

Този текст служи само за информационни цели и няма правно действие. Институциите на Съюза не носят отговорност за неговото съдържание. Автентичните версии на съответните актове, включително техните преамбюли, са версиите, публикувани в Официален вестник на Европейския съюз и налични в EUR-Lex. Тези официални текстове са пряко достъпни чрез връзките, публикувани в настоящия документ

► **V**

ДИРЕКТИВА 2009/156/ЕО НА СЪВЕТА

от 30 ноември 2009 година

относно ветеринарно-санитарните условия, регулиращи движението и вноса от трети страни на еднокопитни животни

(кодифицирана версия)

(текст от значение за ЕИП)

(ОВ L 192, 23.7.2010 г., стр. 1)

Изменена със:

Официален вестник

№ страница дата

- | | | | | |
|--------------------|--|-------|-----|---------------|
| ► <u>M1</u> | Директива 2013/20/ЕС на Съвета от 13 май 2013 година | L 158 | 234 | 10.6.2013 г. |
| ► <u>M2</u> | Решение за изпълнение (ЕС) 2016/1840 на Комисията от 14 октомври 2016 година | L 280 | 33 | 18.10.2016 г. |

**ДИРЕКТИВА 2009/156/ЕО НА СЪВЕТА**

от 30 ноември 2009 година

относно ветеринарно-санитарните условия, регулиращи движението и вноса от трети страни на еднокопитни животни

(кодифицирана версия)

(текст от значение за ЕИП)

ГЛАВА I

ОБЩИ РАЗПОРЕДБИ

Член 1

Настоящата директива определя ветеринарно-санитарните условия относно движението между държавите-членки и вноса от трети страни на еднокопитни животни.

Член 2

За целите на настоящата директива се прилагат следните определения:

- а) „стопанство“ означава селскостопанско или обучаващо заведение, конюшня или най-общо казано всяко съоръжение или помещение, в което еднокопитните животни обичайно са държани или отглеждани, за каквато и да е цел;
- б) „еднокопитни животни“ означава диви или опитомени животни от вида на конете (включително зебри) или магаретата, или потомство на кръстоски от тези видове;
- в) „регистрирани еднокопитни животни“ означава всяко еднокопитно животно, регистрирано, както е определено в Директива 90/427/ЕИО на Съвета от 26 юни 1990 г. относно зоотехническите и генеалогичните условия за търговия с еднокопитни животни в Общността ⁽¹⁾, идентифицирано посредством идентификационен документ, издаден от:
 - i) животновъдните органи или други компетентни органи на страната, от която животното произхожда, които водят родословна книга или регистър за тази порода еднокопитно животно; или
 - ii) всяко международно сдружение или организация, която отглежда коне за състезания или надбягвания;
- г) „еднокопитни животни за клане“ означава еднокопитни животни, предназначени да бъдат транспортирани директно или транзитно през одобрен събирателен пункт, посочен в член 7, до кланицата за клане;
- д) „еднокопитни животни за отглеждане и разплод“ означава еднокопитни животни, различни от посочените в букви в) и г);
- е) „държава-членка или трета страна, свободна от африканска чума по конете“, означава държава-членка или трета страна, в която няма клинична, серологична (при неваксинирани еднокопитни животни) или епидемиологична поява на африканска чума по конете на съответната територия през предходните две години и в която не са правени ваксинации срещу болестта през предходните 12 месеца;

⁽¹⁾ ОВ L 224, 18.8.1990 г., стр. 55.

▼ B

- ж) „болести, подлежащи на задължително обявяване“ означава болестите, изброени в приложение I;
- з) „официален ветеринарен лекар“ означава ветеринарен лекар, посочен от компетентните централни органи на държава-членка или на трета страна;
- и) „временно приемане“ означава статусът на регистрирано еднокопитно животно с произход от трета страна, прието на територията на Общността за период до 90 дни, който се определя в съответствие с процедурата, посочена в член 21, параграф 2, в зависимост от санитарната обстановка в страната на произход.

ГЛАВА II

**ПРАВИЛА ЗА ДВИЖЕНИЕ НА ЕДНОКОПИТНИ ЖИВОТНИ
МЕЖДУ ДЪРЖАВИТЕ-ЧЛЕНКИ***Член 3*

Държавите-членки разрешават движението на регистрирани еднокопитни животни на тяхната територия или изпращат еднокопитни животни в друга държава-членка само ако те отговарят на изискванията, определени в членове 4 и 5.

Въпреки това компетентните органи на държавите-членки на местоназначение могат да предоставят общи или ограничени дерогации по отношение на движението на еднокопитни животни, които:

- са били яздени или водени за спортни или развлекателни цели покрай пътища, разположени в близост до вътрешните граници на Общността,
- вземат участие в културни или подобни мероприятия, или в дейности, организирани от оправомощени местни органи, в близост до вътрешните граници на Общността,
- са предназначени изключително за временна паша или работа в близост до вътрешните граници на Общността.

Държави-членки, които упражняват това право, информират Комисията за съдържанието на предоставените дерогации.

Член 4

1. Еднокопитните животни не трябва да показват клинични признаци на заболяване при преглед. Прегледът трябва да се извърши 48 часа преди тяхното качване или натоварване. Въпреки това, без да се засяга член 6, за регистрирани еднокопитни животни този преглед се изисква само за търговия в рамките на Общността.

2. Без да се засягат изискванията на параграф 5 относно болестите, подлежащи на задължително обявяване, по време на прегледа официалният ветеринарен лекар трябва да се увери, че няма никакво основание — по специално предвид твърденията на собственика или животновъда — за заключение, че еднокопитните животни са били в контакт с еднокопитни животни, страдащи от инфекциозна или заразна болест през период от 15 дни непосредствено преди прегледа.

▼B

3. Еднокопитните животни не трябва да са предназначени за клане в рамките на национална програма за ликвидиране на инфекциозна или заразна болест.

4. Еднокопитните животни трябва да бъдат идентифицирани по следния начин:

а) за регистрирани еднокопитни животни – посредством идентификационния документ, предвиден в Директива 90/427/ЕИО, който трябва да удостоверява по-специално спазването на параграфи 5 и 6 от настоящия член и член 5 от настоящата директива.

Официалният ветеринарен лекар трябва да спре действието на идентификационния документ за срока на забраните, предвидени в параграф 5 от настоящия член или в член 5 от настоящата директива. След клането на регистрирания кон идентификационният документ трябва да бъде върнат на органите, които са го издали. Процедурата за прилагане на настоящата буква се приема в съответствие с процедурата, посочена в член 21, параграф 2;

б) за еднокопитни животни за отглеждане и разплод — посредством метода, определен в съответствие с процедурата, посочена в член 21, параграф 2.

5. В допълнение към изискванията, предвидени в член 5, еднокопитните животни не трябва да произхождат от стопанство, за което се е прилагала една от следните забрани:

а) ако всички животни от видовете, податливи на болестта, установена в стопанството, не са били заклани, периодът на забрана относно стопанството на произход трябва да бъде най-малко:

i) шест месеца за еднокопитни животни със съмнения за дурин, считано от датата на последния действителен или възможен контакт с болно животно. Въпреки това за жребец забраната се прилага до кастрирането на животното;

ii) шест месеца в случай на сап или енцефаломиелит, считано от датата, на която са заклани еднокопитните животни, страдащи от въпросната болест;

iii) в случай на инфекциозна анемия — до датата, на която, след като инфектираните животни са били заклани, останалите животни са показали отрицателна реакция на два Когинс теста, проведени на интервал от три месеца;

iv) шест месеца от последния регистриран на везикулозен стоматит;

v) един месец от последния регистриран случай на бяс;

vi) 15 дни от последния регистриран случай на антракс;

▼ **B**

- б) ако всички животни от видове, податливи на болестта, които се намират в стопанството, са били заклани и помещенията дезинфектирани, срокът на забраната е 30 дни, считано от деня, в който животните са унищожени и помещенията са дезинфектирани, с изключение на случаите на антракс, при които срокът на забраната е 15 дни.

Компетентните органи могат да предоставят дерогация по отношение на тези забрани за хиподруми и надбягвания, като уведомяват Комисията за естеството на всяка предоставена дерогация.

6. ► **M1** Когато държава членка изработва или е изработила доброволна или задължителна програма за борба с болест, на която еднокопитните животни са податливи, тя може да представи програмата на Комисията в рамките на шест месеца, считано от 4 юли 1990 г. — за Белгия, Дания, Германия, Ирландия, Гърция, Испания, Франция, Италия, Люксембург, Нидерландия, Португалия и Обединеното кралство, от 1 януари 1995 г. — за Австрия, Финландия и Швеция, от 1 май 2004 г. — за Чешката република, Естония, Кипър, Латвия, Литва, Унгария, Малта, Полша, Словения и Словакия, от 1 януари 2007 г. — за България и Румъния, и от 1 юли 2013 г. — за Хърватия, като подчертава по-специално: ◀

- а) разпределянето на случаите на болестта на територията ѝ;
- б) причините за изготвяне на програмата, като се отчита значението на болестта и предимствата на програмата с оглед съотношението между разходи и ползи;
- в) географската област, в която програмата ще се изпълнява;
- г) категориите статус, които да се прилагат за заведенията, стандартите, които трябва да бъдат достигнати за всеки вид, и процедурите за изпитване, които да се използват;
- д) процедурите за мониторинг на програмата;
- е) действията, които трябва да бъдат предприети, ако по някаква причина стопанството загуби статуса си;
- ж) мерките, които да бъдат взети при положителни резултати от изпитванията, проведени в съответствие с разпоредбите на програмата;
- з) недискриминационния характер на търговията на територията на съответната държава-членка по отношение на търговия в Общността.

Комисията проучва представените програми от държавите-членки. Когато е необходимо, тя ги одобрява в съответствие с процедурата, посочена в член 21, параграф 2. В съответствие със същата процедура могат да бъдат определени всички допълнителни гаранции, общи или специални, които могат да бъдат изисквани при търговия в Общността. Тези гаранции не трябва да превишават гаранциите, изисквани от държавата-членка на нейната собствена територия.

▼B

Представените от държавите-членки програми могат да бъдат изменяни или допълвани в съответствие с процедурата, посочена в член 21, параграф 3. Изменения или допълнения към вече одобрени програми или към гаранции, определени в съответствие с втора алинея, могат да бъдат одобрени по същата процедура.

Член 5

1. Държава-членка, която не е свободна от африканска чума по конете, може да изпраща еднокопитни животни от тази част на нейната територия, която се счита за заразена по смисъла на параграф 2 от настоящия член само при условията, определени в параграф 5.

2. Част от територията на държава-членка се счита за заразена с африканска чума по конете, ако:

- а) са открити клинични, серологични (при неваксинирани животни) и/или епидемиологични доказателства за наличие на африканска чума по конете през последните две години, или
- б) през последните 12 месеца е извършена ваксинация срещу африканска чума по конете.

Частта от територията, считана за заразена с африканска чума по конете, обхваща най-малко:

- а) предпазна зона в радиус от най-малко 100 km около центъра на заразяване;
- б) наблюдавана зона от най-малко 50 km, простираща се отвъд предпазната зона, в която не е извършена ваксинация през последните 12 месеца.

3. Правилата за контрол и мерките за борба с африканската чума по конете, отнасящи се до териториите и зоните, посочени в параграф 2, както и съответните дерогации, са определени в Директива 92/35/ЕИО на Съвета от 29 април 1992 г. за определяне на правила за контрол и мерките за борба с болестта Африканска чума по конете ⁽¹⁾.

4. Всички ваксинирани еднокопитни животни, открити в предпазната зона, трябва да бъдат регистрирани и маркирани в съответствие с член 6, параграф 1, буква г) от Директива 92/35/ЕИО.

Идентификационният документ и/или здравният сертификат посочват ясно наличието на такава ваксинация.

5. Държава-членка може да изпраща от територията, посочена в параграф 2, втора алинея, само еднокопитни животни, отговарящи на следните изисквания:

- а) те трябва да бъдат изпращани само през някои периоди на годината, като се отчита активността на паразитите, носители на зараза, които се определят в съответствие с процедурата, посочена в член 21, параграф 3;
- б) те не трябва да показват клинични симптоми на африканска чума по конете в деня на прегледа, посочен в член 4, параграф 1;

⁽¹⁾ ОВ L 157, 10.6.1992 г., стр. 19.

▼B

в) те трябва да са били подложени двукратно на теста за африканска чума по конете, описан в приложение IV, с интервал от 21 до 30 дни между двата теста, вторият от които трябва да е извършен до 10 дни преди изпращането:

i) и да е с отрицателен резултат, ако те не са били ваксинирани срещу африканска чума по конете, или

ii) да не е отбелязано увеличение на антителата и да не са били подложени на ваксинация през предходните два месеца, ако са били ваксинирани срещу африканска чума по конете.

В съответствие с процедурата, посочена в член 21, параграф 2, и с оглед становището на Европейският орган по безопасност на храните могат да бъдат признати други методи за мониторинг;

г) те трябва да са били държани в карантинно депо за период от най-малко 40 дни преди изпращането;

д) те трябва да са били защитени от паразити, носители на зараза, през периода на карантината и по време на транспорта от карантинното депо до мястото на изпращане.

Член 6

Държавите-членки, които са въвели алтернативна система за контрол, даваща гаранции, равностойни на тези, определени в член 4, параграф 5, по отношение на движението на тяхна територия на еднокопитни животни, могат да си предоставят взаимно дерогации от разпоредбите на член 4, параграф 1, второ изречение и на член 8, параграф 1, буква б).

Те уведомяват Комисията за това.

Член 7

1. Еднокопитните животни трябва да бъдат транспортирани възможно най-бързо от стопанството на произход директно или през одобрен събирателен пункт, представляващ събирателен център по смисъла на член 2, параграф 2, буква о) от Директива 64/432/ЕИО на Съвета от 26 юни 1964 г. относно проблеми, свързани със здравето на животните, които засягат търговията в Общността с говеда и свине⁽¹⁾, до местоназначението с превозни средства или контейнери, които са били редовно почиствани и дезинфектирани с дезинфектант на интервали, които се определят от държавата-членка на изпращане. Превозните средства трябва да са проектирани по такъв начин, че конският тор, сламата или фуражът да не могат да изпаднат от превозното средство по време на транспортирането. Без да се засяга Регламент (ЕО) № 1/2005 на Съвета, транспортирането трябва да се извършва по такъв начин, че да се осигури ефективна санитарна защита и хуманно отношение към еднокопитните животни.

2. Държавата-членка на местоназначение може като правило или в ограничени случаи да предостави дерогация от някои изисквания по член 4, параграф 5 за всяко животно с нанесена специална маркировка, показваща, че то е определено за клане, при условие че тази дерогация е отбелязана в здравния сертификат по приложение III.

⁽¹⁾ ОВ L121, 29.7.1964 г., стр. 1977/64.

▼ B

Когато е предоставена такава дерогация, еднокопитните животни за клане трябва да бъдат транспортирани директно до посочената кланица и да бъдат заклани до пет дни от пристигането им в кланицата.

3. Официалният ветеринарен лекар трябва да отбележи идентификационния номер или номера на идентификационния документ на закланото животно и да изпрати на компетентните органи на мястото на изпращане, по молба на последните, удостоверение, че животното е било заклано.

Член 8

1. Държавите-членки гарантират, че:

а) регистрирани еднокопитни животни, напускащи техни стопанства, се придружават от идентификационния документ, предвиден в член 4, параграф 4, буква а), както и, ако са предназначени за търговия в Общността, от здравното удостоверение, предвидено в приложение II;

б) еднокопитни животни за отглеждане, разплод и клане се придружават по време на транспортирането им от здравен сертификат, съответстващ на приложение III.

2. Без да се засяга член 6, здравният сертификат или, в случай на регистрирани еднокопитни животни, здравното удостоверение, трябва да бъде изготвен 48 часа преди тяхното натоварване или не по-късно от последния работен ден преди това, на най-малко един от официалните езици на държавите-членки на изпращане и местоназначение. Валидността на здравния сертификат или здравното удостоверение е 10 дни. Здравният сертификат или здравното удостоверение се състои от един единствен лист.

3. За целите на движението между държавите-членки, еднокопитните животни, различни от регистрирани еднокопитни животни, могат да бъдат обхванати от един здравен сертификат за пратка вместо от индивидуалния здравен сертификат, посочен в параграф 1, буква б).

Член 9

Правилата, предвидени в Директива 90/425/ЕИО, не се прилагат в частност за проверките на мястото на произход, за организацията и за мерките, предприемани в резултат на проверките, които трябва да се извършат от държавата на местоназначение, нито за предпазните мерки, които трябва да бъдат въведени.

Член 10

Ветеринарни експерти от Комисията могат да извършват проверки на място до степента, необходима за осигуряване на еднообразно прилагане на настоящата директива, и в сътрудничество с компетентните национални органи. Комисията информира държавите-членки за резултата от тези проверки.

Държавите-членки, на чиято територия се извършва проверката, оказват на експертите всякакво съдействие, необходимо за изпълнение на техните задачи.

▼B

Общите правила за прилагане на настоящия член се приемат в съответствие с процедурата, посочена в член 21, параграф 2.

ГЛАВА III

ПРАВИЛА ЗА ВНОС НА ЕДНОКОПИТНИ ЖИВОТНИ ОТ ТРЕТИ СТРАНИ*Член 11*

Еднокопитните животни, внесени в Общността, трябва да отговарят на условията, предвидени в членове 12—16.

Член 12

1. Вносът на еднокопитни животни в Общността се разрешава единствено от трети страни, включени в списък, който се изготвя или изменя в съответствие с процедурата, посочена в член 21, параграф 2.

В съответствие с процедурата, посочена в член 21, параграф 2, и предвид санитарната обстановка и гаранциите, предоставени от третата страна по отношение на еднокопитните животни, може да се вземе решение разрешението, предвидени в първа алинея на настоящия параграф, да се прилагат на цялата територия на третата страна или само на част от тази територия.

За тази цел и въз основа на приложимите международни стандарти трябва да се вземе предвид как третата страна въвежда и прилага тези стандарти, по-специално принципа на регионализация, в рамките на своята територията и в съответствие със своите санитарни изисквания за внос от други трети страни и от Общността.

2. При изготвянето или изменението на списъка, предвиден в параграф 1, се обръща специално внимание на:

- а) здравния статус на еднокопитните животни, на други домашни и диви животни в третата страна, като се вземат по-специално предвид екзотичните болести по животните и всеки аспект на общата санитарна обстановка и състоянието на околната среда в третата страна, който може да представлява риск за санитарната обстановка и състоянието на околната среда в Общността;
- б) законодателството на третата страна по отношение на здравето на животните и хуманното отношение към тях;
- в) организацията на компетентния ветеринарен орган и неговите инспекционни служби, правомощията на тези служби, надзора върху тях, средствата, с които разполагат, включително щата и лабораторния капацитет, за ефективното прилагане на националното законодателство;
- г) гаранциите, които компетентният ветеринарен орган на третата страна може да предостави по отношение на съответствието или еквивалентността със съответните ветеринарно-санитарни условия, приложими в Общността;

▼B

- д) това дали третата страна е член на Световната организация за здравето на животните (МБЕ) и редовността и бързината на предоставяне на информацията от третата страна във връзка със съществуването на инфекциозни или заразни болести по еднокопитните животни на нейната територия, по-специално онези болести, посочени от МБЕ и изброени в приложение I към настоящата директива;
- е) гаранциите, дадени от третата страна, че ще уведомява пряко Комисията и държавите-членки:
- и) в рамките на 24 часа, за потвърждаването на появата на инфекциозни болести, изброени в приложение I, при еднокопитни животни и за всяка промяна в политиката на ваксиниране, която засяга такива болести;
 - ii) в рамките на подходящ срок, за всяка предполагаема промяна в националните санитарни правила относно еднокопитните животни, по-специално свързаните с вноса на еднокопитни животни;
 - iii) на редовни интервали, за здравния статус на животните на нейната територия, по-специално на еднокопитните животни;
- ж) всякакъв опит от предишен внос на живи еднокопитни животни от трета страна и резултатите от всякакви извършвани гранични проверки при внос;
- з) резултатите от проверки и/или одити, извършвани от Общността в третата страна, по-специално резултатите от заключенията на компетентните органи или, при поискване от страна на Комисията, доклада, представен от компетентните органи за извършените от тях проверки;
- и) правилата за превенция и контрол на инфекциозни или заразни болести при животните, действащи в третата страна, и тяхното прилагане, включително правила за внос на еднокопитни животни от други трети страни.

3. Комисията осигурява публичен достъп до актуализираните варианти на списъка, изготвен или изменен съгласно параграф 1.

Списъкът може да бъдат комбиниран с други списъци, изготвени за целите на общественото здраве и здравето на животните, които могат също така да включват образци на здравни сертификати.

4. Специалните условия на вноса от всяка трета страна или група трети страни, отнасящи се до ветеринарната санитарна обстановка по отношение на еднокопитните животни в дадена трета страна или страни, се определят в съответствие с процедурата, посочена в член 21, параграф 2.

5. Подробните правила за прилагане на параграфи 1—4 и критериите за включване на трети страни или части от трети страни в списъка, предвиден в параграф 1, могат да бъдат приети в съответствие с процедурата, посочена в член 21, параграф 2.

Член 13

1. Еднокопитните животни трябва да идват от трети страни, които:

- а) са свободни от африканска чума по конете;
- б) са били свободни от венецуелски конски енцефаломиелит (ВКЕ) през период от две години;
- в) са били свободни от дурин и сап през период от шест месеца.

▼B

2. В съответствие с процедурата, посочена в член 21, параграф 2, може да бъде взето решение:

а) че разпоредбите на параграф 1 от настоящия член се прилагат само за част от територията на трета страна.

В случай че изискванията за африканска чума по конете се прилагат на регионална основа, трябва да бъдат спазени най-малко мерките, предвидени в член 5, параграфи 2 и 5;

б) да бъдат поискани допълнителни гаранции за болести, чужди на Общността.

Член 14

Преди датата на натоварване за транспортиране до държава-членка на местоназначение еднокопитните животни трябва да са пребивавали без прекъсване на територията или част от територията на трета страна или — в случай на регионализация — в частта от територията, определена съгласно член 13, параграф 2, буква а), за срок, който се определя в решенията, приети съгласно член 15.

Те трябва да идват от стопанство, поставен под ветеринарен контрол.

Член 15

Вносът на еднокопитни животни от територията на трета страна или част от нея, определена съгласно член 13, параграф 2, буква а), от списъка, изготвен съгласно член 12, параграф 1, се разрешава само ако еднокопитните животни, в допълнение към изискванията по член 13:

а) отговарят на ветеринарно-санитарните изисквания, приети по отношение на въпросните видове и категории еднокопитни животни в съответствие с процедурата, посочена в член 21, параграф 2, за внос на еднокопитни животни от тази страна.

За основа за определяне на такива ветеринарно-санитарни изисквания служат стандартите, предвидени в членове 4 и 5; и

б) в случай на трета страна, която не е била свободна от везикулозен стоматит или вирусен артерит най-малко шест месеца, еднокопитните трябва да отговарят на следните изисквания:

i) те трябва да идват от стопанство, което е било свободно от везикулозен стоматит най-малко шест месеца, и трябва да са реагирали отрицателно на серологичен тест преди изпращането;

ii) в случай на вирусен артерит мъжките еднокопитни животни трябва, независимо от член 19, буква б), да са реагирали отрицателно на серологичен тест или на тест за изолиране на вируса, или на някой друг тест, признат в съответствие с процедурата, посочена в член 21, параграф 2, който гарантира отсъствие на този вирус.

▼B

В съответствие с процедурата, посочена в член 21, параграф 2, и след становище на Европейския орган по безопасност на храните, могат да бъдат определени категориите мъжки еднокопитни животни, към които се прилага това изискване.

Член 16

1. Еднокопитните животни трябва да бъдат идентифицирани съгласно член 4, параграф 4 и придружени от здравен сертификат, изготвен от официален ветеринарен лекар на третата страна износител. Този здравен сертификат трябва да:

- а) бъде издаден в деня на натоварване на животните за изпращане в държавата-членка на местоназначение или, за регистрирани коне, в последния работен ден преди натоварването;
- б) бъде изготвен най-малко на един от официалните езици на държавата-членка на местоназначение и на един от тези на държавата-членка, в която се проверява вносът;
- в) придружава животните в оригинал;
- г) удостоверява, че животните отговарят на изискванията по настоящата директива и на тези, установени вследствие на настоящата директива с оглед вноса от трети страни;
- д) се състои от един единствен лист;
- е) бъде изготвен за един получател или, в случай на животни за клане, за една пратка, при условие че животните са правилно маркирани и идентифицирани.

Държавите-членки уведомяват Комисията, когато използват тази възможност.

2. Здравният сертификат трябва да бъде изготвен на формуляр, съответстващ на образаца, установен в съответствие с процедурата, посочена в член 21, параграф 2.

Член 17

1. Непосредствено след пристигане в държавата-членка на местоназначение еднокопитните животни за клане се отвеждат до кланицата директно или след преминаване през одобрен събирателен пункт, както е посочено в член 7, и съгласно ветеринарно-санитарните изисквания се заколват в срок, определен в решенията, които се приемат съгласно член 15.

2. Без да се засягат евентуалните специални условия, които могат да бъдат приети в съответствие с процедурата, посочена в член 21, параграф 2, компетентните органи на държавата-членка на местоназначение могат, по съображения от ветеринарно-санитарен характер, да посочат кланицата, в която еднокопитните животни да бъдат отведени.

Член 18

Ветеринарни експерти от държавите-членки и Комисията извършват проверки на място за проверка на практическото прилагане на разпоредбите на настоящата директива и по-специално тези на член 12, параграф 2.

▼B

Ако при проверките, извършени съгласно условията на настоящия член, се установят сериозни нередности в одобреното стопанство, Комисията незабавно информира държавите-членки и веднага приема решение, временно спиращо действието на одобрението. Окончателното решение се взема в съответствие с процедурата, посочена в член 21, параграф 3.

Експертите на държавите-членки, натоварени с такива проверки, се назначават от Комисията по предложение на държавите-членки.

Тези проверки се извършват от името на Общността, която поема всички разноски, възникнали в тази връзка.

Честотата и процедурата при такива проверки се определят в съответствие с процедурата, посочена в член 21, параграф 2.

Член 19

В съответствие с процедурата, посочена в член 21, параграф 2:

- а) може да бъде решено, че вносът от трета страна или част от трета страна се ограничава до някои видове или категории еднокопитни животни;
- б) независимо от член 15, се установяват специални условия за временно въвеждане на територията на Общността на регистрирани еднокопитни животни или еднокопитни животни със специфично предназначение, или за тяхното повторно въвеждане на територията на Общността, след като са били временно изнесени;
- в) определят се условията за преобразуване на временното въвеждане в постоянно въвеждане.
- г) може да бъде посочена референтна лаборатория в Общността за една или повече от болестите при еднокопитните животни, изброени в приложение I, да бъдат предвидени функциите, задачите и процедурите за сътрудничество с лабораториите, отговорни за диагностициране на инфекциозните болести при еднокопитните животни в държавите-членки.

ГЛАВА IV

ЗАКЛЮЧИТЕЛНИ РАЗПОРЕДБИ*Член 20*

Приложения I—IV се изменят в съответствие с процедурата, посочена в член 21, параграф 3.

Член 21

1. Комисията се подпомага от Постоянния комитет по хранителната верига и здравето на животните, създаден съгласно член 58 от Регламент (ЕО) № 178/2002 на Европейския парламент и на Съвета от 28 януари 2002 г. за установяване на общите принципи и изисквания на законодателството в областта на храните, за създаване на Европейски орган за безопасност на храните и за определяне на процедури относно безопасността на храните ⁽¹⁾.

⁽¹⁾ ОВ L 31, 1.2.2002 г., стр. 1.

▼B

2. При позоваване на настоящия параграф, се прилагат членове 5 и 7 от Решение 1999/468/ЕО.

Срокът, предвиден в член 5, параграф 6 от Решение 1999/468/ЕО, се определя на три месеца.

3. При позоваване на настоящия член, се прилагат членове 5 и 7 от Решение 1999/468/ЕО.

Срокът, предвиден в член 5, параграф 6 от Решение 1999/468/ЕО, се определя на 15 дни.

Член 22

Директива 90/426/ЕИО, изменена с актовете, посочени в приложение V, част А, се отменя, без да се засягат задълженията на държавите-членки относно сроковете за транспониране в националното право на директивите, които са посочени в приложение V, част Б.

Позоваванията на отменената директива се считат за позовавания на настоящата директива и се четат съгласно таблицата на съответствието в приложение VI.

Член 23

Настоящата директива влиза в сила на двадесетия ден след публикуването ѝ в *Официален вестник на Европейския съюз*.

Член 24

Адресати на настоящата директива са държавите-членки.

▼B

ПРИЛОЖЕНИЕ I

БОЛЕСТИ, ПОДЛЕЖАЩИ НА ЗАДЪЛЖИТЕЛНО ОБЯВЯВАНЕ

Следните болести подлежат на задължително обявяване:

- дурин;
- сап;
- енцефаломиелити по еднокопитните животни (от всички видове, включително ВКЕ);
- инфекциозна анемия;
- бяс;
- антракс;
- африканска чума по конете;
- везикулозен стоматит.



ПРИЛОЖЕНИЕ II

ОБРАЗЕЦ

ЗДРАВНО УДОСТОВЕРЕНИЕ ^(a)

Паспорт №

Аз, долуподписаният, удостоверявам ^(b), че животното, идентифицирано по-горе, отговаря на следните изисквания:

- a) прегледано е днес и не показва никакъв клиничен признак на заболяване;
- б) не е предназначено за клане по национална програма за ликвидиране на заразни или инфекциозни болести;
- в) — не идва от територията или част от територията на държава-членка, към която се прилагат ограничения поради африканска чума по конете, или

идва от територията или част от територията на държава-членка, към която се е прилагала на забрана по причини от ветеринарно-санитарен характер, и е преминало със задоволителни резултати тестовете, предвидени в член 5, параграф 5 от Директива 2009/156/ЕО в карантинно депо в между и ^(b);

— не е ваксинирано срещу африканска чума по конете, или

е било ваксинирано срещу африканска чума по конете на ... ^(b) ^(f);

- г) не идва от стопанство, към което се е прилагала забрана по причини от ветеринарно-санитарен характер, нито е имало контакт с еднокопитно животно от стопанство, към което се е прилагала забрана по причини от ветеринарно-санитарен характер:

— през период от шест месеца, в случай на еднокопитно животно, за което има съмнения, че е заразено с дурин, от датата на последния действителен или възможен контакт с болно животно. Въпреки това за жребец забраната се прилага до кастрирането на животното,

— през период от шест месеца в случай на сап или енцефаломиелит по еднокопитните животни, считано от датата, на която са заклани еднокопитните животни, страдащи от въпросната болест,

— в случай на инфекциозна анемия, до датата, на която, след като заразените животни са били заклани, останалите животни са показали отрицателна реакция на два Когинс теста, проведени на интервал от три месеца един от друг,

— през период от шест месеца от последния регистриран случай на везикулозен стоматит,

— през период от един месец от последния регистриран случай на бяс,

— през период от 15 дни от последния регистриран случай на антракс;

— ако всичките животни от видове, податливи на болестта, които се намират в стопанството, са били заклани и помещенията са били дезинфектирани, през период от 30 дни, считано от деня, в който животните са били унищожени и помещенията са били дезинфектирани, с изключение на случаите на антракс, при които срокът на забраната е 15 дни;

^(a) Това удостоверение не се изисква, когато има двустранно споразумение в съответствие с член 6 от Директивата 2009/156/ЕО.

^(b) Валидно за срок на 10 дни.

^(c) Ненужното се зачертава.

^(f) Датата на ваксинацията трябва да бъде вписана в паспорта.

▼B

- д) доколкото ми е известно, то не е било в контакт с едногопитни животни, страдащи от инфекциозна или заразна болест през период от 15 дни преди съставянето на настоящото удостоверение;
- е) в момента на прегледа то е било в състояние да бъде транспортирано по предвидения маршрут в съответствие с разпоредбите на Регламент (ЕО) № 1/2005 ^(а).

Дата	Място	Подпис и печат на официалния ветеринарен лекар ⁽¹⁾

⁽¹⁾ Име с главни букви и длъжност.

^(а) Тази декларация не освобождава превозвачите от задълженията им в съответствие с действащите общностни разпоредби, по-специално относно годността на животните да бъдат транспортирани.



ПРИЛОЖЕНИЕ III

ОБРАЗЕЦ
ЗДРАВЕН СЕРТИФИКАТ
за търговия между държавите-членки
ЕДНОКОПИТНИ ЖИВОТНИ

ЕВРОПЕЙСКА ОБЩНОСТ

Търговия в рамките на Общността

Част I: Данни за представената пратка	I.1. Изпращач Име Адрес Пощенски код		I.2. Референтен номер на сертификата	I.2.a. Локален референтен номер		
			I.3. Централен компетентен орган			
			I.4. Местен компетентен орган			
	I.5. Получател на стоките Име Адрес Пощенски код		I.6. Номер/а на свързаните оригинални сертификати Номер/а на придружителните документи			
			I.7.			
	I.8. Страна на произход	ISO код	I.9. Регион на произход	Код	I.10. Страна на местоназначение	ISO код
					I.11. Регион на местоназначение	Код
	I.12. Място на произход/Място на улов Стопанство <input type="checkbox"/> Събирателен център <input type="checkbox"/> Други <input type="checkbox"/> Име Адрес Пощенски код		I.13. Крайно местоназначение Стопанство <input type="checkbox"/> Събирателен център <input type="checkbox"/> Предприятие <input type="checkbox"/> Други <input type="checkbox"/> Име Адрес Пощенски код		Номер на одобрението	
	I.14. Място на товарене Пощенски код		I.15. Дата и час на заминаване			
	I.16. Транспортно средство Самолет <input type="checkbox"/> Кораб <input type="checkbox"/> Железопътен вагон <input type="checkbox"/> Шосеен транспорт <input type="checkbox"/> Други <input type="checkbox"/> Идентификация:		I.17. Превозвач Име Адрес Пощенски код Държава-членка			
	I.18. Описание на стоката			I.19. Код на стоката (Код по КН)		I.20. Брой/Количество
	I.21.			I.22. Брой опаковки		
I.23. Идентификация на контейнера/номер на печат			I.24. Вид опаковка			
I.25. Стоки, сертифицирани за: Отглеждане <input type="checkbox"/> Илане <input type="checkbox"/> Регистрирани еднокопитни животни <input type="checkbox"/> Други <input type="checkbox"/>						
I.26. Транзит през трета страна <input type="checkbox"/> Трета страна Място на излизане Място на влизане		ISO код Код Код на граничния	I.27. Транзит през държави-членки <input type="checkbox"/> Държава-членка Държава-членка Държава-членка			ISO код ISO код ISO код
I.28. Износ <input type="checkbox"/> Трета страна Място на излизане		ISO код Код	I.29. Очаквано времетраене на пътуването			
I.30. План на маршрута Да <input type="checkbox"/> Не <input type="checkbox"/>						
I.31. Идентификация на стоките Вид (научно име) Система за идентификация						



ЕВРОПЕЙСКА ОБЩНОСТ

Регистрирани еднокопитни животни, еднокопитни животни за отглеждане и разплод, еднокопитни животни за клане

II. Санитарна информация ⁽¹⁾		II.а. Референтен номер на сертификата	II.б. Локален референтен номер
Аз, долуподписаният, удостоверявам, че животното(ите), описано(и) по-горе, отговаря(т) на следните изисквания:			
Част II: Сертифициране	II.1.	то/те е/са прегледано(и) днес и не показва(т) никакъв клиничен признак на заболяване;	
	II.2.	то/те не е/са предназначено(и) за клане по национална програма за ликвидиране на заразни или инфекциозни болести;	
	или ⁽²⁾ II.3.	то/те не идва(т) от територията или част от територията на държава-членка, към която се прилагат ограничения поради африканска чума по конете;]	
	или ⁽²⁾ II.3.	то/те идва(т) от територията или част от територията на държава-членка, към която се прилага забрана поради африканска чума по конете, било(и) е/са държано(и) са най-малко 40 дни преди изпращането му/им в карантинното депо , в което няма паразити, носители на зараза, и е/са преминало(и) тест за установяване на наличието на антитела срещу вируса на африканска чума по конете, описан в приложение IV към Директива 2009/156/ЕО, направен едновременно на кръвни проби, взети на два пъти — в интервал между 21 и 30 дни на (да се добави дата) и в рамките на период от 10 дни преди изпращането му/им на (да се добави дата);	
	или ⁽²⁾	[с отрицателен резултат във всеки от случаите, ако то/те не е/са било/били ваксинирано(и) срещу африканска чума по конете;]	
	или ⁽²⁾	[без нарастване на количеството на антитела, ако то/те е/са било(и) ваксинирано(и) срещу африканска чума по конете;]	
	или ⁽²⁾ II.4.	то/те не е/са ваксинирано(и) срещу африканска чума по конете;]	
	или ⁽²⁾ II.4.	то/те е/са било(и) ваксинирано(и) срещу африканска чума по конете на (да се добави дата),	
	или ⁽²⁾	[най-малко два месеца преди сертифицирането;]	
	или ⁽²⁾	[най-малко два месеца преди влизането му/им в карантинното депо;]	
II.5.	то/те не идва(т) от стопанство(а), към което/които се/са е/се прилагало(и) предписание(ия) за забрана по причини от ветеринарно-санитарен характер, в което/които е било предвидено най-малко едно от следните условия:		
или ⁽²⁾	[не всички животни в стопанството от видове, податливи към болестите, посочени в букви а)—ж), впоследствие са били заклани и срокът на забраната е бил най-малко:		
а)	в случай на еднокопитни животни със съмнения за дурин,		
или ⁽²⁾	[шест месеца от датата на последния действителен или възможен контакт с болно животно или с животно, заразено с <i>Trypanosoma equiperdum</i>];		
или ⁽²⁾	[за жребец — докато животното се кастрира;]		
б)	в случай на сап — шест месеца от датата, на която еднокопитните животни, страдащи от тази болест или с положителен резултат от теста за установяване на наличието на патогения причинител <i>Burkholderia mallei</i> , или на антитела срещу този патоген, са били умъртвени и унищожени;		
в)	в случай на енцефаломиелит по еднокопитните животни от всички видове — шест месеца от датата, на която са заклани еднокопитните животни, страдащи от тази болест, освен в случай на вирусна инфекция със западнонилска треска, при която периодът от шест месеца започва от датата на смъртта на инфектираните еднокопитни животни, на отстраняването им от стопанството или на пълното им възстановяване;		



Регистрирани еднокопитни животни, еднокопитни животни за отглеждане и разплод, еднокопитни животни за клане

ЕВРОПЕЙСКА ОБЩНОСТ

II. Санитарна информация ⁽¹⁾	II.a. Референтен номер на сертификата	II.б. Локален референтен номер
<p>г) в случай на инфекциозна анемия — до датата, на която, след като инфектираните животни са били заклани, останалите животни са показали отрицателна реакция на Когинс теста, проведен въз основа на две кръвни проби, взети на интервал от три месеца;</p> <p>д) в случай на везикулозен стоматит — шест месеца от последния случай;</p> <p>е) в случай на бяс — един месец от последния случай;</p> <p>ж) в случай на антракс — 15 дни от последния случай;]</p> <p>или ⁽²⁾ [след случаи на дурин, сап, енцефаломиелит по еднокопитните животни от всички видове, инфекциозна анемия по еднокопитните животни, везикулозен стоматит, антракс или бяс всички животни в стопанството от видове, податливи на въпросната болест, са били заклани или умъртвени и срокът на забраната е бил 30 дни, съответно 15 дни в случай на антракс, от датата, на която след унищожаването на животните помещението са били дезинфектирани по задоволителен начин;]</p> <p>II.6. доколкото ми е известно, то/те не е/са бил(и) в контакт с еднокопитни животни, страдащи от инфекциозна или заразна болест, през период от 15 дни преди съставянето на настоящата декларация;</p> <p>II.7. в момента на прегледа то/те е/са било(и) годно(и) да бъде(ат) транспортирано(и) по предвидения маршрут в съответствие с разпоредбите на Регламент (ЕО) № 1/2005 ⁽³⁾.</p>		
<p>Забележки</p> <p>Част I</p> <p>Клетка I.6: съответства на номера на разрешителното по CITES (Конвенцията по международната търговия със застрашени видове от дивата фауна и флора) по отношение на еднокопитни животни, посочени във Вашингтонската конвенция за защитените видове и продуктите от тях.</p> <p>Клетка I.16: регистрационен номер (ЖП вагони или контейнери и камиони), номер на полета (самолет) или име (кораб).</p> <p>Клетка I.19: използва се подходящият код от Хармонизираната система (ХС) на Световната митническа организация: 01.01.01 или 01.01.06.19.</p> <p>Клетка I.31: видове: кон, магаре, муле, катър, зебра (включително кръстоските им).</p> <p>Идентификационна система: до 31 декември 2009 г. съответства на идентификационен номер, както е описано в член 2 от Решение 2000/68/ЕО на Комисията, а от 1 януари 2010 г. — на уникален доживотен номер, както е описано в член 2, буква г) и раздел 1, част А, точка 4 от приложение I към Регламент (ЕО) № 504/2008 на Комисията.</p> <p>Част II</p> <p>⁽¹⁾ Информацията в точки II.1. — II.6. не се изисква, когато е налице двустранно споразумение в съответствие с член 6 от Директива 2009/156/ЕО.</p> <p>⁽²⁾ Ненужното се зачертава.</p> <p>⁽³⁾ Тази декларация не освобождава превозвачите от задълженията им в съответствие с действащите общностни разпоредби, по-специално относно годността на животните да бъдат транспортирани.</p> <p>— Настоящият сертификат е валиден за срок от 10 дни.</p> <p>— Подписът и печатът трябва да са с цвят, различен от цвета на другите данни в сертификата.</p>		
<p>Официален ветеринарен лекар или официален инспектор</p> <p>Име (с главни букви): _____ Квалификация и длъжност: _____</p> <p>Местна ветеринарна служба (МВС): _____ № на съответната МВС: _____</p> <p>Дата: _____ Подпис: _____</p> <p>Печат: _____</p>		

▼ M2

ПРИЛОЖЕНИЕ IV

АФРИКАНСКА ЧУМА ПО КОНЕТЕ

ДИАГНОЗА

ЧАСТ А

Серологични тестове

Серологичният метод, описан по-долу, е ензимно-свързан имуносорбентен анализ (ELISA) и се основава на глава 2.5.1, раздел В, точка 2 от Ръководството за диагностични тестове и ваксини за сухоземни животни, издание 2016 г., прието от Световната асамблея на делегатите на ОИЕ през май 2012 г.

Вирусният протеин VP7 е имунодоминантен основен антиген на вируса на африканската чума по конете (АЧК) и присъства в деветте серотипа на вируса на АЧК. Рекомбинантните протеини на вируса на АЧК и VP7 са се доказали като стабилни и безвредни и са подходящи за използване като антигени в процедурите ELISA за определяне на антителата на вируса на АЧК с висока степен на чувствителност и специфичност (Laviada et al., 1992b ⁽¹⁾; Maree and Paweska, 2005). Тестовите индиректна ELISA и блокадна ELISA са двата теста ELISA за АЧК-VP7, подходящи за серологично диагностициране на африканската чума по конете.

1. Тест индиректна ELISA за откриване на антитела на вируса на африканската чума по конете (АЧК)

Конюгатът, използван в този метод, е пероксидаза от хрян, антиконски гама-глобулин, който реагира със серума от коне, мулета и магарета. За метода, описан от Maree & Paweska (2005) ⁽²⁾, се използва протеин G като конюгат, който също реагира със серум от зебра.

Антигенът може да бъде предоставен от центъра за изследване на животните Centro de Investigación en Sanidad Animal (CISA), Испания, в срок от 4 до 6 месеца от искането.

1.1. *Тестова процедура*

1.1.1. Твърда фаза

1.1.1.1. Натоварете плаките ELISA с рекомбиниран вирус на АЧК-4 VP7, разреден в карбонатно-бикарбонатен буфер с рН 9,6. Инкубирайте плаките в продължение на една нощ при 4 °С.

1.1.1.2. Промийте петкратно плаките с дестилирана вода, съдържаща 0,01 % (v/v) Tween 20 (измивач разтвор). Внимателно оставете плаките върху абсорбиращ материал, за да премахнете остатъчен измивач разтвор.

1.1.1.3. Накапете плаките с фосфатно буфериран физиологичен разтвор (PBS) с рН 7,2 + 5 % (w/v) обезмаслено мляко (обезмаслено сухо мляко Nestlé Dry Skim MilkTM), 200 µl/ямка за 1 час при 37 °С.

1.1.1.4. Отстранете блокиращия разтвор и подсушете внимателно плаките с абсорбиращ материал.

⁽¹⁾ Laviada M.D., Roy P. and Sanchez-Vizcaino J.M (1992b). Adaptation and evaluation of an indirect ELISA and immunoblotting test for African horse sickness antibody detection. In: Bluetongue, African Horse Sickness and Related Orbiviruses: Proceedings of the Second International Symposium. Walton T.E. & Osburn B.I., Eds. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 646–650.

⁽²⁾ Maree S. and Paweska J.T. (2005). Preparation of recombinant African horse sickness virus VP7 antigen via a simple method and validation of a VP7-based indirect ELISA for the detection of group-specific IgG antibodies in horse sera. J. Virol. Methods, 125 (1), 55–65.

▼ M2

1.1.2. Тестови проби

- 1.1.2.1. Серумните проби за тестване, положителните и отрицателните контролни серуми се разреждат 1 към 25 във фосфатно буфериран физиологичен разтвор + 5 % (w/v) обезмаслено мляко + 0,05 % (v/v) Tween 20, 100 µl за ямка. Инкубирайте в продължение на 1 час при температура 37 °C.

За титруване направете двойна серия разреждане от 1 към 25 (100 µl/ямка), един серум на колонка от плаки, и направете същото с положителните и с отрицателните контроли. Инкубирайте в продължение на 1 час при температура 37 °C.

- 1.1.2.2. Промийте петкратно плаките с дестилирана вода, съдържаща 0,01 % (v/v) Tween 20 (измиващ разтвор). Внимателно оставете плаките върху абсорбиращ материал, за да премахнете остатъчен измиващ разтвор.

1.1.3. Конюгат

- 1.1.3.1. Смесете 100 µl/ямка от пероксидаза от хрян — смесена с антиконски гама-глобулин, разреден във фосфатно буфериран физиологичен разтвор + 5 % мляко + 0,05 % Tween 20 с pH 7,2. Инкубирайте в продължение на 1 час при температура 37 °C.

- 1.1.3.2. Промийте петкратно плаките с дестилирана вода, съдържаща 0,01 % (v/v) Tween 20 (измиващ разтвор). Внимателно оставете плаките върху абсорбиращ материал, за да премахнете остатъчен измиващ разтвор.

1.1.4. Хромоген/Субстрат

- 1.1.4.1. Добавете 200 µl/ямка от разтвор хромоген/субстрат (10 ml от 80,6 mM DMAВ (диметил аминокбензалдеhid) + 10 ml от 1,56 mM MBTH (3-метил-2-бензо-тиазолин хидразон хидрохлорид) + 5 µl H₂O₂).

Цветната реакция се спира чрез прибавяне на 50 µl 3N H₂SO₄ след около 5—10 минути (преди отрицателната контрола да започне да се оцветява).

Други хромогени като ABTS (2,2'-Азино-бис-[3-етилбензоатиазолин-6-сулфонова киселина]), TMB (тетраметил бензидин) или OPD (орто-фетилдиамин) могат също да се използват.

- 1.1.4.2. Отчетете плаките при 600 nm (или 620 nm).

1.2. *Разчитане на резултатите*

- 1.2.1. Изчислете праговата стойност чрез добавяне на 0,06 към стойността на отрицателната контрола (0,06 е стандартното отклонение, получено от група от 30 отрицателни серума).

- 1.2.2. Тестови проби, даващи стойности на поглъщане под праговата стойност, се считат за отрицателни.

- 1.2.3. Тестови проби, даващи стойности на поглъщане над праговата стойност + 0,15 се считат за положителни.

- 1.2.4. Тестови проби, даващи усреднени стойности на поглъщане, се считат за недостатъчни за формулиране на заключение и трябва да се приложи втора техника за потвърждаване на резултата.

▼ **M2****2. Тест блокадна ELISA за откриване на антитела на вируса на африканската чума по конете (АЧК)**

Тестът конкурентна блокадна ELISA е предназначен за откриване на специфични антитела на вируса на АЧК в серум от еднокопитни животни, т. е. коне, магарета, зебри и техните кръстоски, като се избягва проблемът със специфичността, който понякога възниква при използването на тестовете индиректна ELISA.

Принципът на теста е блокиране на реакцията между рекомбинантния протеин VP7, погълнат в плаката на ELISA, и конюгираното моноклонално антитяло, специфично за АЧК-VP7 (Mab). Антителата в тестовия серум ще блокират взаимодействието между антигена и Mab, в резултат на което ще се намали оцветяването. Поради това, че Mab също е насочено срещу VP7, анализът ще даде висока степен на чувствителност и определеност.

Тестът конкурентна блокадна ELISA се предлага в търговската мрежа.

2.1. Тестова процедура**2.1.1. Твърда фаза**

2.1.1.1. Плаките ELISA се покриват с 50-100 ng рекомбинант ANSV-4 VP7, разреден с карбонатен/бикарбонатен буфер, рН 9,6. Инкубирайте плаките за една нощ при 4 °С.

2.1.1.2. Измийте плаките три пъти с фосфатно буфериран физиологичен разтвор (PBS) 0,1x, съдържащ 0,135 M NaCl и 0,05 % (v/v) Tween 20. Внимателно оставете плаките върху абсорбиращ материал, за да премахнете остатъчен измиваш разтвор.

2.1.2. Тестови проби и контроли

2.1.2.1. Серумните проби за тестване, положителните и отрицателните контролни серуми се разреждат 1 към 5 в разрестител, съдържащ 0,35 M NaCl, 0,05 % (v/v) Tween 20 и 0,1 % Kathon, 100 µl за ямка. Инкубирайте в продължение на 1 час при температура 37 °С.

За титруване направете двойна серия разреждане на тестовите серуми от 1 към 10 до 1 към 280 в 8 ямки (100 µl/ямка), един серум на колонка от плаки, и направете същото с положителните и с отрицателните контроли. Инкубирайте в продължение на 1 час при температура 37 °С.

2.1.2.2. Измийте плаките пет пъти с фосфатно буфериран физиологичен разтвор (PBS) 0,1x, съдържащ 0,135 M NaCl и 0,05 % (v/v) Tween 20. Внимателно оставете плаките върху абсорбиращ материал, за да премахнете остатъчен измиваш разтвор.

2.1.3. Конюгат

2.1.3.1. Смесете 100 µl/ямка от пероксидаза от хрян — конюгиран Mab анти-VP7. Преди това този Mab е бил разреден 1/5 000–1/15 000 в 1/1 разтвор на StabiliZyme Select® Stabilizer (SurModics. Reference: SZ03) в дестилирана вода. Инкубирайте 30 минути при температура 37 °С.

2.1.3.2. Измийте плаките пет пъти с фосфатно буфериран физиологичен разтвор (PBS) 0,1x, съдържащ 0,135 M NaCl и 0,05 % (v/v) Tween 20. Внимателно оставете плаките върху абсорбиращ материал, за да премахнете остатъчен измиваш разтвор.

▼ **M2**

2.1.4. Хромоген/Субстрат

Добавете 100 µl/ямка разтвор хромоген/субстрат, т.е. 1 ml ABTS (2,2'-Азино-бис-[3-етилбензотиазолин-6-сулфонова киселина]) 5 mg/ml + 9 ml субстратен буфер (0,1 M фосфатно-цитратен буфер рН 4, съдържащ 0,03 % H₂O₂) и инкубирайте 10 минути при стайна температура. Оцветяването се спира с добавяне 100 µl/ямка на 2 % (w/v) натриев додецил сулфат.

2.1.5. Отчитане

Отчетете при 405 nm в четец на ELISA.

2.2. *Разчитане на резултатите*

2.2.1. Определете процента на блокиране (BP) на всяка проба, като прилагате следната формула, в която съкращението Abs означава антигела:

$$BP = \frac{Abs(\text{контрол}^-) - Abs(\text{проба})}{Abs(\text{контрол}^-) - Abs(\text{контрол}^+)} \times 100$$

2.2.2. Проби, чиято BP стойност е по-висока от 50 %, следва да се считат за положителни за антигела на вируса на АЧК.

2.2.3. Проби, чиято BP стойност е по-ниска от 45 %, следва да се считат за отрицателни за антигела на вируса на АЧК.

2.2.4. Проби, чиято BP стойност е между 45 % и 50 %, следва да се считат за недостатъчни за формулиране на заключение и трябва повторно да бъдат подложени на тест. Ако резултатът отново е недостатъчен за формулиране на заключение, животните следва отново да бъдат изследвани не по-рано от две седмици след вземането на пробата, която е счтена за недостатъчна за формулиране на заключение.

ЧАСТ Б

Идентификация на агента

Обратно транскриптазна полимеразна верижна реакция в реално време (rRT-PCR)

Тестовите за идентификация на агента, базирани на методите, свързани с нуклеиновата киселина, трябва да откриват референтни щамове от девет вирусни серотипа на вируса на АЧК.

Методът, описан в точка 2.1, се основава на глава 2.5.1, раздел В, точка 1.2 от Ръководството за диагностични тестове и ваксини за сухоzemни животни, издание 2016 г., прието от Световната асамблея на делегатите на ОИЕ през май 2012 г.

Всеки RT-PCR метод за откриване, използван за изследване на проби (кръв или далак) в контекста на Директива 2009/156/ЕО, трябва да е с чувствителност, еквивалентна или по-голяма от тази на методологиите, описани в точка 2.

Инактивиран вирус на референтни щамове на серотипове 1—9 може да бъде получен от референтната лаборатория на Европейския съюз или от референтната лаборатория на ОИЕ за африканска чума по конете, Алхете, Испания.

1. **Извличане на вирусна РНК**

За да се гарантира добра реакция, е необходимо от пробата да се извлече РНК с високо качество на вируса на АЧК. Извличането на нуклеинови киселини от клиничните проби може да бъде извършено по няколко вътрешни метода или методи, достъпни в търговската мрежа.

▼ M2

Комплектите, предлагани в търговската мрежа, използват различни подходи за изолиране на РНК. Повечето от тях се основават на една от следните процедури:

- фенол-хлороформно извличане на нуклеинови киселини;
- адсорбция на нуклеинови киселини върху филтърна система;
- адсорбция на нуклеинови киселини върху система от магнитни топчета.

По-долу е представен пример за вътрешен метод за извличане на РНК:

- 1.1. 1 g тъканна проба се хомогенизира с 1 ml денатуриран разтвор (4 M гуанидиум тиоцианат, 25 mM натриев цитрат, 0,1 M 2-меркапто-етанол, 0,5 % саркозил).
- 1.2. След центрофугирането към супернатанта се добавят 1 µg от РНК от дрожди, 0,1 ml от 2 M натриев ацетат, рН 4, 1 ml от фенол и 0,2 ml смес хлороформ/изоамилов алкохол (49/1).
- 1.3. Суспензията се разклаща енергично и се охлажда върху лед за 15 минути.
- 1.4. След центрофугирането РНК, присъстваща във водната фаза, се извлича във фенол, утаява се в етанол и повторно се суспендира в стерилна вода.

2. Процедура полимеразна верижна реакция в реално време

- 2.1. *Специфична за дадена група RT-PCR в реално време от Agüero et al., 2008* ⁽¹⁾

Тази специфична за дадена група RT-PCR в реално време е насочена към VP7 на вируса на АЧК и може да открива всички познати серотипове и шамове на вируса на АЧК, които циркулират в момента. Тя е използвана с много добри резултати от националните референтни лаборатории на държавите — членки на Европейския съюз, участващи в изпитванията за пригодност, организирани ежегодно от референтната лаборатория на Европейския съюз за периода 2009—2015 г. Освен това в международно междулабораторно изпитване, организирано през 2015 г. в рамките на мрежата от референтните лаборатории на ОIE, този протокол беше оценен много високо в сравнение с останалите.

Праимерите и секвенциите за откриване на вируса на АЧК:

- | | |
|--------------------|---------------------------------------|
| — прав праимер | 5'-CCA-GTA-GGC-CAG-ATC-AAC-AG-3' |
| — обратен праимер | 5'-CTA-ATG-AAA-GCG-GTG-ACC-GT-3' |
| — сонда MGB-TaqMan | 5'-FAM-GCT-AGC-AGC-CTA-CCA-CTA-MGB-3' |

- 2.1.1. Концентрацията на праимерите се разрежда до работна концентрация от 8 µM („8 µM работен запас (сток) от праимер“), а сондата се разрежда до работна концентрация 50 µM („50 µM работен запас от сонда“). Формулата на тестовата плака следва да бъде проектирана и въведена в софтуера на машината за PCR в реално време. Като за ориентир се използва формулата, 2,5 µl от всеки работен запас от праимера от 8 µM се добавя към всяка ямка, която съдържа проби от РНК, положителни и/или отрицателни контроли (окончателната концентрация на праимера е 1 µM в 20 µl смес RT-PCR). Плаката се държи върху лед.

⁽¹⁾ Agüero M., Gomez-Tejedor C., Angeles Cubillo M., Rubio C., Romero E. and Jimenez-Clavero A. (2008). Real-time fluorogenic reverse transcription polymerase chain reaction assay for detection of African horse sickness virus. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 20, 325–328.

▼ M2

- 2.1.2. 2 µl от изолирана РНК (тестови проби и положителни контроли) или 2 µl вода без РНКаз в контролна проба с отрицателна реакция се смесва с прав и обратен праймер. Тази смес се денатурира чрез нагряване при температура 95 °C в продължение на 5 минути, след което бързо се охлажда върху лед в продължение на най-малко 5 минути.
- 2.1.3. Съгласно инструкциите на производителя се подготвя необходимият обем от едностъпална RT-PCR в реално време (основна смес) за няколко проби за изследване. 0,1 µl от работен запас от сондата от 50 µM се добавя към всяка ямка, съдържаща проби от РНК (окончателната концентрация на сондата е 0,25 µM във всяка ямка, съдържаща проби от РНК). 13 µl от основната смес от едностъпална RT-PCR в реално време се разпределя във всяка ямка на PCR плаката, съдържаща денатурираните праймери и РНК.
- 2.1.4. Плаката се поставя в термоциклер за анализ в реално време, програмиран за обратна транскриптаза и за откриване на кДНК амплификация/флуоресценция. Условието за амплификация се състои от: като първа стъпка обратна транскриптаза при 48 °C в продължение на 25 минути, последвано от 10 минути при температура 95 °C („hot start“) и 40 цикъла от 15 секунди при температура 95 °C, 35 секунди при температура 55 °C и 30 секунди при температура 72 °C (или 40 цикъла при температура 97 °C в продължение на 2 секунди и 55 °C в продължение на 30 секунди, ако се използват реагенти и термоциклер, позволяващи бърза реакция). Данните за флуоресценция се получават в края на стъпката при 55 °C.
- 2.1.5. Анализът се счита за невалиден, ако се получат атипични криви на амплификацията, и трябва да се повтори.

Пробите се считат за положителни, ако Ct стойността (стойност на цикъла, при която генерираната при реакцията флуоресценция преминава прага на флуоресценцията) е по-ниска от или равна на определения Ct праг (35) в рамките на 40 PCR цикъла ($Ct \leq 35$).

Пробите се считат за недостатъчни за формулиране на заключение, ако Ct стойността е над определения Ct праг (35) в рамките на 40 PCR цикъла ($Ct \geq 35$).

Пробите се считат за отрицателни, ако се получи хоризонтална крива на амплификацията, която не преминава прага в рамките на 40 PCR цикли.

- 2.2. *Специфична за дадена група RT-PCR в реално време от Guthrie et al., 2013* ⁽¹⁾

RT-PCR в реално време с използване на сонди за флуоресцентен резонансен енергиен трансфер (FRET) за откриването на нуклеинова киселина на вируса на АЧК.

Описание на анализ RT-PCR на вируса на АЧК беше създаден, като са използвани секвенции на множество циркулиращи в момента полевни щамове на вируса на АЧК (Quan et al., 2010 ⁽²⁾). Той включва също така патентовани синтетични външни контролни анализи за проверка на правилното функциониране на компонентите на анализа.

Комплекти за едностъпална PCR в реално време се предлагат в търговската мрежа. По-долу са изброени някои основни етапи, описани от Guthrie et al. (2013 г.), които могат да бъдат изменени според специфичните за конкретния случай и място изисквания, използваните комплекти и наличното оборудване.

⁽¹⁾ Guthrie AJ, MacLachlan NJ, Joone C, Lourens CW, Weyer CT, Quan M, Monyai MS, Gardner IA. Diagnostic accuracy of a duplex real-time reverse transcription quantitative PCR assay for detection of African horse sickness virus. *Journal of Virological Methods* (Бюлетин за вирусологичните методи). 2013;189(1):30–35.

⁽²⁾ Quan, M., Lourens, C.W., MacLachlan, N.J., Gardner, I.A., Guthrie, A.J., 2010. Development and optimisation of a duplex real-time reverse transcription quantitative PCR assay targeting the VP7 and NS2 genes of African horse sickness virus. *J. Virol. Methods* 167, 45–52.

▼ M2

Праймерите и секвенциите за откриване на вируса на АЧК:

— прав праймер	5'-AGA-GCT-CTT-GTG-CTA-GCA-GCC-T-3'
— обратен праймер	5'-GAA-CCG-ACG-CGA-CAC-TAA-TGA-3'
— сонда MGB-TaqMan	5'-FAM-TGC-ACG-GTC-ACC-GCT-MGB-3'

- 2.2.1. Смесите на стоков разтвор от праймер и сонда се приготвят в концентрация 25× при 5 µM за прави и обратни праймери и 3 µM за сондата. Формулата на тестовата плака следва да бъде проектирана и въведена в софтуера на машината за PCR в реално време. Като за ориентир се използва формулата, към съответните ямки на плаката се добавят 5 µl от РНК пробите, включително тестови проби и положителни и отрицателни контроли съгласно структурата.
- 2.2.2. РНК се денатурира чрез нагряване при температура 95 °C в продължение на 5 минути, последвано от бързо охлаждане върху лед в продължение на най-малко 3 минути.
- 2.2.3. Съгласно инструкциите на производителя се подготвя необходимият обем от едностъпална RT-PCR в реално време (основна смес) за няколко проби за изследване. 1 µl от концентрирания 25× стоков разтвор от праймер и сонда (от точка 2.2.1 по-горе) се включва в основната смес, за да може във всяка ямка да се получи крайна концентрация от 200 nM за всеки праймер и 120 nM за сондата. 20 µl от основната смес се разпределя във всяка ямка на PCR плаката, съдържаща денатурирана РНК.
- 2.2.4. Плаката се поставя в термоциклер в реално време, програмиран за обратна транскриптаза и за откриване на cDNA амплификация/флуоресценция съгласно насоките на производителите. Условието за амплификация включват например като първа стъпка обратна транскриптаза при температура 48 °C в продължение на 10 минути, последвано от 10 минути при температура 95 °C и 40 цикъла в продължение на 15 секунди при температура 95 °C и 45 секунди при 60 °C.
- 2.2.5. Пробите се считат за положителни, ако нормализираната флуоресценция за анализа RT-PCR на вируса на АЧК надвишава прага от 0,1 в рамките на 36 PCR цикъла във всички повтарящи се проби.
- Пробите се считат за недостатъчни за формулиране на заключение, ако нормализираната флуоресценция за анализа RT-PCR на вируса на АЧК надвишава прага от 0,1 между 36 и 40 PCR цикъла във всички повтарящи се проби.
- Пробите се считат за отрицателни, ако нормализираната флуоресценция за анализа RT-PCR на вируса на АЧК не надвишава прага от 0,1 в рамките на 40 PCR цикъла във всички повтарящи се проби и ако нормализираната флуоресценция за патентования синтетичен външен контрол надвишава прага от 0,1 в рамките на 33 PCR цикъла.



ПРИЛОЖЕНИЕ V

ЧАСТ А

Отменената директива и списък на нейните последващи изменения

(посочени в член 22)

Директива 90/426/ЕИО на Съвета
(ОВ L 224, 18.8.1990 г., стр. 42)

Директива 90/425/ЕИО на Съвета
(ОВ L 224, 18.8.1990 г., стр. 29)

единствено член 15, параграф 3

Директива 91/496/ЕИО на Съвета
(ОВ L 268, 24.9.1991 г., стр. 56)

единствено що се отнася до позоваването на Директива 90/426/ЕИО в член 26, параграф 2

Решение 92/130/ЕИО на Комисията
(ОВ L 47, 22.2.1992 г., стр. 26)

Директива 92/36/ЕИО на Съвета
(ОВ L 157, 10.6.1992 г., стр. 28)

единствено член 1

Акт за присъединяване от 1994 г., приложение I, точка V.Д.1.A.3 (ОВ С 241, 29.8.1994 г., стр. 132)

Решение 2001/298/ЕО на Комисията
(ОВ L 102, 12.4.2001 г., стр. 63)

единствено що се отнася до позоваването Директива 90/426/ЕЕС в член 1, параграф 1, и приложение I, точка 2

Решение 2002/160/ЕО на Комисията
(ОВ L 53, 23.2.2002 г., стр. 37)

Регламент (ЕО) № 806/2003 на Съвета
(ОВ L 122, 16.5.2003 г., стр. 1)

единствено приложение III, точка 10

Акт за присъединяване от 2003 г., приложение II, точка 6.B.I.16
(ОВ L 236, 23.9.2003 г., стр. 381)

Директива 2004/68/ЕО на Съвета
(ОВ L 139, 30.4.2004, р. 321)

единствено член 15

Директива 2006/104/ЕО на Съвета
(ОВ L 363, 20.12.2006 г., стр. 352)

единствено приложението, точка I.2

Директива 2008/73/ЕО на Съвета
(ОВ L 219, 14.8.2008 г., стр. 40)

единствено член 7

ЧАСТ Б

Срокове за транспониране в националното право

(посочени в член 22)

Директива	Срок за транспониране
90/426/ЕИО	1 януари 1992 г.
90/425/ЕИО	1 юли 1992 г.
91/496/ЕИО	1 юли 1992 г.
92/36/ЕИО	31 декември 1992 г.
2004/68/ЕО	19 ноември 2005 г.
2006/104/ЕО	1 януари 2007 г.
2008/73/ЕО	1 януари 2010 г.



ПРИЛОЖЕНИЕ VI

Таблица на съответствието

Директива 90/426/ЕИО	Настоящата директива
Член 1	Член 1
Член 2, букви а) и б)	Член 2, букви а) и б)
Член 2, буква в)	Член 2, буква в), подточки i) и ii)
Член 2, буква г)—и)	Член 2, букви г)—и)
Член 3	Член 3
Член 4, параграфи 1, 2 и 3	Член 4, параграфи 1, 2 и 3
Член 4, параграф 4, i) и ii)	Член 4, параграф 4, букви а) и б)
Член 4, параграф 5, буква а), първо—шесто тире	Член 4, параграф 5, буква а), подточки i)—vi)
Член 4, параграф 5, буква б)	Член 4, параграф 5, буква б)
Член 4, параграф 6, първа алинея, първо - осмо тире	Член 4, параграф 6, първа алинея, букви а)—з)
Член 4, параграф 6, втора и трета алинея	Член 4, параграф 6, втора и трета алинея
Член 5, параграф 1	Член 5, параграф 1
Член 5, параграф 2, буква а)	Член 5, параграф 2, първа алинея, букви а) и б)
Член 5, параграф 2, буква б)	Член 5, параграф 2, втора алинея, буква а) и б)
Член 5, параграф 2, буква в)	Член 5, параграф 3
Член 5, параграф 2, буква г)	Член 5, параграф 4
Член 5, параграф 3, букви а) и б)	Член 5, параграф 5, букви а) и б)
Член 5, параграф 3, буква в), първо и второ тире	Член 5, параграф 5, буква в), първа алинея, подточки i) и ii)
Член 5, параграф 3, буква в), второ тире, последно изречение	Член 5, параграф 5, буква в), втора алинея
Член 5, параграф 3, букви г) и д)	Член 5, параграф 5, букви г) и д)
Член 6	Член 6
Член 7	Член 7
Член 8, параграф 1, първа алинея, първо и второ тире	Член 8, параграф 1, буква а) и б)
Член 8, параграф 1, втора алинея	Член 8, параграф 2
Член 8, параграф 2	Член 8, параграф 3
Член 9	Член 9
Член 10	Член 10

▼ **B**

Директива 90/426/ЕИО	Настоящата директива
Член 11, параграф 1	Член 11
Член 11, параграф 2	—
<i>Член 12</i>	<i>Член 12</i>
<i>Член 13</i>	Член 13
<i>Член 14</i>	Член 14
<i>Член 15</i>	Член 15
Член 16, параграф 1, букви а) – е)	Член 16, параграф 1, букви а)—е)
Член 16, параграф 1, последно изречение	—
Член 16, параграф 2	Член 16, параграф 2
<i>Член 17</i>	<i>Член 18</i>
Член 18	Член 17
Член 19, подточки i)—iv)	Член 19, букви а)—д)
<i>Член 22</i>	—
<i>Член 23</i>	Член 20
Член 24, параграфи 1 и 2	Член 21, параграфи 1 и 2
Член 24, параграф 3	—
Член 25, параграфи 1 и 2	Член 21, параграфи 1 и 3
<i>Член 26</i>	—
<i>Член 27</i>	—
—	Член 22
—	Член 23
<i>Член 28</i>	Член 24
Приложение А	Приложение I
Приложение Б	Приложение II
Приложение В	Приложение III
Приложение Г	Приложение IV
—	Приложение V
—	Приложение VI