

REGULAMENTO (UE) N.º 1148/2014 DA COMISSÃO**de 28 de outubro de 2014****que altera os anexos II, VII, VIII, IX e X do Regulamento (CE) n.º 999/2001 do Parlamento Europeu e do Conselho que estabelece regras para a prevenção, o controlo e a erradicação de determinadas encefalopatias espongiformes transmissíveis****(Texto relevante para efeitos do EEE)**

A COMISSÃO EUROPEIA,

Tendo em conta o Tratado sobre o Funcionamento da União Europeia,

Tendo em conta o Regulamento (CE) n.º 999/2001 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 22 de maio de 2001, que estabelece regras para a prevenção, o controlo e a erradicação de determinadas encefalopatias espongiformes transmissíveis ⁽¹⁾, nomeadamente o artigo 23.º, primeiro parágrafo,

Considerando o seguinte:

- (1) O Regulamento (CE) n.º 999/2001 estabelece regras para a prevenção, o controlo e a erradicação de determinadas encefalopatias espongiformes transmissíveis (EET) em bovinos, ovinos e caprinos. É aplicável à produção e à introdução no mercado de animais vivos e de produtos de origem animal, assim como, em certos casos específicos, à sua exportação.
- (2) O anexo II do Regulamento (CE) n.º 999/2001 estabelece as regras que regulam a determinação do estatuto dos Estados-Membros ou dos países terceiros, ou suas regiões, em matéria de encefalopatia espongiforme bovina (EEB). Essas regras baseiam-se na norma internacional estabelecida pela Organização Mundial da Saúde Animal (OIE) no Código Sanitário dos Animais Terrestres (a seguir designado «Código»). No capítulo relativo à EEB da versão de 2013 do Código, a expressão «avaliação da libertação» foi substituída por «avaliação da entrada» e o quadro que especifica a pontuação-objetivo para cada país ou região foi alterado substancialmente, a fim de responder melhor às necessidades dos países com uma população de bovinos de pequena ou muito pequena dimensão. Estas alterações devem ser repercutidas no anexo II.
- (3) O anexo VII, capítulo B, ponto 2.2.1, do Regulamento (CE) n.º 999/2001 faz referência aos métodos e protocolos enunciados no anexo X. A redação desse ponto deve ser alterada de modo a refletir as alterações ao anexo X introduzidas pelo presente ato.
- (4) O anexo VIII, capítulo A, do Regulamento (CE) n.º 999/2001 estabelece as regras que regulam o comércio intra-União de animais vivos, sémen e embriões e prevê a isenção dos embriões ARR homocigóticos de ovinos de quaisquer outros requisitos relativos ao tremor epizootico clássico no contexto do comércio intra-União. Em 24 de janeiro de 2013, a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (AESAs) adotou um parecer científico sobre o risco de transmissão do tremor epizootico clássico através da transferência de embriões obtidos *in vivo* em ovinos ⁽²⁾, no qual conclui que o risco de transmissão do tremor epizootico clássico pela implantação de embriões ARR homocigóticos ou heterocigóticos de ovinos pode ser considerado negligenciável, desde que as recomendações e os procedimentos da OIE respeitantes à transferência de embriões sejam respeitados. As disposições relevantes do anexo VIII devem, pois, ser alteradas de modo a isentar também os embriões ARR heterocigóticos de ovinos de quaisquer outros requisitos relativos ao tremor epizootico clássico.
- (5) Em determinadas versões linguísticas do Regulamento (CE) n.º 999/2001, há uma incoerência terminológica entre o anexo VIII, capítulo A, secção A, pontos 1.2 e 1.3, desse regulamento e o restante texto. Por razões de coerência, deve ser utilizado o mesmo termo nas versões linguísticas em causa.
- (6) O anexo VIII, capítulo A, secção A, ponto 2, do Regulamento (CE) n.º 999/2001 define as regras em matéria de aprovação do estatuto de risco negligenciável de tremor epizootico clássico de um Estado-Membro ou de uma zona de um Estado-Membro. Em 4 de julho de 2013, a Áustria apresentou à Comissão os documentos justificativos adequados. Uma vez que os resultados da avaliação deste pedido efetuada pela Comissão foram favoráveis, a Áustria deve ser incluída na lista de Estados-Membros com risco negligenciável de tremor epizootico clássico.
- (7) O anexo VIII, capítulo A, secção A, ponto 3.2, do Regulamento (CE) n.º 999/2001 enumera os Estados-Membros que dispõem de um programa nacional de luta contra o tremor epizootico clássico aprovado. Visto que a Áustria deve ser incluída na lista de Estados-Membros com risco negligenciável de tremor epizootico clássico, deve simultaneamente ser retirada da lista de Estados-Membros que dispõem de um programa nacional de luta contra o tremor epizootico clássico aprovado, uma vez que o referido estatuto oferece garantias superiores às fornecidas pelo programa.

⁽¹⁾ JO L 147 de 31.5.2001, p. 1.⁽²⁾ EFSA Journal 2013; 11(2):3080.

- (8) O anexo IX, capítulo H, do Regulamento (CE) n.º 999/2001 estabelece regras para a importação de sémen e embriões de ovinos e caprinos na União. Essas regras de importação devem ser atualizadas de modo a refletir as alterações do anexo VIII introduzidas pelo presente ato.
- (9) O anexo X do Regulamento (CE) n.º 999/2001 estabelece os métodos de análise aplicáveis a testes para deteção de EET em bovinos, ovinos e caprinos. Importa rever este anexo a fim de atualizar as informações sobre os laboratórios designados, adaptar as referências a várias diretrizes, harmonizar alguns termos técnicos e clarificar o processo relativo aos testes discriminatórios de casos de EET positivos em ovinos e caprinos, em conformidade com os conhecimentos científicos mais recentes e as práticas atuais na União.
- (10) No Anexo X, capítulo C, ponto 4, do Regulamento (CE) n.º 999/2001 estabelece-se uma lista de testes rápidos aprovados para a vigilância das EET em bovinos, ovinos e caprinos. Em 18 de setembro de 2013, a empresa IDEXX solicitou que o nome do teste IDEXX HerdChek BSE-Scrapie Antigen Test Kit fosse substituído por HerdChek BSE-Scrapie Antigen (IDEXX Laboratories). O novo folheto informativo deste teste foi aprovado pelo laboratório de referência da União Europeia para as EET em 2 de maio de 2013. Além disso, em 6 de dezembro de 2013 o Enfer Group informou que tinha deixado de fabricar o kit de diagnóstico Enfer TSE versão 3, solicitando que esse kit fosse suprimido da lista de testes rápidos aprovados para a EEB em bovinos. Por conseguinte, a lista constante do anexo X, capítulo C, ponto 4, deve ser adaptada em conformidade.
- (11) A fim de proporcionar aos Estados-Membros tempo suficiente para adaptarem os respetivos procedimentos de certificação de embriões de ovinos no que diz respeito ao tremor epizoótico, algumas alterações introduzidas pelo presente regulamento devem aplicar-se a partir de 1 de janeiro de 2015.
- (12) O Regulamento (CE) n.º 999/2001 deve, portanto, ser alterado em conformidade.
- (13) As medidas previstas no presente regulamento estão em conformidade com o parecer do Comité Permanente da Cadeia Alimentar e da Saúde Animal,

ADOTOU O PRESENTE REGULAMENTO:

Artigo 1.º

Os anexos II, VII, VIII, IX e X do Regulamento (CE) n.º 999/2001 são alterados em conformidade com o anexo do presente regulamento.

Artigo 2.º

O presente regulamento entra em vigor no vigésimo dia seguinte ao da sua publicação no *Jornal Oficial da União Europeia*.

As alíneas a), b) e e) do ponto 3 e do ponto 4 do anexo são aplicáveis a partir de 1 de janeiro de 2015.

O presente regulamento é obrigatório em todos os seus elementos e diretamente aplicável em todos os Estados-Membros.

Feito em Bruxelas, em 28 de outubro de 2014.

Pela Comissão
O Presidente
José Manuel BARROSO

ANEXO

Os anexos II, VII, VIII, IX e X do Regulamento (CE) n.º 999/2001 são alterados do seguinte modo:

1) O anexo II é alterado do seguinte modo:

a) No capítulo B, os pontos 1 e 2 passam a ter a seguinte redação:

«1. **Estrutura da análise dos riscos**

A análise dos riscos deve incluir uma avaliação da entrada e uma avaliação da exposição.

2. **Avaliação da entrada (desafio externo)**

2.1. A avaliação da entrada consiste em determinar a probabilidade de o agente da EEB ter sido introduzido no país ou na região através de mercadorias potencialmente contaminadas com um agente da EEB ou de já estar presente no país ou na região.

Devem ser tidos em conta os seguintes fatores de risco:

- a) A presença ou ausência do agente da EEB no país ou na região e, se estiver presente, a sua prevalência, com base no resultado das atividades de vigilância;
- b) A produção de farinhas de carne e de ossos ou de torresmos a partir da população autóctone de ruminantes;
- c) As farinhas de carne e de ossos e os torresmos importados;
- d) Os bovinos, ovinos e caprinos importados;
- e) Alimentos para animais e seus ingredientes importados;
- f) Produtos destinados ao consumo humano importados, com origem em ruminantes, que possam ter contido os tecidos enumerados no ponto 1 do anexo V e possam ter sido usados na alimentação de bovinos;
- g) Produtos importados com origem em ruminantes para utilização *in vivo* nos bovinos.

2.2. Na realização da avaliação da entrada, deve ter-se em conta a existência de planos especiais de erradicação, vigilância e outras investigações epidemiológicas (em especial a vigilância da EEB levada a efeito na população bovina) que sejam relevantes em termos dos fatores de risco enumerados no ponto 2.1.»;

b) No capítulo D, ponto 3, o quadro 2 é substituído pelo seguinte:

«Quadro 2

Pontuação — objetivo para diferentes dimensões de populações de bovinos adultos num país ou numa região

Pontuação — objetivo para o país ou a região		
Dimensão da população de bovinos adultos (24 meses ou mais)	Vigilância de tipo A	Vigilância de 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

Pontuação — objetivo para o país ou a região		
Dimensão da população de bovinos adultos (24 meses ou mais)	Vigilância de tipo A	Vigilância de 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) No anexo VII, capítulo B, o primeiro parágrafo do ponto 2.2.1 passa a ter a seguinte redação:

«Se não se puder excluir a presença de EEB após obtenção dos resultados da análise molecular secundária realizada em conformidade com os métodos e protocolos enunciados no anexo X, capítulo C, ponto 3.2, alínea c), subalínea ii), o abate e a destruição total, sem demora, de todos os animais, embriões e óvulos identificados através do inquérito referido no ponto I, alínea b), segundo a quinto travessões.».

3) No anexo VIII, a secção A do capítulo A é alterada do seguinte modo:

a) No ponto 1.2, a alínea g) passa a ter a seguinte redação:

«g) só podem ser introduzidos os embriões/óvulos de ovinos e caprinos a seguir especificados:

i) embriões/óvulos de animais dadores que permaneceram desde o seu nascimento no território de um Estado-Membro com um risco negligenciável de tremor epizoótico clássico, ou numa exploração com um risco negligenciável ou controlado de tremor epizoótico clássico, ou que preencham os seguintes requisitos:

- encontram-se permanentemente identificados a fim de permitir determinar qual a exploração de nascimento,
- foram mantidos desde o nascimento em explorações nas quais, durante a sua permanência, não foi confirmado qualquer caso de tremor epizoótico clássico,
- não apresentam qualquer sintoma clínico de tremor epizoótico clássico no momento da colheita dos embriões/óvulos,

ii) embriões/óvulos de ovinos portadores de pelo menos um alelo ARR.»;

b) No ponto 1.3, a alínea g) passa a ter a seguinte redação:

«g) só podem ser introduzidos os embriões/óvulos de ovinos e caprinos a seguir especificados:

i) embriões/óvulos de animais dadores que permaneceram desde o seu nascimento no território de um Estado-Membro com um risco negligenciável de tremor epizoótico clássico, ou numa exploração com um risco negligenciável ou controlado de tremor epizoótico clássico, ou que preencham os seguintes requisitos:

- encontram-se permanentemente identificados a fim de permitir determinar qual a exploração de nascimento,
- foram mantidos desde o nascimento em explorações nas quais, durante a sua permanência, não foi confirmado qualquer caso de tremor epizoótico clássico,
- não apresentam qualquer sintoma clínico de tremor epizoótico clássico no momento da colheita dos embriões/óvulos,

ii) embriões/óvulos de ovinos portadores de pelo menos um alelo ARR.»;

c) No ponto 2, é aditado o seguinte ponto 2.3:

«2.3. Os Estados-Membros ou zonas de um Estado-Membro com um risco negligenciável de tremor epizoótico clássico são os seguintes:

- Áustria.»;

d) O ponto 3.2 passa a ter a seguinte redação:

«3.2. São aprovados os programas nacionais de luta contra o tremor epizoótico dos Estados-Membros a seguir especificados:

- Dinamarca
- Finlândia
- Suécia.»;

e) No ponto 4.2, a alínea e) passa a ter a seguinte redação:

«e) no caso de embriões de ovinos, ser portadores de pelo menos um alelo ARR.».

4) No anexo IX, capítulo H, a subalínea ii) do ponto 2 passa a ter a seguinte redação:

«ii) no caso de embriões de ovinos, os embriões serem portadores de pelo menos um alelo ARR.».

5) O anexo X passa a ter a seguinte redação:

«ANEXO X

LABORATÓRIOS DE REFERÊNCIA, AMOSTRAGEM E MÉTODOS LABORATORIAIS

CAPÍTULO A

Laboratórios nacionais de referência

1. O laboratório nacional de referência designado deve:
 - a) dispor de instalações e peritos que lhe permitam, em qualquer ocasião, em especial desde as primeiras manifestações da doença, determinar o tipo e a estirpe do agente da EET e confirmar os resultados obtidos pelos laboratórios oficiais de diagnóstico. Se não puder identificar a estirpe do agente, o laboratório deve adotar um procedimento para transferir a identificação da estirpe para o laboratório de referência da UE;
 - b) verificar os métodos de diagnóstico utilizados nos laboratórios oficiais de diagnóstico;
 - c) ser responsável pela coordenação das normas e métodos de diagnóstico do respetivo Estado-Membro. Para esse efeito:
 - pode fornecer reagentes para fins de diagnóstico aos laboratórios oficiais de diagnóstico,
 - deve proceder ao controlo de qualidade de todos os reagentes de diagnóstico utilizados nesse Estado-Membro,
 - deve organizar periodicamente testes comparativos,
 - deve conservar isolados dos agentes patogénicos em causa, ou tecidos correspondentes que contenham esses agentes, provenientes de casos confirmados no Estado-Membro,
 - deve assegurar a confirmação dos resultados obtidos nos laboratórios de diagnóstico;
 - d) cooperar com o laboratório de referência da UE, o que inclui a participação nos testes comparativos periódicos por este organizados. Se um laboratório nacional de referência tiver resultados insatisfatórios num teste comparativo organizado pelo laboratório de referência da UE, deve tomar imediatamente todas as medidas corretivas necessárias para corrigir a situação e ser bem sucedido na repetição do teste comparativo ou no teste comparativo seguinte organizado pelo laboratório de referência da UE.
2. No entanto, em derrogação ao disposto no ponto 1, os Estados-Membros que não disponham de um laboratório nacional de referência podem recorrer aos serviços do laboratório de referência da UE ou de laboratórios nacionais de referência situados noutros Estados-Membros ou em países da Associação Europeia de Comércio Livre (EFTA).
3. É a seguinte a lista dos laboratórios nacionais de referência:

Áustria:	Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH (AGES) Institut für veterinärmedizinische Untersuchungen Robert Koch Gasse 17 A-2340 Mödling
Bélgica:	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
Bulgária:	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)

Croácia:	Hrvatski veterinarski institut Savska Cesta 143 10000 Zagreb
Chipre:	State Veterinary Laboratories Veterinary Services CY-1417 Athalassa Nicosia
República Checa:	Státní veterinární ústav Jihlava (State Veterinary Institute Jihlava) National Reference Laboratory for BSE and Animal TSEs Rantířovská 93 586 05 Jihlava
Dinamarca:	Veterinærinstituttet Danmarks Tekniske Universitet Bülowsvej 27 DK-1870 Frederiksberg C (National Veterinary Institute, Technical University of Denmark, 27, Bülowsvej, DK — 1870 Frederiksberg C)
Estónia:	Veterinaar- ja Toidulaboratoorium (Estonian Veterinary and Food Laboratory) Kreutzwaldi 30 Tartu 51006
Finlândia:	Finnish Food Safety Authority Evira Research and Laboratory Department Veterinary Virology Research Unit- TSEs Mustialankatu 3 FI-00790 Helsinki
França:	ANSES-Lyon, Unité MND 31, avenue Tony Garnier 69 364 LYON CEDEX 07
Alemanha:	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
Grécia:	Ministry of Agriculture — Veterinary Laboratory of Larissa 6th km of Larissa — Trikala Highway GR-41110 Larissa
Hungria:	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

Itália:	Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta — CEA Via Bologna, 148 I-10154 Torino
Letónia:	Institute of Food Safety, Animal Health and Environment (BIOR) Lejupes Str. 3 Riga LV 1076
Lituânia:	National Food and Veterinary Risk Assessment Institute J. Kairiūkščio str. 10 LT-08409 Vilnius
Luxemburgo:	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
Países Baixos:	Central Veterinary Institute of Wageningen UR Edelhertweg 15 8219 PH Lelystad P.O. Box 2004 NL-8203 AA Lelystad
Polónia:	Państwowy Instytut Weterynaryjny (PIWet) 24-100 Puławy al. Partyzantów 57
Portugal:	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 Morais Sarmento 1500-311 Lisboa
Roménia:	Institutul de Diagnostic și Sănătate Animală (Institute for Diagnosis and Animal Health) Department of Morphology Strada Dr. Staicovici nr. 63, 5 București 050557
Eslováquia:	State Veterinary Institute Zvolen Pod dráhami 918 SK-960 86, Zvolen
Eslovénia:	University of Ljubljana, Veterinary faculty National Veterinary Institute Gerbičeva 60 SI-1000 Ljubljana

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

CAPÍTULO B

Laboratório de referência da UE

1. O laboratório de referência da UE para as EET é:

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

2. São os seguintes os deveres e funções do laboratório de referência da UE:

- a) coordenar, em consulta com a Comissão, os métodos utilizados nos Estados-Membros com vista ao diagnóstico das EET e à determinação do genótipo da proteína do prião em ovinos, especificamente através de:
 - armazenagem e fornecimento de tecidos correspondentes que contenham os agentes de EET, para o desenvolvimento ou produção de testes diagnósticos ou para a caracterização das estirpes dos agentes de EET,
 - fornecimento de soros normalizados e de outros reagentes de referência aos laboratórios nacionais de referência com vista à normalização dos testes e reagentes utilizados nos Estados-Membros,
 - criação e conservação de uma série de tecidos correspondentes que contenham os agentes das EET e respectivas estirpes,
 - organização periódica de testes comparativos dos procedimentos de diagnóstico das EET e de determinação do genótipo da proteína do prião em ovinos ao nível da UE,
 - recolha e confronto dos dados e informações relativos aos métodos de diagnóstico utilizados e aos resultados dos testes efetuados na UE,
 - caracterização dos isolados de agentes de EET através dos métodos mais atualizados, por forma a aprofundar o conhecimento da epidemiologia destas doenças,
 - acompanhamento dos progressos a nível mundial no domínio da vigilância, da epidemiologia e da prevenção das EET,
 - preservação de competências no domínio das doenças de priões, para que sejam possíveis diagnósticos diferenciais rápidos,
 - aquisição de conhecimentos aprofundados sobre a elaboração e utilização de métodos de diagnóstico com vista ao controlo e erradicação das EET;
- b) apoio ativo do diagnóstico de surtos de EET nos Estados-Membros, através do estudo de amostras provenientes de animais infetados por EET enviadas para confirmação do diagnóstico, caracterização e estudos epidemiológicos;
- c) promoção da formação e atualização de peritos em diagnóstico laboratorial, com vista à harmonização das técnicas de diagnóstico em toda a UE.

CAPÍTULO C

Amostragem e análises laboratoriais**1. Amostragem**

A colheita de amostras destinadas a exame para deteção da presença de uma EET deve ser efetuada de acordo com os métodos e protocolos estabelecidos na última edição do Manual de Testes de Diagnóstico e Vacinas para Animais Terrestres (adiante designado “Manual”) da Organização Mundial da Saúde Animal (OIE). Além, ou na ausência, dos métodos e protocolos da OIE, e de forma a assegurar a disponibilidade de material suficiente, a autoridade competente deve assegurar a utilização de métodos e de protocolos de amostragem em conformidade com as diretrizes emitidas pelo laboratório de referência da UE.

Em particular, a autoridade competente deve colher os tecidos apropriados, de acordo com os conselhos científicos disponíveis e as diretrizes do laboratório de referência da UE, de modo a assegurar a deteção de todas as estirpes conhecidas de EET em pequenos ruminantes, mantendo frescos, mas não congelados, pelo menos metade dos tecidos colhidos, até se obter um resultado negativo no teste rápido. Se o resultado for positivo ou inconclusivo, os tecidos residuais devem ser submetidos a um teste de confirmação e ser subsequentemente tratados de acordo com as diretrizes do laboratório de referência da UE sobre testes discriminatórios e classificação — “TSE strain characterisation in small ruminants: A technical handbook for National Reference Laboratories in the EU”.

As amostras devem ser corretamente marcadas quanto à identidade do animal submetido à amostragem.

2. Laboratórios

As análises laboratoriais relativas às EET devem ser efetuadas em laboratórios oficiais de diagnóstico designados para esse efeito pela autoridade competente.

3. Métodos e protocolos**3.1. Análises laboratoriais para deteção da presença de EEB nos bovinos****a) Casos suspeitos**

As amostras de bovinos enviadas para análises laboratoriais nos termos do disposto no artigo 12.º, n.º 2, devem ser imediatamente submetidas a exames de confirmação, recorrendo a pelo menos um dos seguintes métodos e protocolos estabelecidos na última edição do Manual:

- i) método imunohistoquímico (IHC),
- ii) Western blot,
- iii) demonstração das estruturas fibrilares características por microscopia eletrónica,
- iv) exame histopatológico,
- v) combinação de testes rápidos, tal como se estabelece no terceiro parágrafo.

Se os resultados do exame histopatológico forem inconclusivos ou negativos, os tecidos devem ser submetidos a novo exame realizado segundo um dos outros métodos e protocolos de confirmação.

Os testes rápidos podem ser usados tanto para efeitos de despistagem primária de casos suspeitos como, se os resultados forem inconclusivos ou positivos, para confirmação subsequente, de acordo com as diretrizes do laboratório de referência da UE — “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” — desde que:

- i) a confirmação se efetue num laboratório nacional de referência para as EET, e
- ii) um dos dois testes rápidos seja um Western blot, e

- iii) o segundo teste rápido usado:
 - inclua um tecido de controlo negativo e, como tecido de controlo positivo, uma amostra de EEB em bovinos,
 - seja diferente do teste usado na despistagem primária, e
- iv) se o primeiro teste for um teste rápido *Western blot*, o resultado do mesmo deve ser documentado e a imagem da membrana apresentada ao laboratório nacional de referência para as EET, e
- v) se o resultado da despistagem primária não for confirmado pelo teste rápido subsequente, a amostra deve ser submetida a exame por um dos outros métodos de confirmação; se, para esse efeito, se usar o exame histopatológico e os resultados forem inconclusivos ou negativos, os tecidos devem ser submetidos a novo exame realizado segundo um dos outros métodos e protocolos de confirmação.

Se o resultado de um dos exames de confirmação referidos nas alíneas i) a v) do primeiro parágrafo for positivo, o animal será considerado um caso positivo de EEB.

b) Vigilância da EEB

As amostras de bovinos enviadas para análises laboratoriais nos termos do disposto no anexo III, capítulo A, parte I, devem ser submetidas a um teste rápido.

Se o resultado do teste rápido for inconclusivo ou positivo, a amostra deve ser imediatamente submetida a exames de confirmação, recorrendo a pelo menos um dos seguintes métodos e protocolos estabelecidos na última edição do Manual:

- i) método imunohistoquímico (IHC),
- ii) *Western blot*,
- iii) demonstração das estruturas fibrilares características por microscopia eletrónica,
- iv) exame histopatológico,
- v) combinação de testes rápidos, tal como se estabelece no quarto parágrafo.

Se os resultados do exame histopatológico forem inconclusivos ou negativos, os tecidos devem ser submetidos a novo exame realizado segundo um dos outros métodos e protocolos de confirmação.

Os testes rápidos podem ser usados tanto para efeitos de despistagem primária como, se os resultados forem inconclusivos ou positivos, para confirmação subsequente, de acordo com as diretrizes do laboratório de referência da UE — “*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*” — desde que:

- i) a confirmação se efetue num laboratório nacional de referência para as EET, e
- ii) um dos dois testes rápidos seja um *Western blot*, e
- iii) o segundo teste rápido usado:
 - inclua um tecido de controlo negativo e, como tecido de controlo positivo, uma amostra de EEB em bovinos,
 - seja diferente do teste usado na despistagem primária, e
- iv) se o primeiro teste for um teste rápido *Western blot*, o resultado do mesmo deve ser documentado e a imagem da membrana apresentada ao laboratório nacional de referência para as EET, e
- v) se o resultado da despistagem primária não for confirmado pelo teste rápido subsequente, a amostra deve ser submetida a exame por um dos outros métodos de confirmação; se, para esse efeito, se usar o exame histopatológico e os resultados forem inconclusivos ou negativos, os tecidos devem ser submetidos a novo exame realizado segundo um dos outros métodos e protocolos de confirmação.

Um animal será considerado caso positivo de EEB se o resultado do teste rápido for inconclusivo ou positivo e se pelo menos um dos exames de confirmação referidos nas alíneas i) a v) do segundo parágrafo for positivo.

c) Análises suplementares aos casos positivos de EET

As amostras de todos os casos positivos de BSE devem ser enviadas para um laboratório, designado pela autoridade competente, que tenha participado com sucesso no teste de proficiência mais recente organizado pelo laboratório de referência da UE para testes discriminatórios de casos confirmados de BSE, onde serão novamente testadas em conformidade com os métodos e os protocolos estabelecidos no método do laboratório de referência da UE para a classificação de isolados de EET de bovinos (método duplo — *two-blot* — para a classificação provisória de isolados de EET em bovinos).

3.2. Análises laboratoriais para deteção da presença de EET nos ovinos e caprinos

a) Casos suspeitos

As amostras de ovinos e caprinos enviadas para análises laboratoriais nos termos do disposto no artigo 12.º, n.º 2, devem ser imediatamente submetidas a exames de confirmação, recorrendo a pelo menos um dos seguintes métodos e protocolos estabelecidos na última edição do Manual:

- i) método imunohistoquímico (IHC),
- ii) Western blot,
- iii) demonstração das estruturas fibrilares características por microscopia eletrónica,
- iv) exame histopatológico.

Se os resultados do exame histopatológico forem inconclusivos ou negativos, os tecidos devem ser submetidos a novo exame realizado segundo um dos outros métodos e protocolos de confirmação.

Os testes rápidos podem ser usados para efeitos de despistagem primária de casos suspeitos. Todavia, não podem ser utilizados para a confirmação subsequente.

Se o resultado do teste rápido usado na despistagem primária de casos suspeitos for positivo ou inconclusivo, a amostra deve ser submetida a análise através de um dos exames de confirmação referidos nas alíneas i) a iv) do primeiro parágrafo. Se, para esse efeito, se usar o exame histopatológico e os resultados forem inconclusivos ou negativos, os tecidos devem ser submetidos a novo exame realizado segundo um dos outros métodos e protocolos de confirmação.

Se o resultado de um dos exames de confirmação referidos nas alíneas i) a iv) do primeiro parágrafo for positivo, o animal será considerado um caso positivo de EET e devem efetuar-se análises suplementares, tal como se refere na alínea c).

b) Vigilância das EET

As amostras de ovinos e caprinos enviadas para análises laboratoriais nos termos do disposto no anexo III, capítulo A, parte II (Vigilância dos ovinos e caprinos) devem ser examinadas através de um teste rápido, de modo a assegurar a deteção de todas as estirpes conhecidas de EET.

Se o resultado do teste rápido for inconclusivo ou positivo, os tecidos amostrados devem ser imediatamente enviados a um laboratório oficial para exames de confirmação por histopatologia, imunohistoquímica, *Western blotting* ou demonstração das estruturas fibrilares características por microscopia eletrónica, como referido na alínea a). Se os resultados do exame de confirmação forem negativos ou inconclusivos, os tecidos devem ser submetidos a novo exame por imunohistoquímica ou *Western blotting*.

Se o resultado de um dos exames de confirmação for positivo, o animal será considerado um caso positivo de EET e devem efetuar-se análises suplementares, tal como se refere na alínea c).

c) Análises suplementares aos casos positivos de EET

i) Análise molecular primária com um método de *Western blotting* discriminatório

As amostras provenientes de casos clinicamente suspeitos e de animais submetidos a testes em conformidade com o disposto no anexo III, capítulo A, parte II, pontos 2 e 3, consideradas casos positivos de EET mas não de tremor epizoótico atípico na sequência das análises referidas nas alíneas a) ou b), ou que exibam características consideradas pelo laboratório examinador como merecedoras de investigação, devem ser analisadas, utilizando um método de *Western blotting* discriminatório constante das diretrizes do laboratório de referência da UE, por um laboratório oficial de diagnóstico designado pela autoridade competente que tenha participado com sucesso no teste de proficiência mais recente organizado pelo laboratório de referência da UE para esse método.

ii) Análise molecular secundária com métodos adicionais de análise molecular

Os casos de EET em que não possa excluir-se a presença de EEB, em conformidade com as diretrizes emitidas pelo laboratório de referência da UE, através da análise molecular primária referida em i), devem ser imediatamente remetidos para o laboratório de referência da UE, juntamente com todas as informações relevantes disponíveis. As amostras devem ser submetidas a investigação e confirmação suplementares utilizando pelo menos um método alternativo, diferente imunoquimicamente do método de análise molecular primária, dependendo do volume e da natureza do material em causa, como descrito nas diretrizes do laboratório de referência da UE. As análises suplementares devem ser realizadas nos seguintes laboratórios aprovados para o método relevante:

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
Reino Unido

Os resultados serão interpretados pelo laboratório de referência da UE, assistido por um painel de peritos denominado Grupo de Peritos em Caracterização de Estirpes (STEG — *Strain Typing Expert Group*), que incluirá um representante do laboratório nacional de referência relevante. A Comissão deve ser imediatamente informada acerca das conclusões dessa interpretação.

iii) Bioensaio em ratos

As amostras que indiquem a presença de EEB e as que tenham resultados inconclusivos, no seguimento da análise molecular secundária, devem ser analisadas novamente através de um bioensaio em ratos, para confirmação final. A natureza ou a quantidade do material disponível podem influenciar o desenho do bioensaio, que será aprovado, caso a caso, pelo laboratório de referência da UE, assistido pelo STEG. Os bioensaios devem ser efetuados pelo laboratório de referência da UE ou por laboratórios por este designados.

Os resultados serão interpretados pelo laboratório de referência da UE, assistido pelo STEG. A Comissão deve ser imediatamente informada acerca das conclusões dessa interpretação.

3.3. Análises laboratoriais para deteção da presença de EET em espécies que não as referidas nos pontos 3.1 e 3.2.

Sempre que estejam estabelecidos métodos e protocolos relativos a testes realizados para confirmar a presença suspeita de uma EET numa espécie animal que não a bovina, ovina e caprina, os mesmos devem compreender pelo menos um exame histopatológico de tecido cerebral. A autoridade competente pode igualmente requerer exames laboratoriais, como exames imunohistoquímicos, *Western blotting*, demonstração das estruturas fibrilares características por microscopia eletrónica ou outros métodos destinados a detetar a forma da proteína priónica associada à doença. Em qualquer caso, se o exame histopatológico inicial for negativo ou inconclusivo será necessário efetuar pelo menos outra análise laboratorial. Caso se esteja face à primeira ocorrência da doença, devem ser efetuados pelo menos três exames diferentes com resultados positivos.

Em especial, se se suspeitar da existência de EEB numa espécie que não a bovina, os casos devem ser remetidos ao laboratório de referência da UE, assistido pelo STEG, para caracterização complementar.

4. Testes rápidos

Para efeitos da realização dos testes rápidos em conformidade com o artigo 5.º, n.º 3, e com o artigo 6.º, n.º 1, serão utilizados apenas os seguintes métodos como testes rápidos para a vigilância da EEB em bovinos:

- Teste de *immunoblotting* baseado na técnica *Western blotting*, com vista à deteção do fragmento PrP^{Res} resistente à proteinase K (teste Prionics-Check Western);
- Imunodoseamento “em sanduíche” para deteção do PrP^{Res} (protocolo de ensaio curto) após desnaturação e concentração (teste rápido Bio-Rad TeSeE SAP);
- Imunodoseamento em microplacas (ELISA) para deteção do fragmento PrP^{Res} resistente à proteinase K com anticorpos monoclonais (teste Prionics-Check LIA);
- Imunodoseamento com utilização de um polímero químico para a captura seletiva do PrP^{Sc} e de um anticorpo monoclonal de deteção orientado para as regiões conservadas da molécula PrP (IDEXX HerdChek BSE Antigen Test Kit, EIA & HerdChek BSE-Scrapie Antigen (IDEXX Laboratories));
- Imunodoseamento de fluxo lateral usando dois anticorpos monoclonais diferentes para deteção das frações PrP resistentes à proteinase K (Prionics Check PrioSTRIP);
- Imunodoseamento em duas etapas usando dois anticorpos monoclonais diferentes orientados para dois epitópos presentes num estado altamente desnaturado do PrP^{Sc} bovino (Roboscreen Beta Prion BSE EIA Test Kit).

Para efeitos da realização dos testes rápidos em conformidade com o artigo 5.º, n.º 3, e com o artigo 6.º, n.º 1, serão utilizados apenas os seguintes métodos como testes rápidos para a vigilância das EET em ovinos e caprinos:

- Imunodoseamento “em sanduíche” para deteção do PrP^{Res} (protocolo de ensaio curto) após desnaturação e concentração (teste rápido Bio-Rad TeSeE SAP);
- Imunodoseamento “em sanduíche” para deteção do PrP^{Res} com o kit de deteção TeSeE Sheep/Goat após desnaturação e concentração com o kit de purificação TeSeE Sheep/Goat (teste rápido Bio-Rad TeSeE Sheep/Goat);
- Imunodoseamento com utilização de um polímero químico para a captura seletiva do PrP^{Sc} e de um anticorpo monoclonal de deteção orientado para as regiões conservadas da molécula PrP (HerdChek BSE-Scrapie Antigen (IDEXX Laboratories));
- Imunodoseamento de fluxo lateral com utilização de dois anticorpos monoclonais diferentes para deteção das frações PrP resistentes à proteinase K (Prionics — Check PrioSTRIP SR, protocolo de leitura visual);

Em todos os testes rápidos, o tecido da amostra a que se deve aplicar o teste tem de estar em conformidade com as instruções de utilização do fabricante.

Os produtores dos testes rápidos devem ter implementado um sistema de garantia de qualidade que tenha sido aprovado pelo laboratório de referência da UE e que garanta que o desempenho do teste não se altera. Os produtores devem fornecer os protocolos dos testes ao laboratório de referência da UE.

As alterações aos testes rápidos ou aos protocolos dos testes só podem ser feitas após notificação prévia ao laboratório de referência da UE e desde que este considere que a alteração não afeta a sensibilidade, a especificidade e a fiabilidade do teste rápido. Esse facto será comunicado à Comissão bem como aos laboratórios nacionais de referência.

5. Testes alternativos

(Por definir)».
