξεργασία, αποθηκεύτηκε και μεταφέρθηκε υπό συνθήκες που πληρούν τους κανόνες της οδηγίας 88/407/ΕΟΚ,

iv) ελήφθη από ταύρους δότες που υποβλήθηκαν δύο φορές, με διάστημα μεταξύ τους το ανώτερο δώδεκα μηνών, στις ακόλουθες δοκιμές, πριν και μετά από τη συλλογή με αρνητικά αποτελέσματα και σε εγκεκριμένο εργαστήριο (η μετά τη συλλογή δοκιμή πρέπει να γίνει σε δείγμα αίματος το οποίο ελήφθη τουλάχιστον 21 ημέρες μετά από τη συλλογή του προς εξαγωγή σπέρματος):

— παρεμποδιστική δοκιμή ELISA για τη νόσο της bluetongue, σύμφωνα με το παράρτημα Ε,

— δοκιμή ανοσοδιάχυσης σε αγάρ αγάρ σύμφωνα με το παράρτημα Ε και δοκιμή εξουδετέρωσης του ιού για όλους του ορότυπους της επιζωοτικής αιμορραγικής νόσου (EHD) που είναι γνωστό ότι υπάρχει στη χώρα εξαγωγής,

— δοκιμασία οροεξουδετέρωσης για ιό Akabane.

....

(τόπος) (ημερομηνία)

(Σφραγίδα) (2)

Υπογραφή (2): .....

Όνομα με κεφαλαία: .....

Επίσημη ιδιότητα: .....

(1) Η περιττή ένδειξη διαγράφεται.
(2) Η υπογραφή και η σφραγίδα πρέπει να είναι χρώματος διαφορετικού από αυτό της εκτύπωσης.

ΜΕΡΟΣ 2

Κατάλογος των χωρών οι οποίες επιτρέπεται να χρησιμοποιούν το υπόδειγμα του κτηνιατρικού πιστοποιητικού του μέρους 1 του παραρτήματος Δ

ΑΥΣΤΡΑΛΙΑ

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ε

Πρωτόκολλο της παρεμποδιστικής ή ανταγωνιστικής ενζυματικής ανοσοαπορροφητικής μεθόδου δοκιμής Elisa χρησιμοποιώντας ένα κατά ομάδα ειδικό μονοκλωνικό αντίσωμα για την ανίχνευση αντισωμάτων του ιού της νόσου bluetongue

Η ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ELISA ΓΙΑ ΤΗ ΝΟΣΟ ΤΗΣ BLUETONGUE ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΟΥ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΟΣ 3-17-A3

Η μέθοδος είναι ικανή να ανιχνεύσει αντισώματα όλων των γνωστών οροτύπων του ιού της νόσου της bluetongue (BTV).

Η αρχή της μεθόδου είναι η διακοπή της αντίδρασης μεταξύ του αντιγόνου τους BTV και ενός κατά ομάδα ειδικού μονοκλωνικού αντισώματος (3-17-A3) με την προσθήκη αραιωμένων διαλυμάτων δοκιμαστικού ορού. Τα αντισώματα του BTV που υπάρχουν στο δοκιμαστικό ορό παρεμποδίζουν την ικανότητα αντίδρασης του μονοκλωνικού αντισώματος (Mad) και προκαλούν μια μείωση στην αναμενόμενη ανάπτυξη χρώματος κατά την προσθήκη του ενζυματικού υποστρώματος.

ΜΕΣΑ ΚΑΙ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

1. Τρυβλία μικροτιτλοδότησης επίπεδου πυθμένα.
2. Αντιγόνο: παρασκευασμένο όπως περιγράφεται κατωτέρω.
3. Παρεμποδιστικό ρυθμιστικό διάλυμα: 5 % (β/ο) αποξηραμένη σκόνη γάλακτος «Marvel», 0,1 % (ο/ο) Tween-20 (υπό μορφή σιροπίου του πολυοξυαιθυλενοσορβιτόνιου του μονολαυρικού οξέος) σε PBS.
4. Μονοκλωνικό αντίσωμα: 3-17-A3 (υπό μορφή υπερκειμένου ιστοκαλλιέργειας υβριδώματος) διατηρημένο στους -20°C ή λυοφιλιμένο, αραιωμένο κατά 1/50 με παρεμποδιστικό ρυθμιστικό διάλυμα πριν από τη χρήση, κατά της ομάδας ειδικού πολυπεπτιδίου p7.
5. Συζευκτικό: αντιγλοβουλίνη ποντικού από κόνικλο (απορροφηθείσα και εκχυλισθείσα) συνεζευγμένη με υπεροξειδάση αγριοραπανιού και διατηρούμενη στο σκοτάδι στους 4° C.
6. Υπόστρωμα και χρωμογόνο: 0,2 gm ορθοφαινυλενοδιαμίνης (OPD) διαλυμένα σε ρυθμιστικό διάλυμα συνιστώμενο από 2,553 gm κιτρικού οξέος και 4,574 gm δι-υδροορθοφωσφορικού νατρίου συμπληρωμένου ως τα 500 ml με απεσταγμένο νερό, διαιρεμένου σε δόσεις των 25 ml και διατηρούμενο στο σκοτάδι στους -20° C, με 12μl/25ml υπεροξειδάσης του υδρογόνου (30 % β/ο) να προστίθενται αμέσως πριν από τη χρήση.

   ΝΑ ΧΕΙΡΙΖΕΣΘΕ ΠΡΟΣΕΚΤΙΚΑ ΤΟ OPD — ΝΑ ΦΟΡΟΥΝΤΑΙ ΓΑΝΤΙΑ — ΠΙΘΑΝΟΝ ΜΕΤΑΛΛΑΞΙΟΓΟΝΟ

7. Ένα γραμμομόριο θειικού οξέος: 26,6 ml οξέος προστίθενται σε 473,4 ml απεσταγμένου νερού.

   ΥΠΕΝΘΥΜΙΣΗ — ΠΑΝΤΑ ΠΡΟΣΘΗΚΗ ΟΞΕΟΣ ΣΕ ΝΕΡΟ, ΠΟΤΕ ΝΕΡΟΥ ΣΕ ΟΞΥ

8. Περιστροφικά παλινδρομούμενος αναδευτήρας.
9. Τρυβλίο ανάγνωσης για Elisa (η δοκιμή μπορεί να αναγνωριστεί οπτικά).

ΣΧΕΔΙΟ ΔΟΚΙΜΗΣ

	Θ	H	Z	E	Δ	Γ	B	A	
Μάρτυρας αναφοράς			Αντιγόνο + Συζευκτικό						1
Έλεγχος Mab			Αντιγόνο + Mab + Συζευκτικό						2
Θετικός έλεγχος (+ve)	Αντιγόνο + Θετικός ορός + Mab + Συζευκτικό								3
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	
	Δοκιμαστικός ορός								
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/2	1/4	1/8	1/16	4
									5
									6
Δοκιμαστικός ορός									7
									8
									9
									10
									11
									12

ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΔΟΚΙΜΗΣ

Μάρτυρας αναφοράς

Η σειρά 1 Α-Θ είναι ένας μάρτυρας αναφοράς (τυφλός έλεγχος) απτελούμενος από αντιγόνο BTV και συζευκτικό. Αυτός μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να ουδετεροποιήσει το τρυβλίο ανάγνωσης ELISA.

Έλεγχος Mab

Η σειρά 2 Α-Θ είναι ο έλεγχος του μονοκλωνικού αντισώματος και αποτελείται από αντιγόνο BTV, μονοκλωνικό αντίσωμα και συζευκτικό. Αυτός αντιπροσωπεύει ένα αρνητικό έλεγχο. Ο μέσος των αναγνωζόμενων τιμών οπτικής πυκνότητας από αυτήν τη σειρά ελέγχου αντιπροσωπεύει το 0 % επίπεδο παρεμπόδισης.

Θετικός έλεγχος

Η σειρά 3 Α-Θ είναι ο θετικός έλεγχος. Αυτός αποτελείται από αντιγόνο BTV, αραιωμένα διαλύματα θετικού αντιορού, Mab και συζευκτικό. Αυτός περιλαμβάνεται σαν ένας δείκτης ότι η δοκιμή λειτουργεί κανονικά και ότι παρόμοια επίπεδα παρεμπόδισης πρέπει να παραληφθούν από δοκιμή σε δοκιμή.

Δοκιμαστικός ορός

Στο ανωτέρω σχέδιο δοκιμής, 18 οροί μπορούν να εξεταστούν σε λόγους αραίωσης 1/4, 1/8 και 1/16. Αυτό θα δώσει κάποια ένδειξη του τίτλου του αντισώματος στο δοκιμαστικό ορό. Το εύρος αραίωσης μπορεί να επεκταθεί περαιτέρω για να αποκτηθούν τίτλοι αραίωσης ορού τελικού σημείου. Εναλλακτικά, για ορολογικές μελέτες μεγάλης κλίμακας, ο ορός θα μπορούσε να εξεταστεί σε μία μόνο αραίωση (1/2 και 1/4) σαν μία γρήγορη δοκιμή διαχωρισμού.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

1. Αραιώνεται αντιγόνο BTV σε προτιτλοδοτημένη συγκέντρωση σε PBS, υπερηχείται σύντομα για να διασπαρούν συσπειρωμένα σωματίδια ιού (εάν δεν υπάρχει υπερηχητής, γίνεται ζωηρός σιφωνισμός) και προστίθεται 50μl σε όλες τις κοιλότητες του τρυβλίου ELISA. Οι πλευρές του τρυβλίου κτυπούνται ελαφρά για να διασκορπιστεί το αντιγόνο.

2. Επώαση στους 37°C επί 60 λεπτά πάνω σε περιστροφικό αναδευτήρα. Τα τρυβλία πλένονται τρεις φορές υπερχειλίζοντας και αδειάζοντας τις κοιλότητες με μη αποστειρωμένο PBS και αποστύπτονται σε απορροφητικό χαρτί.

3. Προστίθενται 50 μl παρεμποδιστικού ρυθμιστικού διαλύματος ανά κοιλότητα. Προστίθεται δοκιμαστικός ορός και θετικός ορός στις κατάλληλες κοιλότητες και αραιώνεται κατά μήκος του τρυβλίου χρησιμοποιώντας ένα σιφώνιο πολλών διαύλων. Δεν προστίθεται ορός στο μάρτυρα αναφοράς ή τον έλεγχο Mab.

4. Αμέσως μετά την προσθήκη του δοκιμαστικού ορού, αραιώνεται το Mab σε παρεμποδιστικό ρυθμιστικό διάλυμα (σε προτιτλοδοτημένη αραίωση) και προστίθενται 50 μl σε όλες τις κοιλότητες του τρυβλίου εκτός από το μάρτυρα αναφοράς.

5. Επώαση στους 37°C επί 60 λεπτά πάνω σε περιστροφικό αναδευτήρα. Έκπλυση τρεις φορές με PBS και απόστυψη.

6. Αραίωση συμπυκνώματος αντιποντικού από κόνικλο σε 1/5000 σε ρυθμιστικό διάλυμα παρεμπόδισης και προσθήκη 50 μl σε όλες τις κοιλότητες του τρυβλίου.

7. Επώαση στους 37°C επί 60 λεπτά πάνω σε περιστροφικό αναδευτήρα. Έκπλυση τρεις φορές με PBS και απόστυψη.

8. Το OPD αποψύχεται και αμέσως πριν από τη χρήση προστίθενται 12 μl 30 % υπεροξειδίου του υδρογόνου σε κάθε 25 ml OPD. Προστίθενται 50 μl σε όλες τις κοιλότητες του τρυβλίου. Αφήνεται να αναπτυχθεί το χρώμα επί 10 περίπου λεπτά και η αντίδραση διακόπτεται με 1 M θειικού οξέος (50 μl ανά κοιλότητα). Το χρώμα πρέπει να αναπτυχθεί στις κοιλότητες ελέγχου Mab και σε αυτές τις κοιλότητες που περιέχουν ορό χωρίς κανένα αντίσωμα του BTV.

9. Εξετάζονται τα τρυβλία και μετρούνται τα αποτελέσματα είτε οπτικά είτε χρησιμοποιώντας φασματοφωτομετρικό αναγνωστήρα.

ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Υπολογίζεται ο μέσος των μετρήσεων OD (απορρόφησης) από τους ελέγχους Mab. Αυτός αντιπροσωπεύει το 0 % επίπεδο παρεμπόδισης. Οι μετρήσεις οπτικής πυκνότητας του δοκιμαστικού ορού εκφράζονται σαν ποσοστό τιμής παρεμπόδισης χρησιμοποιώντας την ακόλουθη εξίσωση:

$$\text{Ποσοστό τιμής παρεμπόδισης} = 100 - \frac{\text{DO με παρουσία δοκιμαστικού ορού}}{\text{DO με απουσία δοκιμαστικού ορού}} \times 100$$

Τιμές παρεμπόδισης μεγαλύτερες από 40 % σε μία αραίωση ορού κατά 1/4 θεωρούνται θετικές. Η οπτική ανάγνωση είναι δυνατή καθώς παρεμπόδιση 40 % είναι η χαμηλότερη τιμή εύκολα διακρινόμενη με γυμνό μάτι.

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ ΓΙΑ ΔΟΚΙΜΗ ELISA BTV

1. Εκπλύονται 10 σειρές συνενωμένων κυττάρων BHK-21 τρεις φορές με μέσο Eagle ελεύθερο ορού και μολύνονται με ορότυπο 1 του ιού της γαγγραινώδους κόρυζας με μέσο Eagle ορού.
2. Επωάζονται στους 37°C και εξετάζονται καθημερινά για κυτοπαθολογικό σύμπτωμα (ΚΠΣ).
3. Όταν το ΚΠΣ έχει φανεί στο 80 — 90 % της κυτταρικής στρώσης κάθε σειράς, ο ιός συλλέγεται με δόνηση κάθε ακινητοποιημένου κυττάρου από γυαλί.
4. Φυγοκέντρηση στις 2 000-3 000 rpm προς ιζηματοποίηση των κυττάρων.
5. Το υπερκείμενο απορρίπτεται και τα κύτταρα επαναιωρούνται σε περίπου 30 ml PBS που περιέχει 1 % «Sarkosyl» και 2 ml φαινυλομεθυλοσουλφονυλοφθορίδιο (ρυθμιστικό διάλυμα λύσης). Αυτό μπορεί να κάνει τα κύτταρα να σχηματίσουν ένα πήγμα και περισσότερο ρυθμιστικό διάλυμα λύσης μπορεί να προστεθεί για να μειώσει το φαινόμενο αυτό.

   Προσοχή: το φαινυλομεθυλοσουλφονυλοφθορίδιο είναι επικίνδυνο. Να χρησιμοποιείται με εξαιρετική προσοχή.
6. Τα κύτταρα αποκόπτονται επί 60 δευτερόλεπτα χρησιμοποιώντας στέλεχος υπερηχητή με πλάτος 30 μικρών.
7. Φυγοκέντρηση στις 10 000 rpm επί 10 λεπτά.
8. Το υπερκείμενο αποθηκεύεται στους +4°C και το εναπομείναν κυτταρικό ίζημα επαναιωρείται σε 10-20 ml ρυθμιστικού διαλύματος λύσης.
9. Υπερήχηση και διαύγαση, διατηρώντας το υπερκείμενο σε κάθε στάδιο, τρεις φορές συνολικά.
10. Τα υπερκείμενα συγκεντρώνονται και φυγοκεντρούνται στις 24 000 rpm επί 120 λεπτά στους +4°C πάνω από ένα στρώμα 5 ml 40 % σουκρόζης (β/ο σε PBS) χρησιμοποιώντας σωλήνες φυγόκεντρου Beckmann των 30 ml και κινητήρα SW 38.
11. Το υπερκείμενο απορρίπτεται, οι σωλήνες στεγνώνονται εντελώς και το ίζημα επαναιωρείται σε PBS με υπερήχηση. Το αντιγόνο διατηρείται σε επιμέρους δόσεις στους −70°C.

ΤΙΤΛΟΔΟΤΗΣΗ ΤΟΥ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ BTV ΓΙΑ ELISA

Αντιγόνο ιού γαγγραινώδους κόρυζας για ELISA τιτλοδοτείται με την έμμεση ELISA. Διπλασιαζόμενες αραιώσεις τους αντιγόνου τιτλοδοτούνται εναντίον μιας σταθερής αραίωσης (1/50) του μονοκλωνικού αντισώματος 3-17-A3. Το πρωτόκολλο έχει ως εξής:

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

1. Αραιώνεται αντιγόνο BTV σε PBS κατά μήκος του τρυβλίου μικροτιτλοδότησης σε σειρά διπλασιαζόμενης αραίωσης (50μl/κοιλότητα) χρησιμοποιώντας σιφώνιο πολλών διαύλων.
2. Επώαση επί μία ώρα στους 37°C πάνω σε περιοστροφικό αναδευτήρα.
3. Τα τρυβλία εκπλύονται τρεις φορές με PBS.
4. Προστίθενται 50 μl μονοκλωνικού αντισώματος 3-17-A3 (αραιωμένου κατά 1/50) σε κάθε κοιλότητα του τρυβλίου μικροτιτλοδότησης.
5. Επώαση επί μία ώρα στους 37°C πάνω σε περιστροφικό αναδευτήρα.
6. Τα τρυβλία εκπλύονται τρεις φορές με PBS.
7. Προστίθενται 50 μl αντιγλοβουλίνης ποντικού από κόνικλο συνεζευγμένη με υπεροξειδάση αγριοραπανιού, αραιωμένη σε μία προτιτλοδοτημένη βέλτιστη συγκέντρωση, σε κάθε κοιλότητα του τρυβλίου μικροτιτλοδότησης.
8. Επώαση επί μία ώρα στους 37°C πάνω σε περιστροφικό αναδευτήρα.
9. Προστίθεται χρωμογόνο και υπόστρωμα όπως περιγράφηκε προηγούμενα. Η αντίδραση διακόπτεται μετά από 10 λεπτά με τη προσθήκη 1 γραμμομόριου θειικού οξέος (50 μl/κοιλότητα).

Κατά την ανταγωνιστική μέθοδο, το μονοκλωνικό αντίσωμα πρέπει να πλεονάζει, για αυτό επιλέγεται μία αραίωση του αντιγόνου που βρίσκεται πάνω σε καμπύλη τιτλοδότησης (όχι στη περιοχή οριζοντιοποίησης) που δίνει περίπου 0.80 OD μετά από 10 λεπτά.

Πρωτόκολλο της δοκιμής ανασοδιάχυσης σε αγάρ αγάρ για την ανίχνευση αντισωμάτων της επιζωοτικής αιμορραγικής νόσου

Η δοκιμή ανασοδιάχυσης σε αγάρ αγάρ διεξάγεται σύμφωνα με το ακόλουθο πρωτόκολλο:

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

1. Αντιγόνο

Το καθιζάνον αντιγόνο παρασκευάζεται σε οποιοδήποτε σύστημα κυτταροκαλλιέργειας που ευνοεί την ταχεία ανάπτυξη του(των) κατάλληλου(ων) οροτύπου(ων) του ιού της επιζωοτικής αιμορραγικής νόσου. Συνιστάται η χρήση κυττάρων BHK ή Vero. Το αντιγόνο υπάρχει στο υπερπλέον υγρό μετά το πέρας της ανάπτυξης του ιού, αλλά απαιτείται σπειροειδής συγκέντρωση 50-100 για να υπάρξει αποτέλεσμα. Αυτό είναι δυνατόν να επιτευχθεί με οποιαδήποτε διαδικασία σταθερής πρωτεϊνικής συγκέντρωσης· ο ιός που εμπεριέχεται στο αντιγόνο μπορεί να αδρανοποιηθεί με την προσθήκη 0,3 % β-προπιολακτόνης.

2. Γνωστός θετικός όρος ελέγχου

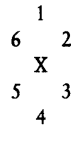
Χρησιμοποιώντας διεθνή ορό αναφοράς και αντιγόνο παράγεται εθνικός ορός πρότυπο, ο οποίος τυποποιείται ως η πλέον κατάλληλη αναλογία σε σύγκριση με το διεθνή ορό αναφορά, αφού υποβληθεί σε ξηρά ψύξη και χρησιμοποιείται ως γνωστός ορός ελέγχου σε κάθε δοκιμή.

3. Υπό δοκιμή ορός

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

1. Παρασκευάζεται διάλυμα 1 % αγαρόζης σε ρυθμιστικό διάλυμα βορικού άλατος ή άλατος βαρβιτόλης, με pH 8,5 έως 9 και στη συνέχεια εγχύεται σε τρυβλίο petri με ελάχιστο βάθος 3,0 mm.

2. Χαράσσεται στο αγάρ αγάρ για την εκτέλεση της δοκιμής, σχέδιο επτά κοιλοτήτων απαλλαγμένων υγρασίας, εκάστη των οποίων έχει διάμετρο 5,0 mm. Το σχέδιο αποτελείται από μία κεντρική κοιλότητα και έξι κοιλότητες περιφερειακά τοποθετημένες γύρω από την κεντρική σε κύκλο ακτίνας 3 mm.



3. Γεμίζουμε την κεντρική κοιλότητα με το αντιγόνο πρότυπο. Τις περιφερειακές κοιλότητες 2, 4 και 6 τις γεμίζουμε με το γνωστό θετικό ορό, τις κοιλότητες 1, 3 και 5 τις γεμίζουμε με τον υπό δοκιμή ορό.

4. Το σύστημα υποβάλλεται σε επώαση για χρονικό διάστημα 72 ωρών, σε θερμοκρασία δωματίου, σε κλειστό υγρό θάλαμο.

ΕΡΜΗΝΕΙΑ

Ένας ορός υπό δοκιμή είναι θετικός όταν σχηματίζει μια ειδική γραμμή ιζήματος με το αντιγόνο και όταν σχηματίζει πλήρη γραμμή ταυτοποίησης με τον ορό ελέγχου. Ένας ορός υπό δοκιμή είναι αρνητικός όταν δεν σχηματίζει την ειδική γραμμή ιζήματος με το αντιγόνο και όταν δεν κάμπτει τη γραμμή του ορού ελέγχου. Τα τρυβλία petri πρέπει να εξετάζονται πάνω σε σκοτεινό φόντο και να χρησιμοποιείται έμμεσος φωτισμός.