

REGOLAMENTO (UE) N. 1148/2014 DELLA COMMISSIONE**del 28 ottobre 2014****che modifica gli allegati II, VII, VIII, IX e X del regolamento (CE) n. 999/2001 del Parlamento europeo e del Consiglio recante disposizioni per la prevenzione, il controllo e l'eradicazione di alcune encefalopatie spongiformi trasmissibili****(Testo rilevante ai fini del SEE)**

LA COMMISSIONE EUROPEA,

visto il trattato sul funzionamento dell'Unione europea,

visto il regolamento (CE) n. 999/2001 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 22 maggio 2001, recante disposizioni per la prevenzione, il controllo e l'eradicazione di alcune encefalopatie spongiformi trasmissibili ⁽¹⁾, in particolare l'articolo 23, primo comma,

considerando quanto segue:

- (1) Il regolamento (CE) n. 999/2001 stabilisce disposizioni per la prevenzione, il controllo e l'eradicazione delle encefalopatie spongiformi trasmissibili (TSE) negli animali delle specie bovina, ovina, e caprina. Esso si applica alla produzione e all'immissione in commercio di animali vivi e di prodotti di origine animale e, in alcuni casi specifici, alla loro esportazione.
- (2) L'allegato II del regolamento (CE) n. 999/2001 fissa le regole che disciplinano la determinazione della qualifica sanitaria con riguardo alla BSE degli Stati membri, dei paesi terzi o delle loro regioni. Tali regole si basano sulla norma internazionale stabilita dall'Organizzazione mondiale per la salute animale (OIE) nel codice sanitario per gli animali terrestri («il codice»). Nel capitolo dedicato alla BSE della versione 2013 del codice, l'espressione «valutazione del rilascio» è stata sostituita da «valutazione dell'ingresso» e la tabella contenente gli obiettivi in punti di un paese o di una regione è stata considerevolmente modificata per soddisfare meglio le esigenze dei paesi con una popolazione bovina piccola o molto piccola. Tali modifiche devono riflettersi nell'allegato II.
- (3) Il punto 2.2.1 del capitolo B dell'allegato VII del regolamento (CE) n. 999/2001 fa riferimento ai metodi e ai protocolli definiti nell'allegato X. La formulazione di questo punto dovrebbe essere modificata per rispecchiare le modifiche dell'allegato X introdotte dal presente atto.
- (4) Il capitolo A dell'allegato VIII del regolamento (CE) n. 999/2001 stabilisce le regole che disciplinano gli scambi all'interno dell'Unione di animali vivi, sperma ed embrioni, compresa l'esenzione degli embrioni omozigoti ovini ARR da qualsiasi altra prescrizione relativa alla scrapie classica negli scambi all'interno dell'Unione. Il 24 gennaio 2013 l'Autorità europea per la sicurezza alimentare (EFSA) ha adottato un parere scientifico sui rischi di trasmissione della scrapie classica mediante il trasferimento degli embrioni ottenuti in vivo negli ovini ⁽²⁾, nel quale ha concluso che il rischio di trasmissione della scrapie classica mediante l'impianto di embrioni ovini ARR omozigoti o eterozigoti potrebbe essere considerato trascurabile, a condizione che siano rispettate le raccomandazioni e le procedure dell'OIE relative al trasferimento di embrioni. Le pertinenti disposizioni di cui all'allegato VIII dovrebbero essere pertanto modificate, al fine di esonerare anche gli scambi all'interno dell'Unione di embrioni ovini eterozigoti ARR da qualsiasi altra prescrizione relativa alla scrapie classica.
- (5) In talune versioni linguistiche del regolamento (CE) n. 999/2001 vi è un'incoerenza terminologica tra i punti 1.2 e 1.3 della sezione A del capitolo A dell'allegato VIII del regolamento ed il resto del testo. Per motivi di coerenza, nelle versioni linguistiche in questione si dovrebbe usare lo stesso termine.
- (6) Il punto 2 della sezione A del capitolo A dell'allegato VIII del regolamento (CE) n. 999/2001 stabilisce le regole che disciplinano l'approvazione dello status di rischio trascurabile per la scrapie classica di uno Stato membro o di una parte di uno Stato membro. Il 4 luglio 2013, l'Austria ha presentato alla Commissione la documentazione giustificativa appropriata. Dato l'esito favorevole della valutazione di questa domanda da parte della Commissione, l'Austria dovrebbe essere elencata come Stato membro con un rischio trascurabile di scrapie classica.
- (7) Il punto 3.2 della sezione A del capitolo A dell'allegato VIII del regolamento (CE) n. 999/2001 contiene un elenco di Stati membri con un programma nazionale approvato di lotta contro la scrapie classica. Considerando che l'Austria dovrebbe essere elencata come Stato membro con un rischio trascurabile di scrapie classica, essa dovrebbe simultaneamente essere soppressa dall'elenco degli Stati membri con un programma nazionale approvato di lotta contro la scrapie classica, dato che tale qualifica offre garanzie superiori rispetto a quelle offerte nel programma di controllo.

⁽¹⁾ GUL 147 del 31.5.2001, pag. 1.⁽²⁾ The EFSA Journal 2013; 11 (2): 3080.

- (8) L'allegato IX del regolamento (CE) n. 999/2001 fissa, nel capitolo H, regole relative all'importazione nell'Unione di sperma ed embrioni di ovini e caprini. Tali norme di importazione devono essere aggiornate per riflettere le modifiche dell'allegato VIII introdotte dal presente atto.
- (9) L'allegato X del regolamento (CE) n. 999/2001 stabilisce i metodi di laboratorio per accertare la presenza della TSE nei bovini, negli ovini e nei caprini. Occorre rivedere tale allegato per aggiornare le informazioni sui laboratori designati, adeguare il riferimento a vari orientamenti, armonizzare alcuni termini tecnici e chiarire il processo di test discriminatori nei casi positivi di TSE negli ovini e nei caprini, tenendo conto delle conoscenze scientifiche più recenti e delle prassi attuali nell'Unione.
- (10) Il punto 4 del capitolo C dell'allegato X del regolamento (CE) n. 999/2001 contiene gli elenchi dei test diagnostici rapidi approvati per la sorveglianza delle TSE nei bovini, negli ovini e nei caprini. Il 18 settembre 2013 la società IDEXX ha presentato una domanda di modifica del nome del kit per il test dell'antigene della BSE/della scrapie IDEXX HerdChek, EIA in HerdChek BSE-Scrapie Antigen (IDEXX Laboratories). Il nuovo foglietto illustrativo del suddetto test è stato approvato dal laboratorio di riferimento dell'Unione europea per le TSE il 2 maggio 2013. Inoltre il 6 dicembre 2013 il gruppo Enfer ha comunicato di aver cessato la fabbricazione della versione 3 del kit diagnostico Enfer TSE e di avere chiesto la cancellazione di tale kit dall'elenco dei test rapidi approvati per la sorveglianza della BSE negli animali della specie bovina. Gli elenchi di cui al punto 4 del capitolo C dell'allegato X devono pertanto essere modificati di conseguenza.
- (11) Affinché gli Stati membri dispongano del tempo necessario per adeguare le loro procedure di certificazione relative alla scrapie per gli embrioni ovini, alcune modifiche introdotte dal presente regolamento si applicano a decorrere dal 1° gennaio 2015.
- (12) Occorre pertanto modificare di conseguenza il regolamento (CE) n. 999/2001.
- (13) Le misure di cui al presente regolamento sono conformi al parere del comitato permanente per la catena alimentare e la salute degli animali,

HA ADOTTATO IL PRESENTE REGOLAMENTO:

Articolo 1

Gli allegati II, VII, VIII, IX e X del regolamento (CE) n. 999/2001 sono modificati conformemente all'allegato del presente regolamento.

Articolo 2

Il presente regolamento entra in vigore il ventesimo giorno successivo alla pubblicazione nella *Gazzetta ufficiale dell'Unione europea*.

Le lettere a), b), ed e) del punto 3 e il punto 4 dell'allegato si applicano a decorrere dal 1° gennaio 2015.

Il presente regolamento è obbligatorio in tutti i suoi elementi e direttamente applicabile in ciascuno degli Stati membri.

Fatto a Bruxelles, il 28 ottobre 2014

Per la Commissione
Il presidente
José Manuel BARROSO

ALLEGATO

Gli allegati II, VII, VIII, IX e X del regolamento (CE) n. 999/2001 sono così modificati:

1) l'allegato II è così modificato:

a) i punti 1 e 2 del capitolo B sono sostituiti dai seguenti:

«1. **Struttura dell'analisi del rischio**

Le analisi del rischio comprendono una valutazione dell'ingresso e una dell'esposizione.

2. **Valutazione dell'ingresso (sfida esterna)**

2.1. La valutazione dell'ingresso consiste nello stimare la probabilità che l'agente della BSE sia stato introdotto nel paese o regione tramite generi alimentari potenzialmente contaminati da un agente della BSE o sia già presente nel paese o regione.

Si tiene conto dei seguenti fattori di rischio:

- a) la presenza o l'assenza dell'agente della BSE nel paese o nella regione e, se l'agente è presente, la sua prevalenza stimata in base ai risultati delle attività di sorveglianza;
- b) la produzione di farine di carne e ossa o di ciccioli dalla popolazione indigena di ruminanti;
- c) le farine di carne e ossa e i ciccioli importati;
- d) i bovini, ovini e caprini importati;
- e) i mangimi per animali e gli ingredienti per mangimi importati;
- f) i prodotti importati ricavati da ruminanti e destinati al consumo umano che potrebbero aver contenuto tessuti elencati al punto 1 dell'allegato V ed essere stati somministrati ai bovini;
- g) i prodotti importati ricavati da ruminanti e destinati all'utilizzo nei bovini vivi.

2.2. Nell'effettuare la valutazione dell'ingresso occorre tener conto dei sistemi speciali di eradicazione, della sorveglianza e di altre indagini epidemiologiche (soprattutto della sorveglianza della BSE effettuata sulla popolazione bovina) pertinenti per quanto riguarda i fattori di rischio elencati al punto 2.1.»

b) al punto 3 del capitolo D, la tabella 2 è sostituita dalla seguente:

«Tabella 2

Obiettivi in punti per le diverse dimensioni delle popolazioni di bovini adulti in un certo paese o regione

Obiettivi in punti per i paesi o regioni		
Dimensioni della popolazione di bovini adulti (24 mesi e più)	Sorveglianza di tipo A	Sorveglianza di tipo B
> 1 000 000	300 000	150 000
900 001-1 000 000	214 600	107 300
800 001-900 000	190 700	95 350
700 001-800 000	166 900	83 450
600 001-700 000	143 000	71 500

Obiettivi in punti per i paesi o regioni		
Dimensioni della popolazione di bovini adulti (24 mesi e più)	Sorveglianza di tipo A	Sorveglianza di tipo B
500 001-600 000	119 200	59 600
400 001-500 000	95 400	47 700
300 001-400 000	71 500	35 750
200 001-300 000	47 700	23 850
100 001-200 000	22 100	11 500
90 001-100 000	19 900	9 950
80 001-90 000	17 700	8 850
70 001-80 000	15 500	7 750
60 001-70 000	13 000	6 650
50 001-60 000	11 000	5 500
40 001-50 000	8 800	4 400
30 001-40 000	6 600	3 300
20 001-30 000	4 400	2 200
10 001-20 000	2 100	1 050
9 001-10 000	1 900	950
8 001-9 000	1 600	800
7 001-8 000	1 400	700
6 001-7 000	1 200	600
5 001-6 000	1 000	500
4 001-5 000	800	400
3 001-4 000	600	300
2 001-3 000	400	200
1 001-2 000	200	100»

2) all'allegato VII, capitolo B, il primo paragrafo del punto 2.2.1 è sostituito dal seguente:

«Ove non sia possibile escludere la BSE in seguito ai risultati dell'analisi molecolare secondaria effettuata in conformità dei metodi e dei protocolli di cui all'allegato X, capitolo C, punto 3.2, lettera c) ii), l'abbattimento e la distruzione completa, senza indugio, di tutti gli animali, embrioni e ovuli individuati dall'indagine di cui al punto 1, lettera b), dal secondo al quinto trattino.»

3) all'allegato VIII, capitolo A, la sezione A è così modificata:

a) al punto 1.2 la lettera g) è sostituita dalla seguente:

«g) possono essere introdotti soltanto i seguenti embrioni/ovuli ovini e caprini:

i) embrioni/ovuli di animali donatori che fin dalla nascita sono rimasti in uno Stato membro con un rischio trascurabile di scrapie classica o in un'azienda con un rischio trascurabile o controllato di scrapie classica o che soddisfano le seguenti condizioni:

— sono identificati in modo permanente in modo che si possa risalire alla loro azienda di nascita;

— sono rimasti fin dalla nascita in aziende nelle quali non è stato confermato alcun caso di scrapie classica durante la loro permanenza;

— non hanno evidenziato segni clinici di scrapie classica al momento della raccolta degli embrioni/ovuli;

ii) embrioni/ovuli ovini aventi almeno un allele ARR.»

b) al punto 1.3 la lettera g) è sostituita dalla seguente:

«g) possono essere introdotti soltanto i seguenti embrioni/ovuli ovini e caprini:

i) embrioni/ovuli di animali donatori che fin dalla nascita sono rimasti in uno Stato membro con un rischio trascurabile di scrapie classica o in un'azienda con un rischio trascurabile o controllato di scrapie classica o che soddisfano le seguenti condizioni:

— sono identificati in modo permanente in modo che si possa risalire alla loro azienda di nascita;

— sono rimasti fin dalla nascita in aziende nelle quali non è stato confermato alcun caso di scrapie classica durante la loro permanenza;

— non hanno evidenziato segni clinici di scrapie classica al momento della raccolta degli embrioni/ovuli;

ii) embrioni/ovuli ovini aventi almeno un allele ARR.»

c) al punto 2 è aggiunto il seguente punto 3:

«2.3. Gli Stati membri o zone di Stati membri con un rischio trascurabile di scrapie classica sono:

— Austria.»

d) il punto 3.2 è sostituito dal seguente:

«3.2. Sono approvati i programmi nazionali di lotta contro la scrapie classica dei seguenti Stati membri:

— Danimarca,

— Finlandia,

— Svezia.»

e) al punto 4.2 la lettera e) è sostituita dalla seguente:

«e) nel caso degli embrioni ovini, essi hanno almeno un allele ARR.»

4) all'allegato IX, capitolo H, il punto 2 ii) è sostituito dal seguente:

«ii) nel caso degli embrioni ovini, essi hanno almeno un allele ARR.»

5) l'allegato X è sostituito dal seguente:

«ALLEGATO X

LABORATORI DI RIFERIMENTO, CAMPIONAMENTO E METODI DI LABORATORIO

CAPITOLO A

Laboratori nazionali di riferimento

1. Il laboratorio nazionale di riferimento designato:

- a) dispone di strutture ed addetti che consentano di individuare in ogni momento, in particolare alla prima comparsa della malattia in questione, il tipo e il ceppo dell'agente patogeno delle TSE e di confermare i risultati ottenuti dai laboratori diagnostici ufficiali; se non è in grado di identificare il ceppo dell'agente patogeno, avvia una procedura che affidi al laboratorio UE di riferimento l'identificazione del ceppo;
- b) verifica i metodi diagnostici utilizzati nei laboratori diagnostici ufficiali;
- c) è responsabile del coordinamento delle norme e dei metodi diagnostici nello Stato membro; a tal fine:
 - può fornire reagenti diagnostici ai laboratori diagnostici ufficiali,
 - controlla la qualità di tutti i reagenti diagnostici utilizzati nello Stato membro,
 - organizza periodicamente prove comparative,
 - detiene isolati o tessuti corrispondenti di agenti patogeni, o contenenti agenti patogeni della malattia in questione, provenienti da casi constatati nello Stato membro,
 - garantisce la conferma dei risultati ottenuti nei laboratori diagnostici,
- d) collabora con il laboratorio UE di riferimento, anche partecipando alle prove comparative periodiche organizzate da tale laboratorio. Qualora un laboratorio di riferimento nazionale dovesse non superare una prova comparativa organizzata dal laboratorio UE di riferimento, esso adotta immediatamente tutte le misure correttive necessarie a porre rimedio alla situazione, a sostenere nuovamente la prova comparativa e a superarla oppure a superare la prossima prova comparativa organizzata dal laboratorio UE di riferimento.

2. Tuttavia, in deroga al punto 1, gli Stati membri che non hanno un laboratorio di riferimento nazionale utilizzano i servizi del laboratorio UE di riferimento o dei laboratori di riferimento nazionali di altri Stati membri o di paesi membri dell'Associazione europea di libero scambio (EFTA).

3. I laboratori nazionali di riferimento sono:

Austria:	Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH (AGES) Institut für veterinärmedizinische Untersuchungen Robert Koch Gasse 17 A-2340 Mödling
Belgio:	CERVA-CODA-VAR Centre d'Étude et de Recherches Vétérinaires et Agrochimiques, Centrum voor Onderzoek in Diergeneeskunde en Agrochemie, Veterinary and Agrochemical Research Centre Groeselenberg 99 B-1180 Bruxelles
Bulgaria:	Национален диагностичен научноизследователски ветеринарномедицински институт 'Проф. Д-р Георги Павлов' Национална референтна лаборатория 'Трансмисивни спонгиозни енцефалопатии' бул. 'Пенчо Славейков' 15 София 1606 (National Diagnostic Veterinary Research Institute 'Prof. Dr. Georgi Pavlov', National Reference Laboratory for Transmissible Spongiform Encephalopathies, 15 Pencho Slaveykov Blvd., 1606 Sofia)

Croazia:	Hrvatski veterinarski institut, Savska Cesta 143 10000 Zagreb
Cipro:	State Veterinary Laboratories Veterinary Services CY-1417 Athalassa Nicosia
Repubblica ceca:	Státní veterinární ústav Jihlava (State Veterinary Institute Jihlava) National Reference Laboratory for BSE and Animal TSEs Rantířovská 93 586 05 Jihlava
Danimarca:	Veterinærinstituttet Danmarks Tekniske Universitet Bülowsvej 27 DK-1870 Frederiksberg C (National Veterinary Institute, Technical University of Denmark, 27, Bülowsvej, DK — 1870 Frederiksberg C)
Estonia:	Veterinaar- ja Toidulaboratoorium (Estonian Veterinary and Food Laboratory) Kreutzwaldi 30 Tartu 51006
Finlandia:	Finnish Food Safety Authority Evira Research and Laboratory Department Veterinary Virology Research Unit — TSEs Mustialankatu 3 FI-00790 Helsinki
Francia:	ANSES-Lyon, Unité MND 31, avenue Tony Garnier 69 364 LYON Cedex 07
Germania:	Friedrich-Loeffler-Institut Institute for Novel and Emerging Infectious Diseases at the Friederich-Loeffler-Institut Federal Research Institute for Animal Health Suedufer 10 D-17493 Greifswald Insel Riems
Grecia:	Ministry of Agriculture — Veterinary Laboratory of Larissa 6th km of Larissa — Trikala Highway GR-41110 Larissa
Ungheria:	Veterinary Diagnostic Directorate, National Food Chain Safety Office (VDD NFCSO) Tábornok u. 2 1143 Budapest
Irlanda:	Central Veterinary Research Laboratory Department of Agriculture, Food and the Marine Backweston Campus Celbridge Co. Kildare

Italia:	Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta — CEA Via Bologna, 148 I-10154 Torino
Lettonia:	Institute of Food Safety, Animal Health and Environment (BIOR) Lejupes Str. 3 Riga LV 1076
Lituania:	National Food and Veterinary Risk Assessment Institute J. Kairiūkščio str. 10 LT-08409 Vilnius
Lussemburgo:	CERVA-CODA-VAR Centre d'Étude et de Recherches Vétérinaires et Agrochimiques, Centrum voor Onderzoek in Diergeneeskunde en Agrochemie, Veterinary and Agrochemical Research Centre Groeselenberg 99 B-1180 Bruxelles
Malta:	Veterinary Diagnostic Laboratory Department of Food Health and Diagnostics Veterinary Affairs and Fisheries Division Ministry for Rural Affairs and the Environment Albert Town Marsa
Paesi Bassi:	Central Veterinary Institute of Wageningen UR Edelhertweg 15 8219 PH Lelystad P.O. Box 2004 NL-8203 AA Lelystad
Polonia:	Państwowy Instytut Weterynaryjny (PIWet) 24-100 Puławy al. Partyzantów 57
Portogallo:	Setor diagnóstico EET Laboratório de Patologia Unidade Estratégica de Investigação e Serviços de Produção e Saúde Animal Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária Rua General Moraes Sarmento 1500-311 Lisboa
Romania:	Institutul de Diagnostic și Sănătate Animală (Institute for Diagnosis and Animal Health) Department of Morphology Strada Dr. Staicovici nr. 63, 5 București 050557
Slovacchia:	State Veterinary Institute Zvolen Pod dráhami 918 SK-960 86, Zvolen
Slovenia:	University of Ljubljana, Veterinary faculty National Veterinary Institute Gerbičeva 60 SI-1000 Ljubljana

Spagna:	Laboratorio Central de Veterinaria (Algete) Ctra. M-106 pk 1,4 28110 Algete (Madrid)
Svezia:	National Veterinary Institute SE-751 89 Uppsala
Regno Unito:	Animal Health and Veterinary Laboratories Agency Woodham Lane New Haw, Addlestone, Surrey KT15 3NB

CAPITOLO B

Laboratorio UE di riferimento

1. Il laboratorio UE di riferimento per le TSE è:

The Animal Health and Veterinary Laboratories Agency
Woodham Lane
New Haw
Addlestone
Surrey KT15 3NB
Regno Unito

2. Il laboratorio di riferimento comunitario ha le funzioni e i compiti seguenti:

- a) coordinare, di concerto con la Commissione, i metodi utilizzati negli Stati membri per diagnosticare le encefalopatie spongiformi trasmissibili, e la determinazione del genotipo della proteina prionica, in particolare:
 - conservando e fornendo i corrispondenti tessuti contenenti gli agenti patogeni delle TSE, ai fini della preparazione o dell'esecuzione delle analisi diagnostiche e della tipizzazione dei ceppi degli agenti patogeni delle TSE,
 - fornendo i sieri standard e altri reagenti di riferimento ai laboratori nazionali di riferimento, al fine di uniformare i metodi analitici e i reagenti utilizzati negli Stati membri,
 - creando e mantenendo una collezione di tessuti corrispondenti contenenti gli agenti e i ceppi patogeni delle TSE,
 - organizzando periodicamente prove comparative delle procedure per la diagnosi delle TSE e per la determinazione del genotipo della proteina prionica negli ovini a livello dell'UE,
 - raccogliendo e confrontando dati e informazioni sui metodi di diagnosi utilizzati e sui risultati delle analisi effettuate nell'UE,
 - caratterizzando isolati dell'agente patogeno delle TSE con i metodi più aggiornati, per consentire una migliore comprensione dell'epidemiologia della malattia,
 - seguendo gli orientamenti prevalenti a livello mondiale in materia di sorveglianza, epidemiologia e prevenzione delle TSE,
 - avvalendosi delle competenze disponibili con riguardo alle malattie da prioni per consentire una rapida diagnosi differenziale,
 - acquisendo una conoscenza approfondita della preparazione e dell'uso dei metodi diagnostici applicati per il controllo e l'eradicazione delle TSE,
- b) collaborare attivamente alla diagnosi dei focolai di TSE negli Stati membri, esaminando campioni di animali affetti da TSE per diagnosi di conferma, caratterizzazione e studi epidemiologici;
- c) incentivare la formazione o l'aggiornamento professionale di esperti in diagnosi di laboratorio, allo scopo di armonizzare le tecniche diagnostiche nell'UE.

CAPITOLO C

Campionamento e analisi di laboratorio**1. Campionamento**

Qualsiasi campione che si intenda esaminare per verificare la presenza di una TSE deve essere prelevato utilizzando i metodi e i protocolli indicati nell'ultima edizione del Manuale sulle prove diagnostiche e i vaccini per gli animali terrestri dell'Organizzazione mondiale della sanità animale (OIE) (di seguito "il manuale"). Oltre a, o in assenza di, metodi e protocolli dell'OIE e affinché vi sia materiale sufficiente, l'autorità competente deve garantire l'uso di metodi e protocolli di campionamento in conformità degli orientamenti emessi dal laboratorio UE di riferimento.

In particolare l'autorità competente deve raccogliere i tessuti appropriati, conformemente ai pareri scientifici disponibili e alle linee guida del laboratorio UE di riferimento, al fine di garantire l'individuazione di tutti i ceppi noti di TSE nei piccoli ruminanti e deve conservare almeno la metà dei tessuti raccolti al fresco, ma non congelati, finché il test rapido non risulti negativo. Qualora il risultato sia positivo o non conclusivo, i tessuti residui devono essere sottoposti a esami di verifica e successivamente devono essere trattati conformemente alle linee guida del laboratorio UE di riferimento sui test di differenziazione e la classificazione — "TSE strain characterisation in small ruminants (Caratterizzazione del ceppo di TSE nei piccoli ruminanti): A technical handbook for National Reference Laboratories in the EU (Manuale tecnico per i laboratori nazionali di riferimento nell'UE)".

I campioni vanno contrassegnati correttamente, in modo da identificare l'animale sottoposto a campionamento.

2. Laboratori

Ogni esame di laboratorio per accertare la presenza di una TSE è condotto in laboratori diagnostici ufficiali debitamente autorizzati dall'autorità competente.

3. Metodi e protocolli**3.1. Analisi di laboratorio per accertare la presenza di BSE nei bovini****a) Casi sospetti**

I campioni di bovini da analizzare in laboratorio a norma delle disposizioni dell'articolo 12, paragrafo 2, sono immediatamente sottoposti a esami di verifica ricorrendo ad almeno uno dei seguenti metodi e protocolli descritti nell'ultima edizione del manuale:

- i) metodo immunoistochimico (IHC);
- ii) Western blot;
- iii) dimostrazione delle caratteristiche fibrille mediante microscopia elettronica;
- iv) esame istopatologico;
- v) combinazione di test rapidi definiti nel terzo comma.

Se l'esame istopatologico dà un risultato negativo o non conclusivo, i tessuti sono sottoposti a un ulteriore esame mediante uno degli altri metodi e protocolli di verifica.

I test rapidi possono essere utilizzati sia per uno screening preliminare dei casi sospetti sia, in caso di esito positivo o non conclusivo, per una successiva verifica, secondo gli orientamenti del laboratorio UE di riferimento — "OIE rules for the official confirmation of BSE in bovines (based on an initial reactive result in an approved rapid test) by using a second rapid test [Regole OIE per la conferma ufficiale della BSE nei bovini (in base ad un risultato iniziale reattivo in un test rapido approvato) tramite ricorso ad un secondo test rapido]" e purché:

- i) la verifica sia effettuata in un laboratorio di riferimento nazionale per le TSE; e
- ii) uno dei due test rapidi sia un Western blot; e

iii) il secondo test rapido utilizzato:

- preveda un controllo di tessuto negativo e un campione di bovino affetto da BSE come controllo di tessuto positivo,
- sia di tipo diverso dal test utilizzato per lo screening preliminare; e

iv) se come primo test è utilizzato un test rapido Western blot, il risultato venga documentato e l'immagine blot presentata al laboratorio di riferimento nazionale per le TSE; e

v) ove il risultato dello screening preliminare non venga confermato dal test rapido successivo, il campione venga sottoposto ad esame mediante uno degli altri metodi di verifica; se l'esame istopatologico dà un risultato negativo o non conclusivo, i tessuti siano sottoposti a un ulteriore esame mediante uno degli altri metodi e protocolli di verifica.

Se il risultato di uno degli esami di verifica di cui ai punti da i) a v), del primo comma è positivo, gli animali sono considerati casi positivi di BSE.

b) Sorveglianza della BSE

I campioni di bovini da analizzare in laboratorio, a norma delle disposizioni dell'allegato III, capitolo A, parte I, sono sottoposti a test rapido.

Se il test rapido dà un risultato positivo o non conclusivo, il campione è immediatamente sottoposto a esami di verifica ricorrendo ad almeno uno dei seguenti metodi e protocolli descritti nell'ultima edizione del manuale:

- i) metodo immunoistochimico (IHC);
- ii) Western blot;
- iii) dimostrazione delle caratteristiche fibrille mediante microscopia elettronica;
- iv) esame istopatologico;
- v) combinazione di test rapidi definiti nel quarto comma.

Se l'esame istopatologico dà un risultato negativo o non conclusivo, i tessuti sono sottoposti a un ulteriore esame mediante uno degli altri metodi e protocolli di verifica.

I test rapidi possono essere utilizzati sia per uno screening preliminare sia, in caso di esito positivo o non conclusivo, per una successiva verifica, secondo gli orientamenti del laboratorio UE di riferimento — “OIE rules for the official confirmation of BSE in bovines (based on an initial reactive result in an approved rapid test) by using a second rapid test [Regole OIE per la conferma ufficiale della BSE nei bovini (in base ad un risultato iniziale reattivo in un test rapido approvato) tramite ricorso ad un secondo test rapido]” e purché:

- i) la verifica sia effettuata in un laboratorio di riferimento nazionale per le TSE; e
- ii) uno dei due test rapidi sia un Western blot; e

iii) il secondo test rapido utilizzato:

- preveda un controllo di tessuto negativo e un campione di bovino affetto da BSE come controllo di tessuto positivo,
- sia di tipo diverso dal test utilizzato per lo screening preliminare; e

iv) se come primo test è utilizzato un test rapido Western blot, il risultato venga documentato e l'immagine blot presentata al laboratorio di riferimento nazionale per le TSE; e

v) ove il risultato dello screening preliminare non venga confermato dal test rapido successivo, il campione venga sottoposto ad esame mediante uno degli altri metodi di verifica; se l'esame istopatologico dà un risultato negativo o non conclusivo, i tessuti siano sottoposti a un ulteriore esame mediante uno degli altri metodi e protocolli di verifica.

Un animale è considerato un caso positivo di BSE se il risultato del test rapido è positivo o non conclusivo e almeno uno degli esami di verifica di cui ai punti da i) a v), del secondo comma è positivo

c) Ulteriore esame dei casi positivi di BSE

I campioni di tutti i casi positivi di BSE devono essere trasmessi a un laboratorio designato dall'autorità competente che abbia partecipato con successo alle più recenti prove valutative organizzate dal laboratorio di riferimento dell'Unione europea per i test discriminatori dei casi confermati di BSE per essere sottoposti a ulteriori esami conformemente ai metodi e ai protocolli descritti nel metodo del laboratorio UE di riferimento per la classificazione degli isolati bovini delle TSE (un metodo two-blot per la classificazione provvisoria degli isolati bovini delle TSE).

3.2. *Analisi di laboratorio per accertare la presenza di BSE negli ovini e nei caprini*

a) Casi sospetti

I campioni di ovini e caprini da analizzare in laboratorio a norma delle disposizioni dell'articolo 12, paragrafo 2, sono immediatamente sottoposti a esami di verifica ricorrendo ad almeno uno dei seguenti metodi e protocolli descritti nell'ultima edizione del manuale:

- i) metodo immunoistochimico (IHC);
- ii) Western blot;
- iii) dimostrazione delle caratteristiche fibrille mediante microscopia elettronica;
- iv) esame istopatologico.

Se l'esame istopatologico dà un risultato negativo o non conclusivo, i tessuti sono sottoposti a un ulteriore esame mediante uno degli altri metodi e protocolli di verifica.

I test rapidi possono essere utilizzati per uno screening preliminare dei casi sospetti. A tali test non è possibile ricorrere per una successiva verifica.

Ove il risultato del test rapido utilizzato per lo screening preliminare dei casi sospetti sia positivo o non conclusivo, il campione è esaminato effettuando uno degli esami di verifica di cui ai punti da i) a iv), del primo comma. Se l'esame istopatologico dà un risultato negativo o non conclusivo, i tessuti sono sottoposti a un ulteriore esame mediante uno degli altri metodi e protocolli di verifica.

Se il risultato di uno degli esami di verifica di cui ai punti da i) a v), del primo comma è positivo, gli animali sono considerati casi positivi di TSE e vengono sottoposti a ulteriori esami conformemente alla lettera c).

b) Sorveglianza della TSE

I campioni provenienti da ovini e caprini e inviati ai laboratori a fini di controllo, conformemente alle disposizioni dell'allegato III, capitolo A, parte II (Sorveglianza negli ovini e nei caprini), sono sottoposti a test rapido al fine di garantire l'individuazione di tutti i ceppi noti di TSE.

Se il test rapido dà un risultato positivo o non conclusivo, i campioni di tessuti sono immediatamente inviati a un laboratorio ufficiale per gli esami di verifica mediante istopatologia, immunoistochimica, Western blotting o dimostrazione delle caratteristiche fibrille mediante microscopia elettronica, come indicato alla lettera a). Se il risultato dell'esame di verifica è negativo o non conclusivo, si procede a ulteriori esami mediante immunoistochimica o Western blotting.

Se il risultato di uno degli esami di verifica è positivo, l'animale è considerato un caso positivo di TSE e viene sottoposto a ulteriori esami conformemente alla lettera c).

c) Ulteriore esame dei casi positivi di TSE

i) Analisi molecolare iniziale con metodo discriminatorio Western blotting

I campioni provenienti da casi clinici sospetti e da animali sottoposti a test in conformità dell'allegato III, capitolo A, parte II, punti 2 e 3, considerati casi positivi di TSE, ma non casi di scrapie atipica, in base agli esami di cui alle lettere a) o b), o che presentano caratteristiche che, secondo il laboratorio che esegue i test, richiedono maggiori accertamenti, sono esaminati mediante un metodo discriminatorio Western blotting elencato negli orientamenti del laboratorio UE di riferimento da un laboratorio diagnostico ufficiale designato dall'autorità competente, che abbia partecipato con successo alle più recenti prove valutative organizzate dal laboratorio UE di riferimento in relazione all'impiego di tale metodo.

ii) Analisi molecolare secondaria con ulteriori metodi di analisi molecolare

I casi di TSE in cui la presenza della BSE non può essere esclusa secondo gli orientamenti emessi dal laboratorio UE di riferimento mediante l'analisi molecolare iniziale di cui al punto i), devono essere immediatamente inoltrati al laboratorio UE di riferimento, accompagnati da tutte le informazioni pertinenti disponibili. I campioni devono essere sottoposti ad ulteriori analisi e verifiche mediante almeno un metodo alternativo, che differisca sotto il profilo immunochimico dal metodo molecolare iniziale, a seconda del volume e della natura del materiale inoltrato, come illustrato negli orientamenti del laboratorio UE di riferimento. Le suddette analisi ulteriori devono essere effettuate dai laboratori seguenti autorizzati per il metodo di competenza:

Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail
31, avenue Tony Garnier
BP 7033
F-69342 Lyon Cedex

Commissariat à l'Energie Atomique
18, route du Panorama
BP 6
F-92265 Fontenay-aux-Roses Cedex

Animal Health and Veterinary Laboratories Agency
Woodham Lane
New Haw
Addlestone
Surrey KT15 3NB
Regno Unito

I risultati sono interpretati dal laboratorio UE di riferimento, assistito da un gruppo di esperti denominato Strain Typing Expert Group, STEG (gruppo di esperti in materia di tipizzazione dei ceppi), comprendente un rappresentante del competente laboratorio nazionale di riferimento. La Commissione è informata immediatamente dei risultati dell'interpretazione.

iii) Biotest sui topi

I campioni che indicano la presenza di BSE e i campioni non conclusivi in seguito all'analisi molecolare secondaria sono ulteriormente analizzati con biotest sui topi per ottenere una conferma definitiva. La natura o la quantità del materiale disponibile possono influire sulla struttura del biotest che sarà approvato dal laboratorio UE di riferimento assistito dallo STEG caso per caso. I biotest saranno effettuati dal laboratorio UE di riferimento oppure da laboratori da questo designati.

I risultati sono interpretati dal laboratorio UE di riferimento, assistito dallo STEG. La Commissione è informata immediatamente dei risultati dell'interpretazione.

3.3. *Analisi di laboratorio per accertare la presenza di TSE in specie diverse da quelle di cui ai punti 3.1 e 3.2*

Qualora siano definiti metodi e protocolli per i test effettuati al fine di confermare la presenza di una TSE in specie diverse dai bovini, ovini e caprini, questi comprendono almeno un esame istopatologico del tessuto cerebrale. L'autorità competente può richiedere inoltre test di laboratorio, quali immunistochemica, Western blotting, dimostrazione delle caratteristiche fibrille mediante microscopia elettronica oppure altri metodi atti a individuare la forma della proteina prionica associata alla patologia. Almeno un altro esame di laboratorio deve essere comunque condotto qualora l'esame istopatologico iniziale sia negativo o non conclusivo. Nel caso della prima comparsa della malattia, devono essere eseguiti almeno tre esami diversi.

In particolare, laddove si sospetti la BSE in una specie diversa dai bovini, i casi devono essere inoltrati al laboratorio UE di riferimento, assistito dallo STEG, per un'ulteriore caratterizzazione.

4. Test rapidi

Per eseguire i test rapidi di cui all'articolo 5, paragrafo 3, e all'articolo 6, paragrafo 1, sono utilizzati quali test diagnostici rapidi per la sorveglianza della BSE nei bovini solo i seguenti metodi:

- test di immunocolorazione secondo la metodica Western blotting per l'individuazione del frammento PrP^{Res} resistente alla proteinasi K (test Prionics Check Western),
- immunodosaggio a “sandwich” per l'individuazione della PrP^{Res} (short assay protocol), previa denaturazione e concentrazione (test rapido Bio-Rad TeSeE SAP),
- immunodosaggio su micropiastra (ELISA) per l'individuazione della PrP^{Res} resistente alla proteinasi K con anticorpi monoclonali (test Prionics-Check LIA),
- immunodosaggio con impiego di un polimero chimico per la cattura selettiva della PrP^{Sc} e un anticorpo monoclonale di rilevazione diretto contro le regioni conservate della molecola della PrP (kit per il test dell'antigene della BSE IDEXX HerdChek, EIA e kit per il test dell'antigene della BSE/della scrapie IDEXX HerdChek, EIA (Laboratori IDEXX)],
- immunodosaggio a flusso laterale con impiego di due diversi anticorpi monoclonali per individuare le frazioni della PrP resistenti alla proteinasi K (Prionics Check PrioSTRIP),
- immunodosaggio a “sandwich” con impiego di due diversi anticorpi monoclonali diretti contro due epitopi presenti in una PrP^{Sc} bovina in uno stato altamente dispiegato (kit per il test Roboscreen Beta Prion BSE EIA).

Per eseguire i test rapidi di cui all'articolo 5, paragrafo 3, e all'articolo 6, paragrafo 1, sono utilizzati quali test diagnostici rapidi per la sorveglianza della TSE negli ovini e nei caprini solo i seguenti metodi:

- immunodosaggio a “sandwich” per l'individuazione della PrP^{Res} (short assay protocol), previa denaturazione e concentrazione (test rapido Bio-Rad TeSeE SAP),
- immunodosaggio a “sandwich” per l'individuazione della PrP^{Res} mediante il kit di individuazione TeSeE Sheep/Goat, previa denaturazione e concentrazione mediante il kit di purificazione TeSeE Sheep/Goat (test rapido Bio-Rad TeSeE Sheep/Goat),
- immunodosaggio con impiego di un polimero chimico per la cattura selettiva della PrP^{Sc} e un anticorpo monoclonale di rilevazione diretto contro le regioni conservate della molecola della PrP [kit per il test dell'antigene della BSE/scrapie HerdChek (Laboratori IDEXX)],
- immunodosaggio a flusso laterale con impiego di due diversi anticorpi monoclonali per individuare le frazioni della PrP resistenti alla proteinasi K (Prionics — Check PrioSTRIP SR, protocollo di lettura visiva).

Per tutti i test rapidi il campione di tessuto utilizzato deve risultare conforme alle istruzioni d'uso del fabbricante.

I produttori dei test diagnostici rapidi devono essersi dotati di un sistema di assicurazione della qualità approvato dal laboratorio UE di riferimento ed essere in grado di garantire la stabilità dei risultati dei test. I produttori devono fornire i protocolli del test al laboratorio UE di riferimento.

I test diagnostici rapidi e i relativi protocolli possono essere modificati solo previa comunicazione al laboratorio UE di riferimento e purché quest'ultimo concluda che la modifica non riduce la sensibilità, specificità o affidabilità del test rapido. Tale conclusione va comunicata alla Commissione e ai laboratori nazionali di riferimento.

5. Test alternativi

(Da definire)»
