II

(Actos cuya publicación no es una condición para su aplicabilidad)

COMISIÓN

DECISIÓN DE LA COMISIÓN

de 15 de julio de 1994

relativa a las condiciones sanitarias y a la certificación veterinaria para la importación de esperma de animales de la especie bovina procedente de terceros países

(94/577/CE)

LA COMISIÓN DE LAS COMUNIDADES EUROPEAS,

Visto el Tratado constitutivo de la Comunidad Europea,

Vista la Directiva 88/407/CEE del Consejo, de 14 de junio de 1988, por la que se fijan las exigencias de policía sanitaria aplicables a los intercambios intracomunitarios y a las importaciones de esperma de animales de la especie bovina [1], cuya última modificación la constituye la Directiva 93/60/CEE [2], y, en particular, sus artículos 10 y 11,

Considerando que la Decisión 90/14/CEE de la Comisión [3], cuya última modificación la constituye la Decisión 91/276/CEE [4], establece la lista de terceros países de los que los Estados miembros autorizan la importación de esperma de animales de la especie bovina, en adelante, lista de terceros países;

Considerando que, dada la situación sanitaria de Israel, se han tenido que prohibir, por la Decisión 91/277/CEE de la Comisión [5] las importaciones procedentes de este país;

Considerando que las Decisiones 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] y 92/445/CEE [16] de la Comisión establecen las condiciones sanitarias y la certificación veterinaria para la importación de esperma de animales de la especie bovina procedente de los Estados Unidos de América, Canadá, Polonia, Finlandia, Nueva Zelanda, Austria, Suiza, Suecia, Hungría, Noruega y Checoslovaquia, respectivamente;

Considerando que la Directiva 93/60/CEE del Consejo, que tiene que aplicarse en los Estados miembros antes del 1 de julio de 1994, modifica la Directiva 88/407/CEE, por lo que es necesario modificar las Decisiones relativas a los terceros países arriba mencionados; que, para simplificar y precisar la normativa comunitaria aplicable en este sector, es necesario agrupar las Decisiones antes mencionadas y derogar las que se refieran a los países individualmente;

Considerando que, dadas las disposiciones del Acuerdo sobre el Espacio Económico Europeo, no es necesario mantener los certificados veterinarios para las importaciones de esperma de ganado bovino procedente de Austria, Finlandia, Noruega y Suecia;

Considerando que, de conformidad con el dictamen del Comité científico veterinario, es necesario introducir una prueba suplementaria para la detección de la enfermedad enzoótica hemorrágica;

Considerando que únicamente en el caso de Canadá se efectuán antes de la recolección del esperma pruebas de rutina para la detección de esa enfermedad a intervalos de

(1) DO nº L 194 de 22. 7. 1988, p. 10.
(2) DO nº L 186 de 28. 7. 1993, p. 28.
(3) DO nº L 8 de 11. 1. 1990, p. 71.
(4) DO nº L 135 de 30. 5. 1991, p. 58.
(5) DO nº L 135 de 30. 5. 1991, p. 60.
(6) DO nº L 258 de 16. 9. 1991, p. 1.
(7) DO nº L 298 de 29. 10. 1991, p. 6.
(8) DO nº L 48 de 22. 2. 1992, p. 1.
(9) DO nº L 48 de 22. 2. 1992, p. 10.
(10) DO nº L 48 de 22. 2. 1992, p. 19.
(11) DO nº L 48 de 22. 2. 1992, p. 28.
(12) DO nº L 48 de 22. 2. 1992, p. 37.
(13) DO nº L 48 de 22. 2. 1992, p. 46.
(14) DO nº L 204 de 21. 7. 1992, p. 13.
(15) DO nº L 204 de 21. 7. 1992, p. 22.
(16) DO nº L 247 de 27. 8. 1992, p. 1.

seis meses; que, por consiguiente, es necesario establecer un período transitorio para la aplicación de la presente Decisión con respecto a Canadá a fin de que las autoridades zoosanitarias canadienses dispongan de tiempo suficiente para introducir la nueva prueba en su programa de rutina;

Considerando, además, que a raíz de los avances que se han producido recientemente en el conocimiento de la epidemiología de la fiebre catarral, en la actualidad puede permitirse la importación de esperma de animales de la especie bovina procedente de Australia;

Considerando que la situación zoosanitaria en los terceros países que figuran en la lista de terceros países es buena y es controlada por servicios veterinarios organizados y bien estructurados en lo que respecta a las enfermedades transmisibles por el esperma;

Considerando que las autoridades zoosanitarias competentes de los terceros países que figuran en la lista de terceros países se han comprometido a confirmar a la Comisión y a los Estados miembros por télex o telefax y en el plazo de 24 horas, la aparición de cualesquiera de las enfermedades que figuran en la lista A de la Oficina Internacional de Epizootias (OIE), así como de cualquier modificación que se produzca en la política de vacunaciones en relación con alguna de ellas o, en un plazo de tiempo adecuado, de la aparición de alguna de las enfermedades que figuran en la lista B de la OIE, así como cualquier propuesta de modificación de las normas de importación aplicables a los animales domésticos o al esperma y los embriones de éstos;

Considerando que las autoridades zoosanitarias competentes de los terceros países que figuran en la lista de terceros países se han comprometido a supervisar oficialmente la expedición de certificados en aplicación de la presente Decisión, y a garantizar que todos los certificados, excepciones y resultados de laboratorio en los que se hayan podido basar estos certificados se conserven en un archivo oficial durante 12 meses, como mínimo, después del envío del esperma al que se refieran;

Considerando que las autoridades zoosanitarias competentes de los terceros países que figuran en la lista de terceros países se han comprometido a autorizar oficialmente centros de recolección de esperma para la exportación de esperma bovino a la Comunidad, de conformidad con el artículo 9 de la Directiva 88/407/CEE;

Considerando que las condiciones sanitarias y la certificación veterinaria deben adaptarse a la situación zoosanitaria del tercer país de que se trate;

Considerando que las medidas previstas en la presente Decisión se ajustan al dictamen del Comité veterinario permanente,

HA ADOPTADO LA PRESENTE DECISIÓN:

Artículo 1

Los Estados miembros autorizarán la importación de esperma de animales de la especie bovina que cumpla las condiciones indicadas en los certificados contenidos en la primera parte de los Anexos A, B, C y D y que procedan únicamente de los terceros países que figuran en la segunda parte de dichos Anexos.

No obstante, los Estados miembros autorizarán, hasta el 31 de diciembre de 1994, las importaciones procedentes de Canadá de esperma de animales de la especie bovina recolectado y transformado de conformidad con la Decisión 91/549/CEE.

Artículo 2

Quedan derogadas la Decisiones 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 y 92/445/CEE.

Queda derogada, con efectos a partir del 1 de enero de 1995, la Decisión 91/549/CEE.

Artículo 3

Las disposiciones del párrafo primero del artículo 1 serán aplicables con respecto a Canadá a partir del 1 de enero de 1995.

Artículo 4

Los destinatarios de la presente Decisión serán los Estados miembros.

Hecho en Bruselas, el 15 de julio de 1994.

Por la Comisión

René STEICHEN

Miembro de la Comisión

ANEXO A

PRIMERA PARTE

CERTIFICADO ZOOSANITARIO

para la importación de esperma de animales de la especie bovina

<table>
<tr><td colspan="2">1. Remitente (nombre y dirección completa)</td><td>Número de certificado:
2. Tercer país de recogida</td></tr>
<tr><td colspan="2">3. Destinatario (nombre y dirección completa)</td><td>4. Autoridad competente</td></tr>
<tr><td colspan="2"></td><td>5. Autoridad local competente</td></tr>
<tr><td colspan="2">6. Lugar de carga</td><td>7. Nombre y dirección del centro de recogida de esperma</td></tr>
<tr><td colspan="2">8. Medio de transporte</td><td rowspan="3">10. Número de autorización del centro de recogida de esperma</td></tr>
<tr><td colspan="2">9. Lugar y Estado miembro de destino</td></tr>
<tr><td colspan="2">11. Número de precinto de los contenedores de esperma</td></tr>
<tr><td colspan="3">12. Identificación del esperma
Fresco o congelado (*)

(*) Táchese lo que no proceda</td></tr>
<tr><td>a) Número de dosis</td><td rowspan="2">b) Fecha(s) de recogida</td><td rowspan="2">c) Raza</td></tr>
<tr><td>d) Identificación del animal donante</td></tr>
</table>

13. El veterinario oficial abajo firmante conoce las disposiciones de la Directiva 88/407/CEE del Consejo modificada y certifica que:

a) ..... ha estado libre de peste bovina
(nombre del país exportador)

y fiebre aftosa durante los doce meses inmediatamente anteriores a la recolección del esperma destinado a la exportación y hasta la fecha del envío de éste y que no se ha llevado a cabo ninguna vacunación contra estas enfermedades durante ese mismo período;

b) el centro de recolección de esperma en el que se recogió el esperma destinado a la exportación:

i) ha sido autorizado con arreglo a las condiciones establecidas en el capítulo I del Anexo A de la Directiva 88/407/CEE;

ii) ha sido administrado y supervisado con arreglo a las condiciones establecidas en el capítulo II del Anexo A de la Directiva 88/407/CEE;

iii) ha estado libre de rabia, tuberculosis, brucelosis, ántrax y perineumonía contagiosa bovina desde 30 días antes de la fecha de recolección del esperma hasta 30 días después de haberse efectuado ésta (en el caso de esperma fresco, hasta el día del envío);

c) los animales de la especie bovina presentes en el centro de recolección de esperma:

i) proceden de rebaños o han nacido de hembras que cumplen las condiciones establecidas en el capítulo I del Anexo B de la Directiva 88/407/CEE;

ii) han sido sometidos, antes de su aislamiento, a las pruebas exigidas en el capítulo I del Anexo B de la Directiva 88/407/CEE;

iii) han cumplido, antes del período de aislamiento, los requisitos que se establecen en el capítulo I del Anexo B de la Directiva 88/407/CEE y han sido sometidos a las pruebas que se indican en él;

iv) en caso de haber permanecido en dicho centro durante al menos un año, han sido sometidos a las pruebas de rutina con arreglo a lo dispuesto en el capítulo II del Anexo B de la Directiva 88/407/CEE;

d) el esperma destinado a la exportación:

i) procede de donantes que han permanecido en

.....
(nombre del país exportador)

durante los seis meses inmediatamente anteriores a la recogida del esperma destinado a la exportación y cumplen las condiciones establecidas en el Anexo C de la Directiva 88/407/CEE;

ii) procede de donantes que:

— han permanecido en un centro de recolección de esperma en el que, en los 12 meses anteriores a la recogida del esperma destinado a la exportación, todos los animales de la especie bovina han sido sometidos, con resultados negativos, a una prueba de seroneutralización o una prueba ELISA para la detección de la rinotraqueítis infecciosa bovina y la vulvovaginitis pustulosa infecciosa (1),

o

— han sido sometidos, con resultados negativos, a una prueba de seroneutralización o a una prueba ELISA para la detección de la rinotraqueítis infecciosa bovina y la vulvovaginitis pustulosa infecciosa efectuada en los 12 meses anteriores a la recogida del esperma destinado a la exportación (1),

o

— son seropositivos tras haber sido vacunados de conformidad con lo dispuesto en el capítulo II del Anexo B de la Directiva 88/407/CEE y haber sido sometidos, con resultados negativos, a una prueba de seroneutralización o a una prueba ELISA efectuada en el centro de recolección de esperma autorizado antes de la vacunación (1),

(1) Táchese lo que no proceda.

o

— han sido sometidos, con resultados positivos, a una prueba de seroneutralización o una prueba ELISA para la detección de la rinotraqueítis infecciosa bovina y la vulvovaginitis pustulosa infecciosa, no han sido vacunados de conformidad con el capítulo II del Anexo B de la Directiva 88/407/CEE y al menos el 10 % de cada eyaculado de esperma destinado a la exportación (un mínimo de 5 pajuelas) ha sido sometido antes de la exportación, con resultados negativos, a una prueba de inoculación en animales o a una prueba de aislamiento del virus (1);

iii) ha sido transformado, almacenado y transportado en condiciones que se ajustan a lo dispuesto en la Directiva 88/407/CEE.

En ....., a .....
(lugar) (fecha)

(Sello) (2)

Firma (2): .....

Nombre y apellidos en letras mayúsculas: .....

Cargo oficial: .....

(1) Táchese lo que no proceda.
(2) La firma y el sello deberán estamparse en un color que no sea el del texto impreso.

SEGUNDA PARTE

Lista de países autorizados para utilizar el modelo de certificado zoosanitario de la primera parte del Anexo A

REPÚBLICA CHECA

HUNGRÍA

NUEVA ZELANDA

POLONIA

RUMANÍA

SUIZA

REPÚBLICA ESLOVACA

ANEXO B

PRIMERA PARTE

CERTIFICADO ZOOSANITARIO

para la importación de los Estados Unidos de América de esperma de animales de la especie bovina

<table>
<tr><td colspan="2">1. Remitente (nombre y dirección completa)</td><td>Número de certificado:</td></tr>
<tr><td colspan="2"></td><td>2. Tercer país de recogida</td></tr>
<tr><td colspan="2">3. Destinatario (nombre y dirección completa)</td><td>4. Autoridad competente</td></tr>
<tr><td colspan="2"></td><td>5. Autoridad local competente</td></tr>
<tr><td colspan="2">6. Lugar de carga</td><td>7. Nombre y dirección del centro de recogida de esperma</td></tr>
<tr><td colspan="2">8. Medio de transporte</td><td rowspan="3">10. Número de autorización del centro de recogida de esperma</td></tr>
<tr><td colspan="2">9. Lugar y Estado miembro de destino</td></tr>
<tr><td colspan="2">11. Número de precinto de los contenedores de esperma</td></tr>
<tr><td colspan="3">12. Identificación del esperma
Fresco o congelado (*)
(*) Táchese lo que no proceda</td></tr>
<tr><td>a) Número de dosis</td><td rowspan="2">b) Fecha(s) de recogida</td><td rowspan="2">c) Raza</td></tr>
<tr><td>d) Identificación del animal donante</td></tr>
</table>

13. El veterinario oficial abajo firmante conoce las disposiciones de la Directiva 88/407/CEE modificada y certifica que :

a) ..... ha estado libre de peste bovina
(nombre del país exportador)

y fiebre aftosa durante los doce meses inmediatamente anteriores a la recolección del esperma destinado a la exportación y hasta la fecha del envío de éste y que no se ha llevado a cabo ninguna vacunación contra estas enfermedades durante ese mismo período ;

b) el centro de recolección de esperma en el que se recogió el esperma destinado a la exportación :

i) ha sido autorizado con arreglo a las condiciones establecidas en el capítulo I del Anexo A de la Directiva 88/407/CEE ;

ii) ha sido administrado y supervisado con arreglo a las condiciones establecidas en el capítulo II del Anexo A de la Directiva 88/407/CEE ;

iii) ha estado libre de rabia, tuberculosis, brucelosis, ántrax y perineumonía contagiosa bovina desde 30 días antes de la fecha de recolección del esperma hasta 30 días después de haberse efectuado ésta (en el caso de esperma fresco, hasta el día del envío) ;

c) los animales de la especie bovina presentes en el centro de recolección de esperma :

i) proceden de rebaños o han nacido de hembras que cumplen las condiciones establecidas en el capítulo I del Anexo B de la Directiva 88/407/CEE ;

ii) han sido sometidos, antes de su aislamiento, a las pruebas exigidas en el capítulo I del Anexo B de la Directiva 88/407/CEE ;

iii) han cumplido, antes del período de aislamiento, los requisitos que se establecen en el capítulo I del Anexo B de la Directiva 88/407/CEE y han sido sometidos a las pruebas que se indican en él ;

iv) en caso de haber permanecido en dicho centro durante al menos un año, han sido sometidos a las pruebas de rutina con arreglo a lo dispuesto en el capítulo II del Anexo B de la Directiva 88/407/CEE ;

d) el esperma destinado a la exportación :

i) procede de donantes que han permanecido en

.....
(nombre del país exportador)

durante los seis meses inmediatamente anteriores a la recogida del esperma destinado a la exportación y cumplen las condiciones establecidas en el Anexo C de la Directiva 88/407/CEE ;

ii) procede de donantes que :

— han permanecido en un centro de recolección de esperma en el que, en los 12 meses anteriores a la recogida del esperma destinado a la exportación, todos los animales de la especie bovina han sido sometidos, con resultados negativos, a una prueba de seroneutralización o una prueba ELISA para la detección de la rinotraqueítis infecciosa bovina y la vulvovaginitis pustulosa infecciosa (1),

o

— han sido sometidos, con resultados negativos, a una prueba de seroneutralización o a una prueba ELISA para la detección de la rinotraqueítis infecciosa bovina y la vulvovaginitis pustulosa infecciosa efectuada en los doce meses anteriores a la recogida del esperma destinado a la exportación (1),

o

— son seropositivos tras haber sido vacunados de conformidad con lo dispuesto en el capítulo II del Anexo B de la Directiva 88/407/CEE y haber sido sometidos, con resultados negativos, a una prueba de seroneutralización o a una prueba ELISA efectuada en el centro de recolección de esperma autorizado antes de la vacunación (1),

(1) Táchese lo que no proceda.

o

— han sido sometidos, con resultados positivos, a una prueba de seroneutralización o una prueba ELISA para la detección de la rinotraqueítis infecciosa bovina y la vulvovaginitis pustulosa infecciosa, no han sido vacunados de conformidad con el capítulo II del Anexo B de la Directiva 88/407/CEE y al menos el 10 % de cada eyaculado de esperma destinado a la exportación (un mínimo de 5 pajuelas) ha sido sometido antes de la exportación, con resultados negativos, a una prueba de inoculación en animales o a una prueba de aislamiento del virus (1);

iii) ha sido transformado, almacenado y transportado en condiciones que se ajustan a lo dispuesto en la Directiva 88/407/CEE;

iv) procede de donantes machos que han sido sometidos con resultados negativos, en dos ocasiones y con un intervalo máximo de 12 meses, a las pruebas siguientes realizadas en un laboratorio autorizado antes y después de la recolección del esperma (la prueba que se realice después de la recolección debe llevarse a cabo con una muestra de sangre que haya sido tomada como mínimo 21 días después de recolectado el esperma destinado a la exportación):

— prueba de bloqueo ELISA para la detección de la fiebre catarral realizada de acuerdo con el Anexo E;

— prueba de inmunodifusión en agar realizada con arreglo al Anexo E y prueba de neutralización del virus para la detección de todos los serotipos de la enfermedad enzoótica hemorrágica que existen en el país exportador.

En ....., a .....
(lugar) (fecha)

(Sello) (2)

Firma (2): .....

Nombre y apellidos en letras mayúsculas: .....

Cargo oficial: .....

(1) Táchese lo que no proceda.
(2) La firma y el sello deberán estamparse en un color que no sea el del texto impreso.

SEGUNDA PARTE

Lista de países autorizados para utilizar el modelo de certificado zoosanitario de la primera parte del Anexo B

ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA

ANEXO C

PRIMERA PARTE

CERTIFICADO ZOOSANITARIO

para la importación de esperma de animales de la especie bovina

<table>
<tr><td colspan="2">1. Remitente (nombre y dirección completa)</td><td>Número de certificado:
2. Tercer país de recogida</td></tr>
<tr><td colspan="2">3. Destinatario (nombre y dirección completa)</td><td>4. Autoridad competente</td></tr>
<tr><td colspan="2"></td><td>5. Autoridad local competente</td></tr>
<tr><td colspan="2">6. Lugar de carga</td><td>7. Nombre y dirección del centro de recogida de esperma</td></tr>
<tr><td colspan="2">8. Medio de transporte</td><td rowspan="3">10. Número de autorización del centro de recogida de esperma</td></tr>
<tr><td colspan="2">9. Lugar y Estado miembro de destino</td></tr>
<tr><td colspan="2">11. Número de precinto de los contenedores de esperma</td></tr>
<tr><td colspan="3">12. Identificación del esperma
Fresco o congelado (*)

(*) Táchese lo que no proceda</td></tr>
<tr><td>a) Número de dosis</td><td rowspan="2">b) Fecha(s) de recogida</td><td rowspan="2">c) Raza</td></tr>
<tr><td>d) Identificación del animal donante</td></tr>
</table>

13. El veterinario oficial abajo firmante conoce las disposiciones de la Directiva 88/407/CEE modificada y certifica que :

a) ..... ha estado libre de peste bovina

(nombre del país exportador)

y fiebre aftosa durante los doce meses inmediatamente anteriores a la recolección del esperma destinado a la exportación y hasta la fecha del envío de éste y que no se ha llevado a cabo ninguna vacunación contra estas enfermedades durante ese mismo período ;

b) el centro de recolección de esperma en el que se recogió el esperma destinado a la exportación :

i) ha sido autorizado con arreglo a las condiciones establecidas en el capítulo I del Anexo A de la Directiva 88/407/CEE ;

ii) ha sido administrado y supervisado con arreglo a las condiciones establecidas en el capítulo II del Anexo A de la Directiva 88/407/CEE ;

iii) ha estado libre de rabia, tuberculosis, brucelosis, ántrax y perineumonía contagiosa bovina desde 30 días antes de la fecha de recolección del esperma hasta 30 días después de haberse efectuado ésta (en el caso de esperma fresco, hasta el día del envío) ;

c) los animales de la especie bovina presentes en el centro de recolección de esperma :

i) proceden de rebaños o han nacido de hembras que cumplen las condiciones establecidas en el capítulo I del Anexo B de la Directiva 88/407/CEE ;

ii) han sido sometidos, antes de su aislamiento, a las pruebas exigidas en el capítulo I del Anexo B de la Directiva 88/407/CEE ;

iii) han cumplido, antes del período de aislamiento, los requisitos que se establecen en el capítulo I del Anexo B de la Directiva 88/407/CEE y han sido sometidos a las pruebas que se indican en él ;

iv) en caso de haber permanecido en dicho centro durante al menos un año, han sido sometidos a las pruebas de rutina con arreglo a lo dispuesto en el capítulo II del Anexo B de la Directiva 88/407/CEE ;

d) el esperma destinado a la exportación :

i) procede de donantes que han permanecido en

.....

(nombre del país exportador)

durante los seis meses inmediatamente anteriores a la recogida del esperma destinado a la exportación y cumplen las condiciones establecidas en el Anexo C de la Directiva 88/407/CEE ;

ii) procede de donantes que :

— han permanecido en un centro de recolección de esperma en el que, en los doce meses anteriores a la recogida del esperma destinado a la exportación, todos los animales de la especie bovina han sido sometidos, con resultados negativos, a una prueba de seroneutralización o una prueba ELISA para la detección de la rinotraqueítis infecciosa bovina y la vulvovaginitis pustulosa infecciosa (1),

o

— han sido sometidos, con resultados negativos, a una prueba de seroneutralización o a una prueba ELISA para la detección de la rinotraqueítis infecciosa bovina y la vulvovaginitis pustulosa infecciosa efectuada en los doce meses anteriores a la recogida del esperma destinado a la exportación (1),

o

— son seropositivos tras haber sido vacunados de conformidad con lo dispuesto en el capítulo II del Anexo B de la Directiva 88/407/CEE y haber sido sometidos, con resultados negativos, a una prueba de seroneutralización o a una prueba ELISA efectuada en el centro de recolección de esperma autorizado antes de la vacunación (1),

(1) Táchese lo que no proceda.

o

— han sido sometidos, con resultados positivos, a una prueba de seroneutralización o una prueba ELISA para la detección de la rinotraqueítis infecciosa bovina y la vulvovaginitis pustulosa infecciosa, no han sido vacunados de conformidad con el capítulo II del Anexo B de la Directiva 88/407/CEE y al menos el 10 % de cada eyaculado de esperma destinado a la exportación (un mínimo de 5 pajuelas) ha sido sometido antes de la exportación, con resultados negativos, a una prueba de inoculación en animales o a una prueba de aislamiento del virus (1);

iii) ha sido transformado, almacenado y transportado en condiciones que se ajustan a lo dispuesto en la Directiva 88/407/CEE;

iv) procede de donantes machos que:

— se encontraban en el centro autorizado el 1 de julio de 1994,

— llegaron al centro autorizado después del 1 de julio de 1994 tras haber sido sometidos antes de su llegada, con resultados negativos, a las siguientes pruebas para la detección de la fiebre catarral y de la enfermedad enzoótica hemorrágica realizadas en un laboratorio autorizado y, en ambos casos, fueron sometidos cada seis meses, con resultados negativos, a las pruebas siguientes realizadas en un laboratorio autorizado:

— prueba de bloqueo ELISA para la detección de la fiebre catarral realizada de acuerdo con el Anexo E;

— prueba de inmunodifusión en agar realizada con arreglo al Anexo E y prueba de neutralización del virus para la detección de todos los serotipos de la enfermedad enzoótica hemorrágica que existen en el país exportador.

En ....., a .....
(lugar) (fecha)

(Sello) (2)

Firma (2): .....

Nombre y apellidos en letras mayúsculas: .....

Cargo oficial: .....

(1) Táchese lo que no proceda.
(2) La firma y el sello deberán estamparse en un color que no sea el del texto impreso.

SEGUNDA PARTE

Lista de países autorizados para utilizar el modelo de certificado zoosanitario de la primera parte del Anexo C

CANADÁ: Con exclusión de la región del Valle de Okanagan (Columbia Británica), que es la zona delimitada por una línea que une los siguientes puntos: un punto de la frontera entre Canadá y los Estados Unidos a 120° 15′ de longitud y 49° de latitud, un punto situado al norte a 119° 35′ de longitud y 50° 30′ de latitud, un punto situado al nordeste a 119° de longitud y 50° 45′ de latitud, y un punto situado al sur en la frontera entre Canadá y los Estados Unidos a 118° 15′ de longitud y 49° de latitud.

ANEXO D

PRIMERA PARTE

CERTIFICADO ZOOSANITARIO

para la importación de esperma de animales de la especie bovina

<table>
<tr><td colspan="2">1. Remitente (nombre y dirección completa)</td><td>Número de certificado:</td></tr>
<tr><td colspan="2"></td><td>2. Tercer país de recogida</td></tr>
<tr><td colspan="2">3. Destinatario (nombre y dirección completa)</td><td>4. Autoridad competente</td></tr>
<tr><td colspan="2"></td><td>5. Autoridad local competente</td></tr>
<tr><td colspan="2">6. Lugar de carga</td><td>7. Nombre y dirección del centro de recogida de esperma</td></tr>
<tr><td colspan="2">8. Medio de transporte</td><td rowspan="3">10. Número de autorización del centro de recogida de esperma</td></tr>
<tr><td colspan="2">9. Lugar y Estado miembro de destino</td></tr>
<tr><td colspan="2">11. Número de precinto de los contenedores de esperma</td></tr>
<tr><td colspan="3">12. Identificación del esperma
Fresco o congelado (*)

(*) Táchese lo que no proceda</td></tr>
<tr><td>a) Número de dosis</td><td rowspan="2">b) Fecha(s) de recogida</td><td rowspan="2">c) Raza</td></tr>
<tr><td>d) Identificación del animal donante</td></tr>
</table>

13. El veterinario oficial abajo firmante conoce las disposiciones de la Directiva 88/407/CEE modificada y certifica que :

a) ..... ha estado libre de peste bovina

(nombre del país exportador)

y fiebre aftosa durante los doce meses inmediatamente anteriores a la recolección del esperma destinado a la exportación y hasta la fecha del envío de éste y que no se ha llevado a cabo ninguna vacunación contra estas enfermedades durante ese mismo período ;

b) el centro de recolección de esperma en el que se recogió el esperma destinado a la exportación :

i) ha sido autorizado con arreglo a las condiciones establecidas en el capítulo I del Anexo A de la Directiva 88/407/CEE ;

ii) ha sido administrado y supervisado con arreglo a las condiciones establecidas en el capítulo II del Anexo A de la Directiva 88/407/CEE ;

iii) ha estado libre de rabia, tuberculosis, brucelosis, ántrax y perineumonía contagiosa bovina desde 30 días antes de la fecha de recolección del esperma hasta 30 días después de haberse efectuado ésta (en el caso de esperma fresco, hasta el día del envío) ;

c) los animales de la especie bovina presentes en el centro de recolección de esperma :

i) proceden de rebaños o han nacido de hembras que cumplen las condiciones establecidas en el capítulo I del Anexo B de la Directiva 88/407/CEE ;

ii) han sido sometidos, antes de su aislamiento, a las pruebas exigidas en el capítulo I del Anexo B de la Directiva 88/407/CEE ;

iii) han cumplido, antes del período de aislamiento, los requisitos que se establecen en el capítulo I del Anexo B de la Directiva 88/407/CEE y han sido sometidos a las pruebas que se indican en él ;

iv) en caso de haber permanecido en dicho centro durante al menos un año, han sido sometidos a las pruebas de rutina con arreglo a lo dispuesto en el capítulo II del Anexo B de la Directiva 88/407/CEE ;

d) el esperma destinado a la exportación :

i) procede de donantes que han permanecido en

.....

(nombre del país exportador)

durante los seis meses inmediatamente anteriores a la recogida del esperma destinado a la exportación y cumplen las condiciones establecidas en el Anexo C de la Directiva 88/407/CEE ;

ii) procede de donantes que :

— han permanecido en un centro de recolección de esperma en el que, en los doce meses anteriores a la recogida del esperma destinado a la exportación, todos los animales de la especie bovina han sido sometidos, con resultados negativos, a una prueba de seroneutralización o una prueba ELISA para la detección de la rinotraqueítis infecciosa bovina y la vulvovaginitis pustulosa infecciosa (1),

o

— han sido sometidos, con resultados negativos, a una prueba de seroneutralización o a una prueba ELISA para la detección de la rinotraqueítis infecciosa bovina y la vulvovaginitis pustulosa infecciosa efectuada en los doce meses anteriores a la recogida del esperma destinado a la exportación (1),

o

— son seropositivos tras haber sido vacunados de conformidad con lo dispuesto en el capítulo II del Anexo B de la Directiva 88/407/CEE y haber sido sometidos, con resultados negativos, a una prueba de seroneutralización o a una prueba ELISA efectuada en el centro de recolección de esperma autorizado antes de la vacunación (1),

(1) Táchese lo que no proceda.

o

— han sido sometidos, con resultados positivos, a una prueba de seroneutralización o una prueba ELISA para la detección de la rinotraqueítis infecciosa bovina y la vulvovaginitis pustulosa infecciosa, no han sido vacunados de conformidad con el capítulo II del Anexo B de la Directiva 88/407/CEE y al menos el 10 % de cada eyaculado de esperma destinado a la exportación (un mínimo de 5 pajuelas) ha sido sometido antes de la exportación, con resultados negativos, a una prueba de inoculación en animales o a una prueba de aislamiento del virus (1);

iii) ha sido transformado, almacenado y transportado en condiciones que se ajustan a lo dispuesto en la Directiva 88/407/CEE;

iv) procede de donantes machos que han sido sometidos con resultados negativos, en dos ocasiones y con un intervalo máximo de doce meses, a las pruebas siguientes realizadas en un laboratorio autorizado antes y después de la recolección del esperma (la prueba que se realice después de la recolección debe llevarse a cabo con una muestra de sangre que haya sido tomada como mínimo 21 días después de recolectado el esperma destinado a la exportación):

— prueba de bloqueo ELISA para la detección de la fiebre catarral realizada de acuerdo con el Anexo E,

— prueba de inmunodifusión en agar realizada con arreglo al Anexo E y prueba de neutralización del virus para la detección de todos los serotipos de la enfermedad enzoótica hemorrágica que existen en el país exportador,

— prueba de seroneutralización para la detección del virus de Akabane.

En ....., a .....
(lugar) (fecha)

(Sello) (2)

Firma (2): .....

Nombre y apellidos en letras mayúsculas: .....

Cargo oficial: .....

(1) Táchese lo que no proceda.
(2) La firma y el sello deberán estamparse en un color que no sea el del texto impreso.

SEGUNDA PARTE

Lista de terceros países autorizados para utilizar el modelo de certificado zoosanitario de la primera parte del Anexo D

AUSTRALIA

ANEXO E

Normas para la prueba de inmunoabsorción enzimática de bloqueo o competitiva mediante un anticuerpo monoclonal específico de grupo para la detección de los anticuerpos del virus de la fiebre catarral ovina

PRUEBA ELISA COMPETITIVA DE LA FIEBRE CATARRAL OVINA MEDIANTE EL ANTICUERPO MONOCLONAL 3-17-A3

Mediante esta prueba se pueden detectar los anticuerpos de todos los serotipos conocidos del virus de la fiebre catarral ovina (BTV).

La prueba se basa en la interrupción de la reacción entre el antígeno BTV y un anticuerpo monoclonal específico de grupo (3-17-A3) mediante la adición de diluciones de suero problema. Los anticuerpos del BTV presentes en el suero problema bloquean la reactividad del anticuerpo monoclonal (Mab), dando lugar a una reducción en el color esperado al añadirse el sustrato enzimático.

MATERIALES Y REACTIVOS

1. Microplacas de fondo plano.
2. Antígeno: preparado según se describe a continuación.
3. Amortiguador de bloqueo: 5 % (p/v) de leche en polvo desecada « Marvel », 0,1 % (v/v) de Tween-20 (suministrado en forma de jarabe de monolaurato de polioxietilensorbitol) en PBS (solución amortiguadora de fosfatos).
4. Anticuerpo monoclonal: 3-17-A3 (suministrado como sobrenadante del cultivo-tejido de hibridoma) almacenado a una temperatura de −20° C o liofilizado, diluido al 1/50 con amortiguador de bloqueo antes de su empleo, dirigido contra el polipéptido específico de grupo p7.
5. Conjugado: anticuerpo de conejo antiglobulina de ratón (adsorbido y eluido) conjugado con peroxidasa de rábano y guardado en la oscuridad a una temperatura de 4° C.
6. Sustrato y cromógeno: 0,2 g de ortofenilendiamina (OPD) disuelta en una solución amortiguadora consistente en 2,553 g de ácido cítrico, 4,574 g de ortofosfato ácido disódico y agua destilada hasta 500 ml, se divide en partes alícuotas de 25 ml y se conserva en la oscuridad a una temperatura de −20° C, con 12 µl/25 ml de peróxido de hidrógeno (30 % p/v) añadido inmediatamente antes de su empleo.

   TRATAR LA OPD CON CUIDADO — USAR GUANTES DE GOMA — POSIBLE MUTÁGENO.
7. Ácido sulfúrico molar: 26,6 ml de ácido añadido a 473,4 ml de agua destilada.

   RECUÉRDESE QUE SIEMPRE HAY QUE AÑADIR ÁCIDO AL AGUA, NUNCA AGUA AL ÁCIDO.
8. Agitador orbital.
9. Lector de placa ELISA (la prueba puede leerse visualmente).

FORMATO DE LA PRUEBA

	H	G	F	E	D	C	B	A	
Blanco			Antígeno + Conjugado						1
Control Mab			Antígeno + Mab + Conjugado						2
Control positivo	Antígeno + suero positivo + Mab + Conjugado								3
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	
	Sueros a prueba								
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/2	1/4	1/8	1/16	4
									5
									6
Sueros problema									7
									8
									9
									10
									11
									12

NORMAS DE LA PRUEBA

Control en blanco

La fila 1 A - H es un control en blanco consistente en antígeno de BTV y conjugado. Puede utilizarse para ajustar el lector ELISA.

Control Mab

La fila 2 A - H es el control del anticuerpo monoclonal y se compone de antígeno de BTV, anticuerpo monoclonal y conjugado. Se trata de un control negativo. El promedio de las lecturas de densidad óptica de esta fila de control representa el valor 0 % de inhibición.

Control positivo

La fila 3 A - H es el control positivo. Se compone de antígeno de BTV, diluciones de antisuero positivo de BTV, Mab y conjugado. Se incluye como indicador de que la prueba funciona adecuadamente, debiéndose obtener niveles similares de inhibición de una prueba a otra.

Sueros problema

En el formato de la prueba arriba indicado, pueden probarse 18 sueros en una serie de diluciones de 1/2, 1/4, 1/8 y 1/16. Esto servirá para obtener una indicación del título del anticuerpo de los sueros problema. El margen de dilución puede ampliarse hasta obtener los títulos de punto final de la dilución del suero. De forma alternativa y en estudios serológicos de mayor envergadura, los sueros podrán probarse en una sola dilución (1/4) o en dos diluciones (1/2 y 1/4) a modo de prueba de detección rápida.

PROCEDIMIENTO

1. Diluir el antígeno del BTV en una concentración pretitulada en PBS, someter la dilución brevemente a ultrasonidos para dispersar el virus agregado (si no se dispone del instrumento, pipetear enérgicamente) y poner 50 µl en todos los pocillos de la placa ELISA. Golpear los lados de la placa para dispersar el antígeno.

2. Incubar durante 60 minutos a 37 °C en un agitador orbital. Lavar las placas tres veces llenando y vaciando los pocillos con PBS no estéril y secar en un papel absorbente.

3. Añadir 50 µl de amortiguador de bloqueo por pocillo. Añadir los sueros problema y el suero positivo a los pocillos adecuados y diluir en la placa mediante una pipeta multicanal. No añadir sueros al control en blanco ni al control Mab.

4. Inmediatamente después de haber añadido los sueros problema, diluir el Mab en el amortiguador de bloqueo (para la dilución pretitulada) y añadir 50 µl a todos los pocillos de la placa excepto los de control de blanco.

5. Incubar durante 60 minutos a 37 °C en un agitador orbital. Lavar tres veces con PBS y secar con un papel absorbente.

6. Diluir el conjugado de anticuerpo de conejo de antiglobulina de ratón al 1/5 000 en el amortiguador de bloqueo y añadir 50 µl a todos los pocillos de la placa.

7. Incubar durante 60 minutos a 37 °C en un agitador orbital. Lavar tres veces con PBS y secar con un agente absorbente.

8. Descongelar la OPD y, justo antes de utilizarla, añadir 12 µl de peróxido de hidrógeno al 30 % a cada fracción de 25 ml de OPD. Añadir 50 µl a todos los pocillos de la placa. Dejar que el color se desarrolle durante 10 minutos aproximadamente y detener la reacción con ácido sulfúrico 1 M (50 µl por pocillo). El color deberá desarrollarse en los pocillos de control Mab y en los pocillos que contengan sueros sin ningún anticuerpo del BTV.

9. Examinar y marcar las placas visualmente o bien mediante un lector espectrofotométrico.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

Calcular la lectura media de DO de los controles Mab. Este resultado representará el valor de inhibición del 0 %. Las lecturas de densidad óptica de los sueros problema se expresarán como valores de porcentaje de inhibición mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Valor del porcentaje de inhibición} = 100 - \frac{\text{DO en presencia del suero problema}}{\text{DO en ausencia del suero problema}} \times 100$$

Los valores de inhibición superiores al 40 % en una dilución de suero al 1/4 se considerarán positivos. Será posible la lectura visual, dado que el 40 % de inhibición es el valor mínimo discernible fácilmente a la vista.

PREPARACIÓN DEL ANTÍGENO DEL VIRUS DE LA FIEBRE CATARRAL OVINA (BTV) PARA LA PRUEBA ELISA

1. Lavar 10 frascos de Roux de cultivos celulares confluentes de BHK-21 tres veces con medio de Eagle sin suero e inocular el virus de la fiebre catarral ovina del serotipo 1 en medio de Eagle sin suero.
2. Incubar a 37 °C y examinar diariamente el efecto citopático (cpe).
3. Cuando se vea el efecto citopático en un 80-90 % de la capa celular de cada frasco de Roux, recoger el virus desprendiendo por agitación todas las células del cristal.
4. Centrifugar a 2 000-3 000 rpm para que sedimenten las células.
5. Eliminar el sobrenadante y volver a suspender las células en 30 ml aproximadamente de PBS con un 1 % de « Sarkosyl » y 2 ml de fluoruro de fenolmetilsulfonilo (amortiguador de lisis). Esto puede provocar que las células formen un gel, efecto que podrá reducirse añadiendo más amortiguador de lisis. Adviértase que el fluoruro de fenilmetilsulfonilo es nocivo y debe manejarse con mucho cuidado.
6. Romper las células durante 60 segundos mediante una sonda ultrasónica con una amplitud de 30 micras.
7. Centrifugar a 10 000 rpm durante 10 minutos.
8. Almacenar el sobrenadante a +4 °C y volver a suspender el sedimento celular restante en 10-20 ml de amortiguador de lisis.
9. Someter a ultrasonidos y clarificar tres veces, almacenando el sobrenadante de cada fase.
10. Juntar los sobrenadantes y centrifugar a 24 000 rpm durante 120 minutos a +4°C encima de una almohadilla de 5 ml de sacarosa al 40 % (p/v en PBS) utilizando tubos de centrifugado Beckmann de 30 ml y un rotor 28 SW.
11. Eliminar el sobrenadante, escurrir bien los tubos y volver a suspender el sedimento en PBS mediante un baño de ultrasonidos. Almacenar el antígeno en partes alícuotas a −70 °C.

TITULACIÓN DEL ANTÍGENO DEL VIRUS DE LA FIEBRE CATARRAL OVINA PARA LA PRUEBA ELISA

El antígeno de la fiebre catarral ovina para la prueba ELISA se titula mediante el método ELISA indirecto. Se titulan diluciones al 1/2 de antígeno ante una dilución constante (1/50) del anticuerpo monoclonal 3-17-A3. El proceso es el siguiente :

PROCEDIMIENTO

1. Diluir el antígeno del virus de la fiebre catarral ovina en PBS en la placa de microtitulación en una serie de diluciones al 1/2 (50 µl/pocillo) mediante una pipeta multicanal.
2. Incubar durante 1 hora a 37 °C en un agitador orbital.
3. Lavar las placas tres veces con PBS.
4. Añadir 50 µl de anticuerpo monoclonal 3-17-A3 (diluido al 1/50) en cada pocillo de la placa de microtitulación.
5. Incubar durante 1 hora a 37 °C en un agitador orbital.
6. Lavar las placas tres veces con PBS.
7. Añadir 50 µl de anticuerpo de conejo antiglobulina de ratón conjugado con peroxidasa de rábano, diluido a una concentración óptima pretitulada, en cada pocillo de la placa de microtitulación.
8. Incubar durante 1 hora a 37 °C en un agitador orbital.
9. Añadir el substrato y el cromógeno del modo expuesto anteriormente. Detener la reacción después de 10 minutos mediante la adición de ácido sulfúrico molar (50 µl/pocillo).

En el método competitivo, el anticuerpo monoclonal debe hallarse en exceso ; para ello se escoge una dilución de antígeno incluida en la curva de titulación (no en la región plana) que al cabo de 10 minutos dé aproximadamente 0,8 DO.

Normas para la prueba de inmunodifusión en gel de agar para la detección de los anticuerpos de la enfermedad enzoótica hemorrágica

La prueba de inmunodifusión en gel de agar deberá efectuarse de conformidad con el siguiente procedimiento:

MATERIALES Y REACTIVOS

1. Antígeno

   El antígeno precipitante deberá prepararse en un cultivo celular que favorezca la multiplicación rápida del serotipo (o serotipos) adecuado(s) de la enfermedad enzoótica hemorrágica. Se recomienda la utilización de células BHK o Vero. Al finalizar el crecimiento del virus, el antígeno se encontrará en el líquido sobrenadante, pero para ser activo deberá tener una concentración de 50 a 100 veces, lo que se podrá obtener aplicando un procedimiento normalizado de concentración de las proteínas. El virus existente en el antígeno podrá inactivarse con la adición de 0,3 % (v/v) de betapropiolactona.

2. Suero de control positivo conocido

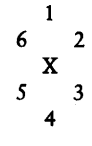
   Con el suero y el antígeno de referencia internacionales, preparar un suero patrón nacional normalizado con relación al suero de referencia internacional para obtener una proporción óptima, liofilizarlo y emplearlo como suero de control positivo conocido en cada prueba.

3. Suero problema

PROCEDIMIENTO

1. Preparar una solución de agarosa al 1 % en un tampón de borato o de barbitol sódico con un pH de 8,5 a 9,0, y verter en una placa Petri hasta una altura mínima de 3 mm.

2. Perforar en el agar siete pocillos libres de humedad de 5 mm de diámetro cada uno, dispuestos del siguiente modo: un pocillo central, rodeado de los otros seis pocillos, formando un círculo de 3 mm de radio.



3. Llenar el pocillo central con el antígeno estándar, los pocillos periféricos 2, 4 y 6 con el suero positivo conocido, y los pocillos 1, 3 y 5 con el suero problema.

4. Incubar durante 72 horas como máximo a temperatura ambiente en una cámara cerrada y húmeda.

INTERPRETACIÓN

El suero problema es positivo si forma una línea de precipitina específica con el antígeno y una línea completa de identidad con el suero de control. El suero problema es negativo si no forma una línea específica con el antígeno y no desvía la línea del suero de control. Las placas Petri deberán examinarse sobre fondo oscuro con iluminación indirecta.