31994D0577

ID-DEĊIŻJONI TAL-KUMMISSJONI
tal-15 ta' Lulju ta' l-1994
li tikkonċerna l-kondizzjonijiet tas-saħħa ta' l-annimali u ċ-ċertifikazzjoni veterinarja għall-importazzjoni ta' sperma bovina minn pajjiżi terzi

(94/577/KE)

IK-KUMMISSJONI TAL-KOMUNITAJIET EWROPEJ,

Wara li kkunsidrat it-Trattat li jistabbilixxi l-Komunità Ewropea,

Wara li kkunsidrat Direttiva tal-Kunsill 88/407/KEE ta' l-14 ta' Ġunju ta' l-1988 li tistabbilixxi l-ħtiġiet għas-saħħa ta' l-annimali applikabbli g]al kummerċ intra-Komunitarju, u importazzjoni ta' sperma ta' l-annimali domestiċi tal-ispe'i bovina [1], kif l-aħħar emendata bid-Direttiva 93/60/KEE [2], u, partikolarment, l-Artikoli 10 u 11 tag]ha,

Billi l-lista tal-pajjiżi terzi minn fejn l-Istati Membri jawtorizzaw importazzjoni tal-isperma ta' l-annimali domesti'i ta' l-ispe'i tal-bovini (minn hawn il-quddiem imsejħa "il-lista tal-pajjiżi terzi") li kienet stabbilita bid-Deċiżjoni tak-Kummissjoni 90/14/KEE [3], kif emendata bid-Deċiżjoni 91/276/KEE [4];

Billi s-sitwazzjoni tal-mard fl-Iżrael wasslet għal projbizzjoni fuq l-importazzjonijiet minn dak il-pajjiż bid-Deċiżjoni tal-Kummissjoni 91/277/KEE [5];

Billi d-Deċiżjonijiet tal-Kummissjoni 91/479/KEE [6], 91/549/KEE [7], 92/123/KEE [8], 92/124/KEE [9], 92/125/KEE [10], 92/126/KEE [11], 92/127/KEE [12], 92/128/KEE [13], 92/386/KEE [14], 92/387/KEE [15] u 92/445/KEE [16] jistabbilixxu l-kundizzjonijiet tas-saħħa ta' l-annimali u ċ-ċertifikazzjoni veterinarja g]all-importazzjoni tal-isperma bovina mill-Istati Uniti ta' l-Amerika, mill-Kanada, mill-Polonja, mill-Finlandja, minn New Zealand, mill-Awstria, mill-Isvizzera, mill-Isvezja, mill-Ungerija, min-Norveġja u miċ-Ċekożlovakja rispettivament;

Billi d-Direttiva 93/60/KEE li għandha tkun implementata mill-Istati Membri qabel l-1 ta' Lulju ta' l-1994 l-aktar tard li temenda d-Direttiva 88/407/KEE li b'hekk teħtieġ l-emendi għad-Deċiżjonijiet tal-pajjiż terz imsemmija hawn fuq; billi sabiex jissimplifikaw u jiċċaraw leġislazzjoni Komunitarja f'dan il-qasam huwa meħtieġ li jinag]qdu flimkien id-deċiżjonijiet ta' hawn fuq u biex iħassru dawk fis-seħħ g]al kull pajjiż individwali;

Billi, meqjusa d-dispożizzjonijiet dwar il-Ftehim taż-Żona Ekonomika Ewropea, mhux meħtieġ li jinżamm iċ-ċertifikat tas-saħħa ta' l-annimali għal importazzjoni tal-isperma bovina mill-Awstria, mill-Finlandja, min-Norveġja u mill-Isvezja;

Billi bi qbil ma' l-opinjoni tal-Kumitat Xjentifiku Veterinarju, test addizzjonali għal marda ta' l-emoroloġija epiżotika huwa meħtieġ;

Billi biss fir-rigward tal-Kanada huma t-testijiet ta' rutina li jseħħu minn qabel il-ġbir g]al din il-marda li jseħħu f'intervalli ta' sitt xhur; billi b'hekk huwa meħtieġ li jitħalla perjodu ta' tranżizzjoni

(1) U Nru L 194, tat-22.7.1988, p. 10.
(2) U Nru L 186, tat-28.7.1993, p. 28.
(3) U Nru L 8, tal-11.1.1990, p. 71.
(4) U Nru L 135, tat-30.5.1991, p. 58.
(5) U Nru L 135, tat-30.5.1991, p. 60.
(6) U Nru L 258, tas-16.9.1991, p. 1.
(7) U Nru L 298, tad-29.10.1991, p. 6.
(8) U Nru L 48, tat-22.2.1992, p. 1.
(9) U Nru L 48, tat-22.2.1992, p. 10.
(10) U Nru L 48, tat-22.2.1992, p. 19.
(11) U Nru L 48, tat-22.2.1992, p. 28.
(12) U Nru L 48, tat-22.2.1992, p. 37.
(13) U Nru L 48, tat-22.2.1992, p. 46.
(14) U Nru L 204, tal-21.7.1992, p. 13.
(15) U Nru L 204, tal-21.7.1992, p. 22.
(16) U Nru L 247, tas-27.8.1992, p. 1.

għal introduzzjoni ta' din id-Deċiżjoni fir-rigward tal-Kanada biex tippermetti lill-awtoritajiet veterinarji Kanadiżi ħin suffiċenti biex jintrodu'u l-eżami l-ġdid fil-programmi ta' rutina tagħhom;

Billi, aktar minn hekk, skond avvanzi riċenti fl-apprezzament ta' l-epidemjoloġija ta' l-ilsien kaħlani, l-importazzjoni tal-isperma bovina mill-Awstralja issa tista tkun permissibbli;

Billi jidher li s-sitwazzjoni tas-saħħa ta' l-annimali fil-pajjiżi fil-lista tal-pajjiżi terzi hija tajba u kkontrollata b'servizzi veterinarji organizzati u strutturati sewwa dwar il-mard li jittieħed permezz tal-isperma;

Billi l-awtoritajiet veterinarji responsabbli tal-pajjiżi terzi intrabtu biex jinnotifikaw il-Kummissjoni u l-Istati Membri bit-telex jew telefax, fi żmien 24 siegħa, tal-konferma tas-seħħ ta' kull marda li tkunu tinstab fil-Lista A ta' l-Uffiċju Internazzjonali ta' l-Epiżotiċi (OIE/UIE) jew ta' kull bidla fl-istrateġija tal-vaċċinazzjoni dwar kull wieħed/waħda minnhom jew, fi żmien perjodu xieraq, taddehra tal-mard fil-Lista B ta' l-UIE u kull bidla proposta fir-regolamenti ta' l-importazzjoni dwar l-annimali domestiċi jew l-isperma jew l-embrijunitagħhom;

Billi l-awtoritajeiet veterinarji responsabbli tal-pajjiżi fil-lista tal-pajjiżi terzi intrabtu għal sorveljanza uffiċjali tal-ħruġ ta' ċertifikati perezz ta' din id-Deċiżjoni u li jassiguraw li kull ċertifikat relevanti, derogi u skoperti fil-laboratorju li fuqhom iċ-ċertifikazzjoni tista' tkun ġiet ibbażata u tibqa fil-file uffiżjali għall-inqas 12 il-xhar wara li tinbgħat sperma li dwarha jkunu jirreferu;

Billi l-awtoritajiet veterinarji responsabbli tal-pajjiżi fil-lista ta' pajjiżi terzi intrabtu biex japprovaw ċentri uffiċjali tal-ġbir tal-isperma għall-esportazzjoni tal-isperma bovina lejn il-Komunità Ekonomika Ewropea kif meħtieġa bl-Artikolu 9 tad-Direttiva 88/407/KEE;

Billi l-kondizzjonijiet tas-saħħa ta' l-annimali u ċ-ċertifikazzjoni veterinarja għandha tkun adottata skond is-sitwazzjoni tas-saħħa ta' l-annimali tal-pajjiż terz ikkonċernat;

Billi l-miżuri li hemm provveriment dwarhom f'din id-Deċiżjoni huma bi qbil ma l-opinjoni tal-Kumitat Permanenti Veterinarju,

ADOTTAT DIN ID-DEĊIŻJONI:

Artikolu 1

L-Istati Membri għandhom jawtorizzaw l-importazzjoni tal-isperma bovina li tkun konformi mal-kondizzjonijiet stabbiliti fiċ-ċertifikati fil-Parti 1 ta' l-Annessi A, B, C u D u biss min dawk il-pajjiżi terzi li jidhru fil-Parti 2 ta' l-Annessi A, B, C u D rispettivament.

B'dankollu, l-Istati Membri għandhom jawtorizzaw mill-Kanada, l-importazzjonijiet tal-isperma bovina miġbura u pproċessata bi qbil mad-Deċiżjoni 91/549/KEE sal-31 ta' Diċembru ta' l-1994.

Artikolu 2

Id-Deċiżjonijiet 91/479/KEE, 92/123/KEE, 92/124/KEE, 92/125/KEE, 92/126/KEE, 92/127/KEE, 92/128/KEE, 92/386/KEE, 92/387/KEE u 92/445/KEE huma imħassra.

Id-Deċiżjoni 91/549/KEE ġiet imħassra mill-1 ta' Jannar ta' l-1995.

Artikolu 3

Id-dispożizzjonijiet fir-rigward tal-Kanada referuti fl-ewwel subparagrafu ta' l-Artikolu 1 għandhom ikunu applikabbli mill-1 ta' Jannar ta' l-1995.

Artikolu 4

Din id-Deċiżjoni hija indirizzata lill-Istati Membri.

Magħmula fi Brussel, il-15 ta' Lulju ta' l-1994.

Għall-Kummissjoni

René STEICHEN

Membru tal-Kumissjoni

L-ANNESS A

PARTI 1

ĊERTIFIKAT TAS-SAĦĦA TA' L-ANNIMALI

Għall-importazzjoni tal-isperma bovina

<table>
<tr><td colspan="2">1. Kunsinjatur (l-isem u l-indirizz)</td><td>Numru taċ-Ċertifikat
2. Pajjiż terz tal-Ġbir</td></tr>
<tr><td colspan="2">3. Kunsinnatarju (l-isem u l-indirizz)</td><td>4. Awtorità kompetenti</td></tr>
<tr><td colspan="2"></td><td>5. Awtorità lokali kompetenti</td></tr>
<tr><td colspan="2">6. Post ta' tagħbija</td><td>7. L-isem u l-indirizz taċ-Ċentru tal-Ġbir ta' l-isperma</td></tr>
<tr><td colspan="2">8. Mezzi tat-trasport
9. Post u Stat Membru tad-destinazzjoni
11. Numru ta' siġill tal-kontenituri ta' l-isperma</td><td>10. Numru ta' l-approvazzjoni taċ-Ċentru tal-ġbir ta' l-isperma</td></tr>
<tr><td colspan="3">12. Identifikazzjoni ta' l-isperma
friska jew iffriżata *
(* ħassar kif xieraq)</td></tr>
<tr><td>(a) Numru tad-dożi
(d) Identifikazzjoni ta' l-annimal donaturi</td><td>(b) Data/i tal-ġbir</td><td>(c) Razza</td></tr>
</table>

13. Jiena is-sottoskritt, veteranjan uffiċjali qrajt u familjarizzajt ruhi mad-Direttiva tal-Kunsill 88/407/KEE kif emendat u niċċertifika li:

(a) .....
(isem tal-pajjiż ta' l-esportazzjoni)

huwa ħieles minn rinderpesta u l-marda tal-ilsien u d-dwiefer matul it-tnax il-xhar immedjatament qabel il-ġbir ta' l-isperma għall-esportazzjoni u sad-data tad-dispaċċ tagħha u l'ebda vaċċinazzjoni kontra dan il-mard ma seħħet matul l-istess perjodu;

(b) iċ-ċentru tal-ġbir ta' l-isperma ta' fejn l-isperma li sejra tkun esportata tkun ġiet miġbura, kienet:

(i) approvata u ssorveljata permezz tal-kondizzjonijiet stabbiliti fl-Anness A, tal-Kapitolu I tad-Direttiva tal-Kunsill 88/407/KEE;

(ii) operata u ssorveljata permezz tal-kondizzjonijiet stabbiliti fl-Anness A, tal-Kapitolu II tad-Direttiva tal-Kunsill 88/407/KEE;

(iii) matul il-perjodu li jeskadi 30 jum qabel id-data tal-ġbir ta' l-isperma li għandha tkun esportata sa 30 ġurnata minn wara l-ġbira (fil-każ ta' sperma friska sad-data tad-dispaċċ) kienet ħielsa mir-rabja, mit-tuberkolożi, mill-bruċellożi, mit-traċna u mill-plewropnewmonja kontaġġjuża tal-bovini;

(c) l-annimali bovini li qegħdin fiċ-ċentru tal-ġbir ta' l-isperma:

(i) jiġu min merħla u/jew kienu imwielda għal ommijiet ta' bhejjem li jissodisfaw il-kondizzjonijiet fl-Anness B, il-Kapitolu I tad-Direttiva 88/407/KEE;

(ii) ikollhom, qabel id-dħul fl-iżolament, għaddew mit-test meħtieġ mill-Anness B, il-Kapitolu I tad-Direttiva 88/407/KEE;

(iii) issodisfaw il-ħtiġiet tal-iżolament u l-eżaminazzjoni ta' qabel id-dħul kif stabbilit fl-Anness B, il-Kapitolu I tad-Direttiva 88/407/KEE;

(iv) residenti għall-inqas sena wara li jkunu għaddew mit-testijiet ta' rutina skond l-Anness B, il-Kapitolu I tad-Direttiva 88/407/KEE;

(d) l-isperma għat-trasport:

(i) ġiet miksuba min donaturi li kienu residenti fi/fil

.....
(l-isem tal-pajjiż ta' l-esportazzjoni)

għall-perjodu ta' sitt xhur immedjatament qabel il-ġbir ta' l-isperma għall-esportazzjoni u li tissodisfa l-kondizzjonijiet stabbiliti fl-Anness Ċ tad-Direttiva 88/407/KEE;

(ii) ġiet miksuba min donaturi li huma:

— qegħdin fiċ-ċentru tal-ġbir ta' l-isperma ta' fejn l-annimali bovini kollha għandhom 12 il-xhar qabel il-ġbir tal-ispemra għall-esportazzjoni ikunu ġew soġġetti b'riżultati negativi għal test ta' newtralizzazzjoni tas-serum Elisa rigward ir-rinotraċna infettuża tal-bovini/il-vaġiniti vulvo postulati infettuża tal-bovini [1],

jew

— negattivi għal test tan-newtralizzazzjoni tas-serum Elisa rigward ir-rinotraċna infettuża tal-bovini/il-vaġiniti vulvo postulati infettuża tal-bovini imwettqa fi żmien 12 il-xhar qabel il-ġbir ta' l-isperma għall-esportazzjoni [1],

jew

— seropożitivi li jkunu ġew imlaqqma bi qbil ml-Anness B, il-Kapitlu II tad-Direttiva tal-Kunsill 88/407/KEE u li tkun tat riżultat negativ għal test tan-newtralizzazzjoni tas-serum Elisa li jkun ġiet approvata fiċ-ċentru tal-ġbir ta' l-isperma qabel it-tilqima [1],

[1] Ħassar fejn xieraq.

jew

— seropożitiv għal test ta' newtralizzazzjoni ta' serum jew Elisa għal rinotraċiti infettuża/vulvovaġiniti postulari infettuża tal-bovini, mhux imlaqqma bi qbil ma' l-Anness B, l-Kapitolu II tad-Direttiva tal-Kunsill 88/407/KEE u ta' fejn għall-inqas 10 % ta' kull eġakulazzjoni ta' l-isperma għall-esportazzjoni (b'minimu ta'ħames siltiet) ikunu ġew soġġetti għal test tat-tilqim ta' l-annimal jew għal test ta' iżolazzjoni ta' virus b'riżultati negattivi, għal esportazzjoni [1];

(iii) kienet ipproċessata, maħżuna u itrasportata taħt kundizzjonijiet li jissodisfaw it-termini tad-Direttiva 88/404/KEE.

Magħmul fi/fil- ....., ...

(post) (data)

(Timbru) [2]

Firma [2]: .....

Isem f'ittri kbar: .....

It-Titolu uffiċjali: .....

[1] Ħassar kif xieraq.

[2] Il-firma u t-timbu jridu jkunu b'kulur differenti minn dak tal-istampar.

PARTI 2

Lista ta' pajjiżi awtorizzati li ju\aw il-mudell taċ-Ċertifikat tas-saħħa ta' l-annimali fil-Parti 1 ta' l-Anness A

IR-REPUBBLIKA ĊEKA

L-UNGERIJA

IN-NEW ŻELAND

IL-POLONJA

IR-RUMANIJA

L-ISVIZZERA

IR-REPUBBLIKA SLOVAKKA

L-ANNESS B

PARTI 1

ĊERTIFIKAT TAS-SAĦĦA TA' L-ANNIMALI

g]al importazzjoni ta' sperma tal-bovini mill-Istati Uniti ta' l-Amerika

<table>
<tr><td colspan="2">1. Kunsinjatur (isem u indirizz)</td><td>Numru taċ-Ċertifikat
2. Pajjiż terz tal-ġbir</td></tr>
<tr><td colspan="2">3. Kunsinnatarju (isem u indirizz)</td><td>4. Awtorità kompetenti</td></tr>
<tr><td colspan="2"></td><td>5. Awtorità lokali kompetenti</td></tr>
<tr><td colspan="2">6. Post tat-tagħbija</td><td>7. Isem u indirizz taċ-Ċentru tal-ġbir ta' l-isperma</td></tr>
<tr><td colspan="2">8. Mezzi tat-trasport</td><td rowspan="3">10. Numru ta' l-approvazzjoni taċ-Ċentru tal-ġbir ta' l-isperma</td></tr>
<tr><td colspan="2">9. Post u Stat Membru tad-destinazzjoni</td></tr>
<tr><td colspan="2">11. Numru tas-siġill tal-kontenituri ta' l-isperma</td></tr>
<tr><td colspan="3">12. Identifikazzjoni ta' l-isperma
friska jew iffriżata *
(* ħassar fejn xieraq)</td></tr>
<tr><td>(a) Numru ta' dożi</td><td rowspan="2">(b) Data/i tal-ġbir</td><td rowspan="2">(c) Razza</td></tr>
<tr><td>(d) Identifikazzjoni ta' l-annimal tad-donazzjoni</td></tr>
</table>

13. Jiena is-sottoskritt veteranjarju uffiċjali qrajt u familjari mad-Direttiva tal-Kunsill 88/407/KEE kif emendat u niċċertifika li:

(a) ..... kien ħieles mil-marda tar-rinderpesta
(isem ta' pajjiż ta' l-esportazzjoni)

u tal-ħalq u tas-sieq matul it-12 il-xhar immeddjatament qabel il-kollezzjoni ta' l-isperma għal esportazzjoni u sad-data ta' dispaċċ tagħha u l'ebda vakkinazzjoni kontra dan il-mard ma ħadet posta matul l-istess perjodu;

(b) iċ-ċentru ta' kollezzjoni ta' l-isperma ta' fejn l-isperma li sa tiġi esportata ġiet miġbura kienet:

(i) approvata u sorveljata taħt il-kondizzjonijiet stabbilit fl-Anness A, il-Kapitolu I tad-Direttiva tal-Kunsill 88/407/KEE;

(ii) operata u sorveljata taħt il-kondizzjonijiet stabbiliti fl-Anness A, il-Kapitolu II tad-Direttiva tal-Kunsill 88/407/KEE;

(iii) matul il-perjodu li jeskadi 30 ġurnata qabel id-data tal-ġbir ta' l-isperma li għandha tkun esportata sa 30 ġurnata minn wara l-ġbir (fil-każ ta' sperma friska sad-data tad-dispaċċ) kienet ħielsa mir-rabbja, t-tuberkolożi, l-bruċellożi, t-traċna u l-plewropnewmonja kontaġġjuża tal-bovini;

(c) l-annimali bovini li qegħdin fiċ-ċentru tal-kollezzjoni ta' l-isperma:

(i) jiġu min merħla u/jew kienu imwielda minn ommijiet ta' bhejjem li jissodisfaw il-kundizzjonijiet fl-Anness B, il-Kapitolu I tad-Direttiva 88/407/KEE;

(ii) ikollhom, qabel id-dħul fl-iżolament, ġarbu it-test meħtieġmill-Anness B, il-Kapitolu I tad-Direttiva 88/407/KEE;

(iii) issodisfaw il-ħtiġiet tal-iżolaament u l-eżaminazzjoni ta' qabel id-dħul stabbiliti fl-Anness B, il-Kapitolu I tad-Direttiva 88/407/KEE;

(iv) jekk resident għall-inqas minn sena wara li jkun għadda mit-testijiet ta' rutina skond l-Anness B, il-Kapitolu I tad-Direttiva 88/407/KEE;

(d) l-isperma għat-trasport:

(i) ġiet miksuba minn donaturi li kienu residenti fi/fil

.....
(isem tal-pajjiż ta' l-esportazzjoni)

għall-perjodu ta' sitt xhur immedjatament qabel il-ġbir ta' l-isperma għall-esportazzjoni u li tissodisfa l-kundizzjonijiet stabbiliti fl-Anness Ċ tad-Direttiva 88/407/KEE;

(ii) ġiet miksuba minn donaturi li huma:

— qegħdin fiċ-ċentru tal-ġbir ta' l-isperma ta' fejn l-annimali bovini kollha li għandhom 12 il-xhar qabel il-ġbir ta' l-isperma għall-esportazzjoni ġew soġġetti għal; b'riżultati negattivi għal test ta' newtralizzazzjoni ta' serum fuq Elisa għal rinotraċiniti infettuża/vaġiniti vulvo postulari infettuži tal-bovini [1],

jew

— negattiv għal test ta' newtralizzazzjoni tas-serum jew Elisa għal rinotraċiniti infettuża/vaġiniti vulvo postulari infettuži tal-bovini mwettqa fi żmien 12 il-xhar qabel il-ġbir ta' l-isperma għall-esportazzjoni [1],

jew

— seropożittiv li kien ġie mlaqam bi qbil ma l-Anness B, il-Kapitlu II tad-Direttiva tal-Kunsill 88/407/KEE u li tagħat riżultat negativ għal test ta' newtralizzazzjoni ta' serum jew Elisa li ġiet approvata fiċ-ċentru tal-ġbir ta' l-isperma qabel it-tilqim [1],

[1] Ħassar kif xieraq.

jew

— seropożittiv għal test ta' newtralizzazzjoni tas-serum jew Elisa għal rinotraċiti infettuża/vulvovaġiniti infettuża tal-bovini, mhux imlaqma bi qbil ma' l-Anness B, il-Kapitolu II tad-Direttiva tal-Kunsill 88/407/KEE u ta' fejn għall-inqas 10 % ta' kull eġakulazzjoni ta' l-isperma għal esportazzjoni (b'minimu ta'ħames siltiet) tkun ġiet soġġetta għal test tat-tilqim ta' l-annimal jew test tal-iżolament tal-virus b'riżultati negattivi għall-esportazzjoni (1);

(iii) kienet ipproċessata, maħżuna u ittrasportata taħt kundizzjonijiet li jissodisfaw it-termini tad-Direttiva 88/404/KEE.

Maghmul fi/fil- ....., ...

(post) (data)

(Timbru) (2)

Firma (2): .....

Isem f'ittri kbar: .....

It-Titolu uffiċjali: .....

(1) Ħassar kif xieraq.

(2) Il-firma u t-timbu jridu jkunu b'kulur differenti minn dak tal-istampar.

PARTI 2

Lista ta' pajji\i awtorizzati biex ju\aw il-mudell taċ-ċertifikat għas-saħħa ta' l-annimali fil-Parti 1 ta' l-Anness B

STATI UNITI TA' L-AMERIKA

L-ANNESS C

PARTI 1

ĊERTIFIKAT TAS-SAĦĦA TAL' L-ANNIMALI

Gjal importazzjoni tal-isperma bovina

<table>
<tr><td colspan="2">1. Kunsinjatur (isem u indirizz)</td><td>Numru ta' Ċertifikat
2. Pajjiż terz tal-ġbir</td></tr>
<tr><td colspan="2">3. Kunsinnatarju (isem u indirizz)</td><td>4. Awtorità kompetenti</td></tr>
<tr><td colspan="2"></td><td>5. Awtorità lokali kompetenti</td></tr>
<tr><td colspan="2">6. Post tat-tagħbija</td><td>7. Isem u indirizz taċ-Ċentru tal-Ġbir ta' l-isperma</td></tr>
<tr><td colspan="2">8. Mezzi tat-trasport
9. Post u Stat Membru tad-destinazzjoni
11. Numru tas-siġill tal-kontenituri ta' l-isperma</td><td>10. Numru ta' l-approvazzjoni taċ-Ċentru tal-Ġbir ta' l-isperma</td></tr>
<tr><td colspan="3">12. Identifikazzjoni ta' l-isperma
friska jew iffriżata *
(* ħassar kif xieraq)</td></tr>
<tr><td>(a) Numru ta' dożi
(d) Identifikazzjoni ta' l-annimal tad-donazzjoni</td><td>(b) Data/i tal-Ġbir</td><td>(c) Razza</td></tr>
</table>

13. Jiena is-sottoskritt veteranjarju uffiċjali qrajt u familjari mad-Direttiva tal-Kunsill 88/407/KEE kif emendat u niċċertifika li:

(a) ..... kien ħieles mil-marda tar-rinderpesta
(isem ta' pajjiż ta' l-esportazzjoni)

u tal-ħalq u tas-sieq matul it-12 il-xhar immeddjatament qabel il-kollezzjoni ta' l-isperma għal esportazzjoni u sad-data ta' dispaċċ tagħha u l'ebda vakkinazzjoni kontra dan il-mard ma ħadet posta matul l-istess perjodu;

(b) iċ-Ċentru ta' kollezzjoni ta' l-isperma ta' fejn l-isperma li sa tiġi esportata ġiet miġbura kienet:

(i) approvata u sorveljata taħt il-kondizzjonijiet stabbilit fl-Anness A, il-Kapitolu I tad-Direttiva tal-Kunsill 88/407/KEE;

(ii) operata u sorveljata taħt il-kondizzjonijiet stabbiliti fl-Anness A, il-Kapitolu II tad-Direttiva tal-Kunsill 88/407/KEE;

(iii) matul il-perjodu li jeskadi 30 ġurnata qabel id-data tal-ġbir ta' l-isperma li għandha tkun esportata sa 30 ġurnata minn wara l-ġbir (fil-każ ta' sperma friska sad-data tad-dispaċċ) kienet ħielsa mir-rabbja, t-tuberkolożi, l-bruċellożi, t-traċna u l-plewropnewmonja kontaġġjuża tal-bovini;

(c) l-annimali bovini li qegħdin fiċ-ċentru tal-kollezzjoni ta' l-isperma:

(i) jiġu min merħla u/jew kienu imwielda minn ommijiet ta' bhejjem li jissodisfaw il-kundizzjonijiet fl-Anness B, il-Kapitolu I tad-Direttiva 88/407/KEE;

(ii) ikollhom, qabel id-dħul fl-iżolament, ħarbu it-test meħtieġ mill-Anness B, il-Kapitolu I tad-Direttiva 88/407/KEE;

(iii) issodisfaw il-ħtiġiet tal-iżolaament u l-eżaminazzjoni ta' qabel id-dħul stabbiliti fl-Anness B, il-Kapitolu I tad-Direttiva 88/407/KEE;

(iv) jekk resident għall-inqas minn sena wara li jkun għadda mit-testijiet ta' rutina skond l-Anness B, il-Kapitolu I tad-Direttiva 88/407/KEE;

(d) l-isperma għat-trasport:

(i) ġiet miksuba minn donaturi li kienu residenti fi/fil

.....
(isem tal-pajjiż ta' l-esportazzjoni)

għall-perjodu ta' sitt xhur immedjatament qabel il-ġbir ta' l-isperma għall-esportazzjoni u li tissodisfa l-kundizzjonijiet stabbiliti fl-Anness Ċ tad-Direttiva 88/407/KEE;

(ii) ġiet miksuba minn donaturi li huma:

— qegħdin fiċ-Ċentru tal-Ġbir ta' l-isperma ta' fejn l-annimali bovini kollha li għandhom 12 il-xhar qabel il-ġbir ta' l-isperma għall-esportazzjoni ġew soġġetti għal; b'riżultati negattivi għal test ta' newtralizzazzjoni ta' serum fuq Elisa għal rinotraċiniti infettuża/vaġiniti vulvo postulari infettuż tal-bovini [1],

jew

— negattiv għal test ta' newtralizzazzjoni tas-serum jew Elisa għal rinotraċiniti infettuża/vaġiniti vulvo postulari infettuż tal-bovini mwettqa fi żmien 12 il-xhar qabel il-ġbir ta' l-isperma għall-esportazzjoni [1],

jew

— seropożittiv li kien ġie mlaqam bi qbil ma l-Anness B, il-Kapitlu II tad-Direttiva tal-Kunsill 88/407/KEE u li tagħat riżultat negativ għal test ta' newtralizzazzjoni ta' serum jew Elisa li ġiet approvata fiċ-Ċentru tal-Ġbir ta' l-isperma qabel it-tilqim [1],

[1] Ħassar kif xieraq.

jew

— seropożittiv għal test ta' newtralizzazzjoni tas-serum jew Elisa għal rinotraċiti infettuża/vulvovaġiniti infettuża tal-bovini, mhux imlaqma bi qbil ma' l-Anness B, il-Kapitolu II tad-Direttiva tal-Kunsill 88/407/KEE u ta' fejn għall-inqas 10 % ta' kull eġakulazzjoni ta' l-isperma għal esportazzjoni (b'minimu ta'ħames siltiet) tkun ġiet soġġetta għal test tat-tilqim ta' l-annimal jew test tal-iżolament tal-virus b'riżultati negattivi għall-esportazzjoni [1];

(iii) kienet ipproċessata, maħżuna u ittrasportata taħt kundizzjonijiet li jissodisfaw it-termini tad-Direttiva 88/404/KEE.

Magħmul fi/fil- ....

(post) (data)

Timbru [2] uffiċjali

Firma [2]: .....

Isem f'ittri kbar: .....

It-Titolu uffiċjali: .....

[1] Ħassar kif xieraq.

[2] Il-firma u t-timbu jridu jkunu b'kulur differenti minn dak tal-istampar.

PARTI 2

Lista ta' pajjiżi awtorizzati biex jużaw il-mudell taċ-ċertifikat tas-saħħa ta' l-annimali fil-Parti 1 ta' l-Anness C

KANADA: apparti milli r-reġjun ta' l-Okanagan Valley tal-British Columbia li huwa definit bħala l-qasam magħluq b'linja impinġijja minn punt fuq il-fruntiera tal-Kanada/Stati Uniti 120° 15'lon[itudni, 49° latitudni tat-tramuntana g]al punt 119° 35' lon[itudni, 50° 30° latitudni tal-grigal u f'punt 119° lon[itudni, 50° 45'latitudni ta' nofsinhar għal punt fuq il-fruntiera tal-Kanada/Stati Uniti 118° 15' lon[itudni u 49° latitudni.

L-ANNESS D

PARTI 1

ĊERTIFIKAT TAS-SAĦĦA TA' L-ANNIMALI
Għall-importazjoni tal-isperma bovina

<table>
<tr><td colspan="2">1. Kunsinjatur (isem u indirizz)</td><td>Numru taċ-Ċertifikat
2. Pajjiż terz tal-ġbir</td></tr>
<tr><td colspan="2">3. Kunsinnatarju (isem u indirizz)</td><td>4. Awtorità kompetenti</td></tr>
<tr><td colspan="2"></td><td>5. Awtorità lokali kompetenti</td></tr>
<tr><td colspan="2">6. Post tat-tagħbija</td><td>7. Isem u indirizz taċ-Ċentru tal-Ġbir ta' l-isperma</td></tr>
<tr><td colspan="2">8. Mezzi tat-trasport
9. Post u Stat Membru tad-destinazzjoni
11. Numru tas-siġill tal-kontenituri ta' l-isperma</td><td>10. Numru ta' l-approvazzjoni taċ-Ċentru tal-Ġbir ta' l-isperma</td></tr>
<tr><td colspan="3">12. Identifikazzjoni ta' l-isperma
friska jew iffriżata *
(* hassar kif xieraq)</td></tr>
<tr><td>(a) Numru ta' dożi
(d) Identifikazzjoni ta' l-annimal tad-donazzjoni</td><td>(b) Data/i tal-ġbir</td><td>(c) Razza</td></tr>
</table>

13. Jiena is-sottoskritt veteranjarju uffiċjali qrajt u familjari mad-Direttiva tal-Kunsill 88/407/KEE kif emendat u niċċertifika li:

(a) ..... kien ħieles mil-marda tar-rinderpesta
(isem ta' pajjiż ta' l-esportazzjoni)

u tal-ħalq u tas-sieq matul it-12 il-xhar immeddjatament qabel il-kollezzjoni ta' l-isperma għal esportazzjoni u sad-data ta' dispaċċ tagħha u l'ebda vakkinazzjoni kontra dan il-mard ma ħadet posta matul l-istess perjodu;

(b) iċ-ċentru ta' kollezzjoni ta' l-isperma ta' fejn l-isperma li sa tiġi esportata ġiet miġbura kienet:

(i) approvata u sorveljata taħt il-kondizzjonijiet stabbiliti fl-Anness A, il-Kapitolu I tad-Direttiva tal-Kunsill 88/407/KEE;

(ii) operata u sorveljata taħt il-kondizzjonijiet stabbiliti fl-Anness A, il-Kapitolu II tad-Direttiva tal-Kunsill 88/407/KEE;

(iii) matul il-perjodu li jeskadi 30 ġurnata qabel id-data tal-ġbir ta' l-isperma li għandha tkun esportata sa 30 ġurnata minn wara l-ġbir (fil-każ ta' sperma friska sad-data tad-dispaċċ) kienet ħielsa mir-rabbja, t-tuberkoloži, l-bruċelloži, t-traċna u l-plewropnewmonja kontaġġjuża tal-bovini;

(c) l-annimali bovini li qegħdin fiċ-ċentru tal-kollezzjoni ta' l-isperma:

(i) jiġu min merħla u/jew kienu imwielda minn ommijiet ta' bhejjem li jissodisfaw il-kundizzjonijiet fl-Anness B, il-Kapitolu I tad-Direttiva 88/407/KEE;

(ii) ikollhom, qabel id-dħul fl-iżolament, ħarbu it-test meħtieġ mill-Anness B, il-Kapitolu I tad-Direttiva 88/407/KEE;

(iii) issodisfaw il-ħtiġiet tal-iżolaament u l-eżaminazzjoni ta' qabel id-dħul stabbiliti fl-Anness B, il-Kapitolu I tad-Direttiva 88/407/KEE;

(iv) jekk resident għall-inqas minn sena wara li jkun għadda mit-testijiet ta' rutina skond l-Anness B, il-Kapitolu I tad-Direttiva 88/407/KEE;

(d) l-isperma għat-trasport:

(i) ġiet miksuba minn donaturi li kienu residenti fi/fil

.....
(isem tal-pajjiż ta' l-esportazzjoni)

għall-perjodu ta' sitt xhur immedjatament qabel il-ġbir ta' l-isperma għall-esportazzjoni u li tissodisfa l-kundizzjonijiet stabbiliti fl-Anness Ċ tad-Direttiva 88/407/KEE;

(ii) ġiet miksuba minn donaturi li huma:

— qegħdin fiċ-ċentru tal-ġbir ta' l-isperma ta' fejn l-annimali bovini kollha li għandhom 12 il-xhar qabel il-ġbir ta' l-isperma għall-esportazzjoni ġew soġġetti għal; b'riżultati negattivi għal test ta' newtralizzazzjoni ta' serum fuq Elisa għal rinotraċiniti infettuża/vaġiniti vulvo postulari infettuži tal-bovini [1],

jew

— negattiv għal test ta' newtralizzazzjoni tas-serum jew Elisa għal rinotraċiniti infettuża/vaġiniti vulvo postulari infettuži tal-bovini mwettqa fi żmien 12 il-xhar qabel il-ġbir ta' l-isperma għall-esportazzjoni [1],

jew

— seropożittiv li kien ġie mlaqam bi qbil ma l-Anness B, il-Kapitlu II tad-Direttiva tal-Kunsill 88/407/KEE u li tagħat riżultat negativ għal test ta' newtralizzazzjoni ta' serum jew Elisa li ġiet approvata fiċ-ċentru tal-ġbir ta' l-isperma qabel it-tilqim [1],

[1] Ħassar kif xieraq.

jew

— seropożittiv għal test ta' newtralizzazzjoni tas-serum jew Elisa għal rinotraċiti infettuża/vulvovaġiniti infettuża tal-bovini, mhux imlaqma bi qbil ma' l-Anness B, il-Kapitolu II tad-Direttiva tal-Kunsill 88/407/KEE u ta' fejn għall-inqas 10 % ta' kull eġakulazzjoni ta' l-isperma għal esportazzjoni (b'minimu ta' ħames siltiet) tkun ġiet soġġetta għal test tat-tilqim ta' l-annimal jew test tal-iżolament tal-virus b'riżultati negattivi għall-esportazzjoni [1];

(iii) kienet ipproċessata, maħżuna u ittrasportata taħt kundizzjonijiet li jissodisfaw it-termini tad-Direttiva 88/404/KEE.

Magħmul fi/fil- ....., ...

(post) (data)

Timbru [2] uffiċjali

Firma [2]: .....

Isem f'ittri kbar: .....

It-Titolu uffiċjali: .....

[1] Ħassar kif xieraq.

[2] Il-firma u t-timbu jridu jkunu b'kulur differenti minn dak tal-istampar.

PARTI 2

Lista ta' pajjiżi terzi awtorizzati li ju\aw il-mudell taċ-ċertifikat fil-Parti 1 ta' l-Anness D

L-AWSTRALJA

L-ANNESS E

Protokoll għal Elisa kompetitiva ("assaġġ għall-immunosorbent marnut ma' l-enżimi"), eżaminazzjoni bl-użu ta' grupp speċifiku antikorp monoklonali għas-sejba ta' l-antikorpi tal-virus ta' l-islien kaħlani

L-*ELISA* KOMPETITTIVA TA' L-ILSEN KAĦLANI BL'UŻU TA' L-ANTIKORP MONOKLONALI 3–17-A3

L-eżaminazzjoni hija kapaċi li tiżvela l-antikorpigħal kull serotipimagħrufa tal-virus ta' l-ilsien kaħlani (VLK).

Il-prinċipju ta' l-eżaminazzjoni hija l-interruzzjoni tar-reazzjoni bejn antiġenu VLK u l-anrikorp monoklonali speċifiku ta' grupp (3–17-A3) biż-żieda ta' l-eżaminazzjoni tat-taħlit tas-serum. L-antikorpigħal BLV preżenti fl-eżaminazzjoni tas-serum iwaqqaf ir-reattivitá ta' l-antikorp monoklonali (AKM) u r-riżultat fit-tnaqqis fl-iżvilupp tal-kulur mistenni maż-żieda tas-substrata ta' l-enżimi.

MATERJALI U REAGENTI

1. Pjanċi mikrotitri bil-qiegħ ċatt.

2. Antiġeni: ippreparati kif deskritt hawn taħt.

3. *Blocking buffer*: 5 % (w/v) "*Marvel*" trab tal-ħalib imqadded, 0,1 % (v/v) *Tween*—20 (fornut bħala xiropp tal-*polyoxyethylene sorbiton monolaurate*) f'*phosphate-buffered* salina(PBS).

4. Antikorp monoklonali: 3–17-A3 (fornut bħala *hybridoma tissue-culture supernatant*) maħżun f'20 °˜ jew imqadded fil-friża, imħallat 1/50 ma' *blocking buffer* qabel l-użu, dirett konra l-*polypeptide* ta' grupp-speċifiku p7.

5. Konġugat: globulin tal-fenek kontra l-ġurdien (mixrub u elutat) konġogat għall-perossidaži tar-ravanell u miżmum fid-dlam f'temperatura ta' 4 °˜.

6. Substrati u kromoġeni: 0,2 gm ta' diamin ortofenilin (DOF) imdewweb f'*buffer* li fih 2,553 gm ta' l-aċidu ċitriku u 4,574 gm ta' idroġenortofosat di-sodju magħmul sa 500 ml b'ilma distillat, diviż f'alikwoti ta' 25 ml u mi\mum fid-dlam f'temperatura ta' — 20 °˜, bi 12 ml/25 ml ta' perossidu ta' l-idroġenu (30 % w/v) miżjud immedjatament qabel l-użu.

   ORR L-OPD B'ATTENZJONI — ILBES L-INGWANTI TAL-LASTIKU — MUTAĠENU SSUSPETTAT.

7. 1 Aċidu sulfuriku molari: 26,6 ml ta' aċidu mi\jud ma' 473,4 ml ta' l-ilma distillat.

   FTAKAR — DEJJEM ŻID L-AĊIDU MA' L-ILMA, QATT L-ILMA MA' L-AĊIDU.

8. Apparat orbitali li jħawwad.

9. Apparat li jaqra il-pjanċa ta' l-*Elisa* (l-eżaminazzjoni tista' tinqara viżwalment).

PROTOKOLL TA' L-EŻAMINAZZJONI

	H	G	F	E	D	C	B	A	
Fil-bjank			Antiġenu + Konġugat						1
Kontroll AKM			Antiġenu + AKM + Konġugat						2
Kontroll	Antiġenu + Serum Pożittiv + AKM + Konġugat								3
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	
	Sera tat-test								
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/2	1/4	1/8	1/16	4
									5
									6
Sera tat-test									7
									8
									9
									10
									11
									12

PROTOKOLL TA' L-EŻAMINAZZJONI

Kontroll fil-bjank

Ringiela 1 A — H hija l-kontoll fil-bjank li tikkonsisti minn antiġenu u konġugat BLV. Dan jista' jiġi użat biex iħassar il-qari ta' l-*Elisa*.

Kontroll ta' l-AKM

Ringiela 2 A — H hija l-kontroll tal-antikorp monoklonali u tikkonsisti mill-antiġenu BTV antikorp monoklonali u l-konġugat. Dan jirrapreżenta kontrol negativ. It-tifsira tal-qari tad-densitá ottika minn din ir-ringiela ta' kontroll tirrapreżenta 0 % ta' valur ta' l-inibizzjoni.

Kontroll po\itiv

Ringiela 3 A — H hija l-kontroll pożitiv. Dan jikkonsisti mill-antiġenu BLV, ta]lit ta' antiserum pożittiv BLV, AKM u l-konġugat. Dan jinkludi bħala indikatur li it-test qed jaħdem sewwa u l-livelli simili ta' inibizzjoni jridu jiġu miksuba minn test għal test.

Test tas-sera

Fil-format tat-test muri hawn fuq, 18 il-sera jistgħu jiġu testjati fuq rata ta' taħlit ta' 1/2, 1/4, 1/8 u 1/16. Dan jagħti xi indikazzjoni tat-titru ta' l-anrikorptat-test tas-sera. L-iskala tat-taħlit tista' testendi aktar sabiex jinkisbu t-titri ta' punt tat-trufijiet tat-taħlit tas-serum. Alternativament, għal stħarriġ seroloġiku ta' skala-kbira, sera tista' tiġi testjata f'ta]lita waħda (1/4) jew ġew[taħlitiet (1/2 u 1/4) rapidament bħal test tat-tnasġir.

PROĊEDURA

1. Ħallat l-antiġenu BLV ma' konċentrazzjoni titrata minn-qabel fil-PBS, sonikat fil-qosor għal tifrix ta' virus aggregat (jekk sonikaur ma jkunx disponibbli, tintuża pipetta) u \id 50 ml għal bjar kollha tal-pjanċa ta' Elisa. Tektek il-ġnub tal-pjanċa biex jinfirex l-antiġenu.

2. Inkuba f'temperatura ta' 37°˜ għal 60 minuta fuq l-apparat orbitali li jħawwad. A]sel il-pjanċi tlett darbiet billi tfawwar u tiżvojta l-bjar bil-PBS mhux sterili u ixxotta fuq karta xuga.

3. Żid 50 ml ma kull bir bil-*blocking buffer*. Żid sera tat-test u serum pożittiv fil-bjar xieraq u ħallat matul il-pjan'a bl-użu ta' pipetta ta' ħafna kanali. Iżżidx sera għal kontroll fil-bjank jew kontroll tal-AKM.

4. Immedjatament wara ż-żieda tas-sera tat-test, ħallat AKM fil-*blocking buffer* (għal taħlita titrata minn qabel) u \id 50 ml f'kull bir tal-pjanċa apparti milli għall-kontroll fil-bjank.

5. Inkuba f'temperatura ta' 37°˜ għal 60 minuta fuq l-apparat orbitali li jħawwad. Aħsel tlett darbiet bil-PBS u nixxef bix-xuga.

6. Ħallat il-konċentrat tal-fenek kontra l-ġurdien ma' 1/5000 fi *blocking buffer* u żid 50 ml għal kull bir tal-pjanċa.

7. Inkuba f'temperatura ta' 37°˜ għal 60 minuta fuq l-apparat orbitali li jħawwad. Aħsel tlett darbiet bil-PBS u nixxef bix-xuga.

8. Ħoll l-OPD u immedjatament qabel l-użu żid 12 ml ta' 30 % ta' perossidu tal-idroġenu għal kull 25 ml ta' OPD. Įid 50 ml g]al kull bir tal-pjan'a. Ħalli l-kulur jiżviluppa għal bejn wieħed u ieħor 10 minuti u waqqaf ir-reazzjoni bi 1 M ta' l-aċidu sulforiku (50 ml kull bir). Il-kulur irid jiżviluppa fil-bjar tal-kontroll ta' l-AKM u f'dawk il-bjar li jkun fihom sera bl-EBDA antikorpg]al BLV.

9. Eżamina u r-reġistra il-pjanċi jew viżwalment jew bl-użu ta' l-apparat li jaqra bl-ispektrofotometrija.

ANALIŻI TAR-RIŻULTATI

Ikkalkula il-medja tal-qari OD mil-kontrolli AKM. Dan jirrapreżenta 0 % tal-valur ta' l-inibizjoni. Qari tad-diżensitá ottika mis-sera tat-test huma espressi bħala valuri ta' l-inibizzjoni tal-persentaġġ bl-użu tal-formola li ġejja:

$$\text{Persentaġġtal-valur ta' l-inibizzjoni} = 100 - \frac{\text{OD fil-preżenza tas-serum tat-test}}{\text{OD fin-nuqqas tas-serum tat-test}} \times 100$$

Il-valuri ta' l-inibizzjoni akbar minn 40 % f'ta]lita ta' serum ta' 1/4 huma meqjusa po\ittivi. Qari viżwali huwa possibbli b]ala 40 % inibizzjoni hija l-inqas valur fa'ilment diskernibli bl-għajn.

PREPARAZZJONI TA' L-ANTIĠENU ELISA BLV

1. Aħsel 10 *roux* ta' ċelloli konfluenti BHK-21 tlett darbiet permezz tal-medja ta' l-*Ajkla* ta' bla serum u infetta bil-virus tas-serotip l-ilsien kaħlani 1 fil-medja ta' l-*Ajkla* ta' mingħajr-serum.

2. Inkuba f'temperatura ta' 37°C u eżamina kull jum għal effett sitopatiku (esp).

3. Meta esp ikun evidenti fi 80-90 % taċ-ċellola ta' kull *roux*, aħsad il-virus billi ċċaqlaq kull ċellola li tkun għada imwaħħla mill-ħġieġa.

4. Ientrifuga fi 2 000–3 000 rpm sabiex taqqad iċ-ċelloli fi pritkuni.

5. Armi s-supernatant u issospendi mill-ġdid iċ-ċelloli bejn wieħed u ie]or 30 ml ta' PHS li fih 1 % "*Sarkosyl*" u 2 ml floridu fenolmetilsulfoniliku (*lysis buffer*). Dan jista' jwassal li'-elloli jifformaw ġelatina u aktar *lysis buffer* jista' jiġi miżjud biex jitnaqqas dan l-effet.

   NOTA: il-floridu fenilmetilsulfoniliku huwa ta']sara — u\a] b'attenzjoni estrema.

6. Kisser iċ-ċelloli għal 60 sekonda bl-użu tal-probju ultrasoniku fl-amplitudini ta' 30 mikronji.

7. Iċċentrifuga fi 10 000 rpm għal 10 minuti.

8. Aħżen is-supernatant f'temperatura ta' + 4°C u issospendi mill-[did il-pritkuni ta' elloli li jifdal fi 10-20 ml ta' *lysis buffer*.

9. Issonika u iċċara, aħżen is-supernatant f'kull stadju, b'total ta' tlett darbiet.

10. I[bor is-supernatanti u iċċentrifuga fi 24 000 rpm g]al 120 minuta f'temperatura ta' + 4°C fuq kuxxinet ta' aktar minn 5 ml ta' 40 % sukrosju (w/v fi PBS) bl-użu ta' 30 ml iċċentrifuga tubi *Beckmann* u rotant SW 28.

11. Armi is-supernatant, battal it-tubi sewwa u issospendi mill-ġdid il-pritkuni fil-PBS b'sonikazzjoni. Aħżen l-antiġenu f'alikwoti f'temperatura ta' 70°C.

TITRAZZJONI TA' L-ANTIĠENU TA' ELISA BLV

L-anti[enu ta' Eliża ta' l-ilsien kaħlani huwa titrat mill-Elisa indiretta. Ta]lit li jintewa fi tnejn ta' l-antiġenu huwa titrat kontra taħlit kostanti (1/50) ta' l-antikorp monoklonali 3–17-A3. Il-Protokoll huwa kif ġej:

PROĊEDURA

1. Ħallat l-antiġenu BLV fil-PBS matul il-pjanċa mikro-titrat f'serje ta' taħlit li jintewa fi tnejn (50 ml/bir) bl-użu ta' pipetta ta' ħafna kanali.

2. Inkuba għal siegħa f'temperatura ta' 37°C fuq apparat orbitali li jħawwad.

3. Aħsel il-pjanċi tlett darbiet bil-PBS.

4. Żid 50 ml ta' antikorp monoklonali3–17-A3 (imħallat 1/50) għal kull bir ta' panċa mikrotitra.

5. Inkuba għal siegħa f'temperatura ta' 37°C fuq apparat orbitali li jħawwad.

6. Aħsel il-pjanċi tlett darbiet bil-PBS.

7. Żid 50 ml ta' globulin tal-fenek anti-ġurdien konġugat mal-perossidaži tar-ravanell, imħallata ma' konċentrazzjoni ottimali titrata min qabel, għal kull bir ta' pjanċa mikrotrata.

8. Inkuba għal sieg]a f'temperatura ta' 37°C fuq apparat orbitali li jħawwad.

9. Żid substrata u kromoġenu kif deskritt qabel. Waqqaf ir-reazzjoni wara 10 minuti biż-żieda ta' l-aċidu sulforiku Molari 1 (50 ml/bir).

Fis-saġġ kompetitiv, l-antikorp monoklonali għandu jkun f'eċċess, b'hekk taħlita ta' antiġenu tkun magħżula li tidol fuq il-kurva tat-titrazzjoni (mhux fuq ir-reġjun ċatt) li taħgti bejn wieħed u ieħor 0,8 OD wara 10 minuti.

Protokoll għal test ta' immunodiffużjoni aġar-ġelatina għas-sejbien tal-marda ta' l-antikorpi emorraġiċi epiżootiċi.

L-eżaminazzjoni ta' l-aġar-ġelatina immo-diffużjoni isir skond il-protokoll li ġej:

MATERJALI U REAGENTI

1. Anti[enu

   L-antiġenu preċipitanti huwa ppreparat f'kull sistema ta' kultura taċ-ċellola li tappoġġa l-multiplikazzjoni rapida tas-serotipi xierqa tal-virus tal-marda emorraġika epiżootikali. BKH jew ċelloli-vero huma rrakkomandati. L-antigenu huwa preżenti fil-fluwidu supernatanti fl-aħħar tat-tkabbir tal-virus imma jeħtieġ 50- sa 100-konċentrazzjoni li titwi biex tkun effettiva. Dan jista' jinkiseb f'kull proċedura ta' kon'entrazzjoni ta' protein standard; virus fl-antiġenu jista' jkun inattivat biż-żieda ta' 0,3 % (v/v) *beta-propiolactone*.

2. Serum ta' kontroll pożittiv magħruf

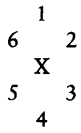
   L-użu ta' serum ta' referenza internazzjonali u l-antiġenu serum standard nazzjonali huwa prodott, standardizzat g]al proporzjoni ottima kontra s-serum ta' referenza internazzjonali, imnixxef-fil-friża u użat bħala s-serum magħruf ta' kontroll f'kull eżaminazzjoni.

3. Serum ta' l-eżaminazzjoni.

PROĊEDURA

1. 1 % agarużju ppreparat fil-borat jew fil-barbitol tas-sodju mewwieti, pH 8,5 sa 9,0 huwa imferra f'dixx *petri* għal fond minimu ta' 3,0 mm.

2. Disinn ta' l-eżaminazzjoni ta' seba' bjar mingħajr umditá, kull wieħed b'diametru ta' 5,0 mm, maqtugħ fl-aġar. Id-disinn jikkonsisti minn bir wie]ed "entrali u sitta irranġati madwaru f'" irku ta' diametru ta' 3 mm.



3. Il-bir ċentrali huwa mimli b'antiġenu standard. Il-bjar periferali 2, 4 u 6 huma mimlijin bis-serum pożitiv magħruf, bjar 1, 3 u 5 huma mimlija bis-sera ta' l-eżaminazzjoni.

4. Is-sistema hija inkubata għal 72 siegħa f'temperatura tal-kamra f'kamra umda magħluqa.

INTERPRETAZZJONI

Is-serum ta' l-eżaminazzjoni ikun pożitiv jekk jifforma linja ta' pre'ipitazzjoni speċifika ma' l-antiġenu u jifforma linja komputa ta' identitá mas-serum tal-kontroll. Is-serum ta' l-eżaminazzjoni huwa negativ jekk ma jifformax linja speċifika ma' l-antiġenu u ma' jgħawwiġx il-linja tas-serum tal-kontroll. Dixxijiet *petri* għandhom ikunu eżaminati kontra sfond skur u bl-użu ta' illuminazzjoni indiretta.