

383D0494

6.10.83

EUROOPAN YHTEISÖJEN VIRALLINEN LEHTI

N:o L 273/37

## KOMISSION PÄÄTÖS,

tehty 27 päivänä syyskuuta 1983,

eläinten terveyttä koskevista edellytyksistä ja terveystodistuksesta naudan- ja  
siansukuisten kotieläinten tuonnissa Kanadasta

(83/494/ETY)

EUROOPAN YHTEISÖJEN KOMISSIO, joka

ottaa huomioon Euroopan talousyhteisön perustamis-  
sopimuksen,ottaa huomioon terveyttä ja eläinten terveyttä koskevista  
ongelmista nautaeläinten ja sikojen sekä tuoreen lihan  
tuonnissa kolmansista maista 12 päivänä joulukuuta  
1972 annetun neuvoston direktiivin 72/462/ETY<sup>(1)</sup>,  
sellaisena kuin se on viimeksi muutettuna direktiivillä  
83/91/ETY<sup>(2)</sup>, ja erityisesti sen 8 artiklan,

sekä katsoo, että

yhteisön eläinlääkärien tarkastuskäynti osoittaa, että  
eläinten terveydentilaa Kanadassa valvoo rakenteeltaan  
hyvä ja hyvin järjestetty eläinlääkintätoimi, joka kykenee  
antamaan riittävät takeet siltä osin kuin on kyse taudeis-  
ta, jotka voivat levitä tuotaessa maahan naudan- ja  
siansukuisia kotieläimiä,Kanadan vastuulliset eläinlääkintäviranomaiset ovat  
lisäksi vahvistaneet, että viimeisten 12 kuukauden ajan  
Kanada on ollut vapaa karjarutosta, suu- ja sorkkatau-  
dista, tarttuvasta naudan keuhkorutosta, bluetongue-  
taudista, afrikkalaisesta sikarutosta, klassisesta sikaru-  
tosta, teschenintaudista (tarttuva sikahalvaus), swine  
vesicular -taudista ja vesicular exanthema -taudista,viimeisten kuuden kuukauden ajan vapaa tarttuvasta  
vesicular stomatitis -taudista ja ettei näitä tauteja vastaan  
ole rokotettu Kanadassa mainittujen jaksojen aikana,Kanadan vastuulliset eläinlääkintäviranomaiset ovat  
sitoutuneet 24 tunnin kuluessa ilmoittamaan teleksillä  
tai sähköllä Euroopan yhteisöjen komissiolle ja jäsen-  
valtioille vahvistuksen edellä mainittujen tautien esiinty-  
misestä tai rokotuspäätöksestä niitä vastaan ja ilmoitta-  
maan kohtuullisessa määräajassa tuberkuloosin tai luo-  
mistaudin hävittämistä koskevien suunnitelmien sekä  
nautaeläinten ja sikojen tai näiden siemennesteen ja  
alkioiden Kanadaan tuontiin sovellettavien sääntöjen  
kaikki muutosehdotukset,Kanadan vastuulliset eläinlääkintäviranomaiset ovat  
sitoutuneet valvomaan todistuksen, joka komission  
päätöksessä vaaditaan ja joka koskee nautaeläinten ja  
sikojen tuontia Kanadasta Euroopan talousyhteisöön,  
myöntämistä ja varmistamaan, että viranomaiset säilyt-  
tävät kaikki todistukset ja vastaavan aineiston vähintään  
12 kuukauden ajan eläinten toimituksesta,eläinten terveyttä koskevat edellytykset ja terveystodis-  
tus on mukautettava kyseisen kolmannen maan omiin  
eläinlääkintäoloihin, ja bluetongue-taudin episootti-  
suuden vuoksi jäsenvaltioiden on toteutettava lisävaro-  
toimia,<sup>(1)</sup> EYVL N:o L 302, 31.12.1972, s. 28<sup>(2)</sup> EYVL N:o L 59, 5.3.1983, s. 34

karanteenin ollessa pakollinen on tarpeen varmistua hyväksymisasiakirjan avulla, että asianmukaiset toimenpiteet on toteutettu, jotta karanteeni voidaan suorittaa tavanomaisesti ottaen erityisesti huomioon määrättyjen asemien eläinsuojien koko; tämä asiakirja on myönnettävä, jos nämä edellytykset täyttyvät; asiakirjassa voidaan myös määrätä, että karanteenin ja kuljetuksen aikana eläimet saavat joutua kosketuksiin ainoastaan samanlaisissa terveydellisissä olosuhteissa olevien eläinten kanssa, ja

tässä päätöksessä määrätty toimenpiteet ovat pysyvän eläinlääkintäkomitean lausunnon mukaiset,

## ON TEHNYT TÄMÄN PÄÄTÖKSEN:

### 1 artikla

1. Jäsenvaltioiden on sallittava kotieläinten tuonti Kanadasta seuraavasti:

- a) jalostukseen ja tuotantoon tarkoitettujen naudansukuiset kotieläimet, jos ne täyttävät vaatimukset, jotka on esitetty liitteen A mukaisessa terveystodistuksessa, jonka on yhdessä hyväksymisasiakirjan kanssa oltava lähetyksen mukana. Tällainen hyväksyminen voidaan kuitenkin rajoittaa tiettyihin jaksoihin vuodesta tai muihin kuin kantaviin naaraisiin,
- b) jalostukseen tarkoitettujen kotieläimienä pidettävät siat, jos ne täyttävät vaatimukset, jotka on esitetty liitteen B mukaisessa terveystodistuksessa, jonka on yhdessä hyväksymisasiakirjan kanssa oltava lähetyksen mukana,
- c) edellä a ja b alakohdassa tarkoitetuissa hyväksymisasiakirjoissa voidaan vaatia, että karanteenin ja kuljetuksen aikana eläimet saavat joutua kosketuksiin ainoastaan sellaisten eläinten kanssa, joiden terveydentila on sama.

2. Jäsenvaltiot eivät saa sallia muiden kuin 1 kohdassa tarkoitettujen naudan- ja siansukuisten kotieläinten tuontia.

3. a) Jos liitteessä A olevan V kohdan 10 alakohdassa ja liitteessä B olevan V kohdan 10 alakohdassa tarkoitetuissa karanteenitiloissa ennen lastaamista tehtävien kokeiden tulokset eivät ole negatiivisia, kaikki eläimet, joista on saatu positiivinen tulos, on kuljetettava pois. Ennen yhden tai useamman näissä karanteenitiloissa edelleen olevan eläimen tuonnin sallimista määräamana olevan jäsenvaltion on yhteistyössä Kanadan eläinlääkintäviranomaisten kanssa varmistettava, että kyseiset eläimet täyttävät edelleen 1 kohdassa tarkoitettujen terveystodistuksen edellytykset.
- b) Kun useampi kuin yksi jäsenvaltio käyttää karanteenitiloja samanaikaisesti, kyseisten jäsenvaltioiden

den on sovittava yhteen a alakohdassa tarkoitettujen toimenpiteiden yhteistyössä Kanadan eläinlääkintäviranomaisten kanssa.

- c) Jäsenvaltioiden on toimitettava komissiolle kertomus vakavista tapahtumista, joita voi sattua karanteenin aikana, ja mainittavat toteutettavat toimenpiteet.

### 2 artikla

1. Kun jäsenvaltion raja-asemalla on direktiivin 72/462/ETY 12 artiklan mukaisesti tehty terveystarkastus (tuontitarkastus) ja kun jokaisen nauta- tai sikälähettyksen mukana olevaan todistukseen on tehty merkintä eläinten hyväksymisestä, eläimet sijoitetaan määräamana olevan jäsenvaltion nimeämään karanteenipaikkaan kyseisen jäsenvaltion määräämiksi ajaksi, jona eläimet joutuvat jäsenvaltion tarpeellisenä pitämään käsittelyyn tai yhteen tai useampaan liitteessä C esitettyyn kokeeseen sen mukaan, mihin lajiin ne kuuluvat. Jos tulokset eivät ole negatiivisia, voidaan toimeenpanna yksityiskohtaisempia lisäkokeita.

2. Määräamana olevan jäsenvaltion on toteutettava kaikki tarvittavat toimenpiteet omien karjojensa tartuntojen estämiseksi.

### 3 artikla

1. Poiketen siitä, mitä 1 artiklan 1 kohdan a alakohdassa määrätään, jäsenvaltiot voivat olla soveltamatta liitteessä A olevan V kohdan 5 alakohdan iii alakohdan toisen luetelmakohdan määräyksiä, kun on kyse suoraan keinosiemennysasemalle vietävistä sonneista. Tällöin sonnit on asetettava karanteeniin tuonnin jälkeen vähintään yhdeksän kuukauden ajaksi. Tänä aikana niille on tehtävä kaksi seulontakoetta agargeeliimmunodiffuusiolla naudan tarttuvan leukoosin toteamiseksi liitteen C määräysten mukaisesti siten, että näiden kahden kokeen väli on neljä kuukautta ja toinen koe on tehty eristysjakson lopussa, jos eläimet ovat vähintään 18 kuukauden ikäisiä.

2. a) Poiketen siitä, mitä 1 artiklan 1 kohdan a alakohdassa määrätään, jäsenvaltiot voivat olla soveltamatta liitteessä A olevan V kohdan 5 alakohdan iii alakohdan toisen luetelmakohdan määräyksiä, kun on kyse sonneista ja muista kuin kantavista naaraista. Tällöin eläinten on oltava vähintään 18 kuukauden ikäisiä liitteessä A olevassa 13 kohdassa tarkoitettulla lastaushetkellä, ja kun kyse on lehmistä ja hiehoista, nämä eivät saa olla kantavia välittömästi ennen liitteessä A olevassa 6 kohdassa määrätyn karanteenin aloittamista eivätkä lastaushetkellä.

- b) Jäsenvaltioiden, jotka soveltavat edellä määrättyä poikkeusta, on sijoitettava eläimet karanteeniin niiden tuontihetkellä, ja eläimille on tehtävä seulontakoe agargeeli-immunodiffuusiolla nautan tarttuvan leukoosin toteamiseksi liitteen C määräysten mukaisesti kaksi kuukautta tuonnin jälkeen sekä uudelleen neljä kuukautta myöhemmin. Kaikki eläimet, joista tässä kokeessa saadaan positiivinen tulos, on teurastettava tai vietävä edelleen.
- c) Jäsenvaltioiden on varmistettava, että määrätyn poikkeuksen nojalla tuodut eläimet voidaan jäljittää kahden vuoden ajan niiden tuonnin jälkeen; tänä aikana niille on tehtävä seulontakoe agargeeli-immunodiffuusiolla nautan tarttuvan leukoosin toteamiseksi liitteen C määräysten mukaisesti.
- d) Jäsenvaltioiden on annettava komissiolle viimeistään 31 päivänä joulukuuta 1985 edellä määrätyn poikkeuksen nojalla tuotuja eläimiä koskeva kertomus.

*4 artikla*

Tätä päätöstä sovelletaan viimeistään 1 päivästä heinäkuuta 1984.

*5 artikla*

Tämä päätös on osoitettu kaikille jäsenvaltioille.

Tehty Brysselissä 27 päivänä syyskuuta 1983.

*Komission puolesta*

Poul DALSGER

*Komission jäsen*

## LIITE A

TERVEYSTODISTUS<sup>(1)</sup>Euroopan talousyhteisöön vietävät jalostukseen tai tuotantoon tarkoitetut  
naudansukuiset kotieläimet

N:o .....

Viejämaa: KANADA

Toimivaltainen ministeriö: KANADAN MAATALOUSMINISTERIÖ

Toimivaltainen myöntävä viranomainen: KANADAN MAATALOUSMINISTERIÖ

I. Eläinten lukumäärä: .....  
(kirjaimin)

II. Eläinten tunnistustiedot

Eläinten lukumäärä	Lehmä, sonni, härkä, hieho tai vasikka	Rotu	Ikä	Viralliset merkit, muut merkit tai tuntomerkit (numero ja paikka ilmoitettava)

III. Eläinten alkuperä

Eläimet tulevat seuraavasta karjasta<sup>(5)</sup>:

Virallinen merkki tai tuntomerkki	Alkuperäkarja (osoite ja maakunta)

IV. Eläinten määräpaikka

Eläimet lähetetään:

.....  
(lähetyspaikka).....  
(määrämaa ja -paikka)

Mistä ne tulevat yhteisön alueelle:

.....  
(yhteisön raja-asema)

Kuljetusväline: lentokone (lento n:o ..... )

laiva (nimi: ..... )<sup>(5)</sup>

..... päivänä ..... kuuta 19..... klo .....

(arvioitu saapumispäivä ja -aika)

Lähettäjän nimi ja osoite: .....

Vastaanottajan nimi ja osoite: .....

## V. Terveystodistus

Minä, allekirjoittanut Kanadan toimivaltaisen keskusviranomaisen nimeämä virkaeläinlääkäri todistan, tutkittuani asiaa ja parhaan tietoni mukaan, että edellä tarkoitetut eläimet ovat seuraavien edellytysten mukaisia:

1. i) Ne on siitetty, ne ovat syntyneet ja kasvaneet Kanadassa eivätkä ne ole koskaan oleskelleet Kanadan ulkopuolella.
  - ii) Ne eivät ole sellaisten eläinten jälkeläisiä, joille bluetongue-taudin toteamiseksi tehty agargeeli-immunodiffuusio on ollut tietyistä positiivinen.
  - iii) Ne tulevat vähintään kolme vuotta vanhasta karjasta.
2. Ne on merkitty virallisesti hyväksytyllä merkillä tai tuntomerkillä II kohdan mukaisesti.
3. Ne eivät kuulu tarttuvien tautien hävittämissuunnitelman mukaisesti hävitettäviin eläimiin.
4. i) Niitä ei ole rokotettu luomistautia, paratuberkuloosia tai anaplasmoosia vastaan.
  - ii) Ne on/niitä ei ole rokotettu naudan virusperäistä ripulia vastaan<sup>(3)</sup> <sup>(5)</sup>.
  - iii) Ne on/niitä ei ole rokotettu naudan tarttuvaa rinotrakeiittia tai pustulaarista vulvovaginiittia vastaan<sup>(3)</sup> <sup>(5)</sup>.
5. Ne tulevat karjasta:
    - i) jota Kanadan eläinlääkintäalan keskusviranomaiset pitävät Kanadan tuberkuloosin hävittämissuunnitelman mukaisesti tuberkuloosista vapaana;
    - ii) jota Kanadan eläinlääkintäalan keskusviranomaiset pitävät Kanadan vuoden 1980 luomistaudin hävittämissuunnitelman mukaisesti luomistaudista vapaana, jonka yhtään eläintä ei ole rokotettu luomistautia vastaan kolmen edeltävän vuoden aikana<sup>(2)</sup> ja jonka missään naudassa ei ole esiintynyt luomistaudin kliinisiä oireita vähintään 6 kohdassa tarkoitettua eristysaikaa välittömästi edeltävien kuuden kuukauden aikana;
    - iii) josta:
      - ei ole allekirjoittaneen tai minkään muun Kanadan valtion virkamiehen tietoon tullut mitään, minkä perusteella voitaisiin päätellä, että karjassa olisi ollut naudan tarttuvaa leukoosia viimeisten kolmen vuoden aikana<sup>(2)</sup> ja omistaja on kirjallisesti vakuuttanut, ettei hänen tiedossaan ole tällaista seikkaa ja lisäksi että Euroopan talousyhteisöön vietäviksi tarkoitetut eläimet ovat syntyneet ja kasvaneet mainitussa karjassa tai ne ovat kuuluneet mainittuun karjaan viimeisten 12 kuukauden ajan<sup>(2)</sup>,
      - viimeisten 12 kuukauden aikana<sup>(2)</sup> kaikista testausajankohtana yli 24 kuukauden ikäisistä siihen karjaan, josta nämä eläimet ovat lähtöisin, kuuluvista naudoista on saatu negatiivinen tulos naudan tarttuvan leukoosin toteamiseksi tehdyssä agargeeli-immunofluoresenssikokeessa<sup>(3)</sup> <sup>(5)</sup> <sup>(6)</sup>;
    - iv) jossa välittömästi ennen 6 kohdassa tarkoitettua eristysaikaa ei ole esiintynyt mitään oireita, jonka perusteella voitaisiin päätellä, että:
      - siinä on esiintynyt pernaruttoa viimeisten 30 päivän aikana;
      - siinä on esiintynyt naudan tarttuvaa rinotrakeiittia tai pustulaarista vulvovaginiittia tai naudan virusperäistä ripulia viimeisten kolmen kuukauden aikana;
      - siinä on esiintynyt raivotautia, kamylobakterioosia (C. Foetus), siimaeliötautia (T. Foetus), Q-kuumetta tai leptospiroosia viimeisten kuuden kuukauden aikana;
      - siinä on esiintynyt patogeenista mykoplasmoosia tai anaplasmoosia viimeisten 12 kuukauden aikana,  
tai
      - siinä on esiintynyt paratuberkuloosia viimeisten 24 kuukauden aikana.
6. Kliinisen tutkimuksen jälkeen, jossa on todettu, ettei eläimissä esiinny minkään tarttuvan taudin oireita, ne on eristetty muista eläimistä niiden alkuperätilalla vähintään 21 päivän ajaksi. Kun on kyse naudoista, joihin sovelletaan päätöksen 83/494/ETY 3 artiklaa, kyseinen aika on vähintään kaksi kuukautta<sup>(5)</sup>.

7. Edellä tarkoitetun 21 päivän eristysajan alussa eläimille on tehty päätöksen 83/494/ETY liitteen C määräysten mukaisesti seuraavassa luetellut kokeet, joiden tulokset ovat olleet negatiivisia; nämä kokeet on tehtävä laboratoriossa. Tämän laboratorion on oltava virallisesti hyväksytty.
- i) yksinkertainen nahansisäinen tuberkuliinikoe;
  - ii) seroagglutinaatio- ja komplementinsitoutumisreaktiotesti naudan tarttuvan luomistaudin toteamiseksi;
  - iii) geeli-immunodiffuusio- ja leukoosin naudan tarttuvan leukoosin toteamiseksi;
  - iv) agargeeli-immunofluoresenssikoe bluetongue-taudin ja naudan tarttuvan hemoglobiinurian toteamiseksi;
  - v) mikroagglutinaatiokoe leptospiroosin toteamiseksi (tyypit pomona, agrippotyphosa, hardjo, sejroe) ja/tai 10 kohdassa tarkoitetun karanteeniajan aikana, kyseisessä kohdassa määrättyjen kokeiden jälkeen, joiden tulos on negatiivinen (lukuun ottamatta kokeita leptospiroosin toteamiseksi), dihydrostreptomysiiniruiske (25 milligrammaa elopainokiloa kohti) <sup>(3)</sup> <sup>(5)</sup>;
  - vi) seroneutraalisaatiokoe naudan tarttuvan rinotrakeiitin/pustulaarisen vulvovaginiitin toteamiseksi, jos eläimiä ei ole rokotettu tätä tautia vastaan <sup>(5)</sup>;
  - vii) seroneutraalisaatiokoe naudan virusperäisen ripulin toteamiseksi eläimille, joita ei ole rokotettu tätä tautia vastaan <sup>(5)</sup>;
  - viii) lypsäville lehmille kliininen tutkimus utaretulehduksen toteamiseksi ja maidon analyysi tulehduksen tai spesifisen patogeenisen pieneliön toteamiseksi.
8. Eläimille 7 kohdassa määrättyjen kokeiden ja toimenpiteiden sekä 21 päivän (niiden eläinten osalta, joihin sovelletaan päätöksen 83/494/ETY 3 artiklan 2 kohdan määräyksiä <sup>(3)</sup> <sup>(5)</sup>, kahden kuukauden) eristysajan jälkeen niissä ei ole tutkimuksessa todettu tarttuvan taudin oireita, ektoparasiitteja tai kiiliaisen aiheuttamia paiseita.
9. Edellä 8 kohdassa tarkoitettua tutkimusta seuraavien 24 tunnin kuluessa ne on kuljetettu suoraan 10 kohdassa tarkoitettuihin lastauskaranteenitiloihin siten, että ne eivät ole kosketuksissa muihin sorkkaeläimiin kuin komission päätöksen 83/494/ETY edellytykset täyttäviin nautaeläimiin tai sikoihin, kulkuneuvoissa, jotka on puhdistettu ja desinfioitu Kanadan eläinlääkintäviranomaisen valvonnassa.
10. Niitä on pidetty virallisesti hyväksytyissä lastauskaranteenitiloissa ja Kanadan eläinlääkintäviranomaiset ovat valvoneet niitä siihen asti, kun 7 kohdassa tarkoitetut kokeet <sup>(4)</sup> on toistettu ja niistä on saatu negatiivinen tulos. Leptospiroosin toteamiseksi tehdyt kokeet on/ei ole uusittu <sup>(3)</sup> <sup>(5)</sup>. Kokeita ei aloiteta, ennen kuin eläimet ovat olleet karanteenitiloissa vähintään 21 päivää, ja ne tekee, jos laboratoriota tarvitaan, virallisesti hyväksytty laboratorio. Kun on kyse nautoista, joihin sovelletaan päätöksen 83/494/ETY 3 artiklaa, tämä ajanjakso on 30 päivää <sup>(5)</sup>. Tuberkuliinisti on pantu alulle ..... (pistospäivä).
11. Karanteeniajan päätyttyä ja 10 kohdassa tarkoitettujen kokeiden tekemisen jälkeen eläimille on tehty kliininen tutkimus, jossa on todettu, ettei niissä ole tarttuvien tautien oireita, ja ne on viety suoraan lastauspaikkaan Euroopan talousyhteisöön vientiä varten siten, että ne eivät ole kosketuksissa muihin sorkkaeläimiin kuin komission päätöksen 83/494/ETY edellytykset täyttäviin nautaeläimiin ja sikoihin, kulkuneuvoissa, jotka on puhdistettu ja desinfioitu Kanadan eläinlääkintäviranomaisten valvonnassa.
12. Naaraspuoliset eläimet, joihin sovelletaan päätöksen 83/494/ETY 3 artiklan 2 kohdan määräyksiä, eivät olleet kantavia välittömästi ennen 6 kohdassa määrättyä karanteeniin asettamista. Lastaushetkellä kaikki eläimet, joihin sovelletaan tätä poikkeusta, ovat vähintään 18 kuukauden ikäisiä eivätkä ole kantavia, kun on kyse naaraista <sup>(3)</sup> <sup>(5)</sup>.
13. Lastauspaikassa eläimet on siirretty alukseen tai ilma-alukseen, joka on puhdistettu ja desinfioitu Kanadan eläinlääkintäviranomaisen valvonnassa, eikä kyseiseen alukseen tai ilma-alukseen ole lastattu muita sorkkaeläimiä kuin komission päätöksen 83/494/ETY edellytykset täyttäviä nautaeläimiä tai sikoja.

#### VI. Tämä todistus on voimassa 21 päivää lastauspäivästä

Tehty .....

(paikka) (lastauspäivä)

Leima

.....

(virkaeläinlääkärin allekirjoitus)

.....

(nimi suuraakkosin ja pätevyys)

#### VII. Lentokoneen tai laivan kapteenin vakuutus

Minä, allekirjoittanut lentokapteeni (lento n:o.....)/laivan kapteeni (nimi.....)<sup>(5)</sup> vakuutan, että II kohdassa tarkoitettut eläimet ovat olleet ..... (Kanada) ja ..... (Euroopan yhteisö) välisen lento/laivamatkan ajan<sup>(5)</sup> lentokoneessa/laivassa<sup>(5)</sup> ja ettei ilma-alus/alus<sup>(5)</sup> ole poikennut Kanadan ulkopuolisessa satamassa tai lentokentällä<sup>(5)</sup> tämän maan ja Euroopan yhteisön välillä.

Tehty .....

(saapumissatama tai -lentokenttä) (saapumispäivä)

Leima

.....

(lentokapteenin tai laivan kapteenin allekirjoitus)

.....

(nimi suuraakkosin ja pätevyys)

#### VIII. Todistus tuontiterveystarkastuksesta

Minä, allekirjoittanut raja-aseman ..... (paikka) ..... (jäsenvaltio) vastuullinen virkaeläinlääkäri todistan, että II kohdassa kuvatuille eläimille on tehty neuvoston direktiivin 72/462/ETY 12 artiklan 1 ja 2 kohdan määräysten mukaisesti terveystarkastus (maahantuontitarkastus) niiden tullessa yhteisön alueelle ja että niiden saapuminen on sallittu/kielletty<sup>(5)</sup>.

Tehty .....

(raja-asema) (terveystarkastuksen päivämäärä)

Leima

.....

(virkaeläinlääkärin allekirjoitus)

.....

(nimi suuraakkosin ja pätevyys)

- (1) Terveystodistus voidaan antaa vain samassa laivassa tai lentokoneessa kuljetettaville eläimille, joilla on sama vastaanottaja.
- (2) Tämän määräajan on täytyttävä ennen päivää, jona eristys alkuperätilalla toteutuu.
- (3) Tuovan jäsenvaltion on ilmoitettava oikea vaihtoehto.
- (4) Edellä 7 kohdassa tarkoitettujen kokeiden ja 10 kohdassa tarkoitettujen kokeiden välisen ajan on oltava vähintään 30 päivää; tuberkuliinikokeiden ensimmäisen ja toisen pistoksen välisen ajan on kuitenkin oltava vähintään 42 päivää.
- (5) Tarpeeton viivataan yli.
- (6) Viivataan yli, jos on myönnetty 3 artiklan mukainen poikkeus.

## LIITE B

## TERVEYSTODISTUS (1)

Euroopan talousyhteisöön vietävät jalostukseen tai tuotantoon tarkoitetut siansukuiset kotieläimet

N:o .....

Viejämaa: KANADA

Toimivaltainen ministeriö: KANADAN MAATALOUSMINISTERIÖ

Toimivaltainen myöntäviviranomainen: KANADAN MAATALOUSMINISTERIÖ

I. Eläinten lukumäärä: .....

(kirjaimin)

II. Eläinten tunnistustiedot

Eläinten lukumäärä	Sukupuoli	Rotu	Ikä	Viralliset merkit, muut merkit tai tuntomerkit (numero ja paikka ilmoitettava)

III. Eläinten alkuperä

Eläimet tulevat seuraavasta karjasta (5):

Virallinen merkki tai tuntomerkki	Alkuperäkarja (osoite ja maakunta)

IV. Eläinten määräpaikka

Eläimet lähetetään: .....

(lähetyspaikka)

.....

(määrämaa ja määräpaikka)

Mistä ne tulevat yhteisön alueelle:

.....

Kuljetusväline: lentokone (yhteisön raja-asema) (lento n:o ..... )  
 laiva (nimi: ..... ) (5)

..... päivänä ..... kuuta 19..... klo .....

(arvioitu saapumispäivä ja -aika)

Lähtetäjän nimi ja osoite: .....

.....

Vastaanottajan nimi ja osoite: .....

.....



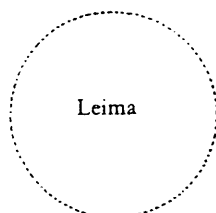
## V. Terveystodistus

Minä, allekirjoittanut Kanadan toimivaltaisen keskusviranomaisen nimeämä virkaeläinlääkäri todistan, tutkittuani asiaa ja parhaan tietoni mukaan, että edellä tarkoitetut eläimet ovat seuraavien edellytysten mukaiset:

1. Ne ovat olleet Kanadan alueella vähintään kuusi kuukautta ennen lastausta tai syntymästään asti.
2. Ne on merkitty virallisesti hyväksytyllä merkillä tai II kohdan mukaisella tuntomerkillä.
3. Ne eivät kuulu tarttuvien tautien hävittämisohjelman mukaisesti hävitettäviin eläimiin.
4. i) Niitä ei ole rokotettu sikojen luomistautia, Aujeszkyntautia tai sikainfluenssaa vastaan.  
ii) Ne on (niitä ei ole) rokotettu leptospiroosia vastaan<sup>(3)</sup> <sup>(5)</sup>.
5. Ne tulevat karjasta:
  - i) jota Kanadan eläinlääkintäalan keskusviranomaiset pitävät vapaana luomistaudista;
  - ii) jossa välittömästi ennen 6 kohdassa tarkoitettua eristysaikaa ei ole esiintynyt mitään oiretta, jonka perusteella voitaisiin päätellä, että:
    - siinä olisi esiintynyt pernaruttoa viimeisten 30 päivän aikana;
    - siinä olisi esiintynyt raivotautia, Aujeszkyntautia, sikojen punatautia, virusperäistä enkefalomyeliittiä (vomiting & wasting disease), leptospiroosia tai aivastustautia viimeisten 6 kuukauden aikana,
    - siinä olisi esiintynyt sikojen tarttuvaa suolistotulehdusta (TGE) tai sikainfluenssaa viimeisen 12 kuukauden aikana;
  - iii) joista on viimeisten kuuden kuukauden kuluessa saatu negatiivinen tulos 10 prosentin verinäytteestä, joka on otettu täysikasvuista jalostukseen tarkoitetuista eläimistä ja josta on tehty sikojen tarttuvan suolistotulehduksen osalta seroneutralisaatiokoe ja/tai sikainfluenssan osalta hemagglutinaatio-inhibitiokoe<sup>(2)</sup> <sup>(3)</sup> <sup>(5)</sup>.
6. Kliinisen tutkimuksen jälkeen, jossa on todettu, ettei eläimissä esiinny minkään tarttuvan taudin oireita, ne on eristetty muista eläimistä niiden alkuperätilalla vähintään 21 päivän ajaksi.
7. Edellä tarkoitetun 21 päivän eristysajan aikana eläimille on tehty päätöksen 83/494/ETY liitteen C määräysten mukaisesti seuraavassa luetellut kokeet, joiden tulokset ovat olleet negatiivisia. Jos nämä kokeet on tehtävä laboratoriossa, sen on oltava virallisesti hyväksytty.
  - i) yksinkertainen nahansisäinen tuberkuliinikoe lintutuberkuloosin toteamiseksi;
  - ii) seroagglutinaatio- ja komplementinsitoutumistesti luomistaudin toteamiseksi;
  - iii) seroneutralisaatiokoe Aujeszkyntaudin toteamiseksi;
  - iv) seroneutralisaatiokoe sikojen tarttuvan suolistotulehduksen toteamiseksi;
  - v) hemagglutinaatio-inhibitiokoe sikainfluenssan toteamiseksi;
  - vi) mikroagglutinaatiokoe leptospiroosin toteamiseksi [tyypit L. Pomona, agrippotyphosa, hardjo, ja tarassovi (Hyos)] ja/tai 10 kohdassa tarkoitettua karanteenian ajan aikana, kyseisessä kohdassa määrättyjen kokeiden jälkeen, joiden tulos on negatiivinen (lukuun ottamatta kokeita leptospiroosin toteamiseksi), dihydrostreptomysiiniruiske (25 milligrammaa elopainokiloa kohti)<sup>(3)</sup> <sup>(5)</sup>.
8. Eläimille 7 kohdassa määrättyjen kokeiden ja 21 päivän eristysajan jälkeen niissä ei ole tutkimuksessa todettu tarttuvan taudin oireita, ektoparasiitteja tai kiilialaisen aiheuttamia paiseita.

9. Edellä 8 kohdassa tarkoitettua tutkimusta seuraavien 24 tunnin kuluessa ne on kuljetettu suoraan 10 kohdassa tarkoitettuihin lastauskaranteenitiloihin siten, että ne eivät ole kosketuksissa muihin sorkkaeläimiin kuin komission päätöksen 83/474/ETY edellytykset täyttäviin nautaeläimiin tai sikoihin, kulkuneuvoissa, jotka on puhdistettu ja desinfioitu Kanadan eläinlääkintäviranomaisen valvonnassa.
10. Niitä on pidetty virallisesti hyväksytyissä lastauskaranteenitiloissa ja Kanadan eläinlääkintäviranomaiset ovat valvoneet niitä, kunnes 7 kohdassa tarkoitettut kokeet <sup>(4)</sup> on toistettu ja niistä on saatu negatiivinen tulos. Leptospiroosin toteamiseksi tehdyt kokeet on/ei ole uusittu <sup>(3)</sup> <sup>(5)</sup>. Kokeita ei aloiteta, ennen kuin eläimet ovat olleet karanteenitiloissa vähintään 21 päivää, ja ne tekee, jos laboratorioita tarvitaan, virallisesti hyväksyty laboratorio. Tuberkuliinitesti on pantu alulle (pistospäivä).
11. Karanteeniajan päätyttyä ja 10 kohdassa tarkoitettujen kokeiden tekemisen jälkeen eläimille on tehty kliininen tutkimus, jossa on todettu, ettei niissä ole tarttuvien tautien oireita, ja ne on viety suoraan lastauspaikkaan Euroopan talousyhteisöön vientiä varten siten, että ne eivät ole kosketuksissa muihin sorkkaeläimiin kuin komission päätöksen 83/494/ETY edellytykset täyttäviin nautaeläimiin ja sikoihin, kulkuneuvoissa, jotka on puhdistettu ja desinfioitu Kanadan eläinlääkintäviranomaisen valvonnassa.
12. Lastauspaikassa eläimet on siirretty laivaan tai lentokoneeseen paikkaan, joka on puhdistettu ja desinfioitu Kanadan eläinlääkintäviranomaisen valvonnassa eikä kyseiseen laivaan tai lentokoneeseen ole lastattu muita sorkkaeläimiä kuin komission päätöksen 83/494/ETY edellytykset täyttäviä nautaeläimiä tai sikoja; jos käytetään häkkeitä, ne on rakennettava uusista materiaaleista.

#### VI. Tämä todistus on voimassa 21 päivää lastauspäivästä.



Tehty .....

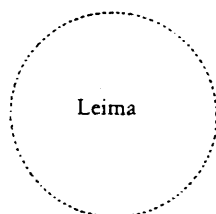
(paikka) (lastauspäivä)

.....  
(virkaeläinlääkärin allekirjoitus)

.....  
(nimi suuraakkosin ja pätevyys)

#### VII. Lentokoneen tai laivan kapteenin vakuutus

Minä, allekirjoittanut lentokapteeni (lento n:o.....)/laivan kapteeni (nimi.....)<sup>(5)</sup> vakuutan, että II kohdassa tarkoitettut eläimet ovat olleet ..... (Kanada) ja ..... (Euroopan yhteisö) välisen lento/laivamatkan ajan <sup>(5)</sup> lentokoneessa/laivassa <sup>(5)</sup> ja ettei ilma-alus/alus <sup>(5)</sup> ole poikennut Kanadan ulkopuolisessa satamassa tai lentokentällä <sup>(5)</sup> tämän maan ja Euroopan yhteisön välillä.



Tehty .....ssa/ssä .....päivänä .....kuuta 19..,

(saapumissatama tai -lentokenttä)

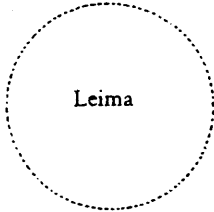
(saapumispäivä)

.....  
(lentokapteenin tai laivan kapteenin allekirjoitus)

(nimi suuraakkosin ja pätevyys)

## VIII. Todistus tuontiterveystarkastuksesta

Minä, allekirjoittanut raja-aseman ..... (paikka) .....(jäsenvaltio) vastuullinen virkaeläinlääkäri todistan, että II kohdassa kuvatuille eläimille on tehty neuvoston direktiivin 72/462/ETY 12 artiklan 1 ja 2 kohdan määräysten mukaisesti terveystarkastus (saapumistarkastus) niiden tullessa yhteisön alueelle ja että niiden saapuminen on sallittu/kielletty<sup>(5)</sup>.



Tehty .....

(raja-asema) (terveystarkastuksen päivämäärä)

.....

(virkaeläinlääkäriin allekirjoitus)

.....

(nimi suuraakkosin ja pätevyys)

- (1) Terveystodistus voidaan antaa vain samassa laivassa tai lentokoneessa kuljetettaville eläimille, joilla on sama vastaanottaja.
- (2) Tämän määräajan on täyttyttävä ennen päivää, jona eristys alkuperätilalla toteutuu.
- (3) Tuovan jäsenvaltion on ilmoitettava oikea vaihtoehto.
- (4) Edellä 7 kohdassa tarkoitettujen kokeiden ja 10 kohdassa tarkoitettujen kokeiden välisen ajan on oltava vähintään 30 päivää; tuberkuliinikokeiden ensimmäisen ja toisen pistoksen välisen ajan on kuitenkin oltava vähintään 42 päivää.
- (5) Tarpeeton viivataan yli.

## LIITE C

## I. Pöytäkirjat liitteessä A olevan V osaston 7 ja 10 kohdassa tarkoitetuille naudansukuisille eläimille tehtävien kokeiden materiaaleja ja menettelyjä koskevasta vakioinnista

1. *Tuberkuloosi*

Yksinkertainen nahansisäinen tuberkuliin testi naudatuberkuliinilla on tehtävä eläinten terveyteen liittyvistä ongelmista yhteisön sisäisessä nautaeläinten ja sikojen kaupassa 26 päivänä kesäkuuta 1964 annetun neuvoston direktiivin 64/432/ETY<sup>(1)</sup>, sellaisena kuin se on viimeksi muutettuna neuvoston direktiivillä 82/893/ETY<sup>(2)</sup>, liitteen B mukaisesti.

2. *Luomistauti*

Sero-agglutinaatiokoe ja komplementinsitoutumisreaktiotesti on tehtävä neuvoston direktiivin 64/432/ETY liitteessä C olevan A ja B luvun mukaisesti.

3. *Naudan tarttuva leukoosi*

Geeli-immunodiffuusiokoe on tehtävä neuvoston direktiivin 64/432/ETY liitteen G mukaisesti.

4. *Bluetongue-tauti*

Agargeeli-immunofluoresenssikoe on tehtävä seuraavan menettelyn mukaisesti:

## i) Antigeeni:

Saostava antigeeni on valmistettava soluviljelyjärjestelmässä, joka edistää bluetongue-taudin vertailuviruskannan nopeaa jakautumista. Suositellaan BHK- tai Vero-soluja. Antigeeni esiintyy viruskasvun lopussa pintanesteessä, mutta ollakseen tehokas se on väkevöitävä pitoisuudeltaan 50–100-kertaiseksi, johon päästään millä tahansa proteiinien väkevöinnin standardimenetelmällä. Antigeenivirus voidaan inaktivoida lisäämällä 0,3% (V/V) beetapropiolaktonia.

## ii) Koeseerumi.

## iii) Tunnettu positiivinen tarkastusseerumi:

on standardoitava suhteessa kansainväliseen vertailuseerumiin optimaalisen suhteen aikaansaamiseksi. Antiseerumista ja kansainvälisestä vertailuantigeenista tehdään kansallinen standardiseerumi, joka kylmäkuivataan ja jota käytetään kaikkien kokeiden tunnettuna tarkastusseerumina.

## iv) Agargeeli:

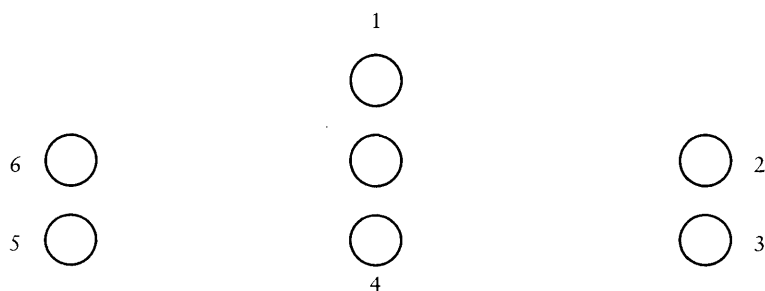
valmistetaan 1%:sta agarosia boraatti- tai natriumbarbitolipuskurissa, pH 8,5–9,0, ja kaadetaan sitä petrimaljaan, kunnes agarosia on vähintään 3,00 mm:n kerros.

## v) Kokeita varten agariin koverretaan seitsemän kosteudesta vapaata syvennystä; tässä kuviossa keskelle tulee yksi syvennys ja sen ympärille 6 syvennystä.

Syvennysten halkaisija: 5 millimetriä.

Keskellä ja ympärillä olevien syvennysten etäisyys toisistaan: 3 millimetriä.

## vi) Keskimäinen syvennys täytetään standardiantigeenilla. Ympärillä olevat syvennykset 2, 4 ja 6 täytetään tunnetulla positiivisella seerumilla, syvennykset 1, 3 ja 5 koeseerumeilla.



<sup>(1)</sup> EYVL N:o 121, 29.7.1964, s. 1977/64

<sup>(2)</sup> EYVL N:o L 378, 31.12.1982, s. 57

- vii) Inkuboidaan 72 tuntia huoneenlämmössä suljetussa kosteassa kammiossa. Koeseerumi on positiivinen, jos se muodostaa spesifisen presipitaatioviivan antigeenin kanssa ja jos tämä viiva on yhtenevä kontrolliseerumin viivan kanssa. Koeseerumi on negatiivinen, jos se ei muodosta spesifistä presipitaatioviivaa antigeenin kanssa ja jos se ei taivuta kontrolliseerumin viivaa. Maljat on tutkittava tummaa taustaa vasten ja epäsuorassa valossa.

#### 5. Naudan tarttuva hemoglobinuria

Agargeeli-immunofluoresenssikoe on tehtävä seuraavan menettelyn mukaisesti.

i) Antigeeni:

Saostava antigeeni on valmistettava soluviljelyjärjestelmässä, joka edistää naudan tarttuvan hemoglobinuriaviruksen (New Jersey-kanta) nopeaa jakautumista. Suositellaan BHK- tai Vero-soluja. Antigeeni esiintyy viruskasvun lopussa pintanesteessä, mutta ollakseen tehokas se on väkevöitävä pitoisuudeltaan 50–100 kertaiseksi. Tähän päästään millä tahansa proteiinien väkevöinnin standardimenetelmällä. Antigeenivirus voidaan inaktivoida lisäämällä 0,3% (V/V) beetapropiolaktonia.

ii) Koeseerumi.

iii) Tunnettu positiivinen tarkastusseerumi:

on standardoitava suhteessa kansainväliseen vertailuseerumiin optimaalisen suhteen aikaansaamiseksi. Antiseerumista ja kansainvälisestä vertailuantigeenista tehdään kansallinen standardiseerumi, joka kylmäkuivataan ja jota käytetään kaikkien kokeiden tunnettuna tarkastusseerumina.

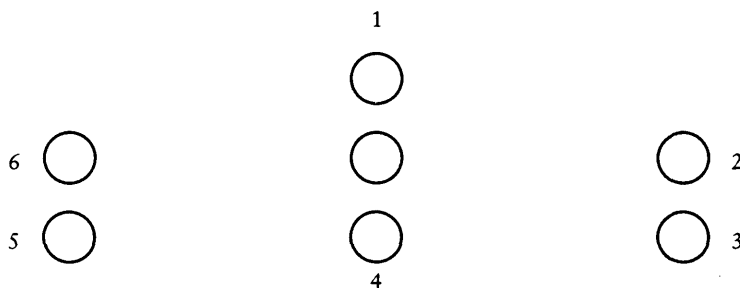
iv) Agargeeli:

valmistetaan 1%:sta agarosia boraatti- tai natriumbarbitolipuskurissa, pH 8,5–9,0, ja kaadetaan sitä petrimaljaan, kunnes agarosia on vähintään 3,00 mm:n kerros.

v) Kokeita varten agariin koverretaan seitsemän kosteudesta vapaata syvennystä; tässä kuviossa keskelle tulee yksi syvennys ja sen ympärille 6 syvennystä. Syvennysten halkaisija: 5 millimetriä.

Keskellä ja ympärillä olevien syvennysten etäisyys toisistaan: 3 millimetriä.

vi) Keskimmäinen syvennys täytetään standardiantigeenilla. Ympärillä olevat syvennykset 2, 4 ja 6 täytetään tunnetulla positiivisella seerumilla, syvennykset 1, 3 ja 5 koeseerumeilla.



- vii) Inkuboinnin on oltava 72 tuntia huoneenlämmössä kosteassa kammiossa. Koeseerumi on positiivinen, jos se muodostaa spesifisen presipitaatioviivan antigeenin kanssa ja jos tämä viiva on yhtenäinen kontrolliseerumin viivan kanssa. Koeseerumi on negatiivinen, jos se ei muodosta spesifistä presipitaatioviivaa antigeenin kanssa ja jos se ei taivuta kontrolliseerumin viivaa. Petrimaljat on tutkittava tummaa taustaa vasten ja epäsuorassa valossa.

#### 6. Leptospiroosi

Mikroagglutinaatiokoe on tehtävä seuraavan menettelyn mukaisesti:

Viljelyt:

on kasvatettava Korthofin tai EMJH-kasvualustalla 30 °C:n lämpötilassa.

Antigeeni:

sisältää  $2 \times 10^8$  eliötä viljelyalustamillilitraa kohti.

Menettely:

Tasapohjaisiin mikrotitrausmaljoihin pannaan yhtä paljon antigeeniä ja seerumia, sekoitetaan ja inkuboidaan 30 °C:ssa kahden tunnin ajan tai 37 °C:ssa 1–1 1/2 tunnin ajan; tulokset luetaan pienjännitevalaistuksessa tummaa taustaa vasten 60–100-kertaisella suurennoksella.

Tulkinta:

Tulos on negatiivinen, jos 1/100:n laimennoksella agglutinaatio on alle 50%.

### 7. Naudan tarttuva rinotrakeiitti/pustulaarinen vulvovaginiitti

Seroneutralisaatiokoe on tehtävä seuraavan menettelyn mukaisesti.

Erityyppisten virusten vakioseroneutralisaatiokoe tehdään mikrotitrauksella käyttäen MDBK- tai muita sopivia soluja. Colorado-, Oxford- tai muuta vertailuviruskantaä käytetään annostuksella 100 TCID<sub>50</sub> / 0,025 ml; inaktivoitua, laimentamattomat seeruminäytteet sekoitetaan yhtä suuren (0,025 ml) virussuspension määrän kanssa. Virus-seerumiseoksia inkuboidaan yksi tunti 37 °C:ssa mikrotitrausmaljoissa ennen MDBK-solujen lisäämistä. Solupitoisuuden on riitettävä muodostamaan yksikerroksinen viljelmä 24 tunnin kuluttua.

Seerumi:

Kaikki seerumit inaktivoidaan 56 °C:ssa 30 minuutin ajan ennen käyttöä.

Suoritettavat tarkastukset:

- viruksen tarttuvuustarkastus
- seerumin myrkyllisyystarkastus
- siirrostamattomien soluviljelyjen tarkastus
- vertailuantiseerumit.

Tulkinta:

Neutralointikokeen tulokset ja käytetyn viruksen pitoisuus kirjataan sen jälkeen, kun niitä on inkuboitu 37 °C:ssa 3–6 päivää. Seerumi todetaan negatiiviseksi, jos laimennoksella 1:2 (laimentamaton seerumi) ei tapahdu neutraloitumista.

### 8. Naudan virusperäinen ripuli

Seerumin neutralointikoe on tehtävä seuraavan menettelyn mukaisesti:

Käytetään mikrotitrauslaitteistoa ja erityyppisille viruksille soveltuvaa vakioseroneutralisaatiomenetelmää sekä soveltuvia rutiinilisätyjä nautasoluja (esim. naudan nenäkuorikon soluja, jotka kuvataan julkaisussa McClurkin et al., 1974, Arch. ges. Virusforsch., 45, 285–289).

On tärkeää, että kaikki reagenssit ja solut ovat vapaita satunnaisesti esiintyvistä soluista tuhoamattomista BVD/MD-viruksista. Koevirusta, joka voi olla mistä tahansa sopivasta soluista tuhoavasta vertailukannasta (kuten NADL-kanta) käytetään pitoisuutena keskimäärin 100 infektoitunutta soluviljelyannosta 0,05 ml:aa kohti. Inaktivoituihin seerumilaimennoksiin sekoitetaan yhtä paljon virussuspensiota (0,05 ml) ja virus-seerumiseoksia inkuboidaan yhden tunnin ajan 37 °C:ssa ennen yhtä suurten solususpensiomäärien lisäämistä. Solupitoisuuden on riitettävä muodostamaan yksikerroksinen viljelmä kahden päivän kuluttua.

Seerumit inaktivoidaan 56 °C:ssa 30 minuutin ajan ennen koetta.

Aiheelliset tarkastukset on tehtävä:

- viruksen tarttuvuuskoee,
- seerumin myrkyllisyystarkastus,
- siirrostamattomien soluviljelyjen tarkastus,
- vertailuantiseerumit.

Tulkinta:

NADL-kannan viruksen koetulos on otollisinta lukea sen jälkeen, kun on inkuboitu viisi päivää 37 °C:ssa; keskimäärin 1/10 neutralointipitoisuuden katsotaan osoittavan aiempaan akuuttiin tartuntaan liittyvää immuunireaktiota.

### 9. Maitomääritys utaretulehduksen toteamiseksi

Maitomääritys on tehtävä neuvoston direktiivin 64/432/ETY, sellaisena kuin se on viimeksi muutettuna neuvoston direktiivillä 82/893/ETY, liitteen D mukaisesti.

II. Pöytäkirjat liitteessä B olevan V osaston 7 ja 10 kohdassa tarkoitetuille sioille tehtävien kokeiden materiaaleja ja menettelyjä koskevasta vakioinnista

1. *Tuberkuloosi*

Yksinkertainen nahansisäinen tuberkuliin testi lintutuberkuliinilla on tehtävä neuvoston direktiivin 64/432/ETY, sellaisena kuin se on muutettuna neuvoston direktiivillä 82/893/ETY, liitteen B mukaisesti kuitenkin siten, että pistospaikka on korvantakainen löysä nahka.

2. *Luomistauti*

Seroagglutinaatio ja komplementinsitoutumisreaktiotesti on tehtävä neuvoston direktiivin 64/432/ETY, sellaisena kuin se on viimeksi muutettuna neuvoston direktiivillä 82/893/ETY, liitteessä C olevan A ja B luvun mukaisesti.

3. *Aujeszkyyn tauti*

Seroneutralisaatiokoe on tehtävä seuraavan menettelyn mukaisesti.

Erityyppisten virusten vakioseroneutralisaatiokoe tehdään mikrotitrauksella Verosolujärjestelmän tai muiden herkkien solujärjestelmien avulla. Aujeszkyyn taudin virusta käytetään annoksena 100 TCID<sub>50</sub> / 0,025 ml; inaktivoitua laimentamattomat seeruminäytteet sekoitetaan yhtä suureen määrään (0,025 ml) virussuspensiota. Virus-seerumiseoksia inkuboidaan tunnin ajan 37 °C:ssa mikrotitrausmaljoissa ennen sopivien solujen lisäämistä. Soluja käytetään sellaisena pitoisuutena, että ne muodostavat 24 tunnin kuluttua ehjän yksikerroksisen viljelmän. Solususpensiota kaadetaan 0,05 ml jokaiseen syvennykseen.

Seerumi:

Kaikki seerumit inaktivoidaan 56 °C:ssa 30 minuutin ajan ennen käyttöä.

Suoritettavat tarkastukset:

- viruksen tarttuvuustarkastus
- seerumin myrkyllisyystarkastus
- siirrostamattomien soluviljelyjen tarkastus
- vertailuantiseerumit

Tulkinta:

Neutralointikokeen tulokset ja käytetyn viruksen pitoisuus kirjataan sen jälkeen, kun on inkuboitu 3–7 päivää 37 °C:ssa. Negatiivisena pidetään alle 1:2:n seerumipitoisuuksia.

4. *Sikojen tarttuva suolistotulehdus*

Seroneutralisaatiokoe on tehtävä seuraavan menettelyn mukaisesti.

Tehtävä koe on erityyppisten virusten vakioseroneutralisaatiokoe. Seerumi-virusseokset siirrostetaan varhain yhtyneisiin yksikerroksisiin sian primaareihin munuaissoluviljelmiin tai muihin sian herkkiin solujärjestelmiin. Sikojen tarttuvan suolistotulehduksen virusta käytetään annoksena 100 TCID<sub>50</sub> tilavuusyksikköä kohti; inaktivoitua (laimentamattomat) seeruminäytteet sekoitetaan yhtä suureen määrään virussuspensiota.

Virus-seerumiseoksia inkuboidaan 30–60 minuuttia 37 °C:ssa ja ne siirrostetaan soveltuviin sian primaareihin munuaissoluihin tai muihin soveltuviin sian soluihin.

Seerumi:

Kaikki seerumit inaktivoidaan 56 °C:ssa 30 minuutin ajan ennen käyttöä.

Suoritettavat tarkastukset:

- viruksen tarttuvuustarkastus
- seerumin myrkyllisyystarkastus
- siirrostamattomien soluviljelyjen tarkastus
- vertailuantiseerumit.

Tulkinta:

Neutralointikokeen tulokset ja käytetyn viruksen pitoisuus kirjataan sen jälkeen, kun on inkuboitu 5 päivää 37 °C:ssa. Negatiivisena pidetään alle 1:2:n seerumipitoisuuksia. Mikrotitrauskokeen osalta negatiivisina pidetään alle 1:4:n seerumipitoisuuksia.

### 5. Sikainfluenssa

Hemagglutinaatio-inhibitiokoe on tehtävä seuraavan menettelyn mukaisesti.

Kokeissa käytetään standardimenetelmiä (US Department of Health, Education and Welfare, Immunology series no 6) ja kantoja A/Swine/Wisconsin/15/30 (Hsw<sub>1</sub>LN<sub>1</sub>) ja A/Swine/Belgium/1/7a (H<sub>1</sub>N<sub>1</sub>).

Epäspesifisten inhibiittorien tuhoamiseksi sikaseerumit on käsiteltävä joko reseptorituhoentsyymillä (*Vibrio cholerae* -suodos), jonka on annettava vaikuttaa yön yli 37 °C:ssa, minkä jälkeen niitä kuumennetaan 56 °C:ssa 30 minuutin ajan kaiken jäljellä olevan entsyymiaktiivisuuden tuhoamiseksi tai 25-prosenttisen kaoliinin annetaan vaikuttaa yön yli 4 °C:ssa (Clarke ja Casals, 1958, American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 7, 561).

Kun seerumit on absorboitu 10-prosenttisellä kanan punasolususpensiolla tunnin ajan 37 °C:ssa, ne testataan neljän soveltuvan viruksen hemagglutinaatioyksikön avulla käyttäen 1 % kanan punasoluja. Viruksen ja seerumin annetaan olla kosketuksissa 60 minuutin ajan huoneenlämmössä ennen punasolujen lisäämistä.

Pitoisuuksia, jotka ovat vähintään 1:10, pidetään positiivisina.

### 6. Leptospiroosi

Mikroagglutinaatiokoe on tehtävä seuraavan menettelyn mukaisesti:

Viljelyt:

on kasvatettava Korthofin ja EMJH-kasvualustalla 30 °C:n lämpötilassa

Antigeeni:

sisältää  $2 \times 10^8$  eliötä viljelyalustamillilitraa kohti.

Menettely:

Tasapohjaisiin mikrotitrausmaljoihin pannaan yhtä paljon antigeeniä ja seerumia, sekoitetaan ja inkuboidaan 30 °C:ssa kahden tunnin ajan tai 37 °C:ssa 1–1 1/2 tunnin ajan; tulokset luetaan pienjännitevalaistuksessa tummaa taustaa vasten 60–100 kertaisella suurennoksella.

Tulkinta:

Tulos on negatiivinen, jos 1/100:n laimennoksella agglutinaatio on alle 50 %.