

31994D0577

L 221/26

EIROPAS KOPIENU OFICIĀLAIS VĒSTNESIS

26.8.1994.

KOMISIJAS LĒMUMS

(1994. gada 15. jūlijs)

par dzīvnieku veselības nosacījumiem un veterināro sertifikāciju liellopu spermas importam no trešām valstīm

(94/577/EK)

EIROPAS KOPIENU KOMISIJA,

ņemot vērā Eiropas Kopienas dibināšanas līgumu,

ņemot vērā Padomes 1988. gada 14. jūnija Direktīvu 88/407/EEK, ar ko nosaka dzīvnieku veselības prasības, kas piemērojama Kopienā iekšējā tirdzniecībā ar sasaldētu mājas liellopu spermu un tās ieviešanai ⁽¹⁾, kurā jaunākie grozījumi izdarīti ar Direktīvu 93/60/EEK ⁽²⁾, un jo īpaši tās 10. un 11. pantu,

tā kā to trešo valstu saraksts, kurām dalībvalstīs ir atļāvušas mājas liellopu spermas importēšanu (turpmāk saukts "trešo valstu saraksts"), tika noteikts Komisijas Lēmumā 90/14/EEK ⁽³⁾, kas grozīts ar Lēmumu 91/276/EEK ⁽⁴⁾;

tā kā slimības Izraēlā izraisīja ieviešanas aizliegumu no šīs valsts, pieņemot Komisijas Lēmumu 91/277/EEK ⁽⁵⁾;

tā kā Komisijas Lēmumi 91/479/EEK ⁽⁶⁾, 91/549/EEK ⁽⁷⁾, 92/123/EEK ⁽⁸⁾, 92/124/EEK ⁽⁹⁾, 92/125/EEK ⁽¹⁰⁾, 92/126/EEK ⁽¹¹⁾, 92/127/EEK ⁽¹²⁾, 92/128/EEK ⁽¹³⁾, 92/386/EEK ⁽¹⁴⁾, 92/387/EEK ⁽¹⁵⁾ un 92/445/EEK ⁽¹⁶⁾ nosaka

dzīvnieku veselības prasības un veterināro sertifikāciju liellopu spermas ieviešanai attiecīgi no Amerikas Savienotajām Valstīm, Kanādas, Polijas, Somijas, Jaunzēlandes, Austrijas, Šveices, Zviedrijas, Ungārijas, Norvēģijas un Čehoslovākijas;

tā kā Direktīva 93/60/EEK, kura jāievieš dalībvalstīs vēlākais līdz 1994. gada 1. jūlijam, groza Direktīvu 88/407/EEK, tādējādi nosakot nepieciešamību pēc augšminētās trešās valsts pieņemto lēmumu grozīšanas; tā kā lai vienkāršotu un precizētu Kopienas likumdošanu šajā jomā, augšminētie lēmumi ir jāagrūpē kopā un jāatceļ tie, kuri ir spēkā katrai atsevišķai valstij;

tā kā, ievērojot Eiropas Ekonomikas zonas līguma noteikumus, ir jāaglabā dzīvnieku veselības sertifikāts liellopu spermas ieviešanai no Austrijas, Somijas, Norvēģijas un Zviedrijas;

⁽¹⁾ OV L 194, 22.7.1988., 10. lpp.

⁽²⁾ OV L 186, 28.7.1993., 28. lpp.

⁽³⁾ OV L 8, 11.8.1990., 71. lpp.

⁽⁴⁾ OV L 135, 30.5.1991., 58. lpp.

⁽⁵⁾ OV L 135, 30.5.1991., 60. lpp.

⁽⁶⁾ OV L 258, 16.9.1991., 1. lpp.

⁽⁷⁾ OV L 298, 29.10.1991., 6. lpp.

⁽⁸⁾ OV L 48, 22.2.1992., 1. lpp.

⁽⁹⁾ OV L 48, 22.2.1992., 10. lpp.

⁽¹⁰⁾ OV L 48, 22.2.1992., 19. lpp.

⁽¹¹⁾ OV L 48, 22.2.1992., 28. lpp.

⁽¹²⁾ OV L 48, 22.2.1992., 37. lpp.

⁽¹³⁾ OV L 48, 22.2.1992., 46. lpp.

⁽¹⁴⁾ OV L 204, 21.7.1992., 13. lpp.

⁽¹⁵⁾ OV L 204, 21.7.1992., 22. lpp.

⁽¹⁶⁾ OV L 247, 27.8.1992., 1. lpp.

tā kā saskaņā ar Zinātniskās veterinārās komitejas atzinumu ir jāveic papildu izmeklēšana epizootiskās hemorāģiskās slimības noteikšanai;

tā kā regulārus šīs slimības pirmssavākšanas testus veic reizi sešos mēnešos vienīgi attiecībā uz Kanādu; tā kā tādēļ attiecībā uz Kanādu ir jānosaka pārejas periods šī lēmuma ieviešanai, lai

Kanādas veterinārajām iestādēm dotu pietiekami daudz laika jauna testa ieviešanai savā kārtējā programmā;

tā kā, ievērojot pēdējā laikā vērojamos sasniegumus izpratnē par zilās mēles slimības epidemioloģiju, tagad drīkst atļaut liellopu spermas ieviešanu no Austrālijas;

tā kā tiek konstatēts, ka valstīs, kuras minētas trešo valstu sarakstā, dzīvnieku veselība ir laba un attiecībā uz slimību nodošanu caur spermu to kontrolē labi izveidoti un organizēti veterinārie dienesti;

tā kā trešo valstu atbildīgās veterinārās iestādes ir apņēmušās 24 stundu laikā pa teleksu vai faksu paziņot Komisijai un dalībvalstīm par jebkuras tādas slimības rašanos, kas ietverta Starptautiskā Epizootiju Biroja (SEB) A sarakstā vai par jebkurām vakcinācijas politikas izmaiņām attiecībā uz tām, vai attiecīgajā periodā, kurā rodas OIE B sarakstā minētās slimības, paziņot par jebkurām piedāvātajām izmaiņām importa noteikumos attiecībā uz mājlopiem vai to spermu vai embrijiem;

tā kā trešo valstu sarakstā minēto valstu atbildīgās veterinārās iestādes ir apņēmušās oficiāli pārraudzīt sertifikātu izsniegšanu, kas izriet no šī lēmuma, un nodrošināt, lai visi attiecīgie sertifikāti, atkāpes un laboratoriskie pētījumi, balstoties uz kuriem ir jāveic sertifikācija, paliktu oficiālajā lietā vismaz 12 mēnešus pēc tās spermas nosūtīšanas, uz kuru tie attiecas;

tā kā trešo valstu sarakstā minēto valstu atbildīgās veterinārās iestādes ir apņēmušās oficiāli apstiprināt spermas savākšanas centrus liellopu spermas eksportam uz Eiropas Ekonomikas kopienas, kāparedzēts Direktīvas 88/407/EEK 9. pantā;

tā kā dzīvnieku veselības nosacījumi un veterinārā sertifikācija jāpieņem atbilstoši dzīvnieku veselības situācijai, kāda valda attiecīgajā trešā valstī;

tā kā šajā lēmumā paredzētie pasākumi atbilst Pastāvīgās veterinārijas komitejas atzinumam,

IR PIEŅĒMUSI ŠO LĒMUMU.

1. pants

Dalībvalstis atļauj ievest tādu liellopu spermu, kura atbilst noteikumiem, kuri izklāstīti A, B, C un D pielikuma 1. daļā minētajos sertifikātos, un tikai no tām trešām valstīm, kuras attiecīgi minētas A, B, C un D pielikuma 2. daļā.

Taču no Kanādas dalībvalstis atļauj ievest tādu liellopu spermu, kura saskaņā ar Lēmumu 91/549/EEK ir savākta un apstrādāta līdz 1994. gada 31. decembrim.

2. pants

Tiek atcelti Lēmumi 91/479/EEK, 92/123/EEK, 92/124/EEK, 92/125/EEK, 92/126/EEK, 92/127/EEK, 92/128/EEK, 92/386/EEK, 92/387/EEK un 92/445/EEK.

Lēmums 91/549/EEK tiek atcelts no 1995. gada 1. janvāra.

3. pants

1. panta pirmajā daļā minētos noteikumus attiecībā uz Kanādu piemēro no 1995. gada 1. janvāra.

4. pants

Šis lēmums ir adresēts dalībvalstīm.

Briselē, 1994. gada 15. jūlijā

Komisijas vārdā —

Komisijas loceklis

René STEICHEN

A PIELIKUMS

1. DAĞA

DZĪVNIEKU VESELĪBAS SERTIFIKĀTS
liellopu spermas importēšanai

1. Nosūtītājs (pilns nosaukums un adrese)		Sertifikāta numurs
		2. Trešā savākšanas valsts
3. Saņēmējs (pilns nosaukums un adrese)		4. Kompetentā iestāde
6. Iekraušanas vieta		5. Kompetentā vietējā iestāde
		7. Spermas savākšanas centra nosaukums un adrese
8. Transporta līdzeklis		10. Spermas savākšanas centra apstiprinājuma numurs
9. Galamērķa valsts un vieta		
11. Spermas konteineru plombējuma numurs		
12. Spermas identifikācija		svaiga vai saldēta *
(* pēc vajadzības nosvītrot)		
a) devu skaits	b) savākšanas datums(-i)	c) šķirne
d) donordzīvnieka identifikācija		

13. Es, apakšā parakstīties, valsts pilnvarotais veterinārārsts, esmu izlasījis un iepazīsies ar grozīto Padomes Direktīvu 88/407/EEK un apliecinu, ka:

a)
(eksportētājvalsts nosaukums)

govju mēris un mutes un nagu sērga nav konstatēta 12 mēnešu laikā līdz spermas savākšanai eksportam un līdz tās nosūtīšanas datumam un ka šī perioda laikā vakcinācija pret šīm slimībām nav veikta;

b) spermas savākšanas centrs, kurā tika savākta eksportam paredzētā sperma:

- i) ir apstiprināts atbilstoši Padomes Direktīvas 88/407/EEK A pielikuma I nodaļā minētajiem noteikumiem;
- ii) darbojas un tiek pārraudzīts atbilstoši Padomes Direktīvas 88/407/EEK A pielikuma II nodaļā minētajiem noteikumiem;
- iii) periodā, kas sākas 30 dienas līdz eksportēšanai paredzētās spermas savākšanas datumam un ilga 30 dienas pēc spermas savākšanas (svaigas spermas gadījumā – līdz nosūtīšanas datumam), netika konstatēta trakumsērga, tuberkuloze, bruceloze, liesas sērga un govju kontagiozā pleiopneimonijs;

c) liellopi, kuri atrodas spermas savākšanas centrā:

- i) nāk no ganāmpulkiem un/vai ir dzimuši mātītēm, kuras atbilst Direktīvas 88/407/EEK B pielikuma I nodaļas noteikumiem;
- ii) līdz izolācijas brīdim ir bijuši pakļauti Direktīvas 88/407/EEK B pielikuma I nodaļā minētajiem testiem;
- iii) atbilst Direktīvas 88/407/EEK B pielikuma I nodaļā minētajām pirmsizolācijas un testēšanas prasībām;
- iv) ja vismaz vienu gadu rezidenti ir bijuši pakļauti kārtējiem testiem atbilstoši Direktīvas 88/407/EEK B pielikuma II nodaļai;

d) eksportējamā sperma:

- i) tika iegūta no donoriem, kuri sešus mēnešus līdz spermas savākšanai eksportam ir bijuši

.....
(eksportētājvalsts nosaukums)

rezidenti un kuri atbilst Direktīvas 88/407/EEK C pielikumā minētajiem noteikumiem;

ii) tika iegūta no donoriem:

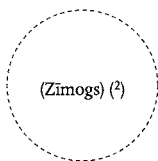
- kuri atrodas spermas savākšanas centrā, kurā visi liellopi 12 mēnešu laikā līdz spermas savākšanai eksportam ir uzrādījuši negatīvu seruma neitralizācijas testa vai ELISA testa rezultātu, nosakot govju infekciozo rinotraheītu/infekciozo pustulozo vulvovaginītu ⁽¹⁾,
- vai
- kuru seruma neitralizācijas tests vai ELISA tests, nosakot govju infekciozo rinotraheītu/infekciozo pustulozo vulvovaginītu, kas tika veikts 12 mēnešu laikā līdz spermas savākšanai eksportam, ir negatīvs ⁽¹⁾,
- vai
- kuri ir seropozitīvi pēc tam, kad tie tika vakcinēti atbilstoši Padomes Direktīvas 88/407/EEK B pielikuma II nodaļai, un kuru seruma neitralizācijas tests vai ELISA tests, kas veikts apstiprinātā spermas savākšanas centrā līdz vakcinācijas uzsākšanai, ir negatīvs ⁽¹⁾,

⁽¹⁾ Pēc vajadzības izsvītrot.

- vai
- kuri ir seropozitīvi seruma neitralizēšanas testā vai ELISA testā, nosakot govju infekciozo rinotraheītu/infekciozo pustulozo vulvovaginītu, nav vakcinēti saskaņā ar Padomes Direktīvas 88/407/EEK B pielikuma II nodaļu un no kuriem vismaz 10 % no eksportam savāktās spermas (ar vismaz piecām devām) tikuši pakļauti dzīvnieku potēšanas testam vai vīrusa izolēšanas testam ar negatīviem rezultātiem pirms eksporta ⁽¹⁾;
- iii) ir apstrādāta, uzglabāta un pārvadāta atbilstoši noteikumiem, kuri apmierina Direktīvas 88/407/EEK prasības.
- iv) tika iegūta no donorbulļiem, kuri divas reizes periodā, kas nepārsniedz 12 mēnešus, apstiprinātā laboratorijā bija pakļauti šādiem pirmssavākšanas un pēcsavākšanas testiem ar negatīvu rezultātu (pēcsavākšanas tests ir jāveic ar asins paraugu, kas paņemts ne vēlāk kā 21 dienu pēc spermas savākšanas eksportam):
- salīdzināmajam ELISA testam zilās mēles slimības noteikšanai saskaņā ar E pielikumu,
 - imūndifūzijas testam agara gēlā saskaņā ar E pielikumu un vīrusa neitralizācijas testam visiem tādiem epizootiskās hemorāģiskās slimības (EHS) serotīpiem, kuri tika konstatēti eksportētājvalstī,
 - seruma neitralizācijas testam Akabane vīrusa noteikšanai.

Sastādīts,
(vieta)

.....
(datums)



Paraksts ⁽²⁾:

Nosaukums drukātiem burtiem:

Iepējamam amatam:

⁽¹⁾ Pēc vajadzības izsvītrot.

⁽²⁾ Parakstam un zīmogam ir jābūt tādā krāsā, kas atšķiras no drukāto burtu krāsas.

2. DAĻA

To valstu saraksts, kurām ir atļauts izmantot A pielikuma 1. daļā norādītā dzīvnieku veselības sertifikāta paraugu

ČEHIJAS REPUBLIKA

UNGĀRIJA

JAUNZĒLANDE

POLIJA

RUMĀNIJA

ŠVEICE

SLOVĀKIJA

B PIELIKUMS

1. DAĻA

DZĪVNIEKU VESELĪBAS SERTIFIKĀTS
liellopu spermas importēšanai no Amerikas Savienotajām Valstīm

1. Nosūtītājs (pilns nosaukums un adrese)		Sertifikāta numurs
		2. Trešā savākšanas valsts
3. Saņēmējs (pilns nosaukums un adrese)		4. Kompetentā iestāde
		5. Kompetentā vietējā iestāde
6. Iekraušanas vieta		7. Spermas savākšanas centra nosaukums un adrese
8. Transporta līdzeklis		10. Spermas savākšanas centra apstiprinājuma numurs
9. Galamērķa valsts un vieta		
11. Spermas konteineru plombējuma numurs		
12. Spermas identifikācija		svaiga vai saldēta *
		(* pēc vajadzības nosvītrot)
a) devu skaits	b) savākšanas datums(-i)	c) šķirne
d) donordzīvnieka identifikācija		

13. Es, apakšā parakstīties, valsts pilnvarotais veterinārārsts, esmu izlasījis un iepazīies ar grozīto Padomes Direktīvu 88/407/EEK un apliecinu, ka:

a)
(eksportētājvalsts nosaukums)

mutes un nagu sērga 12 mēnešu laikā līdz spermas savākšanai eksportam un līdz tās nosūtīšanas datumam nav konstatēta un šī perioda laikā vakcinācija pret šo slimību nav veikta;

b) spermas savākšanas centrs, kurā tika savākta eksportam paredzētā sperma:

- i) ir apstiprināts atbilstoši Padomes Direktīvas 88/407/EEK A pielikuma I nodaļā minētajiem noteikumiem;
- ii) darbojas un tiek pārraudzīts atbilstoši Padomes Direktīvas 88/407/EEK A pielikuma II nodaļā minētajiem noteikumiem;
- iii) periodā, kas sākas 30 dienas līdz eksportēšanai paredzētās spermas savākšanas datumam un ilga 30 dienas pēc spermas savākšanas (svaigas spermas gadījumā – līdz nosūtīšanas datumam), netika konstatēta trakumsērga, tuberkuloze, bruceloze, liesas sērga un govju kontagiozā pleiopneimija;

c) liellopi, kuri atrodas spermas savākšanas centrā:

- i) nāk no ganāmpulkiem un/vai ir dzimuši mātītēm, kuras atbilst Direktīvas 88/407/EEK B pielikuma I nodaļas noteikumiem;
- ii) līdz izolācijas brīdim ir bijuši pakļauti Direktīvas 88/407/EEK B pielikuma I nodaļā minētajiem testiem;
- iii) atbilst Direktīvas 88/407/EEK B pielikuma I nodaļā minētajām pirmsizolācijas un testēšanas prasībām;
- iv) ja vismaz vienu gadu rezidenti ir bijuši pakļauti kārtējiem testiem atbilstoši Direktīvas 88/407/EEK B pielikuma II nodaļai;

d) eksportējamā sperma:

- i) tika iegūta no donoriem, kuri sešus mēnešus līdz spermas savākšanai eksportam ir bijuši

.....
(eksportētājvalsts nosaukums)

rezidenti un kuri atbilst Direktīvas 88/407/EEK C pielikumā minētajiem noteikumiem;

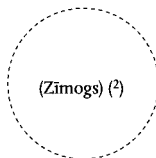
ii) tika iegūta no donoriem:

- kuri atrodas spermas savākšanas centrā, kurā visi liellopi 12 mēnešu laikā līdz spermas savākšanai eksportam ir uzrādījuši negatīvu seruma neitralizācijas testa vai ELISA testa rezultātu, nosakot govju infekciozo rinotraheītu/infekciozo pustulozo vulvovaginītu ⁽¹⁾,
- vai
- kuru seruma neitralizācijas tests vai ELISA tests, nosakot govju infekciozo rinotraheītu/infekciozo pustulozo vulvovaginītu, kas tika veikts 12 mēnešu laikā līdz spermas savākšanai eksportam, ir
- vai
- kuri ir seropozitīvi pēc tam, kad tie tika vakcinēti atbilstoši Padomes Direktīvas 88/407/EEK B pielikuma II nodaļai, un kuru seruma neitralizācijas tests vai ELISA tests, kas veikts apstiprinātā spermas savākšanas centrā līdz vakcinācijas uzsākšanai, ir negatīvs ⁽¹⁾,

⁽¹⁾ Pēc vajadzības izsvītrot.

- vai
- kuri ir seropozitīvi seruma neitralizēšanas testā vai ELISA testā, nosakot govju infekciozo rinotraheītu/infekciozo pustulozo vulvovaginītu, nav vakcinēti saskaņā ar Padomes Direktīvas 88/407/EEK B pielikuma II nodaļu un no kuriem vismaz 10 % no eksportam savāktās spermas (ar vismaz piecām devām) tikuši pakļauti dzīvnieku potēšanas testam vai vīrusa izolēšanas testam ar negatīviem rezultātiem pirms eksporta ⁽¹⁾;
- iii) ir apstrādāta, uzglabāta un pārvadāta atbilstoši noteikumiem, kuri apmierina Direktīvas 88/407/EEK prasības;
- iv) tika iegūta no donorbulljiem, kuri divas reizes periodā, kas nepārsniedz 12 mēnešus, apstiprinātā laboratorijā bija pakļauti šādiem pirmssavākšanas un pēcsavākšanas testiem ar negatīvu rezultātu (pēcsavākšanas tests ir jāveic ar asins paraugu, kas paņemts ne vēlāk kā 21 dienu pēc spermas savākšanas eksportam):
- salīdzināmam ELISA testam zilās mēles slimības noteikšanai saskaņā ar E pielikumu,
 - imūndifūzijas testam agara gēlā saskaņā ar E pielikumu un vīrusa neitralizācijas testam visiem tādiem epizootiskās hemorāģiskās slimības (EHS) serotipiem, kuri tika konstatēti eksportētājvalstī.

Sastādīts
(vieta) (datums)



Paraksts ⁽²⁾:

Nosaukums drukātiem burtiem:

Ieņemamais amats:

⁽¹⁾ Pēc vajadzības izsvītrot.

⁽²⁾ Parakstam un zīmogam ir jābūt tādā krāsā, kas atšķiras no drukāto burtu krāsas.

2. DAĻA

To valstu saraksts, kurām ir atļauts izmantot B pielikuma 1. daļā norādītā dzīvnieku veselības sertifikāta paraugu

AMERIKAS SAVIENOTĀS VALSTIS

C PIELIKUMS

1. DAĻA

DZĪVNIEKU VESELĪBAS SERTIFIKĀTS
liellopu spermas ievēšanai

1. Nosūtītājs (pilns nosaukums un adrese)	Sertifikāta numurs			
	2. Trešā savākšanas valsts			
3. Saņēmējs (pilns nosaukums un adrese)	4. Kompetentā iestāde			
	5. Kompetentā vietējā iestāde			
6. Iekraušanas vieta	7. Spermas savākšanas centra nosaukums un adrese			
8. Transporta līdzeklis	10. Spermas savākšanas centra apstiprinājuma numurs			
9. Galamērķa valsts un vieta				
11. Spermas konteineru plombējuma numurs				
12. Spermas identifikācija svaiga vai saldēta *				
(* pēc vajadzības nosvītrot)				
a) devu skaits	b) savākšanas datums(-i)	c) šķirne		
d) donordzīvnieka identifikācija				

13. Es, apakšā parakstījis, valsts pilnvarotais veterinārārsts, esmu izlasījis un iepazīsies ar grozīto Padomes Direktīvu 88/407/EEK un apliecinu, ka:

a)
(eksportētājvalsts nosaukums)

liellopu mēris un mutes un nagu sērga 12 mēnešu laikā līdz spermas savākšanai eksportam un līdz tās nosūtīšanas datumam nav konstatēta un šī perioda laikā vakcinācija pret šīm slimībām nav veikta;

b) spermas savākšanas centrs, kurā tika savākta eksportam paredzētā sperma:

- i) ir apstiprināts atbilstoši Padomes Direktīvas 88/407/EEK A pielikuma I nodaļā minētajiem noteikumiem;
- ii) darbojas un tiek pārraudzīts atbilstoši Padomes Direktīvas 88/407/EEK A pielikuma II nodaļā minētajiem noteikumiem;
- iii) periodā, kas sākas 30 dienas līdz eksportēšanai paredzētās spermas savākšanas datumam un ilga 30 dienas pēc spermas savākšanas (svaigas spermas gadījumā – līdz nosūtīšanas datumam), netika konstatēta trakumsērga, tuberkuloze, bruceloze, liesas sērga un govju kontagiozā pleiopneimonijs;

c) liellopi, kuri atrodas spermas savākšanas centrā:

- i) nāk no ganāmpulkiem un/vai ir dzimuši mātītēm, kuras atbilst Direktīvas 88/407/EEK B pielikuma I nodaļas noteikumiem;
- ii) līdz izolācijas brīdim ir bijuši pakļauti Direktīvas 88/407/EEK B pielikuma I nodaļā minētajiem testiem;
- iii) atbilst Direktīvas 88/407/EEK B pielikuma I nodaļā minētajām pirmsizolācijas un testēšanas prasībām;
- iv) ja vismaz vienu gadu rezidenti ir bijuši pakļauti kārtējiem testiem atbilstoši Direktīvas 88/407/EEK B pielikuma II nodaļai;

d) eksportējamā sperma:

- i) tika iegūta no donoriem, kuri sešus mēnešus līdz spermas savākšanai eksportam ir bijuši

.....
(eksportētājvalsts nosaukums)

rezidenti un kuri atbilst Direktīvas 88/407/EEK C pielikumā minētajiem noteikumiem;

ii) tika iegūta no donoriem:

- kuri atrodas spermas savākšanas centrā, kurā visi liellopi 12 mēnešu laikā līdz spermas savākšanai eksportam ir uzrādījuši negatīvu seruma neitralizācijas testa vai ELISA testa rezultātu, nosakot govju infekciozo rinotraheītu/infekciozo pustulozo vulvovaginītu⁽¹⁾,
- vai
- kuru seruma neitralizācijas tests vai ELISA tests, nosakot govju infekciozo rinotraheītu/infekciozo pustulozo vulvovaginītu, kas tika veikts 12 mēnešu laikā līdz spermas savākšanai eksportam, ir negatīvs⁽¹⁾,
- vai
- kuri ir seropozitīvi pēc tam, kad tie tika vakcinēti atbilstoši Padomes Direktīvas 88/407/EEK B pielikuma II nodaļai, un kuru seruma neitralizācijas tests vai ELISA tests, kas veikts apstiprinātā spermas savākšanas centrā līdz vakcinācijas uzsākšanai, ir negatīvs⁽¹⁾,

⁽¹⁾ Pēc vajadzības izsvītrot.

2. DAĻA

To valstu saraksts, kurām ir atļauts izmantot C pielikuma 1. daļā norādītā dzīvnieku veselības sertifikāta paraugu

KANĀDA: izņemot Britu Kolumbijas Okanaganas ielejas reģionu, kurš noteikts kā teritorija, ko ietver līnija, kas novilkta no Kanādas/Amerikas Savienoto Valstu robežas punkta 120° 15' garumā, 49° platumā uz ziemeļiem līdz punktam 119° 35' garumā, 50° 30' platumā uz ziemeļaustrumiem līdz punktam 119° garumā, 50° 45' platumā uz dienvidiem līdz Kanādas/Amerikas Savienoto Valstu robežas punktam 118° 15' garumā un 49° platumā.

D PIELIKUMS

1. DAĻA

DZĪVNIEKU VESELĪBAS SERTIFIKĀTS
liellopu spermas importēšanai

1. Nosūtītājs (pilns nosaukums un adrese)		Sertifikāta numurs	
		2. Trešā savākšanas valsts	
3. Saņēmējs (pilns nosaukums un adrese)		4. Kompetentā iestāde	
		5. Kompetentā vietējā iestāde	
6. Iekraušanas vieta		7. Spermas savākšanas centra nosaukums un adrese	
8. Transporta līdzeklis		10. Spermas savākšanas centra apstiprinājuma numurs	
9. Galamērķa valsts un vieta			
11. Spermas konteineru plombējuma numurs			
12. Spermas identifikācija svaiga vai saldēta *			
(* pēc vajadzības nosvītrot)			
a) devu skaits	b) savākšanas datums(-i)	c) šķirne	
d) donordzīvnieka identifikācija			

13. Es, apakšā parakstījis, valsts pilnvarotais veterinārārsts, esmu izlasījis un iepazīsies ar grozīto Padomes Direktīvu 88/407/EEK un apliecinu, ka:

a)
(eksportētājvalsts nosaukums)

mutes un nagu sērga 12 mēnešu laikā līdz spermas savākšanai eksportam un līdz tās nosūtīšanas datumam nav konstatēta un šī perioda laikā vakcinācija pret šo slimību nav veikta;

b) spermas savākšanas centrs, kurā tika savākta eksportam paredzētā sperma:

- i) ir apstiprināts atbilstoši Padomes Direktīvas 88/407/EEK A pielikuma I nodaļā minētajiem noteikumiem;
- ii) darbojas un tiek pārraudzīts atbilstoši Padomes Direktīvas 88/407/EEK A pielikuma II nodaļā minētajiem noteikumiem;
- iii) periodā, kas sākas 30 dienas līdz eksportēšanai paredzētās spermas savākšanas datumam un ilgst vēl 30 dienas pēc spermas savākšanas (svaigas spermas gadījumā – līdz nosūtīšanas datumam), netika konstatēta trakumsērga, tuberkuloze, bruceloze, liesas sērga un govju kontagiozā pleiopneimonija;

c) liellopi, kuri atrodas spermas savākšanas centrā:

- i) nāk no ganāmpulkiem un/vai ir dzimuši mātītēm, kuras atbilst Direktīvas 88/407/EEK B pielikuma I nodaļas noteikumiem;
- ii) līdz izolācijas brīdim ir bijuši pakļauti Direktīvas 88/407/EEK B pielikuma I nodaļā minētajiem testiem;
- iii) atbilst Direktīvas 88/407/EEK B pielikuma I nodaļā minētajām pirmsizolācijas un testēšanas prasībām;
- iv) ja vismaz vienu gadu rezidenti ir bijuši pakļauti kārtējiem testiem atbilstoši Direktīvas 88/407/EEK B pielikuma II nodaļai;

d) eksportējamā sperma:

- i) tika iegūta no donoriem, kuri sešus mēnešus līdz spermas savākšanai eksportam ir bijuši

.....
(eksportētājvalsts nosaukums)

rezidenti un kuri atbilst Direktīvas 88/407/EEK C pielikumā minētajiem noteikumiem;

ii) tika iegūta no donoriem:

- kuri atrodas spermas savākšanas centrā, kurā visi liellopi 12 mēnešu laikā līdz spermas savākšanai eksportam ir uzrādījuši negatīvu seruma neitralizācijas testa vai ELISA testa rezultātu, nosakot govju infekciozo rinotraheītu/infekciozo pustulozo vulvovaginītu ⁽¹⁾,
- vai
- kuru seruma neitralizācijas tests vai ELISA tests, nosakot govju infekciozo rinotraheītu/infekciozo pustulozo vulvovaginītu, kas tika veikts 12 mēnešu laikā līdz spermas savākšanai eksportam, ir negatīvs ⁽¹⁾,
- vai
- kuri ir seropozitīvi pēc tam, kad tie tika vakcinēti atbilstoši Padomes Direktīvas 88/407/EEK B pielikuma II nodaļai, un kuru seruma neitralizācijas tests vai ELISA tests, kas veikts apstiprinātā spermas savākšanas centrā līdz vakcinācijas uzsākšanai, ir negatīvs ⁽¹⁾,

⁽¹⁾ Pēc vajadzības izsvītrot.

2. DAĻA

To valstu saraksts, kurām ir atļauts izmantot D pielikuma 1. daļā norādītā dzīvnieku veselības sertifikāta paraugu

AUSTRĀLIJA

E PIELIKUMS

Protokols salīdzinošā ELISA (enzīmsaistītā imunosorbences novērtējuma) testa veikšanai, izmantojot šai grupai raksturīgo monoklonālo antivielu zilās mēles slimības vīrusa antivielu noteikšanai

SALĪDZINOŠAIS ELISA TESTS ZILĀS MĒLES SLIMĪBAS NOTEIKŠANAI, IZMANTOJOT MONOKLONĀLO ANTIVIELU 3-17-A3

Ar šo testu iespējams noteikt antivielas visiem zināmajiem zilās mēles slimības vīrusa (ZMV) serotipiem.

Testa pamatā ir starp ZMV antigēnu un šai grupai raksturīgo monoklonālo antivielu (3-17-A3) notiekošās reakcijas pārtraukums, pievienojot testa seruma atšķaidījumus. Testa serumā esošās ZMV antivielas bloķē monoklonālās antivielas (MAV) reaktivitāti un tā rezultātā samazina gaidīto krāsas attīstību, pievienojot enzīma substrātu.

MATERIĀLI UN REAĢENTI

1. Gluda pamata mikrotitrēšanas plates.
2. Antigēns: sagatavots, kā norādīts zemāk.
3. Bloķējošais buferšķīdums: 5 % (w/v) "Marvel" sausais piens, 0,1 % (v/v) Tween-20 (piegādāts kā polioksietilēna sorbīta monolaurāta šķīdums) buferētajā fosfāta sāļšķīdumā (BFS).
4. Monoklonālā anti-viela: 3-17-A3 (piegādāta kā hibrīdomas audu kultūras *supernatant*), uzglabāta - 20 °C temperatūrā vai sausi sasaldēta, pirms lietošanas 1/50 atšķaidīta ar bloķējošu buferšķīdumu, virzīta pret šai grupai raksturīgo polipeptīdu p7.
5. Konjugāts: truša pretpelņu globulīns (absorbēts un elutēts) konjugēts ar mērrutku peroksīdāzi un uzglabāts tumšā 4 °C temperatūrā.
6. Substrāts un hromogēns: 0,2 gm ortofenilēna diamīna (OFD), atšķaidīts ar buferšķīdumu, kas sastāv no 2,533 gm citronskābes un 4,574 gm binātrija ūdeņraža ortofosfāta, kas papildināts ar destilētu ūdeni līdz 500 ml, sadalīts pa 25 ml katrā un uzglabāts tumšā - 20 °C temperatūrā, ar 12 µl/25ml ūdeņraža peroksīda (30 % w/v), ko pievieno tieši pirms lietošanas.

UZMANĪGI RĪKOTIES AR OFD — VALKĀT GUMIJAS CIMDUS — AIZDOMAS PAR MUTAGĒNU.

- 7.1. Molārā sērskābe: 26,6 ml skābes, kurai pievienoti 473,4 ml destilēta ūdens.

VIENMĒR ATCERĪETIES — SKĀBI PIEVIENOT ŪDENIM, BET NEKAD — ŪDENI SKĀBEI.

8. Orbitālais šeikers.
9. ELISA plāksnes nolasītājs (testa rezultātu var nolasīt vizuāli).

TESTA FORMĀTS

[illegible]

TESTA PROTOKOLS

Tukšā kontrole

1. rinda A — H ir tukšā kontrole, kas sastāv no ZMV antigēna un konjugāta. To var izmantot ELISA nolasītāja rādījumu nodzēšanai.

MAV kontrole

2. rinda A — H ir monoklonālās antivielas kontrole un sastāv no ZMV antigēna, monoklonālās antivielas un konjugāta. Tas atspoguļo negatīvo kontroli. Šīs kontroles rezultātā iegūto optiskā blīvuma rādījumu vidējais ir 0 % no inhibīcijas vērtības.

Pozitīvā kontrole

3. rinda A — H ir pozitīvā kontrole. Tā sastāv no ZMV antigēna, ZMV pozitīvajiem antiseruma atšķaidījumiem, MAV un konjugāta. Tas iekļauts kā indikators tam, ka tests notiek pareizi, dažādos testos iegūtajiem inhibīcijas līmeņiem būtu jābūt līdzīgiem.

Testa serums

Testa formātā, kas parādīts augstāk, var pārbaudīt 18 serumus, izmantojot dažādus atšķaidījumus: 1/2, 1/4, 1/8 un 1/16. Tas savukārt dos kādu norādi uz testa serumā esošo antivielas titru. Šo atšķaidījuma diapazonu var paplašināt, lai iegūtu seruma atšķaidījuma galīgā punkta titrus. Pretējā gadījumā, attiecībā uz liela mēroga seroloģiskajiem apsekojumiem, serumu ar vienu atšķaidījumu (1/4) vai diviem atšķaidījumiem (1/2 un 1/4) var pārbaudīt kā ātro skrīninga testu.

DARBA SECĪBA

1. BFS atšķaidīt ZMV antigēnu līdz pirmstitrēšanas koncentrācijai, īsu brīdi apstrādāt ar skaņu, lai panāktu agregētā vīrusa izkļiedēšanos (ja sonikators nav pieejams, tad to enerģiski izkļiedēt ar pipeti) visiem ELISA plāksnes iedobumiem pievienot 50 µl. Antigēna izkļudināšanai piespiest plāksnītes malas.
2. Orbitālajā šeikerī 60 minūtes inkubēt 37 °C temperatūrā. Noskalojot un ar nesterilu BFS iztukšojot iedobumus, plāksnes trīs reizes nomazgāt un ar absorbējošu papīru izžāvēt.
3. Katrā bloķētāja buferšķīduma iedobumā iepilināt 50 µl. Attiecīgajos iedobumos pievienot testa serumu un pozitīvo serumu un atšķaidīt, izmantojot daudzkanālu pipeti. Tukšās kontroles vai MAV kontroles veikšanai serumu nepievienot.
4. Tūdaļ pēc testa seruma pievienošanas bloķētājšķīdumā esošo NiAB atšķaidīt (līdz pirmstitrēšanas atšķaidījumam) un visiem plāksnes iedobumiem pievienot 50 µl, izņemot tukšās kontroles gadījumā.
5. Orbitālajā šeikerī 60 minūtes inkubēt 37 °C temperatūrā. Trīs reizes nomazgāt ar BFS un nožāvēt.
6. Bloķētāja buferšķīdumā 1/5000 atšķaidīt trušu pretpeļu koncentrātu un visiem plāksnes iedobumiem pievienot 50 µl.
7. Orbitālajā šeikerī 60 minūtes inkubēt 37 °C temperatūrā. Trīs reizes nomazgāt ar BFS un nožāvēt.
8. Atkausēt OFD un tieši pirms lietošanas katriem 25 ml OFD pievienot 12 µl 30 % ūdeņraža peroksīda. Visos plāksnes iedobumos iepilināt 50 µl. Apmēram 10 minūtes ļaut krāsai attīstīties un apturēt reakciju ar 1 M sērskābes (50 µl uz katru iedobumu). Krāsai jāattīstās MAV kontroles iedobumos un tajos iedobumos, kuros ir serums, bet nav ZMV antivielu.
9. Vizuāli vai izmantojot spektrofotometrisku nolasītāju, plāksnes pārbaudīt un pierakstīt rādījumus.

REZULTĀTU ANALĪZE

Ar MAV kontroles palīdzību aprēķināt vidējo OD rādījumu. Tas atspoguļo 0 % inhibīcijas vērtības. Optiskā blīvuma rādījumus no testa seruma izsaka kā inhibīcijas vērtības procentos, izmantojot formulu:

$$\text{Inhibīcijas vērtība procentos} = 100 - \frac{\text{OD, ja pievienots testa serums}}{\text{OD, ja testa serums nav pievienots}} \times 100$$

Inhibīcijas vērtības, kas pārsniedz 40 % ar seruma atšķaidījumu 1/4, ir uzskatāmas par pozitīvām. Vizuālais nolasījums ir iespējams, jo 40 % inhibīcija ir zemākā ar aci atšķiramā vērtība.

ZMV ELISA ANTIGĒNA SAGATAVOŠANA

1. Trīs reizes nomazgāt 10 saplūstošo BHK-21 šūnu rindas (*roux*) ar bezseruma *Eagle's* šķīdinātāju un bezseruma *Eagle's* šķīdinātājā inficēt zilās mēles vīrusa serotipu 1.
2. Inkubēt 37 °C temperatūrā un ik dienas pārbaudīt citopātisko efektu (*cpe*).
3. Tad, kad *cpe* ir redzams 80 — 90 % no katras rindas (*roux*) šūnu lapas, vīrusu noņemt, nokratot pie stikla pielipušās šūnas.
4. Lai šūnas izgulsnētos, centrifugēt pie 2 000 — 3 000 rpm.
5. Aizvadīt *supernatant*, un atkārtoti piekārt šūnas apmēram 30 ml PHS, kas satur 1 % “*Sarkosyl*” un 2 ml fenolmetilsulfonila fluorīda (līzes bufersķīdums). Tā rezultātā šūnas var veidot gēlu, un šī efekta samazināšanai jāpievieno vairāk līzes bufersķīduma.

PIEZĪME: fenilmetilsulfonila fluorīds ir kaitīgs — ar to rīkoties īpaši uzmanīgi.

6. Izmantojot ultrasonisko zondi ar amplitūdu 30 mikroni, uz 60 sekundēm pārraut šūnas.
7. 10 minūtes centrifugēt pie 10 000 rpm.
8. *Supernatant* uzglabāt + 4 °C temperatūrā, un atkārtoti iekarināt atlikušo šūnu grupu 10 — 20 ml līzes bufersķīdumā.
9. Kļiedēt ar skaņu un precizēt, katrā etapā saglabājot *supernatant*, kopā to veicot trīs reizes.
10. *Supernatant* sagrupēt un 120 minūtes 4 °C temperatūrā centrifugēt pie 24 000 rpm 5 ml 40 % saharozes šķīdumā (w/v BFS), izmantojot 30 ml Bekmana centrifūgas caurulītes un SW 28 rotoru.
11. *Supernatant* aizvadīt, rūpīgi iztīrīt caurulītes, un ar sonikācijas palīdzību atkārtoti piekārt BFS esošo peleti. Antigēnu uzglabāt pa daļām – 70 °C temperatūrā.

ZMV ELISA ANTIGĒNA TITRĒŠANA

Zilās mēles ELISA antigēns ir titrēts ar netiešo ELISA testu. Antigēna divkārtīgie atšķaidījumi ir titrēti pret konstantu monoklonālās antivielas (3-17-A3) atšķaidījumu (1/50). Protokols ir šāds.

DARBA SECĪBA

1. Ar daudzkanālu pipeti pa visu mikrotitru plāksni BFS esošo ZMV antigēnu divkārt atšķaidīt (50 µl/uz katru iedobumu).
2. Orbitālajā šeikerā 1 stundu inkubēt 37 °C temperatūrā.
3. Plāksnītes trīs reizes nomazgāt ar BFS.
4. Katrā mikrotitra plāksnītes iedobumā ieliet 50 µl monoklonālās antivielas 3.17-A3 (atšķaidīta 1/50).
5. Orbitālajā šeikerā 1 stundu inkubēt 37 °C temperatūrā.
6. Plāksnītes trīs reizes nomazgāt ar BFS.
7. Katrā mikrotitra plāksnes iedobumā ieliet 50 µl trušu pretpeļu globulīna, kas konjugēts ar mārutku peroksidāzi un atšķaidīts līdz optimālai pirmstitrēšanas koncentrācijai.
8. Orbitālajā šeikerā 1 stundu inkubēt 37 °C temperatūrā.
9. Pievienot substrātu un hromogēnu, kā aprakstīts iepriekš. Pēc 10 minūtēm apturēt reakciju, pievienojot 1 molu sērskābes (50 µl/uz atveri).

Salīdzinošajā pārbaudē monoklonālajai antivielai ir jābūt pārākumā, tādēļ ir izvēlēta tāda antigēna atšķaidīšana, kas uz titrēšanas līknes (taču ne uz plato reģiona) krītas, kas pēc 10 minūtēm ļauj iegūt apmēram 0,8 OD.

Protokols imūndifūzijas testa veikšanai agara gēlā, lai noteiktu epizootiskās hemorāģiskās slimības antivielas

Imūndifūzijas testu agara gēlā veic saskaņā ar šādu protokolu.

MATERIĀLI UN REAGĒENTI**1. Antigēns.**

Nogulsnējošu antigēnu sagatavi jebkurā šūnu kultūras sistēmā, kas nodrošina ātru epizootiskās hemorāģiskās slimības vīrusa attiecīgā(-o) serotipa(-u) vairošanos. Iesakām izmantot BKHvai vero šūnas. Vīrusa augšanas beigās antigēns atrodas *supernatant* fluīdā, bet, lai tas būtu efektīvs, tam vajadzīga piecdesmitkārtīga līdz simtkārtīga koncentrācija. To iespējams panākt, izpildot standarta olbaltumvielu koncentrācijas procedūru, antigēnā esošo vīrusu var aktivizēt, pievienojot 0,3 % (v/v) betapropiolaktona.

2. Zināms pozitīvs kontroles serums.

Izmantojot starptautisko atsaucē serumu un antigēnu, tiek iegūts valsts standartserums, kas optimālas daļas iegūšanai salīdzinājumā ar starptautisko atsaucē serumu ir standartizēts, sausi saldēts un katrā testā tiek lietots kā zināms kontroles serums.

3. Testa serums.**DARBA SECĪBA**

- 1 % agarozes, kas sagatavota borāta vai nātrija barbitola šķīdumā, pH 8,5 līdz 9,0, ielej petri platēs, nepārsniedzot 3,0 mm augstumu.
2. Agarā tiek izgrieztas septiņas no mitruma brīvas bedrītes, katra 5,0 mm diametrā. Šis paraugs sastāv no vienas centrālās bedrītes un sešām ap to esošajām bedrītēm, kuras izvietotas 3 mm rādiusā ap to.

1
6 2
X
5 3
4

3. Centrālo bedrīti piepilda ar standarta antigēnu. 2., 4. un 6. perifēro bedrīti aizpilda ar zināmu pozitīvu serumu, 1., 3. un 5. bedrīti aizpilda ar testa serumu.
4. Sistēma 72 stundas istabas temperatūrā noslēgtā mitrā kamerā tiek inkubēta.

INTERPRETĀCIJA

Testa serums ir pozitīvs, ja tas veido īpašu nosēšanās līniju ar antigēnu un pilnīgi identisku līniju ar kontroles serumu. Testa serums ir negatīvs, ja tas neveido īpašu līniju ar antigēnu un neliēc kontroles seruma līniju. Jāpārbauda, vai petri platēs nav tumšs dibens un vai netiek lietots netiešais apgaismojums.
