

## MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, DO DESENVOLVIMENTO RURAL E DAS PESCAS

### Decreto-Lei n.º 157/98

de 9 de Junho

O presente diploma é o reflexo dos significativos progressos havidos na harmonização legislativa comunitária no domínio veterinário, designadamente através da adopção dos seguintes diplomas:

- Directiva n.º 90/425/CEE, do Conselho, de 26 de Junho, relativa aos controlos veterinários e zootécnicos aplicáveis ao comércio intracomunitário de certos animais vivos e produtos, na perspectiva da realização do mercado interno, transposta para o direito interno através do Decreto-Lei n.º 69/93, de 10 de Março, regulamentado pelas Portarias n.ºs 575/93, de 4 de Junho, 160/95, de 27 de Fevereiro, e 702/94, de 28 de Julho;
- Directiva n.º 91/496/CEE, do Conselho, de 15 de Julho, que fixa os princípios relativos à organização dos controlos veterinários dos animais provenientes de países terceiros introduzidos na Comunidade, com a última alteração que lhe foi dada pela Directiva n.º 96/43/CE, do Conselho, de 26 de Junho (e que altera as Directivas do Conselho n.ºs 89/662/CEE, 90/425/CEE e 90/675/CEE), transposta pelo Decreto-Lei n.º 68/93, de 10 de Março, e pela Portaria n.º 574/93, de 4 de Junho;
- Directiva n.º 85/511/CEE, do Conselho, de 18 de Novembro, que estabelece medidas comunitárias de luta contra a febre aftosa, transposta pelo Decreto-Lei n.º 29/92 e pela Portaria n.º 124/92, ambos de 27 de Fevereiro;
- Directiva n.º 92/119/CEE, do Conselho, de 17 de Dezembro, que estabelece medidas comunitárias gerais de luta contra certas doenças animais, bem como medidas específicas respeitantes à doença vesiculosa do suíno, transposta pelo Decreto-Lei n.º 22/95, de 8 de Fevereiro, e pela Portaria n.º 577/95, de 16 de Junho.

Importa, para uma aplicação rápida dos princípios consignados na legislação referida e para reforço das medidas de epidemio-vigilância veterinária, transpor a alteração da Directiva n.º 64/432/CEE, do Conselho, de 26 de Junho, relativa a problemas de fiscalização sanitária em matéria de comércio intracomunitário de animais das espécies bovina e suína (transposta pelo Decreto-Lei n.º 80/90, de 12 de Março, e pelas portarias regulamentares n.ºs 467/90, de 22 de Junho, 728/90, de 22 de Agosto, 160/91, de 25 de Fevereiro, 720/91, de 23 de Julho, 463/94, de 30 de Junho, 119/96, de 16 de Abril, e 559/97, de 25 de Julho), revendo, em especial, os conceitos e normas referentes aos períodos de permanência nos territórios consignados antes do transporte, às normas relativas à comercialização dos animais com idade inferior a 15 dias, às normas de luta contra determinadas doenças e às normas aplicáveis aos centros de reunião, aos transportadores e aos comerciantes.

Torna-se ainda necessário, para efeitos de localização rápida e precisa dos animais por razões de saúde animal, a criação e implementação de uma base de dados informatizada, em que será inscrita a identidade do animal, todas as explorações existentes no território e os movimentos dos animais.

A Directiva n.º 97/12/CE, do Conselho, de 17 de Março, altera e actualiza a Directiva n.º 64/432/CEE,

relativa a problemas de fiscalização sanitária em matéria de comércio intracomunitário de animais das espécies bovina e suína.

Esta última directiva foi, em diversas ocasiões, substancialmente alterada, o que se traduz, na legislação nacional, em aditamentos e revogações sucessivas dos diplomas que a transpõem, pelo que é conveniente proceder à sua transposição e à das respectivas alterações através de um único diploma.

Ouvidos os órgãos de governo próprios das Regiões Autónomas dos Açores e da Madeira:

Assim:

Nos termos do n.º 5 do artigo 112.º e da alínea a) do n.º 1 do artigo 198.º da Constituição, o Governo decreta o seguinte:

#### Artigo 1.º

##### Objecto

O presente diploma transpõe para a ordem jurídica nacional a Directiva n.º 97/12/CE, do Conselho, de 17 de Março, que altera e actualiza a Directiva n.º 64/432/CEE, relativa a problemas de fiscalização sanitária em matéria de comércio intracomunitário de animais das espécies bovina e suína.

#### Artigo 2.º

##### Regulamentação

As normas técnicas de execução regulamentar do presente diploma constam do regulamento anexo ao mesmo, que dele faz parte integrante.

#### Artigo 3.º

##### Direcção, coordenação e controlo

A direcção, coordenação e controlo das acções a desenvolver para a execução do presente diploma e respectivos anexos compete à Direcção-Geral de Veterinária (DGV), como autoridade sanitária veterinária nacional.

#### Artigo 4.º

##### Fiscalização

Compete à DGV e às direcções regionais de agricultura assegurar a fiscalização do cumprimento das normas constantes do presente diploma e suas disposições regulamentares, sem prejuízo das competências atribuídas por lei a outras entidades, designadamente à Inspeção-Geral das Actividades Económicas, na sua qualidade de autoridade fiscalizadora e órgão de polícia criminal.

#### Artigo 5.º

##### Contra-ordenações

1 — Constitui contra-ordenação, punível com coima de 50 000\$ a 750 000\$ ou até 9 000 000\$, consoante o agente seja pessoa singular ou colectiva:

- O não cumprimento das condições exigidas para o controlo das doenças dos animais das espécies bovina e suína;
- O não cumprimento das condições exigidas para o transporte de animais das espécies bovina e suína;
- A oposição ou criação de impedimentos aos controlos previstos nas disposições regulamentares do presente diploma;
- O funcionamento dos centros de agrupamento em desconformidade com o disposto no artigo

9.º do regulamento anexo ao presente diploma e que dele faz parte integrante;

- e) O exercício de actividade de comerciante de animais das espécies bovina e suína em desconformidade com o disposto no artigo 11.º do regulamento anexo ao presente diploma, que dele faz parte integrante.

2 — Nas contra-ordenações previstas no número anterior são puníveis a negligência e a tentativa.

3 — Às contra-ordenações previstas no presente diploma aplica-se subsidiariamente o disposto no Decreto-Lei n.º 433/82, de 27 de Outubro, e suas alterações.

#### Artigo 6.º

##### Sanções acessórias

Simultaneamente com a coima pode ser determinada, nos termos da lei geral, a perda de objectos do agente, a interdição do exercício da actividade, o encerramento do estabelecimento ou a suspensão de autorizações, licenças e alvarás.

#### Artigo 7.º

##### Instrução, aplicação e destino das coimas

1 — A aplicação das coimas e sanções acessórias compete ao director-geral de Veterinária.

2 — A entidade que levantar o auto de notícia remeterá o mesmo à direcção regional de agricultura da área em que foi praticada a infracção para instrução do competente processo.

3 — A afectação do produto das coimas cobradas em aplicação do artigo 5.º far-se-á da seguinte forma:

- a) 10% para a entidade que levantou o auto;
- b) 10% para a entidade que instruiu o processo;
- c) 20% para a entidade que aplicou a coima;
- d) 60% para o Estado.

#### Artigo 8.º

##### Regiões Autónomas

Nas Regiões Autónomas dos Açores e da Madeira a execução administrativa do presente diploma cabe aos serviços competentes das respectivas administrações regionais, sem prejuízo das competências atribuídas à DGV, na qualidade de autoridade sanitária veterinária nacional.

#### Artigo 9.º

##### Diplomas revogados

São revogados o Decreto-Lei n.º 80/90, de 12 de Março, e as Portarias n.ºs 467/90, de 22 de Junho, 728/90, de 22 de Agosto, 160/91, de 25 de Fevereiro, 720/91, de 23 de Julho, 463/94, de 30 de Junho, 119/96, de 16 de Abril, e 559/97, de 25 de Julho.

Visto e aprovado em Conselho de Ministros de 16 de Abril de 1998. — *António Manuel de Oliveira Guterres* — *Joaquim Augusto Nunes de Pina Moura* — *Fernando Manuel Van-Zeller Gomes da Silva*.

Promulgado em 27 de Maio de 1998.

Publique-se.

O Presidente da República, JORGE SAMPAIO.

Referendado em 29 de Maio de 1998.

O Primeiro-Ministro, *António Manuel de Oliveira Guterres*.

#### ANEXO I

Regulamento relativo à fiscalização sanitária em matéria de comércio intracomunitário de animais das espécies bovina e suína

#### Artigo 1.º

##### Âmbito

O presente regulamento é aplicável ao comércio nacional e intracomunitário de bovinos e de suínos, com excepção dos suínos selvagens, definidos na alínea e) do artigo 2.º do regulamento anexo à Portaria n.º 692/94, de 23 de Julho, sem prejuízo do disposto nos seguintes diplomas legais:

- Decreto-Lei n.º 354/90, de 10 de Novembro, e Portaria n.º 106/94, de 16 de Fevereiro;
- Decreto-Lei n.º 29/92, de 27 de Fevereiro, e Portaria n.º 124/92, de 27 de Fevereiro;
- Decreto-Lei n.º 353/90, de 10 de Novembro, e Portaria n.º 245/95, de 29 de Março;
- Decreto-Lei n.º 206/92, de 2 de Outubro;
- Decreto-Lei n.º 69/93, de 10 de Março, e Portarias n.ºs 575/93, de 4 de Junho, 160/95, de 27 de Fevereiro, e 702/94, de 28 de Julho;
- Decreto-Lei n.º 228/92, de 21 de Outubro, e Portaria n.º 1124/92, de 9 de Dezembro;
- Decreto-Lei n.º 175/92, de 13 de Agosto, e Portarias n.ºs 965/92, de 10 de Outubro, e 25/94, de 8 de Janeiro;
- Decreto-Lei n.º 68/93, de 10 de Março, e Portaria n.º 574/93, de 4 de Junho;
- Decreto-Lei n.º 153/94, de 28 de Maio, e Portaria n.º 160/95, de 27 de Fevereiro;
- Decreto-Lei n.º 245/96, de 20 de Dezembro, e Portaria n.º 243/94, de 18 de Abril;
- Decreto-Lei n.º 22/95, de 8 de Fevereiro, e Portaria n.º 577/95, de 16 de Junho;
- Decisão da Comissão n.º 90/424/CEE, com a última redacção que lhe foi dada pela Decisão da Comissão n.º 94/370/CE.

#### Artigo 2.º

##### Conceitos

Para efeitos do presente regulamento, entende-se por:

- a) Controlo veterinário — qualquer controlo físico ou formalidade administrativa relativos aos animais ou produtos abrangidos pelos diplomas referidos no anexo A do regulamento anexo à Portaria n.º 575/93, de 4 de Junho, e que vise, directa ou indirectamente, assegurar a protecção da saúde pública ou animal;
- b) Controlo zootécnico — qualquer controlo físico ou formalidade administrativa relativos aos animais abrangidos pelos diplomas mencionados na parte II do anexo A do regulamento referido na alínea anterior e que vise, directa ou indirectamente, assegurar o melhoramento das raças animais;
- c) Comércio — as trocas comerciais entre Estados membros de produtos deles originários ou de produtos provenientes de países terceiros que se encontrem em livre prática nos Estados membros;
- d) Exploração — o estabelecimento agrícola ou o estábulo de negociante, situado no território

- nacional, onde os animais referidos nos anexos A e B do regulamento anexo à Portaria n.º 575/93, de 4 de Junho, com excepção dos equídeos, são mantidos ou criados de forma habitual, bem como o estabelecimento agrícola ou de treino, a cavalaria ou, de um modo geral, qualquer local ou instalação em que os equídeos são mantidos ou criados da forma habitual, independentemente da sua utilização;
- e) Centro ou organismo — qualquer empresa que proceda à produção, armazenamento, tratamento ou manipulação dos produtos referidos no artigo 1.º do regulamento anexo à Portaria n.º 575/93, de 4 de Junho;
- f) Autoridade competente — a DGV, sem prejuízo das competências atribuídas por lei a outras entidades;
- g) Veterinário oficial — o veterinário designado pela autoridade competente;
- h) Meio de transporte — as partes de veículos automóveis, veículos sobre carris, navios e aeronaves utilizados para o carregamento e transporte dos animais, bem como os contentores para o transporte por terra, mar ou ar;
- i) Transporte — qualquer movimento de animais efectuado com o auxílio de um meio de transporte, incluindo a carga e a descarga dos animais;
- j) Ponto de paragem — um local onde o transporte é interrompido para repouso, alimentação ou abeberamento dos animais;
- l) Ponto de transferência — um local onde o transporte é interrompido para transferência dos animais de um meio de transporte para outro;
- m) Local de partida — o local onde um animal é carregado pela primeira vez num meio de transporte, assim como todos os locais em que os animais tenham sido descarregados e alojados durante, pelo menos, dez horas, e onde tenham sido dessedentados, alimentados e, eventualmente, tratados, com exclusão dos pontos de paragem e dos pontos de transferência, podendo igualmente ser considerados locais de partida os mercados e centros de concentração de animais aprovados pela autoridade competente, desde que:
- i) O primeiro local de carregamento dos animais se situe a menos de 50 km dos referidos mercados ou centros de concentração;
  - ii) No caso de a distância referida na alínea i) ser superior a 50 km, os animais tenham beneficiado de um período de repouso a fixar em conformidade com a decisão da autoridade competente e tiverem sido alimentados e dessedentados antes de voltarem a ser carregados;
- n) Local de destino — o local onde um animal é descarregado pela última vez de um meio de transporte, com exclusão dos pontos de paragem e dos pontos de transferência;
- o) Viagem — a deslocação do local de partida para o local de destino;
- p) Efectivo — animal ou conjunto de animais mantidos numa exploração, na acepção da alínea b) do artigo 2.º do regulamento anexo à Portaria n.º 243/94, de 18 de Abril, como unidade epidemiológica; se existir mais de um efectivo numa exploração, devem formar uma unidade distinta com o mesmo estatuto sanitário;
- q) Animal para abate — bovino (incluindo as espécies *Bison bison* e *Bubalus bubalus*) ou suíno destinado a um matadouro ou a um mercado a partir do qual só pode ser transportado para efeitos de abate;
- r) Animal para reprodução ou produção — bovino (incluindo as espécies *Bison bison* e *Bubalus bubalus*) ou suíno não abrangido pela alínea q) destinado à reprodução, à produção de leite ou de carne, a trabalhar como animal de tiro, ou a exposições ou concursos, com excepção dos animais que participem em acontecimentos culturais e desportivos;
- s) Efectivo bovino oficialmente indemne de tuberculose — efectivo bovino que satisfaz as condições definidas na secção I, n.ºs 1, 2 e 3, do anexo A ao presente regulamento, que dele faz parte integrante;
- t) Região oficialmente indemne de tuberculose — região que satisfaz as condições definidas na secção I, n.ºs 4, 5 e 6, do anexo A ao presente regulamento, que dele faz parte integrante;
- u) Efectivo bovino oficialmente indemne de brucelose — efectivo bovino que satisfaz as condições definidas na secção II, n.ºs 1, 2 e 3, do anexo A ao presente regulamento, que dele faz parte integrante;
- v) Região oficialmente indemne de brucelose — região que satisfaz as condições definidas na secção II, n.ºs 7, 8 e 9, do anexo A ao presente regulamento, que dele faz parte integrante;
- x) Efectivo bovino indemne de brucelose — efectivo bovino que satisfaz as condições definidas na secção II, n.ºs 4, 5 e 6, do anexo A ao presente regulamento, que dele faz parte integrante;
- z) Efectivo oficialmente indemne de leucose bovina enzoótica — efectivo que satisfaz as condições definidas no capítulo I, partes A e B, do anexo D ao presente regulamento, que dele faz parte integrante;
- aa) Região indemne de leucose bovina enzoótica — região que satisfaz as condições definidas no capítulo I, partes E, F e G, do anexo D ao presente regulamento, que dele faz parte integrante;
- ab) Veterinário autorizado — veterinário aprovado pela autoridade competente de acordo com o disposto no n.º 3, ponto B, do artigo 12.º;
- ac) Doenças de comunicação obrigatória — as doenças referidas no anexo E (I) ao presente regulamento, que dele faz parte integrante;
- ad) Centro de agrupamento — qualquer local, incluindo explorações, centros de recolha e mercados, onde são agrupados bovinos e suínos provenientes de diferentes explorações de origem com vista à constituição de lotes de animais destinados ao comércio, devendo ser aprovados para fins comerciais e satisfazer as exigências estabelecidas no artigo 9.º do presente regulamento;
- ae) Região — a parte do território cuja superfície seja de pelo menos 2000 km<sup>2</sup> e sujeita a inspecção pelas autoridades competentes e que

inclui pelo menos uma das seguintes regiões administrativas:

Portugal continental — distrito;  
Outras partes do território — Região Autónoma;

- af) Comerciante — pessoa singular ou colectiva que compra e vende, directa ou indirectamente, animais para fins comerciais, que tem uma rotação regular desses animais, que, no prazo máximo de 30 dias a contar da aquisição dos animais, os revende ou transfere das primeiras instalações para outras que não são da sua propriedade, que se encontra registada e que satisfaz as condições estabelecidas no artigo 11.º do presente regulamento.

### Artigo 3.º

#### Trânsito intracomunitário

1 — Só é permitido o envio para o território de país comunitário dos animais que satisfaçam as condições pertinentes definidas no presente regulamento.

2 — Os bovinos e suínos abrangidos pelo presente regulamento devem:

- a) Ser sujeitos:
- A um controlo de identidade;
  - A um exame clínico nas vinte e quatro horas anteriores à partida, realizado por um veterinário oficial, não apresentando qualquer sinal clínico de doença;
- b) Ser provenientes de uma exploração ou de uma área que não seja objecto, por motivos sanitários, de qualquer proibição ou restrição que afecte as espécies em questão, de acordo com a legislação em vigor;
- c) Ser identificados como previsto na Portaria n.º 243/94, de 18 de Abril;
- d) Não ser destinados ao abate ou a quarentena no âmbito de um programa de erradicação de uma doença contagiosa ou infecciosa em aplicação no território nacional ou região;
- e) Satisfazer o disposto nos artigos 4.º e 5.º do presente regulamento.

### Artigo 4.º

#### Condições gerais de trânsito

1 — Os bovinos e suínos abrangidos pelo presente regulamento não devem, em momento algum, desde a saída da exploração de origem até à chegada ao local de destino, ter estado em contacto com outros animais artiodáctilos que não tenham o mesmo estatuto sanitário.

2 — Os bovinos e suínos abrangidos pelo presente regulamento devem ser transportados em meios de transporte que satisfaçam o disposto na Portaria n.º 160/95, de 27 de Fevereiro, e as disposições adicionais previstas no artigo 10.º do presente regulamento.

3 — As regras que regem as condições de aprovação dos locais onde pode ser efectuada a limpeza e desinfeção serão determinadas de acordo com o procedimento comunitário.

### Artigo 5.º

#### Certificação

1 — Durante o transporte para o local de destino, os bovinos e suínos destinados ao comércio intracomunitário devem ser acompanhados de um certificado sanitário conforme ao modelo constante do anexo F, que consistirá numa única folha ou, nos casos em que seja necessária mais de uma folha, deverá ser constituído de maneira que todas as folhas façam parte de um conjunto integrado e indivisível, deve conter um número de série, deve ser emitido no dia da inspecção sanitária, pelo menos numa das línguas oficiais do país de destino, e será válido durante 10 dias a contar da data da inspecção sanitária.

2 — As inspecções sanitárias para a emissão do certificado sanitário, incluindo as garantias adicionais, para uma remessa de animais podem ter lugar na exploração de origem ou num centro de agrupamento e os certificados sanitários serão emitidos pelo veterinário oficial após as inspecções, visitas e controlos previstos pelo presente regulamento.

Todavia, no que se refere:

- a) Aos animais provenientes de centros de agrupamento aprovados, esse certificado pode ser emitido:
- Com base no documento oficial, relativo às informações necessárias, preenchido pelo veterinário oficial responsável pela exploração de origem; ou
  - Com base nos certificados cujo modelo consta no anexo F e cujas secções A e B serão devidamente preenchidas e comprovadas pelo veterinário oficial responsável pela exploração de origem;
- b) Aos animais provenientes de uma exploração qualificada nos termos da rede prevista no artigo 12.º, esse certificado pode ser emitido:
- Com base no documento oficial, relativo às informações necessárias, preenchido pelo veterinário autorizado responsável pela exploração de origem; ou
  - Com base nos certificados cujo modelo consta no anexo F ao presente regulamento, que dele faz parte integrante, e cujas secções A e B serão devidamente preenchidas e comprovadas pelo veterinário autorizado responsável pela exploração de origem.

Na mesma ocasião, o veterinário oficial garantirá, se necessário, o respeito das garantias adicionais previstas pela legislação em vigor.

3 — O veterinário oficial responsável pelo centro de agrupamento realizará todas as verificações necessárias nos animais logo após a chegada destes.

4 — O veterinário oficial que preencha a secção D do certificado cujo modelo figura no anexo F ao presente regulamento, que dele faz parte integrante, deverá assegurar o registo do transporte dos animais no sistema ANIMO no dia da emissão do certificado.

5 — Os animais visados pelo presente regulamento podem transitar por um centro de agrupamento situado numa região que não seja a de destino, sendo que, nesse caso, o certificado cujo modelo figura no anexo F ao

presente regulamento, que dele faz parte integrante, incluindo a secção D, deve ser preenchido pelo veterinário oficial responsável da região de origem dos animais. O veterinário oficial responsável pelo centro de agrupamento fornece um comprovativo para a região de destino mediante a emissão de um segundo certificado cujo modelo figura no anexo F, no qual aporá o número de série do certificado original, e que juntará ao certificado original ou a uma cópia autenticada do mesmo. Nesse caso, o período de validade combinada do certificado não pode exceder o período de validade previsto no n.º 1.

#### Artigo 6.º

##### Condições sanitárias dos animais para trânsito

1 — Para além de satisfazerem as exigências constantes dos artigos 3.º, 4.º e 5.º, os animais para reprodução ou produção que se destinem ao comércio intracomunitário devem:

- Ter permanecido numa única exploração durante um período de 30 dias antes do carregamento, ou desde o nascimento na exploração de origem, caso tenham menos de 30 dias, devendo o veterinário oficial certificar-se, com base na identificação oficial prevista no n.º 2, alínea c), do artigo 3.º e nos registos oficiais, de que os animais satisfazem esta condição e de que, além disso, são originários de um país da Comunidade ou foram importados de um país terceiro em conformidade com a legislação vigente em matéria de sanidade animal. Contudo, para os animais que transitam por um centro de agrupamento autorizado situado na região de origem, a duração do agrupamento dos mesmos animais fora da exploração de origem não poderá exceder seis dias;
- No que respeita aos animais importados de um país terceiro para uma região que não seja a de destino final, devem ser transportados para a região de destino tão rapidamente quanto possível, ao abrigo do certificado emitido nos termos do artigo 7.º do regulamento anexo à Portaria n.º 574/93, de 4 de Junho;
- No caso de animais importados de um país terceiro, à chegada ao local de destino e antes de qualquer outro transporte, satisfazer as exigências do presente regulamento e, em especial, a exigência relativa à permanência prevista no primeiro parágrafo, não podendo ser integrados no efectivo enquanto o veterinário responsável pela exploração não confirmar que os animais em questão não são susceptíveis de pôr em risco o estatuto sanitário da exploração. Se um animal proveniente de um país terceiro for introduzido numa exploração, esta não poderá transaccionar qualquer dos seus animais durante um período de 30 dias a contar dessa introdução, salvo se o animal importado se encontrar completamente isolado dos restantes animais da exploração.

2 — Para além de satisfazerem as exigências constantes dos artigos 3.º, 4.º e 5.º do presente regulamento, os bovinos para reprodução e produção destinados ao comércio intracomunitário devem ainda:

- a) Ser provenientes de um efectivo bovino oficialmente indemne de tuberculose e, no caso dos

animais com mais de seis semanas de idade, ter reagido negativamente a uma prova intradérmica de tuberculina realizada no período de 30 dias imediatamente anterior à sua saída do efectivo de origem, nos termos do disposto no n.º 32, alínea d), do anexo B ao presente regulamento, que dele faz parte integrante. Esta prova intradérmica de tuberculina não é exigida no caso de os animais serem originários de uma região considerada oficialmente indemne de tuberculose ou de uma região que faça parte de uma rede de vigilância reconhecida;

- b) No caso dos animais não castrados provenientes de um efectivo bovino oficialmente indemne de brucelose e com mais de 12 meses de idade, ter apresentado uma contagem brucélica inferior a 30 unidades internacionais de aglutinação por mililitro numa prova de seroaglutinação (ou em qualquer prova comunitariamente aprovada) realizada no período de 30 dias imediatamente anterior à saída do efectivo de origem, de acordo com o disposto na secção A do anexo C ao presente regulamento, que dele faz parte integrante. Esta prova de seroaglutinação (ou qualquer prova comunitariamente aprovada) não é exigida se os animais forem originários de uma região considerada oficialmente indemne de brucelose ou de uma região que faça parte de uma rede de vigilância reconhecida;
- c) Ser provenientes de um efectivo oficialmente indemne de leucose bovina enzoótica e, caso se trate de animais com mais de 12 meses de idade, ter reagido negativamente a uma prova individual realizada durante os 30 dias anteriores à sua saída do efectivo de origem, em conformidade com as disposições do anexo D ao presente regulamento, que dele faz parte integrante. Esta prova não é exigida se os animais forem originários de uma região considerada oficialmente indemne de leucose bovina enzoótica ou de uma região que faça parte de uma rede de vigilância reconhecida;
- d) Não ter estado em contacto, desde a saída da exploração de origem até à chegada ao local de destino, com animais que apenas satisfaçam as exigências do n.º 3 enunciadas.

3 — Para além de satisfazerem as exigências dos artigos 3.º, 4.º e 5.º do presente regulamento, os bovinos para abate devem ser provenientes de efectivos oficialmente indemnes de tuberculose e de leucose bovina enzoótica e os bovinos não castrados devem ainda ser provenientes de efectivos oficialmente indemnes de brucelose.

#### Artigo 7.º

##### Destino dos animais para abate

Os animais para abate que à chegada à região de destino tenham sido conduzidos:

- Para um matadouro deverão ser abatidos o mais rapidamente possível e o mais tardar setenta e duas horas após a chegada, de acordo com os requisitos em matéria de saúde animal;
- Ou para um centro de agrupamento autorizado devem ser conduzidos após o mercado para um

matadouro para aí serem abatidos o mais rapidamente possível e o mais tardar nos três dias úteis após a chegada ao centro de agrupamento, de acordo com os requisitos em matéria de sanidade animal, não podendo em momento algum, entre a sua chegada ao centro de agrupamento e a sua chegada ao matadouro, entrar em contacto com animais artiodáctilos que não os que preenchem as condições requeridas pelo presente regulamento.

#### Artigo 8.º

##### Doenças de declaração obrigatória

1 — A suspeita de presença de uma das doenças enumeradas no anexo E (i) ao presente regulamento, que dele faz parte integrante, é imediata e obrigatoriamente notificada à autoridade competente.

2 — A suspeita de presença de uma das doenças enumeradas no anexo E (ii) ao presente regulamento, que dele faz parte integrante, é imediata e obrigatoriamente notificada à autoridade competente, caso vigore para uma dessas doenças um programa de luta obrigatório.

#### Artigo 9.º

##### Condições dos centros de agrupamento

1 — Os centros de agrupamento devem satisfazer pelo menos as seguintes condições para serem autorizados pela autoridade competente:

- a) Estarem sob a supervisão de um veterinário oficial que garanta, em especial, o cumprimento do disposto nos n.ºs 1 e 2 do artigo 4.º do presente regulamento;
- b) Estarem localizados numa zona não sujeita a proibição ou restrição nos termos da legislação aplicável;
- c) Serem limpos e desinfectados antes de cada utilização, de acordo com as instruções do veterinário oficial;
- d) Estarem dotados, em função da capacidade de acolhimento:
  - De instalações reservadas exclusivamente para esse fim, quando utilizados como centros de agrupamento;
  - De instalações apropriadas que permitam carregar, descarregar e acomodar convenientemente os animais, abeberá-los, alimentá-los e administrar-lhes todos os tratamentos necessários, devendo essas instalações ser fáceis de limpar e desinfectar;
  - De infra-estruturas de inspecção adequadas;
  - De infra-estruturas de isolamento adequadas;
  - De equipamentos apropriados para desinfectação das instalações e camiões;
  - De uma área de armazenagem adequada para a forragem, camas e estrume;
  - De um sistema adequado de recolha das águas usadas;
  - De um gabinete ou instalações para o veterinário oficial;
- e) Só admitirem animais identificados e provenientes de efectivos oficialmente indemnes de tuber-

culose, brucelose e leucose ou animais de abate que satisfaçam as condições previstas no presente regulamento e em especial as do n.º 3 do artigo 6.º, devendo, para o efeito, quando os animais são admitidos, o proprietário ou o responsável do centro proceder ou mandar proceder à verificação das marcas de identificação dos animais e dos documentos sanitários ou outros documentos de acompanhamento específicos da espécie ou categoria em questão;

f) Serem periodicamente inspecionados a fim de se verificar se continuam a ser preenchidas as condições que permitiram a sua aprovação.

2 — O proprietário ou o responsável do centro de agrupamento é obrigado, com base no documento de acompanhamento ou com base nos números ou marcas de identificação dos animais, a inscrever num registo ou suporte informático e a conservar durante, pelo menos, três anos as seguintes informações:

- O nome do proprietário, a origem, a data de entrada, a data de saída, o número e a identificação dos animais da espécie bovina ou o número de registo da exploração de origem ou do efectivo de origem dos suínos chegados ao centro e o seu destino previsto;
- O número de registo do transportador e a matrícula do camião que descarrega ou carrega os animais no centro.

3 — A autoridade competente atribuirá um número de autorização a cada centro de agrupamento aprovado, podendo esta autorização ser limitada a uma determinada espécie, a animais destinados à reprodução e produção ou a animais destinados ao abate.

4 — Os centros de agrupamento, quando em funcionamento, devem dispor de um número suficiente de veterinários oficiais para executar todas as suas atribuições.

#### Artigo 10.º

##### Transportadores

1 — Os transportadores referidos no artigo 6.º do regulamento anexo à Portaria n.º 160/95, de 27 de Fevereiro, devem observar as seguintes condições adicionais:

- a) Utilizar, para o transporte dos animais, meios de transporte que sejam:
  - Construídos de modo que as fezes, a cama ou a forragem dos animais não possam verter ou cair para fora do veículo;
  - Limpos e desinfectados com desinfectantes autorizados pela autoridade competente, imediatamente depois de cada transporte de animais ou de qualquer outro produto que possa afectar a saúde animal e, se necessário, antes de novo carregamento de animais;
- b) Dispor de instalações de limpeza e de desinfectação apropriadas, aprovadas pela autoridade competente, incluindo instalações de armazenagem da cama e do estrume, ou comprovarem que essas operações são efectuadas por terceiros aprovados pela autoridade competente.

2 — O transportador deve, em relação a cada veículo destinado ao transporte de animais, assegurar a manutenção de um registo contendo, pelo menos, as seguintes informações, que devem ser conservadas por um período mínimo de três anos:

- i) Local e data do carregamento, nome ou firma da exploração ou centro de agrupamento onde os animais foram carregados;
- ii) Local e data de entrega, nome ou firma e endereço do ou dos destinatários;
- iii) Espécie e número de animais transportados;
- iv) Data e local da desinfeção;
- v) Indicação pormenorizada da documentação de acompanhamento (número de série, etc.).

3 — Os transportadores assegurarão que os animais transportados não entrem em contacto com animais de estatuto inferior em momento algum da viagem, desde a saída da exploração ou do centro de agrupamento de origem até à chegada ao respectivo destino.

4 — Os transportadores comprometer-se-ão por escrito a, nomeadamente:

- Tomar todas as medidas necessárias para dar cumprimento ao presente regulamento e em especial ao disposto no presente artigo no que se refere à documentação adequada que deve acompanhar os animais;
- Confiar o transporte de animais a pessoas com as aptidões e competência profissionais e conhecimentos necessários.

#### Artigo 11.º

##### Comerciantes

1 — Os comerciantes devem estar registados, aprovados e possuir um número de autorização atribuído pela autoridade competente e satisfazer pelo menos as seguintes condições:

- a) Negociarem apenas em animais identificados e provenientes de efectivos oficialmente indemnes de tuberculose, brucelose e leucose ou animais de abate que satisfaçam as condições fixadas no presente regulamento e em especial as previstas no n.º 3 do artigo 6.º, devendo ainda assegurar que os animais estão devidamente identificados e acompanhados dos documentos sanitários específicos das espécies em causa. No entanto, a autoridade competente pode autorizar a comercialização de animais identificados que não satisfaçam as condições previstas no primeiro parágrafo, desde que esses animais sejam conduzidos imediatamente a um matadouro sem transitar pelas respectivas instalações, para serem abatidos nesse matadouro o mais rapidamente possível, a fim de evitar a propagação de doenças, devendo, neste caso, ser tomadas as disposições necessárias para que, ao chegarem ao matadouro, esses animais não possam entrar em contacto com outros animais e para que sejam abatidos separadamente dos restantes animais;
- b) O comerciante é obrigado, com base no documento de acompanhamento dos animais ou com base nos números ou marcas de identificação dos animais, a inscrever num registo ou suporte

informático e a conservar durante pelo menos três anos as seguintes informações:

- O nome do proprietário, a origem, a data de compra, as categorias, o número e a identificação dos animais da espécie bovina ou o número de registo da exploração de origem ou do efectivo de origem dos suínos comprados;
  - O número de registo do transportador e ou o número de licença do camião que entrega e transporta os animais;
  - O nome e o endereço do comprador e o destino dos animais;
  - Cópias dos itinerários seguidos e ou o número de série dos certificados sanitários;
- c) Caso o comerciante detenha animais nas suas instalações, deverá assegurar que:
- Seja dada formação específica ao pessoal responsável pelos animais no que se refere à aplicação dos requisitos do presente regulamento e ao tratamento e bem-estar dos animais;
  - O veterinário oficial realize inspecções e eventualmente análises periódicas aos animais e que sejam tomadas todas as medidas necessárias para evitar a propagação de doenças.

2 — A instalação utilizada pelos comerciantes no exercício da sua actividade deverá estar registada e possuir um número de autorização fornecido pela autoridade competente e satisfazer pelo menos as seguintes condições:

- a) Estar sob a supervisão de um veterinário oficial;
- b) Estar situada numa zona não sujeita a proibição ou restrição em conformidade com a legislação pertinente;
- c) Ser dotada:
  - De instalações adequadas com capacidade suficiente e em particular infra-estruturas de inspecção adequadas e infra-estruturas de isolamento de modo a poder isolar todos os animais caso ocorra uma doença contagiosa;
  - De instalações apropriadas para descarregar os animais e, se necessário, os acomodar convenientemente, abeberá-los, alimentá-los e prestar-lhes todos os tratamentos que requeiram; essas instalações devem ser fáceis de limpar e desinfectar;
  - De uma área de recolha adequada para camas e estrume;
  - De um sistema adequado de recolha das águas usadas;
- d) Ter sido previamente limpa e desinfectada antes de cada utilização de acordo com as instruções do veterinário oficial.

3 — A autoridade competente efectuará inspecções periódicas para verificar o cumprimento dos requisitos pertinentes do presente artigo.

## Artigo 12.º

## Rede de vigilância

1 — Em caso de existência de um sistema de rede de vigilância, este deve ser constituído, pelo menos:

- a) Por efectivos;
- b) Pelo proprietário da exploração ou qualquer pessoa singular ou colectiva responsável pela mesma;
- c) Pelo veterinário autorizado ou pelo veterinário oficial responsável pela exploração;
- d) Pelo veterinário autorizado responsável pela exploração;
- e) Pelo serviço veterinário oficial;
- f) Pelos laboratórios oficiais de diagnóstico veterinário ou qualquer outro laboratório autorizado;
- g) Por uma base de dados informatizada.

Os veterinários oficiais dos matadouros e centros de agrupamento aprovados serão associados ao sistema de redes.

2 — O sistema de redes de vigilância tem como objectivos principais a classificação oficial das explorações, a manutenção dessa classificação através de inspecções periódicas, a recolha de dados epidemiológicos e a vigilância das doenças por forma a garantir o respeito de todas as normas do presente regulamento ou de qualquer outro pertinente em matéria de sanidade animal.

O sistema de redes de vigilância é obrigatório em todas as explorações do território, podendo, no entanto, a autoridade competente autorizar a instalação desse sistema numa parte do território constituída por uma ou várias regiões adjacentes, tal como definidas na alínea *ae)* do artigo 2.º, ficando nesse caso o transporte de animais para essa parte do território em proveniência de outras regiões que não façam parte do sistema de redes sujeito ao disposto no presente regulamento.

A autoridade competente estabelecerá os direitos e obrigações a respeitar pelos veterinários autorizados, pelos responsáveis pelas explorações ou pelos seus proprietários e ainda por quaisquer outros participantes no sistema, incluindo a pessoa responsável pela concessão do certificado sanitário.

3 — As obrigações referidas no número anterior são pelo menos as seguintes:

A) O proprietário de uma exploração ou a pessoa por ela responsável deve:

- i) Garantir por contrato ou acto jurídico os serviços de um veterinário autorizado pela autoridade competente;
- ii) Recorrer imediatamente ao veterinário autorizado responsável pela exploração logo que suspeite da existência de uma doença contagiosa ou de qualquer doença de notificação obrigatória;
- iii) Informar o veterinário autorizado sobre a introdução de quaisquer animais na sua exploração;
- iv) Isolar os animais antes de os introduzir na exploração a fim de permitir ao veterinário autorizado verificar, mediante as provas adequadas, se o estatuto sanitário da mesma pode ser mantido.

B) O veterinário autorizado nos termos da alínea *ab)* do artigo 2.º será sujeito ao controlo da autoridade competente e deve preencher os seguintes requisitos:

i) Satisfazer as condições necessárias ao exercício da profissão de veterinário;

ii) Não ter quaisquer laços familiares ou financeiros com o proprietário ou responsável da exploração;

iii) Possuir conhecimentos específicos no domínio da sanidade animal no que se refere aos animais da espécie em causa, o que significa que deve:

- Actualizar regularmente os seus conhecimentos, especialmente sobre a regulamentação sanitária aplicável;
- Satisfazer as exigências estabelecidas pela autoridade competente para assegurar o correcto funcionamento da rede;
- Prestar informações e assistência ao proprietário ou ao responsável da exploração, por forma que sejam tomadas todas as medidas para assegurar a manutenção da autorização desta última, inclusivamente com base em programas acordados com a autoridade competente;
- Assegurar o cumprimento dos requisitos em matéria de:
  - i) Identificação e certificação sanitária dos animais do efectivo, dos animais introduzidos na exploração e dos animais transaccionados;
  - ii) Participação obrigatória das doenças infecciosas e de quaisquer outros factores de risco para a saúde e bem-estar dos animais e para a saúde humana;
  - iii) Estabelecimento, na medida do possível, das causas de morte dos animais e do local para onde devem ser enviados;
  - iv) Condições de higiene do efectivo e das unidades de produção pecuária.

A responsabilidade do veterinário poderá ser limitada a um número limitado de explorações ou a uma determinada zona geográfica.

A autoridade competente elaborará listas de veterinários autorizados e das explorações autorizadas que participam na rede, podendo as autorizações ser suspensas ou revogadas, caso não sejam observadas as condições acima prescritas.

C) A base de dados informatizada deve conter pelo menos as seguintes informações:

1) Para cada animal:

- Código de identificação;
- Data de nascimento;
- Sexo;
- Raça ou cor;
- Código de identificação de mãe ou, no caso de um animal importado de um país terceiro, número de identificação atribuído após o controlo efectuado em conformidade com a Portaria n.º 243/94, de 18 de Abril, e que esteja relacionado com o número de identificação de origem;
- Número de identificação da exploração em que nasceu;
- Números de identificação de todas as explorações em que permaneceu e datas de cada transporte;
- Data da morte ou do abate.

2) Para cada exploração:

- Um número de identificação que consiste, além do código do país, num código que não exceda 12 caracteres;
- Nome e endereço do proprietário.

3) A base de dados deverá permitir que se disponha, em qualquer momento, das seguintes informações:

- Número de identificação de todos os bovinos presentes numa exploração e, no caso de grupo de suínos, o número de registo da exploração de origem ou do efectivo de origem, bem como, quando for o caso, o número de certificado sanitário;
- Lista de todos os transportes de cada bovino a partir da exploração em que nasceu ou, para os animais importados de países terceiros, da exploração de importação e, no caso de grupos de suínos, o número de registo da última exploração ou do último efectivo de origem e, quando se tratar de animais importados de países terceiros, a exploração de importação.

Estas informações serão conservadas na base de dados até que tenham decorrido três anos consecutivos após a morte dos bovinos ou até que tenham decorrido três anos consecutivos após o registo, no caso dos suínos.

Todavia, apenas as disposições dos n.ºs 2) e 3) são aplicáveis aos animais da espécie suína.

4 — Todos os outros participantes da rede não referidos no n.º 3, partes A) e B), operam sob a responsabilidade da autoridade competente, entidade esta que é responsável pela instalação da rede e, com vista ao seu bom funcionamento, deve proceder a inspecções periódicas da mesma.

5 — A existência em todo o território nacional de um sistema de rede de vigilância tal como definido nos termos do presente artigo cessa a aplicabilidade do n.º 2, alínea a), segundo travessão, do artigo 3.º aos transportes de animais visados pelo presente regulamento, no interior do território nacional.

### Artigo 13.º

#### Destino dos animais em caso de infracção

1 — Caso se verifique que as disposições do presente regulamento não foram ou não estão a ser respeitadas, sem prejuízo da regulamentação aplicável em matéria das sanções penais e contra-ordenacionais, a autoridade competente do local onde for verificado esse facto tomará todas as medidas adequadas para salvaguardar a saúde dos animais e para prevenir a difusão de doenças, podendo essas medidas ser as disposições necessárias para:

- a) Terminar a viagem ou reenviar os animais ao seu local de partida através do itinerário mais directo, desde que essa medida não ponha em perigo a saúde ou o bem-estar dos animais;
- b) Acomodar convenientemente os animais e dispensar-lhes os cuidados necessários, em caso de interrupção da viagem;
- c) Determinar o abate dos animais, sendo o destino e utilização das carcaças desses animais definidos:
  - i) Segundo as disposições previstas na Portaria n.º 971/94, de 29 de Outubro; ou
  - ii) Segundo as disposições previstas nas Portarias n.ºs 965/92, de 10 de Outubro, e 25/94, de 8 de Janeiro, se o estatuto sanitário dos animais não puder ser determinado ou se estes forem susceptíveis de representarem um risco em matéria de

saúde animal ou de saúde pública. Todavia, se for conveniente aplicar as disposições previstas nos diplomas atrás citados, deve ser concedido ao proprietário ou ao seu representante um prazo de regularização antes de recorrer a esta possibilidade, sendo, neste caso, aplicável o disposto no n.º 3 do presente artigo.

2 — O presente artigo decorre sem prejuízo da regulamentação aplicável em matéria de sanções penais.

### Artigo 14.º

#### Controlos e medidas de salvaguarda

As normas da Portaria n.º 575/93, de 4 de Junho, são aplicáveis, em especial, aos controlos na origem, à organização e ao seguimento dos controlos a efectuar pelo país de destino e às medidas de salvaguarda a aplicar.

#### ANEXO A

##### I — Efectivo bovino oficialmente indemne de tuberculose

1 — Um efectivo bovino é oficialmente indemne de tuberculose se:

- a) Todos os animais estiverem isentos de sinais clínicos de tuberculose;
- b) Todos os animais com mais de seis semanas de idade tiverem reagido negativamente a, pelo menos, duas provas oficiais intradérmicas de tuberculina realizadas em conformidade com o anexo C, a primeira seis meses após a eliminação de qualquer infecção do efectivo e a segunda seis meses mais tarde; no caso de o efectivo ter sido constituído unicamente com animais provenientes de efectivos oficialmente indemnes de tuberculose, sendo a primeira prova realizada, pelo menos, 60 dias após a constituição do efectivo bovino e não sendo a segunda obrigatória;
- c) Após a realização da primeira prova referida na alínea b) não tiver sido introduzido no efectivo qualquer bovino com mais de seis semanas, a não ser que tenha reagido negativamente a uma prova intradérmica de tuberculina realizada e avaliada em conformidade com o anexo C e efectuada quer nos 30 dias antes quer nos 30 dias depois da data da sua introdução no efectivo. Esta prova não é obrigatória em regiões em que a percentagem de efectivos bovinos infectados com tuberculose seja inferior a 0,2% ou se os animais forem originários de um efectivo oficialmente indemne de tuberculose.

2 — Um efectivo bovino conservará o estatuto de oficialmente indemne de tuberculose se:

- a) Continuarem a ser satisfeitas as condições das alíneas a) e c) do n.º 1;
- b) Todos os animais que entrarem na exploração forem provenientes de efectivos com estatuto de oficialmente indemnes de tuberculose;
- c) Todos os animais de exploração, excluindo os vitelos com menos de seis semanas que tiverem nascido na exploração, forem sujeitos a uma prova de tuberculina de rotina, realizada anualmente, em conformidade com o anexo C.

No entanto, de acordo com o procedimento comunitariamente previsto e relativamente a uma região onde todos os efectivos bovinos sejam sujeitos a medidas oficiais para combater a tuberculose, poder-se-á decidir alterar a frequência das provas de rotina do seguinte modo:

- Se a percentagem de efectivos bovinos infectados com tuberculose não for superior a 1%, em média, durante os dois períodos de vigilância bienais mais recentes, o intervalo entre as provas de rotina do efectivo pode ser aumentado para dois anos;
- Se a percentagem de efectivos bovinos infectados com tuberculose não for superior a 0,2%, em média, durante os dois períodos de vigilância bienais mais recentes, o intervalo entre as provas de rotina pode ser aumentado para três anos;
- Se a percentagem de efectivos bovinos infectados com tuberculose não for superior a 0,1%, em média, durante os dois períodos de vigilância trienais mais recentes, o intervalo entre as provas de rotina pode ser aumentado para quatro anos e ou a idade em que os animais têm de ser submetidos a estas provas pode passar para 24 meses.

Pode, igualmente, de acordo com o comunitariamente previsto, ser decidido aumentar a frequência das provas de tuberculina de rotina, caso o nível de incidência da doença aumente.

Se se dispuser de um sistema de identificação e de registo dos bovinos que permita identificar os efectivos de origem e de trânsito e se a percentagem de efectivos infectados não for superior a 0,1%, em média, durante os dois períodos de controlo mais recentes, poderá renunciar-se às provas de tuberculina anuais a realizar aos efectivos, na condição de que:

- 1) Antes da sua introdução num efectivo, todos os bovinos sejam sujeitos com resultados negativos a uma prova intradérmica de tuberculina;
- 2) Todos os bovinos abatidos sejam sujeitos a uma pesquisa de lesões de tuberculose, sendo estas sujeitas a um exame bacteriológico para pôr em evidência o bacilo da tuberculose.

3 — O estatuto de oficialmente indemne de tuberculose de um efectivo será suspenso se:

- a) As condições referidas no n.º 2 não forem respeitadas;
- b) Se considerar que um animal reagiu positivamente a uma prova de tuberculina de rotina ou se tiver sido diagnosticado um caso de tuberculose numa inspecção de rotina *post mortem*. Nestes casos, o estatuto permanecerá suspenso até que todos os animais restantes com mais de seis semanas de idade tenham reagido negativamente a, pelo menos, duas provas oficiais intradérmicas de tuberculina, em conformidade com o anexo C, sendo a primeira realizada, pelo menos, dois meses após a eliminação do animal da exploração e a segunda, pelo menos, 42 dias após a primeira. No entanto, por derrogação, se após uma prova de rotina efectuada a um efectivo, um ou mais animais tiverem reagido positivamente a uma prova de tuberculina, e se se afigurar que a tuberculose bovina poderá

não estar na origem desta reacção, o caso ou os casos suspeitos de tuberculose devem ser plenamente investigados, incluindo nomeadamente a localização e os controlos do efectivo de residência no momento da prova e de qualquer efectivo anterior considerado necessário pela autoridade competente, bem como todas as análises laboratoriais e exames *post mortem* adequados. Durante a realização destas análises ou exames, o estatuto de oficialmente indemne da tuberculose dos efectivos supra fica suspenso até que os exames clínicos e laboratoriais ou as provas de tuberculina tenham infirmado a presença de tuberculose bovina. No caso de não se confirmar a presença de tuberculose, o estatuto do(s) efectivo(s) poderá ser restabelecido. No entanto, se a prova de rotina efectuada ao efectivo referida na alínea c) do n.º 2 não tiver sido realizada a tempo, o estatuto do efectivo não deve ser suspenso desde que a prova não seja efectuada depois de 60 dias após a data inicialmente prevista e que as provas subsequentes sejam efectuadas dentro do calendário inicialmente fixado;

- c) O efectivo contiver animais de estatuto determinado nos termos do n.º 32 do anexo C. Neste caso, o estatuto do efectivo permanecerá suspenso até que tenha sido clarificado o estatuto dos animais.

4 — Uma região pode ser declarada oficialmente indemne de tuberculose, de acordo com o procedimento previsto comunitariamente, se satisfizer as seguintes condições:

- a) A percentagem de efectivos bovinos infectados não ser superior a 0,01% durante seis anos consecutivos e, pelo menos, 99,9% dos efectivos terem sido declarados oficialmente indemnes de tuberculose há 10 anos;
- b) Existir um sistema de identificação que permita determinar quais os efectivos de origem e de trânsito de cada bovino;
- c) Todos os bovinos abatidos serem sujeitos a uma inspecção *post mortem* por um veterinário oficial;
- d) Todos os casos suspeitos de tuberculose serem plenamente investigados, incluindo a localização e o controlo de quaisquer efectivos de origem ou de trânsito e a realização de todos os exames laboratoriais adequados. Durante a realização das análises, o estatuto de oficialmente indemne de tuberculose dos efectivos de origem ou de trânsito fica suspenso até que as análises clínicas ou laboratoriais ou as provas de tuberculina tenham infirmado a presença de tuberculose bovina.

5 — Uma região conservará o estatuto de oficialmente indemne de tuberculose se:

- a) Continuarem a ser aplicadas as condições das alíneas a) a d) do n.º 4;
- b) Quando confirmado um caso de tuberculose, for retirado o estatuto de oficialmente indemne de tuberculose do efectivo de origem e de trânsito;

- c) O estatuto de oficialmente indemne de tuberculose dos efectivos em que tiver sido confirmada a tuberculose continuar suspenso até:
- Ao abate de todos os animais considerados infectados;
  - À desinfectação das instalações e dos utensílios;
  - Que todos os bovinos restantes com mais de seis semanas de idade tenham reagido negativamente a, pelo menos, duas provas intradérmicas oficiais, realizadas em conformidade com o anexo C, a primeira, pelo menos, seis meses após a retirada do animal infectado e a segunda seis meses depois da primeira.

6 — Caso existam indícios de uma mudança significativa da situação no que se refere à tuberculose numa região que tenha sido considerada oficialmente indemne de tuberculose, pode ser decidido, de acordo com o procedimento previsto comunitariamente, tomar uma decisão de suspensão ou de revogação do estatuto e exigir provas de tuberculina de rotina, a realizar em conformidade com um dos programas da alínea c) do n.º 2.

II — Efectivo bovino indemne de brucelose e oficialmente indemne de brucelose

Para efeitos da presente secção, entende-se por bovinos todos os bovinos, com excepção dos machos castrados com menos de quatro meses.

1 — Um efectivo bovino é oficialmente indemne de brucelose se:

- a) Não incluir bovinos vacinados contra a brucelose, excluindo as fêmeas vacinadas há, pelo menos, três anos;
- b) Todos os bovinos estiverem isentos de sinais clínicos de brucelose há, pelo menos, seis meses;
- c) Todos os bovinos com mais de 12 meses de idade tiverem sido sujeitos a um dos seguintes programas de provas, com resultados negativos, em conformidade com o anexo D:
  - i) Duas provas de seroaglutinação, a efectuar com intervalos superiores a 3 meses e inferiores a 12 meses;
  - ii) Três provas do anel, com intervalos de três meses, seguidas de uma prova de seroaglutinação, a efectuar, pelo menos, seis semanas depois;
  - iii) Duas provas de antígeno brucélico tamponado, a efectuar com intervalos superiores a 3 meses e inferiores a 12 meses;
  - iv) Duas provas de microaglutinação, a efectuar com intervalos superiores a 3 meses e inferiores a 12 meses.

2 — Um efectivo bovino conservará o estatuto de oficialmente indemne de brucelose se:

- a) For realizado anualmente, com resultados negativos, em conformidade com o anexo D, um dos seguintes programas de provas:
  - i) Três provas do anel realizadas com intervalos de, pelo menos, três meses;
  - ii) Três provas Elisa do leite realizadas com intervalos de, pelo menos, três meses;

- iii) Três provas do anel realizadas com um intervalo de, pelo menos, três meses, seguidas de uma prova sorológica realizada, pelo menos, seis semanas depois;
- iv) Duas provas Elisa do leite realizadas com um intervalo de, pelo menos, três meses, seguidas de uma prova sorológica realizada, pelo menos, seis semanas depois;
- v) Duas provas sorológicas realizadas com um intervalo de, pelo menos, três meses e não superior a seis meses.

De acordo com o comunitariamente previsto pode uma região não oficialmente indemne de brucelose mas em que todos os efectivos bovinos estejam sujeitos a operações oficiais de combate à brucelose alterar a frequência das provas de rotina do seguinte modo:

- Se a percentagem de efectivos bovinos infectados não for superior a 1%, pode ser suficiente realizar, anualmente, duas provas do anel ou duas provas Elisa do leite com um intervalo de, pelo menos, três meses ou uma prova sorológica;
- Se, pelo menos, 99,8% dos efectivos bovinos tiverem sido declarados oficialmente indemnes de brucelose durante, pelo menos, quatro anos, o intervalo entre os controlos pode ser alargado para dois anos e os controlos devem ser realizados utilizando uma das provas sorológicas referidas na alínea a) do n.º 7.

b) Todos os bovinos que entrarem no efectivo forem provenientes de efectivos com o estatuto de oficialmente indemne de brucelose e, no caso dos bovinos com mais de 12 meses de idade, apresentarem uma contagem brucélica inferior a 30 UI de aglutinação por mililitro, aquando da realização de uma prova de seroaglutinação em conformidade com o anexo D, durante os 30 dias anteriores à introdução no efectivo.

No entanto, a prova de seroaglutinação descrita na alínea b) pode não ser exigida nas regiões em que desde há, pelo menos, dois anos a percentagem de efectivos bovinos infectados com brucelose não seja superior a 0,2% e se os animais forem provenientes de um efectivo oficialmente indemne de brucelose nessas regiões e não tiverem estado em contacto durante o transporte com bovinos de estatuto inferior.

c) Em derrogação da alínea b), os bovinos provenientes de um efectivo bovino indemne de brucelose podem ser introduzidos num efectivo oficialmente indemne de brucelose se tiverem, pelo menos, 18 meses de idade e, no caso de terem sido vacinados contra a brucelose, a vacina tiver sido efectuada há mais de um ano.

Esses animais devem ter apresentado, nos 30 dias anteriores à introdução no efectivo, uma contagem brucélica inferior a 30 UI de aglutinação por mililitro e um resultado negativo numa prova de fixação do complemento, ambas realizadas em conformidade com o anexo D.

No entanto, se um animal proveniente de um efectivo indemne de brucelose for introduzido num efectivo bovino oficialmente indemne de brucelose nos termos destas disposições, esse efectivo deve ser considerado indemne de brucelose durante dois anos a contar da data de introdução do animal.

3 — O estatuto de um efectivo oficialmente indemne de brucelose poderá ser suspenso ou retirado se:

- a) As condições referidas nos n.ºs 1 e 2 não forem respeitadas; ou
- b) Na sequência de provas laboratoriais ou por motivos clínicos se suspeitar que um ou mais bovinos têm brucelose.

Caso se suspeite da presença da brucelose num ou mais bovinos de um efectivo oficialmente indemne de brucelose, o estatuto do efectivo pode ser suspenso, e não retirado, se o animal ou animais forem imediatamente abatidos ou isolados.

Se o animal tiver sido abatido, a suspensão pode ser levantada caso duas provas de seroaglutinação, realizadas em conformidade com o anexo C, em todos os bovinos do efectivo com mais de 12 meses de idade, apresentem uma contagem brucélica inferior a 30 UI de aglutinação por mililitro. A primeira prova deve ser realizada, pelo menos, 30 dias após o abate do animal e a segunda, pelo menos, 60 dias mais tarde.

Se o animal tiver sido isolado, pode proceder-se à sua reintrodução no efectivo, e o estatuto deste último pode ser restabelecido se o animal posteriormente apresentar uma contagem de seroaglutinação inferior a 30 UI de aglutinação por mililitro e se se tiver obtido um resultado negativo numa prova de fixação do complemento, sendo estas provas realizadas em conformidade com o anexo D.

Se na sequência de provas laboratoriais ou de análises epidemiológicas for confirmada num efectivo uma infecção com brucela, o estatuto desse efectivo só poderá ser restabelecido quando todas as fêmeas prenhes no momento da primeira manifestação da doença apresentarem resultados negativos nas provas supracitadas, sendo a prova final realizada, pelo menos, 21 dias após a parição.

4 — Um efectivo bovino é indemne de brucelose se satisfizer as condições das alíneas a), b) e c) do n.º 1, com as seguintes excepções:

- i) As fêmeas podem ser vacinadas:
  - Antes dos seis meses de idade com uma estirpe 19 da vacina viva ou com outras vacinas aprovadas comunitariamente; ou
  - Antes dos 15 meses de idade com uma vacina inactivada 45/20 adjuvante, inspecionada e reconhecida oficialmente;
- ii) Os bovinos com menos de 30 meses que tenham sido vacinados com uma estirpe 19 da vacina viva podem apresentar um resultado na prova de seroaglutinação superior a 30 UI, mas inferior a 80 UI de aglutinação por mililitro desde que na prova de fixação do complemento dêem um resultado inferior a 30 unidades CEE no caso das fêmeas vacinadas há menos de 12 meses ou inferior a 20 unidades CEE nos restantes casos;
- iii) Para além das provas enumeradas na alínea c) do n.º 1, devem ser igualmente aprovados os seguintes programas de provas para obter o estatuto de indemne de brucelose:
  - a) Duas provas de antigénio brucélico tamponado realizadas com um intervalo superior a 3 meses e inferior a 12 meses;

- b) Duas provas de microaglutinação realizadas com um intervalo superior a 3 meses e inferior a 12 meses, efectuadas nos termos do anexo D.

5 — Um efectivo bovino conservará o estatuto de indemne de brucelose se:

- i) For objecto de um dos programas de provas enumerados na alínea a) do n.º 2;
- ii) Os bovinos que entram no efectivo respeitarem as condições da alínea b) do n.º 2; ou
  - Forem provenientes de efectivos com o estatuto de indemnes de brucelose e, no caso dos bovinos com mais de 12 meses de idade, apresentarem, nos 30 dias anteriores à introdução no efectivo, menos de 30 UI de aglutinação por mililitro numa prova de seroaglutinação e uma prova negativa de fixação do complemento, em conformidade com o anexo D; ou
  - Forem provenientes de efectivos com o estatuto de indemne de brucelose, a sua idade for inferior a 30 meses e tiverem sido vacinados com uma estirpe 19 da vacina viva, podendo numa prova de seroaglutinação apresentar um resultado superior a 30 UI mas inferior a 80 UI de aglutinação por mililitro desde que na prova de fixação do complemento dêem um resultado inferior a 30 unidades CEE no caso das fêmeas vacinadas há menos de 12 meses ou inferior a 20 unidades CEE nos restantes casos.

6 — O estatuto de indemne de brucelose de um efectivo será suspenso ou revogado se:

- a) As condições definidas nos n.ºs 4 e 5 supra não forem respeitadas; ou
- b) Na sequência de provas laboratoriais ou por motivos clínicos, existirem suspeitas de presença de brucelose em animais com idade superior a 30 meses.

Se se suspeitar que um ou mais animais com idade superior a 30 meses, num efectivo indemne de brucelose, estão infectados com brucela, o estatuto do efectivo pode ser suspenso, e não retirado, caso o animal ou animais sejam imediatamente destruídos ou isolados.

Se o animal tiver sido destruído, a suspensão pode ser levantada caso duas provas de seroaglutinação realizadas em conformidade com o anexo D, em todos os bovinos do efectivo com mais de 12 meses de idade, apresentem uma contagem inferior a 30 UI de aglutinação por mililitro. A primeira prova deve ser realizada, pelo menos, 30 dias após a retirada do animal e a segunda, pelo menos, 60 dias depois.

Caso o animal tenha sido isolado, pode-se proceder à sua reintrodução no efectivo, e o estatuto deste último poderá ser restabelecido se, posteriormente, o animal apresentar numa prova de seroaglutinação uma contagem inferior a 30 UI de aglutinação por mililitro e tiver dado um resultado negativo numa prova de fixação do complemento, sendo estas provas realizadas nos termos do anexo D.

Se, na sequência de provas laboratoriais ou de pesquisas epidemiológicas, for confirmada num efectivo uma infecção com brucela, o estatuto desse efectivo só

será restabelecido quando todas as fêmeas prenhes no momento do surgimento do foco apresentarem resultados negativos nas provas supracitadas, sendo a prova final realizada, pelo menos, 21 dias após a parição.

7 — O território nacional ou uma região pode ser declarado oficialmente indemne de brucelose de acordo com o procedimento comunitariamente previsto se satisfizer as seguintes condições:

- a) Não ter sido registado durante, pelo menos, três anos qualquer caso de aborto devido a infecção com brucela e, pelo menos, 99,8% do efectivo ter sido declarado oficialmente indemne de brucelose desde há 10 anos;
- b) Existir um sistema de identificação que possibilite a identificação dos efectivos de origem e de trânsito relativamente a cada bovino.

8 — Sem prejuízo do n.º 9, uma região declarada oficialmente indemne de brucelose manterá este estatuto se todos os bovinos com mais de 24 meses de idade forem sujeitos quer a duas provas do anel quer a uma prova sorológica todos os três anos. Caso se observe um resultado positivo, serão aplicadas as condições do n.º 6.

9 — Uma região declarada oficialmente indemne de brucelose notificará todas as ocorrências de casos de brucelose. De acordo com o procedimento comunitariamente previsto pode ser proposta a suspensão ou revogação do estatuto e exigir-se a pesquisa sistemática de brucelose, a realizar em conformidade com os programas do n.º 2.

10 — O território nacional pode ser declarado oficialmente indemne de brucelose de acordo com o procedimento comunitariamente previsto se satisfizer as seguintes condições:

- a) Não ter sido registado qualquer aborto devido a infecção com brucela, pelo menos, nos últimos três anos e, pelo menos, 99,8% das explorações terem sido declaradas oficialmente indemnes de brucelose desde há 10 anos;
- b) Existir um sistema de identificação que permita determinar quais os efectivos de origem e de trânsito de cada bovino.

11 — O território nacional conservará o estatuto de oficialmente indemne de brucelose se:

- Forem notificados à autoridade competente todos os casos de bovinos suspeitos de estar infectados com brucela, sendo esses animais submetidos a investigação oficial relativamente à brucelose, a qual compreenderá, pelo menos, duas provas sorológicas de sangue, incluindo uma prova de fixação do complemento, bem como um exame microbiológico de amostras adequadas colhidas, no caso de aborto;
- Durante o período de suspeita, que se manterá até à obtenção de resultados negativos nas provas previstas no primeiro travessão, tiver sido suspenso o estatuto de oficialmente indemne de brucelose do efectivo de origem ou de trânsito do bovino suspeito;
- Em caso de obtenção de um resultado positivo, aplicar-se-ão as condições do n.º 6.

12 — De acordo com o procedimento comunitariamente previsto, o estatuto poderá ser suspenso ou reti-

rado e ser exigida a realização de provas de rotina para a brucelose efectuadas de acordo com uma das disposições do n.º 1.

13 — a) Para efeitos da presente secção, entende-se por prova sorológica uma prova de seroaglutinação, uma prova de antigénio brucélico tamponado, uma prova de fixação do complemento, uma prova de plasmaglutinação, uma prova do anel em plasma, uma prova de microaglutinação ou uma prova Elisa individual em sangue, como descrito no anexo D.

b) Quando são efectuadas provas do anel em cisternas de leite, o número dessas provas referido no presente anexo deve ser duplicado e os intervalos entre as provas devem ser reduzidos para metade.

#### ANEXO B

##### Normas de fabrico e utilização de tuberculinas bovinas e aviárias

1 — As provas de tuberculina controladas oficialmente devem ser realizadas com tuberculinas PPD ou HCSM.

2 — Os padrões a utilizar pelos fabricantes no controlo das tuberculinas bovinas PPD e HCSM devem ser aferidos em unidades comunitárias de tuberculina (UCT), com base em ensaios biológicos com a tuberculina padrão comunitária apropriada.

3 — Os padrões a utilizar pelos fabricantes para o controlo das tuberculinas aviárias devem ser aferidos em unidades internacionais, com base em ensaios biológicos efectuados com o padrão comunitário de PPD de tuberculina aviária.

4 — O padrão comunitário PPD de tuberculina bovina é o do Institut voor Dierhonderij en Diergezondheid (ID-DLO), Lelystad, Países Baixos.

5 — O padrão comunitário de HCSM de tuberculina bovina é o do Institut Pasteur, Paris, França.

6 — O padrão comunitário de tuberculina aviária é o do Veterinary Laboratory Agency, Addlestone, Weybridge, Inglaterra.

7 — As tuberculinas bovinas devem ser preparadas com uma das seguintes estirpes de *Mycobacterium bovis*:

- a) AN 5;
- b) Vallee.

8 — As tuberculinas aviárias devem ser preparadas com uma das seguintes estirpes de *Mycobacterium avium*:

- a) D 4 ER;
- b) TB 56.

9 — O pH das tuberculinas deve situar-se entre 6,5 e 7,5.

10 — É necessário confirmar, de modo que satisfaça o organismo público responsável pelo controlo oficial da tuberculina, que os agentes conservantes especificamente antimicrobianos ou outras substâncias que possam ter sido adicionadas à tuberculina não alteram nem a inocuidade nem a eficácia do produto.

As concentrações máximas autorizadas para o fenol e o glicerol são as seguintes:

- a) Fenol — 0,5% M/v;
- b) Glicerol — 10% v/v.

11 — Desde que sejam conservadas ao abrigo da luz e a uma temperatura entre 2°C e 8°C, as tuberculinas podem ser utilizadas até ao fim dos períodos abaixo

indicados a contar do último ensaio de actividade considerado satisfatório:

- a) Tuberculinas líquidas PPD — dois anos;
- b) Tuberculinas liofilizadas PPD — oito anos;
- c) Tuberculinas HCSM diluídas — dois anos.

12 — É encarregue do controlo oficial das tuberculinas o Laboratório Nacional de Investigação Veterinária.

13 — Deve ser efectuado um controlo oficial de cada um dos lotes de tuberculinas engarrafadas e prontas a serem utilizadas.

14 — O controlo das tuberculinas deve ser efectuado por métodos biológicos e por métodos químicos.

15 — As tuberculinas devem ser estéreis. Os ensaios de esterilidade devem ser efectuados de acordo com as regras da farmacopeia europeia.

16 — Deve ser realizado um controlo para confirmar a inexistência de toxicidade ou de propriedades irritantes de acordo com as regras da farmacopeia europeia.

17 — As tuberculinas devem ser submetidas a uma análise química que permita determinar a concentração de glicerol e ou de fenol, assim como a concentração de qualquer outro agente conservante que possa ter sido adicionado.

18 — Deve ser realizada uma prova de não sensibilização à tuberculina de acordo com as regras da farmacopeia europeia.

19 — A actividade das tuberculinas deve ser avaliada por métodos biológicos. Estes métodos, que devem ser utilizados para as tuberculinas HCSM e PPD, baseiam-se numa comparação entre as tuberculinas padrão e as tuberculinas a ensaiar.

20 — O teor de proteína da tuberculina PPD deve ser avaliado pelo método do Kjeldahl. O factor de conversão do azoto em tubérculo-proteína é de 6,25.

21 — O padrão comunitário da tuberculina bovina HCSM tem uma actividade de 65 000 unidades comunitárias de tuberculina (UCT) por mililitro e é apresentada em ampolas de 5 ml.

22 — O padrão comunitário da tuberculina bovina PPD tem uma actividade de 50 000 unidades comunitárias de tuberculina (UCT) por miligrama de PPD e é apresentada no estado liofilizado, em ampolas contendo 1,8 mg de PPD, o que significa que 0,000 02 mg de PPD têm uma actividade igual a uma unidade comunitária de tuberculina.

23 — O padrão comunitário da tuberculina aviária PPD tem uma actividade de 50 000 unidades internacionais (UI) por miligrama de matéria seca do derivado proteico purificado e é apresentado no estado liofilizado, em ampolas contendo 10 mg de PPD e 26,3 mg de sais, o que significa que 0,000 072 6 mg de padrão têm uma actividade igual a uma unidade internacional.

24 — As tuberculinas submetidas pelos fabricantes ao controlo dos organismos oficiais referidos no n.º 12 devem, em primeiro lugar, ter sido testadas para determinação da actividade por ensaio biológico efectuado por comparação com os padrões apropriados indicados nos n.ºs 2 e 3.

25 — a) Controlo da actividade em cobaias — devem usar-se cobaias albinas de peso compreendido entre 400 g e 600 g. Estas cobaias devem estar de boa saúde no momento da injeção da tuberculina. Em cada ensaio devem ser utilizadas, pelo menos, oito cobaias. O ensaio não deve ser realizado menos de um mês após a sensibilização.

aa) Para ensaiar as tuberculinas bovinas, as cobaias serão sensibilizadas de acordo com um dos seguintes métodos:

- 1) Injeção de *Mycobacterium bovis* da estirpe AN5, morta pelo calor, em adjuvante oleoso;
- 2) Injeção de *Mycobacterium bovis* da estirpe AN5, viva, em soro fisiológico;
- 3) Injeção de vacina BCG.

ab) Para testar as tuberculinas aviárias, a sensibilização das cobaias deve fazer-se por injeção de 2 mg de bacilos tuberculosos do tipo aviário, mortos pelo calor, em suspensão de cerca de 0,5 ml de parafina líquida estéril ou por injeção de bacilos tuberculosos vivos do tipo aviário em soro fisiológico. Para esse efeito, deve utilizar-se uma estirpe do tipo aviário D4.

ac) Cada tuberculina a controlar deve ser avaliada por comparação com a tuberculina padrão apropriada, por injeção intradérmica em grupos de cobaias convenientemente sensibilizadas.

Devem cortar-se os pêlos de ambos os flancos de cada cobaia. O ensaio deve basear-se numa comparação entre as reacções provocadas por uma série de injeções intracutâneas de doses de 0,2 ml, no máximo, de diluições de tuberculina padrão em solução salina isotónica tamponada contendo 0,0005 % de Tween 80 e as reacções provocadas por uma série correspondente de injeções da tuberculina a ensaiar. As diluições far-se-ão segundo séries geométricas e serão injectadas nas cobaias segundo um quadrado latino aleatório (quatro casais de cada lado de um ensaio em oito pontos). Os diâmetros das reacções em cada caso devem ser medidos e anotados vinte e quatro a vinte e oito horas depois.

Para cada amostra de tuberculina a ensaiar há que fazer uma estimativa da actividade relativa por comparação com o padrão apropriado e determinar o intervalo de confiança por métodos estatísticos; utilizarão os diâmetros das reacções e os logaritmos das doses como parâmetros. A tuberculina bovina a ensaiar é aceitável se a sua actividade estimada garantir, por dose individual, 2000 unidades comunitárias de tuberculina ( $\pm 25\%$ ) no gado. A actividade de cada tuberculina deve ser expressa em unidades comunitárias de tuberculina ou em unidades internacionais por mililitro, consoante o caso.

b) Controlo de actividade em bovinos — pode efectuar-se um controlo periódico da actividade das tuberculinas bovinas em animais infectados natural ou artificialmente por tuberculose. Estes controlos de actividade realizados em grupos de bovinos tuberculosos devem incluir uma injeção intradérmica (em quatro ou seis pontos) da tuberculina a ensaiar; sendo feitos por comparação com o padrão adequado, sendo a actividade da tuberculina avaliada por métodos estatísticos como no ensaio realizado em cobaias.

26 — A rotulagem dos recipientes e das embalagens de tuberculina deve satisfazer as condições a seguir indicadas:

O rótulo do recipiente e o rótulo da embalagem devem indicar:

- O nome do preparado;
- Para preparados líquidos, o volume total do recipiente;
- O número de unidades comunitárias ou de unidades internacionais por mililitro ou por miligrama;
- O nome do fabricante;
- O número do lote;

- A natureza e a quantidade do líquido de reconstituição, para os preparados liofilizados;

O rótulo do recipiente ou o rótulo da embalagem devem indicar:

- O prazo de validade;
- As condições de conservação;
- A denominação e, se possível, a proporção de qualquer substância adicionada;
- O tipo de bacilo utilizado para a preparação da tuberculina.

27 — Serão designados laboratórios comunitários de acordo com o procedimento comunitariamente previsto, encarregues do exame complementar das tuberculinas utilizadas normalmente, a fim de garantir que a actividade de cada uma dessas tuberculinas seja apropriada, tendo em conta a tuberculina padrão comunitário adequada. Essas análises deverão ser realizadas em bovinos tuberculosos, em cobaias convenientemente sensibilizadas e por meio de ensaios químicos apropriados.

28 — Consideram-se provas oficiais de tuberculina:

- a) A intradermotuberculinação simples — esta prova exige uma única injeção de tuberculina bovina;
- b) A intradermotuberculinação de comparação — esta prova exige uma só injeção de tuberculina bovina e uma só injeção de tuberculina aviária, administradas simultaneamente.

29 — A dose de tuberculina injectada será:

- 1) 2000 UCT, no mínimo, de tuberculina bovina;
- 2) 2000 UI, no mínimo, de tuberculina aviária;
- 3) O volume de cada dose injectada não deverá exceder 0,2 ml.

30 — As provas de tuberculina devem ser realizadas por injeção da ou das tuberculinas na pele do pescoço. Os pontos de injeção situar-se-ão no limite entre os terços anterior e médio do pescoço. Caso sejam injectadas no mesmo animal tuberculinas aviária e bovina, o ponto de injeção da tuberculina aviária deve situar-se a cerca de 10 cm da linha superior do pescoço e o ponto de injeção da tuberculina bovina deve situar-se 12,5 cm abaixo, numa linha mais ou menos paralela à linha da espádua, ou em lados diferentes do pescoço; nos animais jovens, em que ainda não seja possível separar suficientemente os pontos de injeção de um dos lados do pescoço, será aplicada uma injeção de cada lado em sítios idênticos, no centro do terço médio do pescoço.

31 — A técnica de administração da tuberculina e a interpretação das reacções serão as seguintes:

- a) Técnica — nas zonas de injeção os pêlos devem ser cortados e a pele limpa. Segura-se uma prega da pele de cada zona em que os pêlos foram cortados, entre o indicador e o polegar, mede-se com uma craveira e anota-se o resultado. Introduce-se obliquamente nas camadas mais profundas da pele uma pequena agulha estéril, com o bordo biselado voltado para o exterior, ligado a uma seringa graduada contendo tuberculina. A seguir injecta-se a dose de tuberculina. Uma injeção bem dada provocará, à palpação, um ligeiro inchaço com as dimensões de uma ervilha

em cada ponto de injeção. A espessura da prega de pele em cada ponto de injeção voltará a ser medida e registada setenta e duas horas depois da injeção;

- b) Interpretação das reacções — a interpretação das reacções basear-se-á na observação clínica e no aumento ou aumentos registados na espessura da prega da pele nos pontos de injeção setenta e duas horas depois da injeção da ou das tuberculinas:

ba) Reacção negativa — se apenas se observar um inchaço limitado, com um aumento máximo de 2 mm de espessura da prega da pele, sem sinais clínicos, tais como edema difuso ou extenso, exsudado, necrose, dor ou reacção inflamatória dos canais linfáticos da região ou dos gânglios;

bb) Reacção duvidosa — se não se observar nenhum dos sinais clínicos indicados na alínea ba), mas o aumento de espessura da prega da pele for superior a 2 mm e inferior a 4 mm;

bc) Reacção positiva — se se observarem os sinais clínicos indicados na alínea ba) ou um aumento de espessura da prega da pele de 4 mm ou mais no sítio da injeção.

32 — A interpretação das provas oficiais de tuberculina é a seguinte:

- a) Intradermotuberculinação simples:

Positiva — reacção tal como definida na alínea bc) do n.º 31;

Duvidosa — reacção idêntica à definida na alínea bb) do n.º 31;

Negativa — reacção tal como definida na alínea ba) do n.º 31.

Os animais em que a intradermotuberculinação simples tenha dado resultados duvidosos serão submetidos a uma outra tuberculinação passado um prazo mínimo de 42 dias.

Os animais em que esta segunda prova não dê resultados negativos devem ser considerados como tendo reagido positivamente à prova de tuberculina.

Os animais com resultados positivos na prova intradérmica simples podem ser submetidos a uma intradermotuberculinação de comparação;

- b) Intradermotuberculinação de comparação para a determinação e manutenção do estatuto de efectivo oficialmente indemne de tuberculose:

Positiva — reacção bovina superior em mais de 4 mm à reacção aviária ou presença de sinais clínicos;

Duvidosa — reacção bovina positiva ou duvidosa e superior em 1 mm a 4 mm à reacção aviária e ausência de sinais clínicos;

Negativa — reacção bovina negativa ou reacção bovina positiva ou duvidosa mas igual ou inferior a uma reacção aviária positiva ou duvidosa e ausência de sinais clínicos nos dois casos.

Os animais em que a intradermotuberculização de comparação tenha dado resultados duvidosos devem ser submetidos a uma outra prova de tuberculina passado um prazo mínimo de 42 dias. Os animais em que esta segunda prova de tuberculina não dê resultados negativos são considerados como tendo reagido positivamente à tuberculina;

c) O estatuto de efectivo oficialmente indemne de tuberculose pode ser suspenso, ficando os animais do efectivo excluídos do comércio intracomunitário até estar regularizado o estatuto dos animais seguintes:

- 1) Animais considerados como tendo tido uma reacção duvidosa à prova de tuberculina simples;
- 2) Animais considerados como tendo reagido positivamente à prova de tuberculina simples mas que devem ser submetidos a uma prova de tuberculina de comparação;
- 3) Animais considerados como tendo tido uma reacção duvidosa à prova de tuberculina de comparação;

d) Nos casos em que a legislação comunitária exija que os animais sejam submetidos a uma prova intradérmica antes da sua deslocação, a prova deve ser interpretada de forma que sejam excluídos do comércio intracomunitário os animais em que o aumento de espessura da prega de pele seja superior a 2 mm ou em que se verifique a presença de sinais clínicos.

#### ANEXO C

#### Brucelose

##### A — Provas de seroaglutinação

1 — O soro padrão de aglutinação deve estar em conformidade com o soro padrão preparado pelo Veterinary Laboratory Agency, Addlestone, Weybridge, Inglaterra.

Uma ampola deve conter 1000 UI de aglutinação obtidas por liofilização de 1 ml de soro de bovino.

2 — O soro padrão deve ser o soro fornecido pelo Bundesgesundheitsamt, Berlim.

3 — O grau de aglutinação de brucela no soro deve ser expresso em unidades internacionais (UI) por mililitro (por exemplo, soro  $x=80$  UI/ml).

4 — As observações referentes à seroaglutinação lenta em tubos devem ser feitas aos 50% ou 75% de aglutinação, tendo o antigénio utilizado sido titulado em idênticas condições por referência a um soro padrão.

5 — O poder aglutinante de vários antigénios em reacção ao soro padrão deve situar-se dentro dos seguintes limites:

- Se a observação for feita aos 50% — entre 1/600 e 1/1000;
- Se a observação for feita aos 75% — entre 1/500 e 1/750.

6 — Na preparação do antigénio a utilizar na aglutinação em tubo (método lento) deve ser utilizada a estirpe n.º 99 de Weybridge, a estirpe USDA 1119 ou qualquer outra estirpe de sensibilidade equivalente.

7 — Os meios de cultura utilizados para a conservação da estirpe no laboratório e para a produção de antigénio

não devem encorajar a dissociação das bactérias (em *s e r*); deve utilizar-se, de preferência, o ágar de batata.

8 — A emulsão bacteriana deve ser feita a partir de soro fisiológico (NaCl 8,5%) fenolizado a 5%. Não deve ser utilizado formol.

9 — O Laboratório Nacional de Investigação Veterinária é o organismo público responsável pelas provas oficiais dos antigénios.

10 — Os antigénios podem ser fornecidos concentrados, desde que seja indicado no rótulo do frasco o factor de diluição a utilizar.

11 — Para a realização das provas de seroaglutinação devem ser preparadas, pelo menos, três diluições de cada soro. As diluições do soro suspeito devem ser feitas de forma que a leitura referente à reacção no limite de infecção seja feita no tubo médio. Caso haja uma reacção positiva neste tubo, o soro suspeito contém pelo menos 30 UI de aglutinação por mililitro.

##### B — Prova da reacção de fixação do complemento

1 — O soro padrão é o mesmo que o mencionado no n.º 1 da parte A do presente anexo. Para além do teor mencionado em unidades internacionais de aglutinação, 1 ml deste soro bovino liofilizado deve conter 1000 unidades de sensibilização que fixem o complemento. Estas unidades de sensibilização são designadas por unidades CEE de sensibilização.

2 — O soro padrão deve ser fornecido pelo Bundesgesundheitsamt, Berlim.

3 — O teor de anticorpos fixadores do complemento no soro deve ser expresso em unidades CEE de sensibilização (por exemplo, soro  $x=60$  unidades CEE de sensibilização por mililitro).

4 — Um soro que contenha 20 ou mais unidades CEE de sensibilização (por exemplo, uma actividade igual a 20‰ da do soro padrão) por mililitro deve ser considerado positivo.

5 — Os soros devem ser inactivados do seguinte modo:

- a) Soro de bovino — 50°C a 60°C durante trinta a cinquenta minutos;
- b) Soro de suíno — 60°C durante trinta a cinquenta minutos.

6 — Na preparação do antigénio devem ser utilizadas as estirpes n.º 99 de Weybridge ou USDA 1119. O antigénio representa uma suspensão bacteriana em soro fisiológico a 0,85% ou numa solução de carga de *Veronal*.

7 — Para a realização da prova de reacção dever-se-á utilizar uma dose complementar superior à dose mínima necessária para a hemólise total.

8 — A prova de reacção de fixação do complemento deve ser sempre acompanhada dos seguintes controlos:

- a) Controlo do efeito anticomplementar do soro;
- b) Controlo do antigénio;
- c) Controlo dos corpúsculos vermelhos do sangue sensibilizados;
- d) Controlo do complemento;
- e) Controlo da sensibilidade no início da reacção, utilizando um soro positivo;
- f) Controlo da especificidade da reacção utilizando um soro negativo.

9 — A verificação e o controlo oficial dos soros e antigénios padrão devem ser efectuados pelo Laboratório Nacional de Investigação Veterinária.

10 — Os antígenos podem ser fornecidos concentrados, desde que o factor de diluição a utilizar esteja indicado no rótulo do frasco.

#### C — Prova do anel

1 — Deve ser submetido à prova do anel o conteúdo de cada batedeira ou de cada cisterna de leite da exploração.

2 — O antígeno padrão a utilizar deve ser proveniente de um instituto comunitariamente definido. Recomenda-se a normalização dos antígenos de acordo com as recomendações da OMS/FAO.

3 — O antígeno só pode ser corado com hematoxilina ou tetrazólio; deve utilizar-se, de preferência, a hematoxilina.

4 — Caso não se tomem medidas de conservação, a prova de reacção deve ser efectuada de dezoito a vinte e quatro horas após a colheita da amostra da vaca. Caso a prova deva ser realizada mais de vinte e quatro horas depois de colhida a amostra de leite, deve utilizar-se um conservante, podendo ser utilizados a formalina ou o cloreto de mercúrio; se for utilizado um destes conservantes, a prova deve ser realizada nos 14 dias seguintes ao da colheita da amostra. A formalina pode ser adicionada ao leite até uma concentração final, na amostra, de 0,2%; nesse caso, a proporção do leite relativamente à solução de formalina deve ser, no mínimo, de 10 para 1. Em vez da formalina, pode ser utilizada uma solução de cloreto de mercúrio, até uma concentração final, no leite, de 0,2%; nesse caso, a relação entre a quantidade de leite e de solução de cloreto de mercúrio deve ser de 10 para 1.

5 — A reacção deve realizar-se segundo um dos seguintes métodos:

- Numa coluna de leite com, pelo menos, 25 mm de altura e com um volume de leite de 1 ml, ao qual se adicionaram 0,03 ml de um dos antígenos corados padronizados;
- Numa coluna de leite de, pelo menos, 25 mm de altura e com um volume de leite de 1 ml, ao qual se adicionaram 0,05 ml de um dos antígenos corados padronizados;
- Num volume de leite de 8 ml, ao qual se adicionaram 0,08 ml de um dos antígenos corados padronizados;
- Numa coluna de leite de, pelo menos, 25 mm de altura e com um volume de leite de 2 ml, ao qual se adicionaram 0,05 ml de um dos antígenos corados padronizados.

6 — A mistura de leite e antígenos deve ser incubada a 37°C durante um período não inferior a quarenta e cinco minutos e não superior a sessenta minutos. O ensaio deve ser avaliado nos quinze minutos seguintes à retirada do incubador.

7 — A reacção deve ser avaliada de acordo com os seguintes critérios:

- a) Reacção negativa — leite corado, nata incolor;
- b) Reacção positiva — leite e nata corados da mesma forma, ou leite incolor e nata corada.

#### D — Prova do antígeno brucélico tamponado

A prova do antígeno brucélico tamponado pode ser realizada por um dos seguintes métodos:

a) Prova manual:

- 1) O soro padrão deve ser o segundo soro padrão internacional anti-*Brucella abortus* fornecido

pelo Veterinary Laboratory Agency, Addlesstone, Weybridge, Inglaterra;

- 2) O antígeno deve ser preparado sem referência à concentração de células, devendo a sua sensibilidade ser aferida por comparação com o segundo soro padrão internacional anti-*Brucella abortus*, de forma que o antígeno produza uma reacção positiva com uma diluição do soro de 1:47,5 e uma reacção negativa com uma diluição de 1:55;
- 3) Deve preparar-se uma suspensão do antígeno em diluente tamponado de antígeno brucélico com pH de 3,65 ± 0,5, e pode ser corado com o corante rosa-de-bengala;
- 4) Na preparação do antígeno deve ser utilizada a estirpe n.º 99 de Weybridge ou USDA 1119 ou ainda qualquer outra estirpe de sensibilidade equivalente;
- 5) Os meios de cultura utilizados para a conservação da estirpe no laboratório e para a produção de antígeno não devem encorajar a dissociação das bactérias (em *s e r*); deve utilizar-se meio ágar de batata ou métodos de cultura contínua;
- 6) O antígeno deve ser controlado por comparação com oito soros conhecidos liofilizados, positivos e negativos;
- 7) A verificação oficial e o controlo do antígeno e do soro padrão deve ser efectuada pelo Laboratório Nacional de Investigação Veterinária;
- 8) O antígeno será fornecido pronto a usar;
- 9) A prova do antígeno brucélico tamponado será realizada da seguinte forma:

- a) Colocar uma gota (0,03 ml) de antígeno e uma gota (0,03 ml) de soro, numa placa branca;
- b) Misturar as gotas com um agitador, primeiro segundo uma linha recta e depois num movimento circular de cerca de 10 mm a 12 mm de diâmetro;
- c) Depois agitar a placa alternadamente para a frente e para trás durante quatro minutos (cerca de 30 movimentos por minuto);
- d) As leituras devem ser feitas com boa luz; caso não haja sinais de aglutinação, a prova será considerada negativa; qualquer nível de aglutinação será considerado positivo, salvo se tiver havido uma dessecação excessiva na periferia.

b) Método automatizado — o método automatizado deve ser, pelo menos, tão sensível e preciso como o método manual.

#### E — Prova do anel em plasma

a) Extracção do plasma — centrifugar a 3000 r/min, durante três minutos, um tubo contendo sangue ao qual se adicionou EDTA para impedir a coagulação; o tubo deve ser depois mantido a 37°C e durante doze a vinte e quatro horas.

b) Avaliação — introduzir 0,2 ml de plasma estabilizado num tubo contendo 1 ml de leite não tratado. Misturar e adicionar depois uma gota (0,05 ml) de antígeno antibrucélico, tornando a misturar em seguida. O antígeno deve ser padronizado por comparação com um antígeno padrão fornecido pelo Bundesgesundheitsamt, Berlim, Alemanha. Incubar durante quarenta e

cinco minutos a 37°C e fazer uma leitura nos quinze minutos seguintes. O resultado será considerado positivo se o anel se tiver tornado da mesma cor que a coluna de leite ou mais escuro.

#### F — Aglutinação do plasma

O plasma extraído segundo o método previsto na alínea a) da parte E pode ser utilizado imediatamente após a centrifugação, não sendo necessária a estabilização térmica. Misturar 0,05 ml de plasma com 1 ml de antígeno para uma seroaglutinação de 50%, o que corresponde a uma seroaglutinação na diluição de 1:20. A leitura deve ser feita dezoito a vinte e quatro horas após a incubação a 37°C. Uma aglutinação de 50% ou mais deve ser considerada positiva.

#### G — Prova de microaglutinação

1 — Os diluentes são constituídos por solução salina fisiológica a 0,85%, com 0,5% de fenol.

2 — O antígeno deve ser preparado de acordo com a parte A, n.ºs 6, 7 e 8, do presente anexo e ser titulado tal como descrito na parte A, n.º 5. No momento de utilização do antígeno, adicionar safranina O a 0,02% (diluição final).

3 — O soro padrão é o mesmo que o referido na parte A, n.º 1.

4 — O soro padrão deve ser fornecido pelo Bundesgesundheitsamt, Berlim.

5 — A prova de microaglutinação deve ser realizada em placas com cavidades de fundo cónico, com 0,250 ml de volume. A prova deve ser efectuada do seguinte modo:

- a) Pré-diluição do soro — em cada cavidade adicionar 0,050 ml de cada soro a analisar a 0,075 ml de diluente. Agitar as misturas durante trinta segundos;
- b) Diluição gradual do soro — preparar pelo menos três diluições de cada soro. Para tal, a partir das pré-diluições (1:2,5) retirar 0,025 ml de cada soro e colocá-los sobre uma placa que contenha 0,025 ml de diluente. Desta forma, a primeira diluição é de 1 para 5, e as seguintes serão diluídas de um factor 2;
- c) Adição do antígeno — em cada uma das cavidades contendo as diversas diluições do soro adicionar 0,025 ml de antígeno. Agitar as placas durante trinta segundos e em seguida fechá-las com as respectivas tampas e mantê-las a 37°C e durante vinte a vinte e quatro horas, em atmosfera humidificada;
- d) Leitura dos resultados — a avaliação da sedimentação do antígeno faz-se examinando o fundo da cavidade reflectida num espelho côncavo colocado acima desta. Se a reacção for negativa, o antígeno sedimenta sob a forma de um botão compacto com limite bem definido e de coloração vermelha intensa. Se, pelo contrário, a reacção for positiva, forma-se um véu rosado difuso e uniformemente distribuído. As diversas percentagens de aglutinação são determinadas por comparação com antígenos testemunhas, com 0,25%, 50%, 75% e 100% de aglutinação. O título de cada soro é expresso em unidades internacionais aglutinantes por mililitro. A prova deve incluir testemunhas com soros negativos e positivos, diluídos de forma a conter 30 UI aglutinantes por mililitro.

#### H — Prova de imunoabsorção enzimática (Elisa) para a pesquisa de brucelose bovina

1 — Os materiais e reagentes a utilizar são os seguintes:

- a) Microplacas para fase sólida, tinas ou qualquer outra fase sólida;
- b) Antígeno fixado à fase sólida com ou sem a ajuda de anticorpos de captação policlonal ou monoclonal;
- c) Fluido biológico a examinar;
- d) Controlos positivos e negativos correspondentes;
- e) Conjugado;
- f) Substrato adaptado ao enzima utilizado;
- g) Solução de paragem, se necessário;
- h) Soluções para a diluição das amostras a ensaiar, para a preparação dos reagentes e para a lavagem;
- i) Sistema de leitura apropriado ao substrato utilizado.

2 — Padronização e sensibilidade da prova:

- 1) As amostras colectivas de leite examinadas são consideradas negativas se derem uma reacção correspondente a menos de 50% da verificada com uma diluição de 1/10 000 do segundo soro padrão internacional de brucelose obtido em leite negativo;
- 2) As amostras de soro individuais são consideradas negativas se derem uma reacção correspondente a menos de 10% da obtida com uma diluição de 1/200 do segundo soro padrão internacional de brucelose numa solução salina, ou qualquer outra diluição reconhecida, de acordo com o procedimento previsto comunitariamente. Os padrões para a prova Elisa de brucelose serão os especificados na parte A, n.ºs 1 e 2, do presente anexo (a utilizar nas diluições indicadas no rótulo).

3 — Condições de utilização da prova Elisa para a pesquisa da brucelose bovina — o método Elisa pode ser utilizado numa amostra de leite ou soro retirada de uma colheita de leite proveniente de uma exploração com, pelo menos, 30% de vacas leiteiras em lactação.

Se se utilizar este método, devem ser tomadas medidas que garantam a possibilidade de identificar, a partir da amostra, os animais de que provêm o leite ou os soros examinados.

#### ANEXO D

#### CAPÍTULO I

#### Efectivos, Estados membros e regiões oficialmente indemnes de leucose bovina enzoótica

A — Um efectivo é considerado oficialmente indemne de leucose bovina enzoótica se:

- i) Não existirem provas, quer clínicas quer laboratoriais, de qualquer caso de leucose bovina enzoótica no efectivo nem tiver sido confirmado qualquer caso nos dois anos anteriores; e
- ii) Todos os animais com idade superior a 24 meses tiverem sido submetidos, com reacções negativas, a duas provas realizadas nos 12 meses precedentes, em conformidade com o presente anexo, com um intervalo de, pelo menos, quatro meses; ou

- iii) Preencher as condições da alínea i) anterior e estiver situado numa região oficialmente indemne de leucose bovina enzoótica.

B — Um efectivo manterá o estatuto de oficialmente indemne de leucose bovina enzoótica se:

- i) Continuar a estar preenchida a condição da alínea i) da parte A;
- ii) Todos os animais introduzidos no efectivo forem provenientes de um efectivo oficialmente indemne de leucose bovina enzoótica;
- iii) Todos os animais com idade superior a 24 meses continuarem a apresentar reacção negativa a provas realizadas de três em três anos de acordo com o capítulo II.

C — O estatuto de efectivo oficialmente indemne de leucose bovina enzoótica será suspenso caso deixem de estar preenchidas as condições especificadas na parte B anterior.

D — O estatuto permanecerá suspenso até que estejam preenchidas as seguintes condições:

- 1) Se, num efectivo oficialmente indemne de leucose bovina enzoótica, apenas um animal tiver apresentado reacção positiva a uma das provas referidas no capítulo II:
- i) O animal que reagiu positivamente e, no caso de uma vaca, todos os vitelos seus descendentes, devem ter sido retirados do efectivo e enviados para o matadouro, sob o controlo das autoridades veterinárias;
- ii) Os restantes animais devem ter apresentado reacção negativa a provas sorológicas realizadas de acordo com o capítulo II, pelo menos três meses após a retirada dos animais positivos e dos seus eventuais descendentes;
- iii) Deve ser realizado um inquérito epidemiológico, e os efectivos epidemiologicamente ligados ao efectivo infectado devem ser submetidos às medidas referidas na alínea ii).

A autoridade competente pode, no entanto, conceder uma derrogação da obrigação de abate do vitelo de uma vaca infectada, desde que este tenha sido separado da mãe após o parto. Neste caso, o vitelo deve ser submetido às condições previstas na alínea iii) do n.º 2);

- 2) Caso mais de um animal do efectivo oficialmente indemne de leucose bovina enzoótica tenha apresentado reacção positiva ou caso tenha sido confirmada a infecção no efectivo:
- i) Os animais que apresentaram uma reacção positiva e os respectivos vitelos, se se tratar de vacas, devem ser retirados para abate sob controlo das autoridades veterinárias;
- ii) Todos os animais com idade superior a 24 meses devem ter sido submetidos, com reacção negativa, a duas provas realizadas de acordo com o capítulo II, com um intervalo mínimo de 4 e máximo de 12 meses;
- iii) Todos os restantes animais devem, depois de identificados, permanecer no efectivo até terem idade superior a 24 meses e

terem sido submetidos, com resultados satisfatórios, às provas referidas na alínea ii);

- iv) Deve ser realizado um inquérito epidemiológico, devendo o efectivo epidemiologicamente ligado ao efectivo infectado ser submetido às medidas estabelecidas na alínea ii).

A autoridade competente pode, no entanto, conceder uma derrogação da obrigação de abate do vitelo de uma vaca infectada, desde que este tenha sido separado da mãe após o parto. Neste caso, o vitelo deve ser submetido às condições previstas na alínea iii);

- 3) Caso o estatuto de efectivo indemne de leucose bovina enzoótica tenha sido suspenso por qualquer outra razão, todos os animais do efectivo com idade superior a 24 meses devem apresentar reacção negativa a uma prova sorológica realizada de acordo com o capítulo II.

E — De acordo com o procedimento comunitariamente previsto pode ser proposta a concessão do estatuto de indemne de leucose bovina enzoótica ao território nacional ou região, se:

- a) Pelo menos 99,8% do efectivo bovino estiverem indemnes de leucose bovina enzoótica, na aceção da parte A; ou
- b) Não tiver sido confirmado qualquer caso de leucose bovina enzoótica no território nacional ou região, durante os últimos três anos, e, no caso da totalidade do território nacional, todos os animais com idade superior a 24 meses, de pelo menos 10% dos efectivos seleccionados ao acaso, tiverem sido submetidos, com resultados negativos, a uma prova nos termos do capítulo II nos 24 meses anteriores ou, no caso de uma região ou do território nacional, todos os animais com idade superior a 24 meses tiverem sido submetidos, com resultados negativos, a uma prova prevista no capítulo II.

F — O território nacional ou uma região manterão o estatuto de oficialmente indemnes de leucose bovina enzoótica se:

- i) Se verificar anualmente, com base numa amostra ao acaso correspondente a um nível de confiança de 99%, que menos de 0,2% dos efectivos estão infectados, ou que pelo menos 20% dos bovinos com idade superior a 2 anos foram submetidos, com resultados negativos, a uma prova realizada de acordo com o capítulo II; ou
- ii) Se não se tiver registado nenhum caso de leucose bovina enzoótica no território nacional ou região, numa proporção de 1 efectivo para 10 000, durante pelo menos três anos; nesse caso, pode ser tornada, de acordo com o comunitariamente previsto, a decisão de interromper a pesquisa sorológica sistemática, desde que:

Todos os bovinos abatidos no território nacional ou região sejam submetidos a um exame *post mortem* por um veterinário oficial, que deverá notificar todos os tumores com vista a um exame laboratorial; e

Seja relatada a ocorrência de todos os casos de leucose bovina enzoótica na região afectada. De acordo com o procedimento

comunitariamente previsto, pode ser proposta a suspensão ou revogação da decisão de interromper a pesquisa sorológica sistemática; e

Todos os bovinos com reacção positiva a uma prova de imunodifusão sejam abatidos, devendo o efectivo permanecer submetido a restrições até ao restabelecimento do seu estatuto nos termos do capítulo I, parte D, do presente anexo.

G — i) O estatuto de uma região oficialmente indemne de leucose bovina enzoótica será suspenso, de acordo com o procedimento previsto comunitariamente, caso seja detectada e confirmada a presença de leucose bovina enzoótica em mais de 0,2% das explorações dessa região.

ii) O estatuto de oficialmente indemne de leucose bovina enzoótica pode ser restabelecido de acordo com o procedimento previsto comunitariamente, se:

- a) Para além das medidas previstas nos n.ºs 1 e 2 da parte D, pelo menos 20% dos outros efectivos seleccionados ao acaso na região ou no território nacional tiverem sido submetidos, dentro de um prazo de 12 meses, a uma das provas referidas no capítulo II;
- b) Os resultados destas provas indicarem, com um nível de confiança de 99%, que menos de 0,2% dos efectivos estão infectados.

## CAPÍTULO II

### Provas para pesquisa de leucose bovina enzoótica

A pesquisa de leucose bovina enzoótica efectua-se mediante a prova de imunodifusão nas condições descritas nas partes A e B, ou mediante a prova de imunoabsorção enzimática (Elisa) nas condições descritas na parte C. O método de imunodifusão só se aplica às provas individuais. No caso de os resultados das provas serem objecto de uma contestação devidamente fundamentada, efectuar-se-á uma prova de imunodifusão como controlo complementar.

A — Provas de imunodifusão sobre placas de ágar para pesquisa de leucose bovina enzoótica:

1 — O antigénio a utilizar nesta prova deve conter glicoproteínas do vírus da leucose bovina. O antigénio deve ser padronizado em relação a um soro padrão (soro E1) fornecido pelo Statens Veterinaere Serumlaboratorium de Copenhaga.

2 — O organismo público encarregue de calibrar o antigénio padrão de trabalho no laboratório por comparação com o soro padrão oficial CEE (soro E1) fornecido pelo Statens Veterinaere Serumlaboratorium de Copenhaga é o Laboratório Nacional de Investigação Veterinária.

3 — Os antigénios padrão utilizados no laboratório devem ser apresentados pelo menos uma vez por ano aos laboratórios de referência CEE enumerados no n.º 2, para aí serem testados por comparação com o soro padrão CEE. Independentemente desta padronização, o antigénio utilizado pode ser calibrado nos termos da parte B.

4 — Na prova serão utilizados os reagentes seguintes:

- a) Antigénio: o antigénio deve conter glicoproteínas específicas do vírus da leucose bovina enzoótica padronizado por comparação com o soro padrão oficial CEE;

- b) O soro a testar;
- c) Um soro de controlo positivo conhecido;
- d) Ágar:

0,8% ágar;  
8,5% NaCl;  
Tampão Tris 0,05 M, pH 7,2;

devem colocar-se 15 ml deste ágar numa placa de Petri de 85 mm de diâmetro, o que dá uma altura de 2,6 mm de ágar.

5 — Preparar um dispositivo experimental de sete cavidades isentas de humidade por perfuração do ágar até ao fundo da placa; a rede assim obtida deverá ser constituída por uma cavidade central em torno da qual se ordenam seis cavidades periféricas dispostas em círculo.

Diâmetro da cavidade central: 4 mm;

Diâmetro das cavidades periféricas: 6 mm;

Distância entre a cavidade central e as cavidades periféricas: 3 mm.

6 — Encher a cavidade central com o antigénio padrão. As cavidades periféricas 1 e 4 (ver esquema abaixo) são enchidas com o soro positivo conhecido e as cavidades 2, 3, 5 e 6 com os soros a testar. As cavidades devem ser enchidas até ao desaparecimento do menisco.

7 — As quantidades obtidas são as seguintes:

Antigénio: 32 µl;  
Soro de controlo: 73 µl;  
Soro a testar: 73 µl.

8 — A incubação deve durar setenta e duas horas à temperatura ambiente (20°C-27°C) em atmosfera húmida e fechada.

9 — A prova pode ser lida passadas vinte e quatro horas e passadas quarenta e oito horas, mas não se pode obter qualquer resultado final antes de passarem setenta e duas horas.

a) Um soro a testar é positivo se formar uma curva de precipitação específica com o antigénio do vírus da leucose bovina e se essa curva coincidir com a do soro de controlo.

b) Um soro a testar é negativo se não formar uma curva de precipitação específica com o antigénio do vírus da leucose bovina e se não inflectir a curva do soro de controlo.

c) A reacção não pode ser considerada concludente se:

- i) Inflectir a curva do soro de controlo para a cavidade do antigénio do vírus da leucose bovina sem formar uma curva de precipitação visível com o antigénio; ou
- ii) Não for possível interpretá-la como negativa ou como positiva.

No caso de as reacções não serem concludentes, pode repetir-se a prova e utilizar soro concentrado.

10 — Pode ser utilizada qualquer outra configuração ou distribuição das cavidades, desde que permita detectar como positiva uma diluição do soro E4 em soro negativo a 1:10.

B — Método de padronização do antigénio. — Soluções e materiais necessários:

- 1) 40 ml de ágar a 1,6% num tampão Tris 0,05 M/HCl, pH 7,2, com 8,5% de NaCl;
- 2) 15 ml de um soro de leucose bovina que só tenha anticorpos em relação às glicoproteínas do vírus da leucose bovina, diluído a 1:10 num tampão Tris 0,05 M/HCl, pH 7,2, com 8,5% de NaCl;

- 3) 15 ml de um soro de leucose bovina que só tenha anticorpos em relação às glicoproteínas do vírus da leucose bovina, diluído a 1:15 num tampão Tris 0,05 M/HCl, pH 7,2, com 8,5% de NaCl;
- 4) Quatro placas de Petri de plástico, com 85 mm de diâmetro;
- 5) Punção com 4 mm a 6 mm de diâmetro;
- 6) Antígeno de referência;
- 7) Antígeno a padronizar;
- 8) Banho-maria (56°C).

*Modo de execução:*

Dissolver o ágar (1,6%) no tampão Tris/HCl, aquecendo com cuidado até 100°C. Pôr no banho-maria a 56°C durante cerca de uma hora. Colocar também as diluições do soro de leucose bovina no banho-maria a 56°C.

Misturar em seguida 15 ml de solução de agarose a 56°C com os 15 ml de soro de leucose bovina (1:10), agitar rapidamente e deitar em duas placas de Petri, à razão de 15 ml por placa.

Repetir as operações atrás descritas com o soro de leucose bovina diluído a 1:5.

Quando a agarose tiver endurecido, fazer as cavidades do seguinte modo:

Adição de antígeno:

- i) Placas de Petri n.ºs 1 e 3:

Cavidade A — antígeno de referência não diluído;

Cavidade B — antígeno de referência diluído a 1:2;

Cavidades C e E — antígeno de referência;

Cavidade D — antígeno a testar, não diluído;

- ii) Placas de Petri n.ºs 2 e 4:

Cavidade A — antígeno a testar, não diluído;

Cavidade B — antígeno a testar, diluído a 1:2;

Cavidade C — antígeno a testar, diluído a 1:4;

Cavidade D — antígeno a testar, diluído a 1:8.

*Instruções complementares:*

1 — A prova deve ser efectuada com dois graus de diluição do soro (1:5 e 1:10) a fim de obter a precipitação óptima.

2 — Se o diâmetro de precipitação for muito pequeno para cada um dos dois graus de diluição, deve fazer-se uma diluição suplementar do soro.

3 — Se o diâmetro de precipitação for excessivo para ambos os graus de diluição e se o precipitado for ténue, deve-se escolher um grau de diluição mais fraco para o soro.

4 — A concentração final de ágar deve ser de 0,8% e a dos soros de 5% e de 10%, respectivamente.

5 — Anotar os diâmetros medidos no gráfico seguinte. A diluição de trabalho é aquela em que se registar o mesmo diâmetro para o antígeno a testar e para o antígeno de referência.

C — Prova de imunoabsorção enzimática (Elisa) para a pesquisa de leucose bovina enzoótica:

1 — São os seguintes os materiais e reagentes a utilizar:

- a) Microplacas para fase sólida, tinas ou qualquer outra fase sólida;

b) Antígeno fixado à fase sólida com ou sem a ajuda de anticorpos de captação policlonal ou monoclonal. No caso da LBE, se o antígeno for directamente aplicado à fase sólida, todas as amostras que apresentem reacções positivas devem ser testadas de novo em relação ao antígeno de controlo. Este deve ser idêntico ao antígeno testado, excepto no que respeita aos antígenos BLV. Se os anticorpos de captação forem aplicados à fase sólida, os anticorpos devem reagir apenas aos antígenos BLV;

c) Fluido biológico a examinar;

d) Controlos positivos e negativos correspondentes;

e) Conjugado;

f) Substrato adaptado ao enzima utilizado;

g) Solução de paragem, se necessário;

h) Soluções para a diluição das amostras de ensaio, para a preparação dos reagentes e para a lavagem;

i) Sistema de leitura adequado ao substrato utilizado.

2 — Normalização e sensibilidade do teste. — A sensibilidade da prova Elisa utilizada deve ser de um nível tal que o soro E4 seja positivo quando diluído 10 vezes (amostras de soro) ou 250 vezes (amostras de leite) em mais de uma solução obtida a partir de amostras colocadas em conjunto. Em provas em que as amostras (soro e leite) sejam examinadas individualmente, o soro E4, diluído à razão de 1:10 (para o soro negativo) ou à razão de 1:250 (para o leite negativo), deve dar uma reacção positiva quando for examinado na mesma diluição que é utilizada para os ensaios individuais. Os organismos públicos indicados no n.º 2 da parte A serão responsáveis pelo controlo da qualidade do método Elisa, nomeadamente para determinar, para cada lote de produção, o número de amostras a reunir, com base na contagem obtida com o soro E4.

O soro E4 é fornecido pelo Statens Veterinaere Serumlaboratorium de Copenhaga.

3 — Condições de utilização do teste Elisa para a pesquisa de leucose bovina enzoótica. — O método Elisa pode ser utilizado numa amostra de leite ou soro retirada de uma colheita de leite proveniente de uma exploração com pelo menos 30% das vacas leiteiras em lactação.

Se for utilizado este método, devem ser tomadas medidas que garantam a correspondência entre as amostras recolhidas e os animais de que provêm o leite ou os soros analisados.

ANEXO E (I)

- a) Doenças dos bovinos:

Febre aftosa.

Raiva.

Tuberculose.

Brucelose.

Peripneumonia contagiosa dos bovinos.

Leucose bovina enzoótica.

Carbúnculo bacterídeo.

- b) Doenças dos suínos:

Raiva.

Brucelose.

Peste suína clássica.

Peste suína africana.

Febre aftosa.

Doença vesiculosa do suíno.

Carbúnculo bacterídeo.

## ANEXO E (II)

Doença de Aujeszky.  
Rinotraqueíte infecciosa dos bovinos.  
Infecção por *Brucella suis*.  
Gastreenterite transmissível.

## ANEXO F

Espécies bovina/suína de abate/de reprodução/de produção <sup>(1)</sup>

Certificado n.º: ...  
Espécie: ...  
Estado membro de origem: ...  
Região de ...  
Origem: ...

## SECÇÃO A

Nome e endereço do exportador: ...  
Nome e endereço da exploração de origem: ... <sup>(2)</sup>  
Número de registo do comerciante: ... <sup>(1)</sup>  
Informações sanitárias:

Certifico que os animais adiante enumerados são originários de um efectivo ou de efectivos oficialmente indemnes de tuberculose, brucelose e leucose e que <sup>(3)</sup>:

O efectivo de origem se encontra num Estado membro ou numa parte do território de um Estado membro que é reconhecido como ou:

- 1) Oficialmente indemne de tuberculose: sim/não.  
Decisão .../.../... da Comissão <sup>(1)</sup>;
- 2) Oficialmente indemne de brucelose: sim/não.  
Decisão .../.../... da Comissão <sup>(1)</sup>;
- 3) Oficialmente indemne de leucose: sim/não.  
Decisão .../.../... da Comissão <sup>(1)</sup>.

O Estado membro ou parte do território de um Estado membro aplica um sistema de redes de vigilância:

Decisão .../.../... da Comissão <sup>(1)</sup>.

Os animais adiante enumerados foram sujeitos às seguintes provas, com resultados negativos nos 30 dias que precederam a saída da exploração nos termos do n.º 2 do artigo 6.º do anexo A do regulamento anexo ao Decreto-Lei n.º .../..., de ... de ..., do seguinte modo:

Data da prova: ...

Prova de tuberculina (animais com mais de 6 semanas): sim/não.

Exigida ... <sup>(1)</sup>.

Prova de seroaglutinação brucélica (com exclusão dos animais castrados ou com menos de 12 meses): sim/não.

Exigida ... <sup>(1)</sup>.

Prova para pesquisa da leucose (animais com mais de 12 meses): sim/não.

Exigida ... <sup>(1)</sup>.

São animais para abate <sup>(1)</sup>.

São animais para abate originários de efectivos não oficialmente indemnes de tuberculose, brucelose e leucose e provêm de uma exploração situada em Espanha <sup>(1)</sup> <sup>(4)</sup>; os animais adiante enumerados foram sujeitos a provas, com resultados negativos, nos 30 dias que precederam a saída da exploração de origem, do seguinte modo:

Data da prova: ...

Prova de tuberculina: ... <sup>(1)</sup>.

Prova de seroaglutinação brucélica: ... <sup>(1)</sup>.

Prova para pesquisa da leucose: ... <sup>(1)</sup>.

## SECÇÃO B

Identificação do animal: ...  
Número total de animais: ...  
Raça: ...  
Tipo: ...  
Idade: ...  
Identificação oficial: ...  
Data de partida: ...

## Certificação relativa às secções A e B

(Carimbo oficial.)

Assinatura do veterinário oficial da exploração de origem ou, no caso de um Estado membro que tenha criado um sistema de rede de vigilância, assinatura do veterinário autorizado da exploração de origem <sup>(1)</sup>: ...

Nome (em maiúsculas): ...

Data: ...

## SECÇÃO C

Centro de agrupamento autorizado <sup>(1)</sup>:

Nome do centro: ...

Endereço: ...

Número de registo: ...

Data de chegada: ...

Data de partida: ...

Assinatura/carimbo: ...

## SECÇÃO D

Destino dos animais: ...

Nome e endereço do exportador: ...

Nome e endereço da exploração de destino: ... <sup>(1)</sup>.

Nome e endereço do centro de trânsito: ... <sup>(1)</sup>.

Meio de transporte: ...

Número de autorização: ...

Após verificação regulamentar, certifico que:

1 — Em ... (data) os animais em causa foram inspeccionados, nas vinte e quatro horas que precederam a partida, e não revelaram quaisquer indícios clínicos de doença infecciosa ou contagiosa.

2 — Se encontram satisfeitas todas as disposições aplicáveis do regulamento anexo ao Decreto-Lei n.º .../..., de ... de ...

3 — O transporte proposto foi registado no sistema ANIMO no dia da expedição.

4 — O animal/os animais a seguir indicado(s) satisfaz(em) as garantias suplementares relativas à ... (doença) dos ... (espécie/tipo) com destino a ... (Decisão .../.../.../CE da Comissão).

(Carimbo oficial.)

Assinatura do veterinário oficial: ...

Nome (maiúsculas): ...

Título: ...

Endereço: ...

O presente certificado é válido durante 10 dias a contar da data do exame sanitário referido na secção D acima.

<sup>(1)</sup> Riscar as menções inúteis.

<sup>(2)</sup> Não se aplica quando os animais são originários de várias explorações.

<sup>(3)</sup> Não se aplica em caso de derrogação concedida a Espanha para animais para abate.

<sup>(4)</sup> Sujeito ao acordo do país de destino.