

Dokument ten służy wyłącznie do celów informacyjnych i nie ma mocy prawnej. Unijne instytucje nie ponoszą żadnej odpowiedzialności za jego treść. Autentyczne wersje odpowiednich aktów prawnych, włącznie z ich preambułami, zostały opublikowane w Dzienniku Urzędowym Unii Europejskiej i są dostępne na stronie EUR-Lex. Bezpośredni dostęp do tekstów urzędowych można uzyskać za pośrednictwem linków zawartych w dokumencie

► **B**

DYREKTYWA RADY 2009/156/WE

z dnia 30 listopada 2009 r.

w sprawie warunków zdrowotnych zwierząt, regulujących przemieszczanie i przywóz zwierząt z rodziny koniowatych z państw trzecich

(wersja ujednolicona)

(Tekst mający znaczenie dla EOG)

(Dz.U. L 192 z 23.7.2010, s. 1)

zmieniona przez:

Dziennik Urzędowy

		nr	strona	data
► <u>M1</u>	Dyrektywa Rady 2013/20/UE z dnia 13 maja 2013 r.	L 158	234	10.6.2013
► <u>M2</u>	Decyzja wykonawcza Komisji (UE) 2016/1840 z dnia 14 października 2016 r.	L 280	33	18.10.2016

**DYREKTYWA RADY 2009/156/WE**

z dnia 30 listopada 2009 r.

**w sprawie warunków zdrowotnych zwierząt, regulujących
przemieszczanie i przywóz zwierząt z rodziny koniowatych
z państw trzecich****(wersja ujednolicona)****(Tekst mający znaczenie dla EOG)**

ROZDZIAŁ I

PRZEPISY OGÓLNE

Artykuł 1

Niniejsza dyrektywa określa warunki sanitarne zwierząt w przemieszczaniu pomiędzy państwami członkowskimi oraz przywóz żywych koniowatych z państw trzecich.

Artykuł 2

Do celów niniejszej dyrektywy stosuje się następujące definicje:

- a) „gospodarstwo rolne” oznacza placówkę rolniczą lub treningową, stajnię, albo w ogólnym znaczeniu każde pomieszczenie lub zakład, w którym koniowate są zwyczajowo trzymane lub hodowane, bez względu na to, do czego są one przeznaczone;
- b) „koniowate” oznaczają dzikie lub udomowione gatunki zwierząt: konie (wraz z zebami) lub gatunki osłów oraz potomstwo z krzyżówek między tymi gatunkami;
- c) „zarejestrowane koniowate” oznaczają wszystkie zarejestrowane koniowate określone w dyrektywie Rady 90/427/EWG z dnia 26 czerwca 1990 r. w sprawie zootechnicznych i genealogicznych warunków handlu wewnątrzspółnotowego koniowatymi⁽¹⁾, zidentyfikowane za pomocą dokumentu identyfikacyjnego wydanego przez:
 - (i) związek hodowców lub inne właściwe organy kraju, z którego zwierzęta pochodzą, które prowadzą księgi hodowlane lub rejestry tej rasy zwierząt; lub
 - (ii) jakikolwiek międzynarodowy związek lub organizację, które przygotowują konie do zawodów lub wyścigów konnych;
- d) „koniowate przeznaczone na ubój” oznaczają koniowate przeznaczone do transportu albo bezpośredniego, albo po przewozie tranzytem przez punkt gromadzenia, o którym mowa w art. 7, do rzeźni na ubój;
- e) „koniowate do chowu i produkcji” oznaczają koniowate, inne niż te wymienione w lit. c) i d);
- f) „państwo członkowskie lub państwo trzecie wolne od afrykańskiego pomoru koni” oznacza każde państwo członkowskie lub państwo trzecie, w których nie stwierdzono klinicznych, serologicznych (u nieszczepionych koni) lub epidemiologicznych dowodów afrykańskiego pomoru koni, terytorium, którego to dotyczy w ciągu ostatnich dwóch lat i w których w ciągu ostatnich 12 miesięcy nie przeprowadzano szczepień przeciwko tej chorobie;

⁽¹⁾ Dz.U. L 224 z 18.8.1990, s. 55.

▼ B

- g) „choroby podlegające obowiązkowi zgłaszania” oznaczają choroby wymienione w załączniku I;
- h) „urzędowy lekarz weterynarii” oznacza lekarza weterynarii wyznaczonego przez właściwe organy centralne państwa członkowskiego lub państwa trzeciego;
- i) „tymczasowe przyjęcie” oznacza status zarejestrowanego zwierzęcia z rodziny koniowatych pochodzącego z państwa trzeciego i wprowadzonego na terytorium Wspólnoty na okres krótszy niż 90 dni, wyznaczany zgodnie z procedurą określoną w art. 21 ust. 2, zależnie od sytuacji zdrowotnej w kraju pochodzenia.

ROZDZIAŁ II

**PRZEPISY DOTYCZĄCE PRZEMIESZCZANIA KONIOWATYCH
POMIĘDZY PAŃSTWAMI CZŁONKOWSKIMI***Artykuł 3*

Państwa członkowskie zatwierdzają przemieszczanie zarejestrowanych koniowatych na ich terytorium lub wysyłają koniowate do innego państwa członkowskiego, tylko wówczas, gdy spełniają one warunki ustanowione w art. 4 i 5.

Jednakże właściwe organy państw członkowskich przeznaczenia mogą przyznawać ogólne lub ograniczone zwolnienia dotyczące przemieszczania koniowatych, które:

- do celów sportowych lub rekreacyjnych są przeprowadzane lub przewożone drogami, które leżą niedaleko wewnętrznych granic Wspólnoty,
- biorą udział w imprezach kulturalnych lub wydarzeniach podobnego typu lub wydarzeniach organizowanych przez uprawnione do tego instytucje lokalne, położone niedaleko wewnętrznych granic Wspólnoty,
- są przeznaczone wyłącznie do czasowego wypasu lub pracy niedaleko wewnętrznych granic Wspólnoty.

Państwa członkowskie korzystające z takich uprawnień informują Komisję o zakresie udzielonych zezwoleń.

Artykuł 4

1. Koniowate nie mogą wykazywać klinicznych objawów choroby podczas badania. Badanie musi zostać dokonane na 48 godzin przed wyruszeniem lub załadunkiem. Jednakże w przypadku zarejestrowanych koniowatych przegląd ten, bez uszczerbku dla art. 6, wymagany jest tylko w stosunku do zwierząt przeznaczonych do handlu wewnątrzwspólnotowego.

2. Bez uszczerbku dla wymagań ust. 5 dotyczących chorób podlegających obowiązkowi zgłaszania, urzędowy lekarz weterynarii musi w czasie przeglądu być pewien, że nie ma powodów — szczególnie na podstawie oświadczeń właściciela lub hodowcy — do wnioskowania, że badane koniowate miały kontakt z koniowatymi cierpiącymi na chorobę zakaźną lub zaraźliwą w ciągu 15 dni bezpośrednio poprzedzających badanie.

▼B

3. Koniowate nie mogą być przeznaczone do uboju przeprowadzanego w związku z krajowym programem eliminowania chorób zakaźnych lub zaraźliwych.

4. Koniowate muszą być identyfikowane w następujący sposób:

a) w przypadku zarejestrowanych koniowatych — za pośrednictwem dokumentu identyfikacyjnego, przewidzianego w dyrektywie 90/427/EWG, który w szczególności musi potwierdzić, że wymagania ust. 5 i 6 niniejszego artykułu oraz art. 5 niniejszej dyrektywy zostały spełnione.

Urzędowy lekarz weterynarii musi wstrzymać ważność dokumentu identyfikacyjnego na okres zakazów uwzględnionych w ust. 5 niniejszego artykułu lub w art. 5 niniejszej dyrektywy. Po uboju zarejestrowanego konia dokument identyfikacyjny musi wrócić do organu, który go wydał. Procedura wprowadzenia tego punktu zostaje przyjęta zgodnie z procedurą, o której mowa w art. 21 ust. 2;

b) dla koniowatych przeznaczonych do chowu i produkcji, metodą ustanowioną zgodnie z procedurą, o której mowa w art. 21 ust. 2.

5. Dodatkowo, oprócz wymagań ustanowionych w art. 5, koniowate nie mogą pochodzić z gospodarstwa, które było przedmiotem jednego z następujących zakazów:

a) jeśli wszystkie zwierzęta znajdujące się w gospodarstwie należące do gatunków podatnych na chorobę nie zostały ubite, czas zakazu dotyczący gospodarstwa pochodzenia musi liczyć co najmniej:

(i) sześć miesięcy w przypadku koniowatych podejrzanych o zarażenie się zarazą stadniczą koni, licząc od daty ostatniego faktycznego lub prawdopodobnego kontaktu z chorym zwierzęciem. Jednak w przypadku ogiera zakaz ten stosuje się do czasu jego wykastrowania;

(ii) sześć miesięcy w przypadku nosaczyny lub wirusowego zapalenia mózgu i rdzenia koni, licząc od dnia, w którym koniowate cierpiące na jedną z wymienionych chorób zostały ubite;

(iii) w przypadku anemii zakaźnej aż do dnia, w którym po ubiciu zakażonych zwierząt pozostałe zwierzęta wykazały ujemną reakcję na dwa testy Cogginsa wykonane w trzymiesięcznych odstępach;

(iv) sześć miesięcy od ostatniego odnotowanego przypadku w przypadku pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej;

(v) jeden miesiąc od ostatnio notowanego przypadku występowania wścieklizny;

(vi) 15 dni od ostatnio notowanego przypadku wąglika;

▼ B

- b) jeżeli wszystkie zwierzęta należące do gatunków wrażliwych na chorobę stwierdzoną w gospodarstwie zostały ubite, a obiekty poddano dezynfekcji, czas zakazu będzie wynosić 30 dni, licząc od dnia, w którym zwierzęta zostały zniszczone, a obiekty poddane dezynfekcji. Wyjątek stanowi wąglik, w przypadku którego okres zakazu wynosi 15 dni.

Właściwe organy mogą odstąpić od tych zakazów w stosunku do hipodromów i torów wyścigów konnych, powiadomiwszy Komisję o istocie każdego przyznanego odstępstwa.

6. ► **M1** Jeżeli państwo członkowskie określa lub określiło dobrowolny lub obowiązkowy program kontrolowania choroby, na którą podatne są koniowate, wówczas może ono przedłożyć ten program Komisji, w terminie sześciu miesięcy, począwszy od dnia 4 lipca 1990 r. dla Belgii, Danii, Niemiec, Irlandii, Grecji, Hiszpanii, Francji, Włoch, Luksemburga, Niderlandów, Portugalii i Zjednoczonego Królestwa, od dnia 1 stycznia 1995 r. dla Austrii, Finlandii i Szwecji, od dnia 1 maja 2004 r. dla Republiki Czeskiej, Estonii, Cypru, Łotwy, Litwy, Węgier, Malty, Polski, Słowenii i Słowacji, od dnia 1 stycznia 2007 r. dla Bułgarii i Rumunii i od dnia 1 lipca 2013 r. dla Chorwacji, przedstawiając w szczególności: ◀

- a) rozmieszczenie choroby na jego terytorium;
- b) powody podjęcia programu, biorąc pod uwagę znaczenie choroby oraz koszt programu w stosunku do przewidywanych korzyści;
- c) obszar geograficzny, na którym zostanie wprowadzony ten program;
- d) zróżnicowany status, który ma być stosowany w stosunku do placówek, standardy, które muszą zostać osiągnięte dla każdego gatunku, oraz procedury testów, które będą zastosowane;
- e) procedury monitorowania programu;
- f) działania, które zostaną podjęte, jeżeli, gospodarstwo rolne traci swój status, bez względu na przyczynę;
- g) środki, które zostaną podjęte, jeśli rezultaty testów przeprowadzonych zgodnie z założeniami programu będą pozytywne;
- h) niedyskryminujący charakter handlu na terytorium zainteresowanego państwa członkowskiego w odniesieniu do handlu wewnątrzspółnotowego.

Komisja bada programy przedstawione przez państwa członkowskie. Jeżeli są one właściwe, wówczas zatwierdza je zgodnie z procedurą, o której mowa w art. 21 ust. 2. Zgodnie z tą samą procedurą można określić wszelkie ogólne lub uzupełniające gwarancje, które mogą być wymagane w handlu wewnątrzspółnotowym. Gwarancje takie nie mogą wykroczać poza wymagane przez państwo członkowskie na swoim własnym terytorium.

▼B

Programy dostarczone przez państwa członkowskie mogą być poprawione lub uzupełnione zgodnie z procedurą, o której mowa w art. 21 ust. 3. Zgodnie z tą samą procedurą zatwierdzone mogą zostać zmiany lub uzupełnienia do wcześniej zatwierdzonych programów oraz do gwarancji określonych zgodnie z akapitem drugim.

Artykuł 5

1. Państwo członkowskie, które nie jest wolne od afrykańskiego pomoru koni, może wysyłać zwierzęta z rodziny koniowatych z tej części swojego terytorium, która jest uważana za zakażoną w znaczeniu ust. 2 niniejszego artykułu, tylko zgodnie z warunkami ustanowionymi w ust. 5.

2. Część terytorium państwa członkowskiego jest uznana za zakażoną afrykańskim pomorem koni, jeżeli:

- a) kliniczne, serologiczne (u nieszczepionych zwierząt) lub epidemiologiczne świadectwo ujawniło występowanie afrykańskiego pomoru koni w ciągu ostatnich dwóch lat; lub
- b) w ciągu ostatnich 12 miesięcy przeprowadzano szczepienia przeciwko afrykańskiemu pomorowi koni.

Część terytorium państwa członkowskiego, którą uznaje się za zakażoną afrykańskim pomorem koni, obejmuje co najmniej:

- a) okręg zakażony o promieniu co najmniej 100 km wokół każdego centrum zakażenia;
- b) okręg zagrożony, rozciągający się co najmniej na 50 kilometrów poza okręg zakażony, w którym przez co najmniej 12 miesięcy nie wykonano żadnych szczepień.

3. Zasady kontroli oraz środki zwalczania afrykańskiego pomoru koni dotyczące terytoriów i okręgów, określonych w ust. 2, oraz odpowiednie odstępstwa określone są w dyrektywie Rady 92/35/EWG z dnia 29 kwietnia 1992 r. ustanawiającej zasady kontroli i środki zwalczania afrykańskiego pomoru koni (¹).

4. Wszystkie zaszczepione zwierzęta z rodziny koniowatych muszą być zarejestrowane i oznaczone zgodnie z art. 6 ust. 1 lit. d) dyrektywy 92/35/EWG.

Dokument identyfikacyjny lub świadectwo zdrowia wyraźnie wykazują przeprowadzenie takiego szczepienia.

5. Państwo członkowskie może wysyłać z terytorium, o którym mowa w ust. 2 akapit drugi tylko te koniowate, które spełniają następujące wymagania:

- a) w związku z aktywnością owadów przenoszących chorobę, zwierzęta mogą być wysyłane tylko w niektórych okresach w ciągu roku; okresy takie zostaną określone zgodnie z procedurą, o której mowa w art. 21 ust. 3;
- b) nie mogą wykazywać klinicznych objawów afrykańskiego pomoru koni w dniu badania, o którym mowa w art. 4 ust. 1;

⁽¹⁾ Dz.U. L 157 z 10.6.1992, s. 19.

▼B

- c) muszą wcześniej być dwukrotnie poddane testowi w odniesieniu do afrykańskiego pomoru koni określonego w załączniku IV, testy te muszą zostać przeprowadzone w odstępie od 21 do 30 dni, przy czym drugi z nich musi zostać przeprowadzony w terminie do 10 dni przed wysłaniem;
- (i) muszą wykazać wynik negatywny, jeśli nie zostały zaszczepione przeciwko afrykańskiemu pomorowi koni; albo
- (ii) nie mogą wykazać wzrostu miana przeciwciał ani być szczepione w ciągu ostatnich dwóch miesięcy, jeśli zostały zaszczepione przeciwko afrykańskiemu pomorowi koni.
- Zgodnie z procedurą, o której mowa w art. 21 ust. 2, i w oparciu o opinię Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności inne metody monitorowania mogą zostać uznane;
- d) muszą przebywać na stacji kwarantanny przez okres co najmniej 40 dni poprzedzających wysłanie;
- e) podczas kwarantanny oraz podczas transportu ze stacji kwarantanny do miejsca wysłania muszą być chronione przed owadami przenoszącymi choroby.

Artykuł 6

Państwa członkowskie, które wprowadzą alternatywny system kontroli dostarczający gwarancji równoważnych tym ustanowionym w art. 4 ust. 5 odnośnie do przemieszczania koniowatych w obrębie ich terytoriów, mogą wzajemnie udzielić sobie odstępstwa od przepisów art. 4 ust. 1 zdanie drugie oraz art. 8 ust. 1 lit. b).

Państwa członkowskie powiadamiają o tym Komisję.

Artykuł 7

1. Koniowate muszą być jak najszybciej przetransportowane z gospodarstwa pochodzenia – bezpośrednio albo przez zatwierdzony punkt gromadzenia lub punkt etapowy określony jako „punkt gromadzenia” w art. 2 ust. 2 lit. o) dyrektywy Rady 64/432/EWG z dnia 26 czerwca 1964 r. w sprawie problemów zdrowotnych zwierząt wpływających na handel wewnątrzspółnotowy bydłem i trzodą chlewną⁽¹⁾, do miejsca ich przeznaczenia w pojazdach lub kontenerach, które były regularnie czyszczone i dezynfekowane, a dezynfekcji dokonywano w odstępach czasu określonych przez wysyłające państwo członkowskie. Pojazdy muszą być zaprojektowane w taki sposób, aby podczas transportu nie wydostawały się z nich odchody, ściółka lub pasza koniowatych. Bez uszczerbku dla rozporządzenia (WE) nr 1/2005 transport musi być zorganizowany w taki sposób, aby skutecznie chronić zdrowie i dobrostan koniowatych.

2. Państwo członkowskie, będące państwem przeznaczenia, może zezwolić na ogólne lub ograniczone odstępstwa od określonych wymagań art. 4 ust. 5 dla wszystkich zwierząt opatrzonych specjalnymi znakami wskazującymi na ich przeznaczenie do uboju, pod warunkiem że świadectwo zgodne z załącznikiem III przewiduje takie odstępstwo.

⁽¹⁾ Dz.U. 121 z 29.7.1964, s. 1977.

▼B

W przypadku udzielenia takiego odstępstwa koniowate przeznaczone na ubój muszą być przetransportowane bezpośrednio do wyznaczonej rzeźni oraz muszą zostać ubite w ciągu pięciu dni od ich przybycia do rzeźni.

3. Urzędowy lekarz weterynarii musi odnotować numer identyfikacyjny lub numer dokumentu identyfikacyjnego ubitego zwierzęcia oraz przedstawić go właściwym organom miejsca wysłania na ich wniosek, jako zaświadczenie, że zwierzę zostało ubite.

Artykuł 8

1. Państwa członkowskie gwarantują, że:

a) zarejestrowane koniowate, które opuszczają swoje gospodarstwo, zostają zaopatrzone w dokumenty identyfikacyjne, ustanowione w art. 4 ust. 4 lit. a), oraz — jeśli przeznaczone są do handlu wewnątrz wspólnotowego — w zaświadczenie zdrowia przewidziane w załączniku II;

b) koniowate do chowu, produkcji czy uboju zostają zaopatrzone w świadectwo zdrowia towarzyszące im podczas transportu, zgodnie z załącznikiem III.

2. Świadectwo zdrowia lub, w przypadku zarejestrowanych koniowatych, zaświadczenie zdrowia muszą, bez uszczerbku dla art. 6, zostać wystawione na 48 godzin poprzedzających załadunek albo nie później niż w ciągu ostatniego dnia roboczego poprzedzającego załadunek. Muszą one zostać wystawione co najmniej w jednym z oficjalnych języków państwa członkowskiego będącego państwem wysyłki i miejsca przeznaczenia. Okres ważności zaświadczenia zdrowia lub świadectwa zdrowia wynosi 10 dni. Zaświadczenie zdrowia lub świadectwo zdrowia musi składać się z pojedynczej kartki.

3. Przemieszczanie między państwami członkowskimi koniowatych innych niż koniowate zarejestrowane może zostać objęte pojedynczym świadectwem zdrowia dla partii zwierząt niż indywidualnym świadectwem zdrowia, o którym mowa w ust. 1 lit. b).

Artykuł 9

Zasady ustanowione w dyrektywie 90/425/EWG stosuje się w szczególności do kontroli w miejscu pochodzenia, do organizacji i czynności podejmowanych po przeprowadzeniu kontroli przez państwo członkowskie przeznaczenia oraz do środków ochronnych, jakie mają zostać wdrożone.

Artykuł 10

Eksperci weterynaryjni Komisji mogą, w zakresie niezbędnym dla zapewnienia jednakowego stosowania niniejszej dyrektywy i we współdziałaniu z właściwymi organami krajowymi, przeprowadzać inspekcje na miejscu. Komisja informuje państwa członkowskie o wynikach takich inspekcji.

Państwa członkowskie, na terytorium których przeprowadzane są inspekcje, zapewniają ekspertom wszelką niezbędną pomoc przy wykonywaniu ich zadań.

▼B

Ogólne zasady stosowania niniejszego artykułu przyjmuje się zgodnie z procedurą, o której mowa w art. 21 ust. 2.

ROZDZIAŁ III

PRZEPISY DLA PRZYWOZU KONIOWATYCH Z PAŃSTW TRZECICH

Artykuł 11

Koniowate przywożone do Wspólnoty muszą spełniać warunki określone w artykułach od 12 do 16.

Artykuł 12

1. Przywóz zwierząt z rodziny koniowatych do Wspólnoty dozwolony jest wyłącznie z państw trzecich znajdujących się w wykazie sporządzonym lub zmienionym zgodnie z procedurą, o której mowa w art. 21 ust. 2.

Biorąc pod uwagę sytuację zdrowotną oraz gwarancje przewidziane przez państwo trzecie dla zwierząt z rodziny koniowatych, można postanowić zgodnie z procedurą określoną w art. 21 ust. 2, że zezwolenie przewidziane w akapicie pierwszym niniejszego ustępu ma zastosowanie do całego terytorium państwa trzeciego lub wyłącznie do części jego terytorium.

W tym celu oraz na podstawie międzynarodowych norm, uwzględnia się jak państwo trzecie stosuje i wprowadza w życie te normy, w szczególności zasadę regionalizacji, w ramach własnego terytorium oraz w odniesieniu do swoich wymogów sanitarnych przy przywozie z innych państw trzecich oraz ze Wspólnoty.

2. W przypadku gdy wykaz przewidziany w ust. 1 jest sporządzany lub zmieniany, uwzględnia się w szczególności:

- a) stan zdrowia koniowatych, innych zwierząt domowych i dziko żyjących w państwie trzecim, ze szczególnym uwzględnieniem egzotycznych chorób zwierzęcych i wszelkich aspektów ogólnej sytuacji zdrowotnej oraz stanu środowiska w państwie trzecim, które mogą stanowić zagrożenie dla zdrowia i stanu środowiska we Wspólnocie;
- b) przepisy prawne państwa trzeciego w odniesieniu do zdrowia zwierząt i ich dobrostanu;
- c) organizację właściwego organu weterynaryjnego oraz jego służby kontrolne w państwie trzecim, uprawnienia tych służb, nadzór, jakiemu podlegają, oraz środki, jakimi dysponują, włączając kompetencje personelu i możliwości laboratoryjne, aby skutecznie stosować krajowe ustawodawstwo;
- d) zapewnienia, jakie właściwy organ weterynaryjny państwa trzeciego może dać odnośnie do zgodności lub równoważności z odpowiednimi warunkami zdrowotnymi zwierząt stosowanymi we Wspólnocie;

▼ B

- e) czy państwo trzecie jest członkiem Światowej Organizacji Zdrowia Zwierząt (OIE) oraz regularność i szybkość przekazywania informacji przez państwo trzecie odnoszących się do istnienia zaraźliwych lub zakaźnych chorób zwierząt na swoim terytorium, w szczególności tych chorób wymienionych przez OIE oraz w załączniku I do niniejszej dyrektywy;
- f) gwarancje udzielone przez państwo trzecie bezpośredniego powiadomienia Komisji oraz państw członkowskich:
 - (i) w ciągu 24 godzin, o potwierdzeniu wystąpienia chorób zakaźnych zwierząt z rodziny koniowatych wymienionych w załączniku I oraz powiadomienia o wszelkich zmianach w polityce szczepień dotyczącej takich chorób;
 - (ii) w ciągu właściwego okresu, o wszelkich wnioskowanych zmianach w krajowych zasadach sanitarnych dotyczących zwierząt z rodziny koniowatych, w szczególności dotyczących przywozu zwierząt z rodziny koniowatych;
 - (iii) w regularnych odstępach, o stanie zdrowia zwierząt na swoim terytorium dotyczących zwierząt z rodziny koniowatych;
- g) o wszelkich doświadczeniach w zakresie poprzednich przywozów zwierząt z rodziny koniowatych z państwa trzeciego i o wynikach przeprowadzonych kontroli przy przywozie;
- h) o wynikach wspólnotowych kontroli lub audytów przeprowadzonych w państwie trzecim, w szczególności o wynikach oceny właściwych organów lub, na wniosek Komisji, o sprawozdaniach przedłożonych przez właściwe organy państwa trzeciego w sprawie przeprowadzonych kontroli;
- i) o przepisach dotyczących zapobiegania i zwalczania zakaźnych lub zaraźliwych chorób zwierzęcych będących w mocy w państwie trzecim oraz o ich wykonaniu, włączając przepisy dotyczące przywozu zwierząt z rodziny koniowatych z innych państw trzecich.

3. Komisja odpowiada za udostępnienie opinii publicznej aktualnej wersji wykazu sporządzonego lub zmienionego zgodnie z ust. 1.

Wykaz ten może być łączony z innymi wykazami sporządzonymi dla celów zdrowia zwierząt i zdrowia publicznego oraz może zawierać wzory świadectw zdrowia.

4. Szczególne warunki przywozowe dla każdego państwa trzeciego lub grup państw trzecich, uwzględniające sytuację zdrowotną zwierząt z rodziny koniowatych danego państwa trzeciego lub państw, zostają ustanowione zgodnie z procedurą, o której mowa w art. 21 ust. 2.

5. Szczegółowe zasady stosowania ust. 1 do 4 oraz kryteria włączania państw trzecich lub części państw trzecich do wykazu przewidzianego w ust. 1 mogą zostać przyjęte zgodnie z procedurą, o której mowa w art. 21 ust. 2.

Artykuł 13

1. Koniowate muszą pochodzić z państw trzecich:
 - a) wolnych od afrykańskiego pomoru koni;
 - b) od dwóch lat wolnych od wenezuelskiego zapalenia mózgu i rdzenia koni (VEE);
 - c) od sześciu miesięcy wolnych od zarazy stadniczej koni i nosacizny.

▼B

2. Zgodnie z procedurą, o której mowa w art. 21 ust. 2 można:
- a) zadecydować, że przepisy ust. 1 niniejszego artykułu stosuje się tylko do części terytorium państwa trzeciego.

W przypadku gdy wymagania dotyczące afrykańskiego pomoru koni stosuje się na podstawie podziału na regiony, wówczas muszą być spełnione co najmniej środki przewidziane w art. 5 ust. 2 i 5;

- b) zażądać dodatkowych gwarancji dotyczących chorób niewystępujących na terytorium Wspólnoty.

Artykuł 14

Przed dniem załadunku do transportu do państwa członkowskiego przeznaczenia koniowate muszą przebywać na terytorium lub części terytorium państwa trzeciego albo, w przypadku podziału na regiony, na części terytorium określonego stosownie do art. 13 ust. 2 lit. a), bez przerwy, przez okres ustalony w decyzjach, które zostaną przyjęte zgodnie z art. 15.

Muszą one pochodzić z gospodarstwa umieszczonego pod nadzorem weterynaryjnym.

Artykuł 15

Przywóz koniowatych z terytorium państwa trzeciego lub jego części określonego zgodnie z art. 13 ust. 2 lit. a), znajdujących się na wykazie ustanowionym zgodnie z art. 12 ust. 1, zostaje zatwierdzony tylko wówczas, jeżeli koniowate są poza wymaganiami art. 13:

- a) spełniają wymogi inspekcji weterynaryjnej, przyjęte w odniesieniu do określonych gatunków kategorii koniowatych, zgodnie z procedurą, o której mowa w art. 21 ust. 2 dotyczącą przywozu koniowatych z tego kraju.

Podstawą dla ustalenia powyższych wymogów sanitarnych zwierząt będą normy ustanowione w art. 4 i 5; oraz

- b) w przypadku państwa trzeciego, które przez okres co najmniej sześciu miesięcy nie było wolne od pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej lub wirusowego zapalenia tętnic, koniowate muszą spełniać następujące wymagania:
- (i) muszą pochodzić z gospodarstwa, które było wolne od pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej przez co najmniej sześć miesięcy oraz muszą wykazać negatywną reakcję na test serologiczny przeprowadzony przed wysyłką;
 - (ii) w przypadku wirusowego zapalenia tętnic samce koniowatych muszą – niezależnie od przepisów art. 19 lit. b) – wykazać negatywną reakcję na test serologiczny lub test izolacji wirusa albo na każdy inny test uznany zgodnie z procedurą, o której mowa w art. 21 ust. 2 gwarantujący nieobecność wirusa.

▼B

Zgodnie z procedurą, o której mowa w art. 21 ust. 2 oraz po uzyskaniu opinii Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności kategorie samców koniowatych, do których ten wymóg będzie się odnosił mogą zostać określone.

Artykuł 16

1. Koniowate muszą być identyfikowane zgodnie z art. 4 ust. 4 oraz muszą być zaopatrzone w świadectwo zdrowia wystawione przez urzędowego lekarza weterynarii z państwa trzeciego wywozu. Świadectwo zdrowia musi:

- a) być wystawione w dniu załadunku zwierząt do wysyłki do państwa członkowskiego lub, w przypadku zarejestrowanych koni, w ostatnim dniu roboczym poprzedzającym załadunek;
- b) być wystawione w co najmniej jednym z oficjalnych języków państwa członkowskiego przeznaczenia oraz w jednym z języków państwa członkowskiego, w którym przeprowadza się inspekcję podczas przywozu;
- c) towarzyszyć zwierzętom w oryginale;
- d) zaświadczać, że zwierzęta spełniają wymagania niniejszej dyrektywy oraz te, które zostały ustalone w odniesieniu do przywozu z państw trzecich zgodnie z niniejszą dyrektywą;
- e) składać się z pojedynczej kartki;
- f) być wystawione dla pojedynczego odbiorcy albo, w przypadku zwierząt do uboju, dla partii zwierząt, założywszy, że zwierzęta te są odpowiednio oznakowane i identyfikowane.

Państwa członkowskie informują Komisję o korzystaniu z tej opcji.

2. Świadectwo zdrowia musi być wystawione na formularzu stosownym do wzoru ustalonego zgodnie z procedurą, o której mowa w art. 21 ust. 2.

Artykuł 17

1. Natychmiast po przybyciu do państwa członkowskiego przeznaczenia koniowate przeznaczone na ubój zostają przewiezione do rzeźni bezpośrednio albo po przejściu przez zatwierdzony punkt gromadzenia, o którym mowa w art. 7, i zgodnie z warunkami inspekcji weterynaryjnej zostają ubite w okresie przewidzianym w decyzjach, które mają być przyjęte zgodnie z art. 15.

2. Bez uszczerbku dla jakichkolwiek warunków szczególnych, które mogą zostać przyjęte zgodnie z procedurą, o której mowa w art. 21 ust. 2, właściwe organy państwa członkowskiego przeznaczenia mogą na podstawie warunków sanitarnych zwierząt wyznaczyć rzeźnię, do której muszą być zabrane zwierzęta koniowate.

Artykuł 18

W celu sprawdzenia, czy przepisy niniejszej dyrektywy, w szczególności art. 12 ust. 2, są stosowane w praktyce, eksperci weterynaryjni państw członkowskich oraz Komisja przeprowadzają kontrole na miejscu.

▼B

Jeśli kontrole przeprowadzone w granicach przepisów niniejszego artykułu ujawnią poważne fakty świadczące przeciwko zatwierdzonemu gospodarstwu, wówczas Komisja natychmiast informuje państwa członkowskie i niezwłocznie podejmuje decyzje tymczasowo zawieszające uprawnienia. Decyzja końcowa zostaje podjęta zgodnie z procedurą, o której mowa w art. 21 ust. 3.

Eksperti z państw członkowskich, którym zostaną powierzone powyższe kontrole, są zatrudnieni przez Komisję działającą na podstawie propozycji z państw członkowskich.

Kontrole te są dokonywane w imieniu Wspólnoty, która ponosi koszty wszelkich wydatków z tym związanych.

Częstotliwość i szczegóły tych kontroli zostają określone zgodnie z procedurą, o której mowa w art. 21 ust. 2.

Artykuł 19

Stanowiąc zgodnie z procedurą, o której mowa w art. 21 ust. 2:

- a) można zdecydować, że przywóz z państwa trzeciego lub jego części zostaje ograniczony do poszczególnych gatunków i kategorii koniowatych;
- b) niezależnie od art. 15 ustala się warunki specjalne dla tymczasowego wprowadzania na terytorium Wspólnoty zarejestrowanych koniowatych lub koniowatych przeznaczonych do użytku specjalnego oraz ich powtórnego wprowadzania na terytorium Wspólnoty po ich tymczasowym wywozie;
- c) określa się warunki dotyczące zamiany wprowadzenia czasowego na wprowadzenie stałe;
- d) można wyznaczyć laboratorium referencyjne Wspólnoty dla jednej lub więcej chorób zwierząt z rodziny koniowatych wymienionych w załączniku I oraz zapewnia się funkcje, zadania i procedury dotyczące współpracy z laboratoriami odpowiedzialnymi za diagnozowanie chorób zakaźnych zwierząt z rodziny koniowatych w państwach członkowskich.

ROZDZIAŁ IV

PRZEPISY KOŃCOWE*Artykuł 20*

Załączniki I do IV są zmieniane zgodnie z procedurą, o której mowa w art. 21 ust. 3.

Artykuł 21

1. Komisję wspomaga Stały Komitet ds. Łącucha Żywnościowego i Zdrowia Zwierząt ustanowiony na mocy art. 58 rozporządzenia (WE) nr 178/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 28 stycznia 2002 r. ustanawiającego ogólne zasady i wymagania prawa żywnościowego, powołującego Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności oraz ustanawiającego procedury w zakresie bezpieczeństwa żywności ⁽¹⁾.

⁽¹⁾ Dz.U. L 31 z 1.2.2002, s. 1.

▼B

2. W przypadku odesłania do niniejszego ustępu mają zastosowanie art. 5 i 7 decyzji 1999/468/WE.

Termin określony w art. 5 ust. 6 decyzji 1999/468/WE ustala się na trzy miesiące.

3. W przypadku odesłania do niniejszego ustępu mają zastosowanie art. 5 i 7 decyzji 1999/468/WE.

Termin określony w art. 5 ust. 6 decyzji 1999/468/WE ustala się na 15 dni.

Artykuł 22

Dyrektywa 90/426/EWG, zmieniona aktami wymienionymi w załączniku V, część A zostaje uchylona, bez uszczerbku dla zobowiązań państw członkowskich odnoszących się do terminów transpozycji do prawa krajowego dyrektyw określonych w załączniku V, część B.

Odesłania do uchylonej dyrektywy traktuje się jako odesłania do niniejszej dyrektywy, zgodnie z tabelą korelacji w załączniku VI.

Artykuł 23

Niniejsza dyrektywa wchodzi w życie dwudziestego dnia po jej opublikowaniu w *Dzienniku Urzędowym Unii Europejskiej*.

Artykuł 24

Niniejsza dyrektywa skierowana jest do państw członkowskich.

▼ B

ZALĄCZNIK I

CHOROBY PODLEGAJĄCE OBOWIĄZKOWI ZGŁASZANIA

Następujące choroby podlegają obowiązkowi zgłaszania:

- zaraza stadnicza koni,
- nosacizna,
- zapalenie mózgu i rdzenia koni (wszystkich typów, włączając wenezuelskie zapalenie mózgu i rdzenia koni),
- anemia zakaźna,
- wścieklizna,
- wąglik,
- afrykański pomór koni,
- pęcherzykowe zapalenie jamy ustnej.



ZALĄCZNIK II

WZÓR

ZAŚWIADCZENIE ZDROWIA ^(a)

Paszport nr

Ja, niżej podpisany, zaświadczam ^(b), że zwierzę z rodziny koniowatych, opisane powyżej, spełnia następujące wymagania:

- a) zostało przebadane w dniu dzisiejszym i nie wykazuje klinicznych objawów choroby;
- b) nie jest przeznaczone do uboju w ramach krajowego programu eliminowania chorób zakaźnych lub zaraźliwych;
- c) — nie pochodzi z terytorium lub części terytorium państwa członkowskiego, które były przedmiotem restrykcji z powodu afrykańskiego pomoru koni, lub

pochodzi z terytorium lub części terytorium państwa członkowskiego, które były przedmiotem zakazu z powodów związanych ze zdrowiem zwierząt i przeszło testy przewidziane w art. 5 ust. 5 dyrektywy 2009/156/WE w stacji kwarantanny ... od do ... ^(c), z zadowalającymi wynikami,

— nie jest zaszczepione przeciwko afrykańskiemu pomorowi koni, lub

zostało zaszczepione przeciwko afrykańskiemu pomorowi koni w dniu ^(c) ^(d);

- d) nie pochodzi z gospodarstwa, które było przedmiotem zakazów związanych ze zdrowiem zwierząt, ani nie miało kontaktu ze zwierzętami z rodziny koniowatych z gospodarstwa, które było przedmiotem zakazu z powodów związanych ze zdrowiem zwierząt:

— w okresie sześciu miesięcy w przypadku zwierząt z rodziny koniowatych podejrzanych o zakażenie zarazą stadniczą koni, licząc od dnia ostatniego faktycznego lub prawdopodobnego kontaktu z chorym zwierzęciem; jednak w przypadku ogiera, ten zakaz stosuje się do czasu wykastrowania zwierzęcia,

— w okresie sześciu miesięcy w przypadku nosaczyny albo wirusowego zakażenia mózgu i rdzenia u koni, licząc od dnia, w którym zwierzęta z rodziny koniowatych cierpiące na jedną z wymienionych chorób zostały ubite,

— w przypadku niedokrwistości zakaźnej, do dnia, w którym po uboju zakażonych zwierząt, pozostałe zwierzęta wykazały ujemną reakcję na dwa testy Cogginsa wykonane w trzymiesięcznych odstępach,

— w okresie sześciu miesięcy od wystąpienia ostatniego zachorowania, w przypadku pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej,

— jeden miesiąc od ostatnio notowanego przypadku występowania wścieklizny,

— 15 dni od ostatnio stwierdzonego przypadku węgliką,

— jeżeli wszystkie zwierzęta należące do gatunku wrażliwych na chorobę stwierdzoną w gospodarstwie zostały ubite, a pomieszczenia zdezynfekowane w ciągu 30 dni, licząc od dnia, w którym zwierzęta zostały zniszczone a pomieszczenia zdezynfekowane, z wyjątkiem przypadku węgliką, gdzie okres zakazu wynosi 15 dni;

^(a) Niniejsze zaświadczenie nie jest wymagane w przypadku gdy istnieje obopólna zgoda zgodnie z art. 6 dyrektywy 2009/156/WE.

^(b) Ważne przez 10 dni.

^(c) Niepotrzebne skreślić.

^(d) Data szczepienia musi zostać wpisana do paszportu.

▼ B

- e) według posiadanych przeze mnie informacji, zwierzę nie miało kontaktu ze zwierzętami z rodziny koniowatych, które w okresie 15 dni przed wydaniem niniejszego poświadczenia były dotknięte chorobą zakaźną lub zaraźliwą;
- f) podczas badania powyższe zwierzęta znajdowały się w stanie fizycznym kwalifikującym się do przewozu na planowanej trasie zgodnie z przepisami rozporządzenia (WE) nr 1/2005 ⁽⁴⁾.

Data	Miejsce	Pieczęć i podpis urzędowego lekarza weterynarii ⁽¹⁾

⁽¹⁾ Imię i nazwisko wielkimi literami oraz stanowisko.

⁽⁴⁾ Niniejsze oświadczenie nie zwalnia przewoźników z ich zobowiązań wynikających z obowiązujących przepisów wspólnotowych, dotyczących w szczególności stanu fizycznego zwierząt podlegających przewozowi.



ZAŁĄCZNIK III

WZÓR

ŚWIADECTWO ZDROWIA

dla handlu między państwami członkowskimi
ZWIERZĘTA Z RODZINY KONIOWATYCH

WSPÓLNOTA EUROPEJSKA

Świadectwo zdrowia dla zwierząt w obrocie wewnątrzspółnotowym

Część I. Szczegóły dotyczące przesyłki	I.1. Nadawca Nazwa Adres Kod pocztowy		I.2. Numer referencyjny świadectwa		I.2.a. Lokalny numer referencyjny:	
			I.3. Właściwy organ centralny			
			I.4. Właściwy organ lokalny			
	I.5. Odbiorca Nazwa Adres Kod pocztowy		I.6. Nr ref. oryginałów towarzyszących świadectw Nr ref. towarzyszących dokumentów			
			I.7.			
	I.8. Państwo pochodzenia		Kod ISO	I.9. Region pochodzenia		Kod
				I.10. Państwo przeznaczenia		Kod ISO
				I.11. Region przeznaczenia		Kod
	I.12. Miejsce pochodzenia Gospodarstwo <input type="checkbox"/> Miejsce gromadzenia <input type="checkbox"/> Inne <input type="checkbox"/> Nazwa Adres Kod pocztowy		I.13. Miejsce przeznaczenia Gospodarstwo <input type="checkbox"/> Miejsce gromadzenia <input type="checkbox"/> Zakład <input type="checkbox"/> Inne <input type="checkbox"/> Nazwa Adres Kod pocztowy			
			Numer zatwierdzenia			
	I.14. Miejsce załadunku Kod pocztowy		I.15. Data i godzina wyjazdu			
	I.16. Środki transportu Samolot <input type="checkbox"/> Statek <input type="checkbox"/> Kolej <input type="checkbox"/> Samochód <input type="checkbox"/> Inne <input type="checkbox"/> Oznakowanie:		I.17. Przewoźnik Nazwa Adres Kod pocztowy			
			Numer zatwierdzenia Państwo członkowskie			
I.18. Opis towaru		I.19. Kod Taryfy Celnej (PCN)				
		I.20. Liczba zwierząt/masa				
I.21.		I.22. Liczba opakowań				
I.23. Oznakowanie kontenera/nr plomby		I.24. Rodzaj opakowań				
I.25. Towar certyfikowany dla Hodowli <input type="checkbox"/> Zarejestrowane koniowate <input type="checkbox"/> Uboju <input type="checkbox"/> Inne <input type="checkbox"/>						
I.26. Tranzyt przez państwo trzecie <input type="checkbox"/> Państwo trzecie Punkt wejścia Punkt wejścia		Kod ISO Kod Nr PKG		I.27. Tranzyt przez państwa członkowskie <input type="checkbox"/> Państwo członkowskie Państwo członkowskie Państwo członkowskie		
				Kod ISO Kod ISO Kod ISO		
I.28. Eksport <input type="checkbox"/> Państwo trzecie Punkt wejścia		Kod ISO Kod		I.29. Szacunkowy czas podróży		
I.30. Plan podróży Tak <input type="checkbox"/> Nie <input type="checkbox"/>						
I.31. Oznakowanie towaru Gatunek (Nazwa naukowa) System identyfikacji						



WSPÓLNOTA EUROPEJSKA

Zarejestrowane koniowate, koniowate do chowu i produkcji koniowate przeznaczone na ubój

II. Informacja zdrowotna ⁽¹⁾		II.a. Numer referencyjny świadectwa	II.b. Miejscowy numer referencyjny
Ja, niżej podpisany, poświadczam, że opisane powyżej zwierzę/zwierzęta spełnia/spełniają następujące wymagania:			
Część II: Świadectwo	II.1	zostało/zostały zbadane w dniu dzisiejszym i nie wykazuje/wykazują klinicznych objawów choroby;	
	II.2	nie jest/są przeznaczone do uboju przeprowadzanego w ramach krajowego programu eliminowania chorób zakaźnych lub zaraźliwych;	
	<i>albo</i> ⁽²⁾ [II.3	nie pochodzi/pochodzą z terytorium lub części terytorium państwa członkowskiego, będącego przedmiotem ograniczeń w związku z afrykańskim pomorem koni;]	
	<i>albo</i> ⁽²⁾ [II.3.	pochodzi/pochodzą z terytorium lub części terytorium państwa członkowskiego, będącego przedmiotem ograniczeń w związku z afrykańskim pomorem koni, przebywało/przebywały przez okres przynajmniej 40 dni poprzedzających wystąpienie w chronionej przed owadami przenoszącymi choroby stacji kwarantanny i zostało/zostały poddane testowi w celu wykrycia przeciwciał wirusa afrykańskiego pomoru koni, zgodnie z załącznikiem IV do dyrektywy 2009/156/WE przeprowadzonemu równocześnie na dwóch próbkach krwi pobranych dwukrotnie w odstępie od 21 do 30 dni w dniu r. (<i>wstawić datę</i>) i w ciągu 10 dni przed wystąpieniem w dniu r. (<i>wstawić datę</i>);	
	<i>albo</i> ⁽³⁾	[test musi wykazać wynik negatywny, jeśli zwierzę/zwierzęta nie zostało/zostały zaszczepione przeciwko afrykańskiemu pomorowi koni;]	
	<i>albo</i> ⁽²⁾	[test nie może wykazać wzrostu miana przeciwciał, jeśli zwierzę/zwierzęta zostało/zostały zaszczepione przeciwko afrykańskiemu pomorowi koni;]	
	<i>albo</i> ⁽³⁾ [II.4	nie jest/są szczepione przeciwko afrykańskiemu pomorowi koni;]	
	<i>albo</i> ⁽²⁾ [II.4	zostało/zostały zaszczepione przeciwko afrykańskiemu pomorowi koni w dniu r. (<i>wstawić datę</i>);	
	<i>albo</i> ⁽³⁾	[co najmniej dwa miesiące przed wystawieniem świadectwa;]	
	<i>albo</i> ⁽²⁾	[co najmniej dwa miesiące przed wprowadzeniem do stacji kwarantanny;]	
II.5	nie pochodzi/pochodzą z gospodarstwa/gospodarstw, które z powodów związanych ze zdrowiem zwierząt było/były przedmiotem zakazu/zakazów, określającego/określających co najmniej jeden z poniższych warunków:		
<i>albo</i> ⁽³⁾	[nie wszystkie zwierzęta w gospodarstwie należące do gatunku wrażliwych na choroby wymienione w lit. od a) do g) poniżej zostały ubite, a okres zakazu wynosił co najmniej:		
a)	w przypadku koniowatych podejrzanych o zarażenie się zarazą stadniczą koni,		
<i>albo</i> ⁽²⁾	[sześć miesięcy, licząc od daty ostatniego faktycznego lub prawdopodobnego kontaktu ze zwierzęciem chorym lub zarażonym <i>Trypanosoma equiperdum</i> ;		
<i>albo</i> ⁽²⁾	[w przypadku ogiera ten zakaz stosuje się do czasu wykastrowania zwierzęcia;]		
b)	w przypadku nosaczyny - sześć miesięcy, licząc od dnia, w którym koniowate – cierpiące na tę chorobę, lub w przypadku których wyniki testu na obecność czynnika chorobotwórczego <i>Burkholderia mallei</i> lub przeciwciał na ten czynnik były pozytywne – zostały ubite i zniszczone;		
c)	w przypadku wirusowego zapalenia mózgu i rdzenia u koni (wszystkich typów) – sześć miesięcy, licząc od dnia, w którym zwierzęta z rodziny koniowatych cierpiące na tę chorobę zostały ubite, z wyjątkiem przypadków zarażenia się wirusem gorączki zachodniego Nilu, kiedy okres sześciu miesięcy liczy się od dnia, w którym zakażone koniowate zdechło, zostało usunięte z gospodarstwa lub wyzdrowiało;		


WSPÓLNOTA EUROPEJSKA Zarejestrowane koniowate, koniowate do chowu i produkcji koniowate przeznaczone na ubój

II. Informacja zdrowotna ⁽¹⁾	II.a. Numer referencyjny świadectwa	II.b. Miejscowy numer referencyjny
<p>d) w przypadku niedokrwiistości zakaźnej koni – do dnia, w którym po ubiciu zakażonych zwierząt, wykonany u pozostałych zwierząt na próbkach krwi pobranych dwukrotnie w odstępie trzech miesięcy test Cogginsa wykazał odczyn ujemny;</p> <p>e) w przypadku pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej – sześć miesięcy od wystąpienia ostatniego przypadku zachorowania;</p> <p>f) w przypadku wścieklizny – jeden miesiąc od ostatnio stwierdzonego przypadku;</p> <p>g) w przypadku wąglika – 15 dni od ostatnio stwierdzonego przypadku;</p> <p><i>albo</i> ⁽²⁾ [po wystąpieniu przypadków zarazy stadniczej koni, nosacizny, zapalenia mózgu i rdzenia koni (wszystkich typów), niedokrwiistości zakaźnej koniowatych, pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej, wąglika lub wścieklizny wszystkie zwierzęta należące do gatunków wrażliwych na chorobę stwierdzoną w gospodarstwie zostały ubite, a okres zakazu obejmował 30 dni lub 15 dni w przypadku wąglika, począwszy od dnia, w którym po uprzednim zniszczeniu zwierząt przeprowadzono skuteczną dezynfekcję pomieszczeń;]</p> <p>II.6 według posiadanych przeze mnie informacji, zwierzę/zwierzęta nie miało/miały kontaktu ze zwierzętami z rodziny koniowatych, które były dotknięte chorobą zakaźną lub zaraźliwą w okresie 15 dni przed wydaniem niniejszego oświadczenia;</p> <p>II.7 podczas badania było/były w stanie fizycznym kwalifikującym się do przewozu na planowanej trasie zgodnie z przepisami rozporządzenia (WE) nr 1/2005 ⁽³⁾.</p>		
<p>Uwagi</p> <p>Część I</p> <p>Rubryka I.6: odpowiada numerowi zezwolenia CITES w przypadku koniowatych wymienionych w waszyngtońskiej konwencji o gatunkach chronionych i produktach z nich pochodzących.</p> <p>Rubryka I.16: numer rejestracyjny (wagony kolejowe lub kontener i samochody ciężarowe), numer lotu (samolot) lub nazwa (statek).</p> <p>Rubryka I.19: zastosować właściwy kod Zharmonizowanego Systemu (HS) Światowej Organizacji Celnej: 01.01.01 albo 01.01.06.19.</p> <p>Rubryka I.31: gatunki: koń, osioł, muł, ostomut (w tym ich krzyżówki).</p> <p>System identyfikacyjny: do dnia 31 grudnia 2009 r. jest to numer identyfikacyjny zgodnie z art. 2 decyzji Komisji 2000/68/WE, a od dnia 1 stycznia 2010 r. jest to niepowtarzalny dożywotni numer zgodnie z art. 2 lit. d) i sekcji I część A pkt 4) załącznika I do rozporządzenia Komisji (WE) nr 504/2008.</p> <p>Część II</p> <p>⁽¹⁾ Informacje w pkt od II.1 do II.6 nie są wymagane, kiedy istnieje obopólna zgoda, stosownie do art. 6 dyrektywy 2009/156/WE.</p> <p>⁽²⁾ Niepotrzebne skreślić.</p> <p>⁽³⁾ Niniejsze oświadczenie nie zwalnia przewoźników z ich zobowiązań wynikających z obowiązujących przepisów wspólnotowych, dotyczących zwłaszcza stanu fizycznego zwierząt podlegających przewozowi.</p> <p>— Niniejsze świadectwo jest ważne przez okres 10 dni.</p> <p>— Kolor pieczęci i podpisu musi różnić się od koloru pozostałych adnotacji na świadectwie.</p>		
<p>Urzędowy lekarz weterynarii lub urzędowy inspektor</p> <p>Nazwisko i imię (drukowanymi literami):</p> <p>Miejscowa jednostka weterynaryjna:</p> <p>Data:</p> <p>Pieczęć:</p> <p>Kwalifikacje i tytuł:</p> <p>Numer powiązanej miejscowej jednostki weterynaryjnej:</p> <p>Podpis:</p>		

▼ **M2***ZALĄCZNIK IV***AFRYKAŃSKI POMÓR KONI****DIAGNOZOWANIE****CZĘŚĆ A**

Badania serologiczne

Opisana poniżej metoda serologiczna to test immunoenzymatyczny (ELISA) na podstawie pkt 2 sekcji B rozdziału 2.5.1 Podręcznika testów diagnostycznych i szczepionek dla zwierząt lądowych, przyjętego przez Światowe Zgromadzenie Delegatów OIE w maju 2012 r. (wydanie z 2016 r.).

Białko wirusowe VP7 jest głównym antygenem immunogennym wirusa afrykańskiego pomoru koni (AHSV) i występuje w dziewięciu serotypach wirusa AHSV. Rekombinowane białka AHSV-VP7 okazały się stabilne, nieszkodliwe i podatne do wykorzystania jako antygeny w badaniach ELISA służących wykrywaniu przeciwciał AHSV, dzięki wysokiemu poziomowi czułości i swoistości (Laviada i in., 1992b ⁽¹⁾; Maree i Pawęska, 2005). Pośredni test ELISA oraz blokujący test ELISA to dwa testy ELISA z wykorzystaniem AHS-VP7 odpowiednie do serologicznego diagnozowania afrykańskiego pomoru koni.

1. Pośredni test ELISA na obecność przeciwciał wirusa afrykańskiego pomoru koni (AHSV)

Koniugat wykorzystywany w tej metodzie to znakowana peroksydazą chrzastą antykońska IgG gamma-globulina reagująca z surowicą koni, mułów i osłów. W metodzie opisanej przez Maree i Pawęskę (2005) ⁽²⁾ jako koniugat wykorzystuje się białko G, które reaguje też z surowicą zebry.

Centro de Investigación en Sanidad Animal (CISA), Hiszpania, może dostarczyć antygeny w ciągu 4–6 miesięcy od złożenia wniosku.

1.1. Procedura badania

1.1.1. Faza stała

1.1.1.1. Pokryć płytki do testu ELISE rekombinowanym AHSV-4 VP7 rozpuszczonym w węglanowo-dwuwęglanowym buforze, pH 9,6. Płytki inkubować przez całą noc w temperaturze 4 °C.

1.1.1.2. Umyć płytki pięć razy wodą destylowaną zawierającą 0,01 % (v/v) Tween 20 (roztwór do mycia). Delikatnie postukać o materiał absorpcyjny w celu usunięcia pozostałości po myciu.

1.1.1.3. Zblokować płytki roztworem chlorku sodu buforowanym fosforanami (PBS) pH 7,2 + 5 % (w/v) odtłuszczonego mleka (Nestlé Dry Skim Milk TM), 200 µl/basenik przez 1 godzinę, w temperaturze 37 °C.

1.1.1.4. Usunąć roztwór blokujący i delikatnie postukać płytkami o materiał absorpcyjny.

⁽¹⁾ M.D. Laviada, P. Roy i J.M. Sanchez-Vizcaino (1992), Dostosowanie i ocena pośredniego testu ELISA i testu immunoblot do wykrywania przeciwciał afrykańskiego pomoru koni. Choroba niebieskiego języka, afrykański pomór koni i powiązanych orbivirusów – Materiały z drugiego międzynarodowego sympozjum, T.E. Walton i B.I. Osburn, Wyd. CRC Press, Boca Raton, Floryda, USA, s. 646–650.

⁽²⁾ S. Maree i J.T. Pawęska (2005), Przygotowanie antygenów rekombinowanego VP7 wirusa afrykańskiego pomoru koni przy użyciu prostej metody i zatwierdzenie pośredniego testu ELISA opartego o VP7 do wykrywania konkretnych grup przeciwciał IgG w surowicach koni, J. Virol. Methods, 125 (1), s. 55–65.

▼ **M2**

1.1.2. Próbki testowe

- 1.1.2.1. Próbki surowicy przeznaczone do testowania oraz dodatnią i ujemną surowicę kontrolną rozpuścić w stosunku 1 do 25 w PBS + 5 % (w/v) odtłuszczonego mleka + 0,05 % (v/v) Tween 20, 100 µl/basenik. Inkubować przez 1 godzinę w temperaturze 37 °C.

Do miareczkowania przygotować podwójne serie roztworów, począwszy od stosunku 1 do 25 (100 µl/basenik), jedna płytką z surowicą na kolumnę, te same czynności należy wykonać w przypadku kontroli dodatnich i ujemnych. Inkubować przez 1 godzinę w temperaturze 37 °C.

- 1.1.2.2. Umyć płytki pięć razy destylowaną wodą zawierającą 0,01 % (v/v) Tween 20 (roztwór do mycia). Delikatnie postukać o materiał absorpcyjny w celu usunięcia pozostałości po myciu.

1.1.3. Koniugat

- 1.1.3.1. Sporządzić 100 µl/basenik peroksydazę chrzanową (HRP) znakowaną antykońską IgG gamma-globuliną rozpuszczoną w PBS + 5 % mleka + 0,05 % Tween 20, pH 7,2. Inkubować przez 1 godzinę w temperaturze 37 °C.

- 1.1.3.2. Umyć płytki pięć razy destylowaną wodą zawierającą 0,01 % (v/v) Tween 20 (roztwór do mycia). Delikatnie postukać o materiał absorpcyjny w celu usunięcia pozostałości po myciu.

1.1.4. Chromogen/substrat

- 1.1.4.1. Dodać 200 µl/basenik roztworu chromogenu/substratu (10 ml z 80,6 mM DMAB (dimetyloaminobenzaldehyd) + 10 ml w 1,56 mM MBTH (chlorowodorek hydrazonu 3-metylo-2-benzo-tiazoliny) + 5 µl H₂O₂).

Rozwój koloru zostanie powstrzymany poprzez dodanie po około 5–10 minutach (zanim kontrola ujemna zacznie nabierać koloru) 50 µl 3N H₂SO₄.

Można stosować również inne chromogeny, takie jak: ABTS (kwas 2,2'-azynobis-3-etylobenzotiazolin-6-sulfonowy), TMB (tetrametylobenzzydina) lub OPD (ortofenyldiamina).

- 1.1.4.2. Odczytu płytek dokonywać na 600 nm (lub 620 nm).

1.2. *Interpretacja wyników*

- 1.2.1. Ustalić wartość graniczną, dodając do wartości kontroli ujemnej 0,06 (0,06 to odchylenie standardowe obliczone na 30-elementowej grupie próbek surowicy ujemnej).

- 1.2.2. Próbki, których wartości absorpcji są niższe od wartości granicznej, uznaje się za ujemne.

- 1.2.3. Próbki, których wartości absorpcji są wyższe od wartości granicznej powiększonej o + 0,15, uznaje się za dodatnie.

- 1.2.4. Próbki, których wartości absorpcji są umiarkowane, uznaje się za niejednoznaczne i w celu potwierdzenia wyników należy zastosować drugą technikę.

▼ **M2****2. Blokujący test ELISA na obecność przeciwciał wirusa afrykańskiego pomoru koni (AHSV)**

Kompetycyjny blokujący test ELISA zaprojektowano do wykrywania określonych przeciwciał AHSV w surowicy zwierząt dowolnego gatunku koniowatych, tj. koni, osłów, zebra i ich krzyżówek oraz zapobieżenia problemowi swoistości doświadczanemu sporadycznie przy stosowaniu pośrednich testów ELISA.

Test opiera się na zablokowaniu reakcji między rekombinowanym białkiem VP7 wchłoniętym w płytkę do testu ELISA a zespolonym przeciwciałem monoklonalnym właściwym dla AHS-VP7. Przeciwciała w surowicy testowej zablokują reakcję między antygenem a przeciwciałem monoklonalnym, powodując redukcję intensywności koloru. Przeciwciała monoklonalne skierowane jest także przeciwko VP7, dlatego badanie charakteryzuje się wysokim poziomem czułości i swoistości.

Kompetycyjny blokujący test ELISA jest dostępny na rynku.

2.1. Procedura badania**2.1.1. Faza stała**

2.1.1.1. Pokryć płytki do testu ELISA 50–100 ng rekombinowanego AHSV-4 VP7 rozpuszczonego w węglanowo-dwuwęglanowym buforze, pH 9,6. Inkubować przez całą noc w temperaturze 4 °C.

2.1.1.2. Umyć płytki trzykrotnie roztworem chlorku sodu buforowanym fosforanami (PBS) 0,1× zawierającym 0,135 M NaCl i 0,05 % (v/v) Tween 20 (PBST). Delikatnie postukać o materiał absorpcyjny w celu usunięcia pozostałości po myciu.

2.1.2. Próbkki testowe i kontrole

2.1.2.1. Próbkki surowicy przeznaczone do testowania oraz dodatnią i ujemną surowicę kontrolną rozpuszcza się w stosunku 1:5 w rozcieńczalniku zawierającym 0,35 M NaCl, 0,05 % (v/v) Tween 20 i 0,1 % Kathon, 100 µl/basenik. Inkubować przez 1 godzinę w temperaturze 37 °C.

Do miareczkowania przygotować podwójne serie roztworów surowicy testowej, począwszy od stosunku 1:10 do 1:280 w ośmiu basenikach (100 µl/basenik), jedna płytka z surowicą na kolumnę, przy czym te same czynności należy wykonać w przypadku kontroli dodatnich i ujemnych. Inkubować przez 1 godzinę w temperaturze 37 °C.

2.1.2.2. Umyć płytki pięciokrotnie roztworem chlorku sodu buforowanym fosforanami (PBS) 0,1× zawierającym 0,135 M NaCl i 0,05 % (v/v) Tween 20 (PBST). Delikatnie postukać o materiał absorpcyjny w celu usunięcia pozostałości po myciu.

2.1.3. Koniugat

2.1.3.1. Sporządzić 100 µl/basenik przeciwciała monoklonalnego anty-VP7 sprężonego z peroksydazą chrzanową. Wcześniej to przeciwciała monoklonalne rozcieńczono w proporcji 1/5 000–1/15 000 w roztworze 1:1 StabiliZyme Select® Stabilizer (SurModics. Ref. SZ03) i wody destylowanej. Inkubować przez 30 minut w temperaturze 37 °C.

2.1.3.2. Umyć płytki pięciokrotnie roztworem chlorku sodu buforowanym fosforanami (PBS) 0,1× zawierającym 0,135 M NaCl i 0,05 % (v/v) Tween 20 (PBST). Delikatnie postukać o materiał absorpcyjny w celu usunięcia pozostałości po myciu.

▼ M2

2.1.4. Chromogen/substrat

Dodać 100 µl/basenik roztworu chromogenu/substratu, tj. 1 ml ABTS (kwasu 2,2'-azylobis-3-etylobenzotiazolin-6-sulfonowego) 5 mg/ml + 9 ml buforu substratowego (0,1 M buforu cytrynianu fosforanu o pH 4, zawierającego 0,03 % H₂O₂), i inkubować przez 10 minut w temperaturze pokojowej. Rozwój koloru zatrzymuje się przez dodanie 100 µl/basenik 2 % (w/v) SDS (dodecylosiarczanu sodu).

2.1.5. Odczyt

Odczytywać przy pomocy czytnika ELISA na 405 nm.

2.2. Interpretacja wyników

2.2.1. Określić współczynnik blokowania każdej próbki za pomocą następującego wzoru, gdzie „Abs” oznacza przeciwciała:

$$\text{współczynnik blokowania} = \frac{\text{Abs}(\text{wzorcowe}^-) - \text{Abs}(\text{próbki})}{\text{Abs}(\text{wzorcowe}^-) - \text{Abs}(\text{wzorcowe}^+)} \times 100$$

2.2.2. Dla próbek wykazujących wartość współczynnika blokowania wyższą niż 50 % wynik wykrywania przeciwciał AHSV uznaje się za dodatni.

2.2.3. Dla próbek wykazujących wartość współczynnika blokowania niższą niż 45 % wynik wykrywania przeciwciał AHSV uznaje się za ujemny.

2.2.4. Dla próbek wykazujących wartość współczynnika blokowania między 45 % a 50 % wynik uznaje się za niejednoznaczny i należy zbadać je ponownie. Jeżeli wynik ponownie jest niejednoznaczny, zwierzęta należy ponownie poddać testom na podstawie próbek pobranych nie wcześniej niż dwa tygodnie po pobraniu próbek, które okazały się niejednoznaczne.

CZĘŚĆ B

Identyfikacja czynnika chorobotwórczego

Łańcuchowa reakcja polimerazy z odwrotną transkrypcją w czasie rzeczywistym (RT-PCR w czasie rzeczywistym)

Test na obecność czynnika chorobotwórczego w oparciu o metody wykrywania kwasów nukleinowych musi wykazać szczepy referencyjne z dziewięciu serotypów wirusa AHSV.

Metoda opisana w pkt 2.1 opiera się na pkt 1.2 sekcji B rozdziału 2.5.1 Podręcznika testów diagnostycznych i szczepionek dla zwierząt lądowych, przyjętego przez Światowe Zgromadzenie Delegatów OIE w maju 2012 r. (wydanie z 2016 r.).

Wszelkie metody wykrywania RT-PCR stosowane do badania próbek krwi lub śledziony w kontekście dyrektywy 2009/156/WE należy wykonywać z dokładnością odpowiadającą co najmniej dokładności metody opisanej w pkt 2 lub większą.

Inaktywowane referencyjne szczepy serotypów 1–9 wirusa można otrzymać z laboratorium referencyjnego Unii Europejskiej lub z laboratorium referencyjnego OIE w Algete, Hiszpania, zajmującego się afrykańskim pomorem koni.

1. Izolacja RNA wirusa

W celu zapewnienia odpowiedniej reakcji ekstrakt należy pobrać z próby RNA AHSV wysokiej jakości. Izolację kwasów nukleinowych z próbek klinicznych można przeprowadzać za pomocą różnych metod własnych i metod dostępnych na rynku.

▼ **M2**

Zestawy dostępne w sprzedaży wykorzystują inne podejście do izolacji RNA. Większość z nich oparta jest na jednej z następujących procedur:

- izolacja kwasów nukleinowych fenolem i chloroformem,
- adsorpcja kwasów nukleinowych na system filtrów,
- adsorpcja kwasów nukleinowych na kulki magnetyczne.

Niżej podano przykład metody własnej izolacji RNA:

- 1.1. 1 g próbki tkanki homogenizuje się w 1 ml roztworu czynnika denaturującego (4 M tiocyjanianu guanidyny, 25 mM cytrynianu sodu, 0,1 M 2-merkaptoetanolu, 0,5 % sarkozynianu laurylosiarczanu sodowego).
- 1.2. Po odwirowaniu do supernatantu dodaje się 1 µg RNA drożdży; 0,1 ml 2 M octanu sodu, pH 4,1; 1 ml fenolu i 0,2 ml mieszaniny alkoholowej chloroformu/alkoholu izoamyłowego (49/1).
- 1.3. Zawiesinę wstrząsa się energicznie, a następnie schładza na lodzie przez 15 minut.
- 1.4. Po odwirowaniu RNA obecny w fazie wodnej jest ponownie zawieszony w sterylnej wodzie, wolny od fenolu, a etanol jest wytrącony.

2. Procedura RT-PCR w czasie rzeczywistym

- 2.1. *Swoisty grupowo RT-PCR w czasie rzeczywistym, Agüero i in., 2008* ⁽¹⁾

Ten swoisty grupowo RT-PCR w czasie rzeczywistym ukierunkowany jest na VP7 AHSV i umożliwia wykrywanie wszystkich znanych krążących obecnie serotypów i szczepów AHSV. Był on stosowany z bardzo dobrymi wynikami przez krajowe laboratoria referencyjne państw członkowskich Unii Europejskiej uczestniczących corocznie w badaniach biegłości organizowanych przez laboratorium referencyjne Unii Europejskiej w latach 2009–2015. Protokół ten znalazł się ponadto pośród najlepiej ocenionych w międzynarodowym porównaniu międzylaboratoryjnym zorganizowanym w 2015 r. w ramach sieci laboratoriów referencyjnych OIE.

Sekwencje startera i sondy na potrzeby wykrywania wirusów gatunku AHSV:

- starter sensowny 5'-CCA-GTA-GGC-CAG-ATC-AAC-AG-3'
- starter antysensowny 5'-CTA-ATG-AAA-GCG-GTG-ACC-GT-3'
- sonda TaqMan® MGB 5'-FAM-GCT-AGC-AGC-CTA-CCA-CTA-MGB-3'

- 2.1.1. Wyjściowe stężenie startera rozcieńcza się do stężenia roboczego 8 µM („zapas roboczy startera 8 µM²⁾”), natomiast sondę rozcieńcza się do stężenia roboczego 50 µM („zapas roboczy sondy 50 µM²⁾”). Forma płytki do badań winna być odpowiednio zaprojektowana i wprowadzona do oprogramowania urządzenia do PCR w czasie rzeczywistym. Stosując formę jako wskaźnik, 2,5 µl każdego startera z zapasu roboczego 8 µM dodaje się do każdego basenika zawierającego próbki RNA, kontrole dodatnie lub ujemne (końcowe stężenie startera w 20 µl RT-PCR mix wynosić będzie 1 µM). Płytkę trzyma się na lodzie.

⁽¹⁾ M. Agüero, C. Gomez-Tejedor, M. Angeles Cubillo, C. Rubio, E. Romero i A. Jimenez-Clavero (2008), Łańcuchowa reakcja polimerazy z odwrotną transkrypcją w czasie rzeczywistym na potrzeby wykrywania wirusa afrykańskiego pomoru koni, J. Vet. Diagn. Invest., 20, s. 325–328.

▼ **M2**

- 2.1.2. 2 µl wyizolowanego RNA (próbki do testów i kontrola dodatnia) lub 2 µl wody wolnej od RNaz, której wynik badań był ujemny, miesza się ze starterem sensownym i antysensownym. Mieszanina ta poddawana jest denaturacji przez ogrzewanie w temperaturze 95 °C przez 5 minut, a następnie szybkie schłodzenie na lodzie przez co najmniej 5 minut.
- 2.1.3. Właściwą objętość Master Mix do jednoetapowego RT-PCR w czasie rzeczywistym na liczbę próbek do badania przygotowuje się według instrukcji producenta. 0,1 µl z 50 µM zapasu roboczego sondy dodaje się do każdego basenika zawierającego próbki RNA (w każdym baseniku zawierającym próbki RNA końcowe stężenie sondy wynosić będzie 0,25 µM). 13 µl Master Mix do jednoetapowego RT-PCR w czasie rzeczywistym rozdziela się do każdego basenika płytki PCR, zawierającego zdenaturowane startery i RNA.
- 2.1.4. Płytkę umieszcza się termocyklerze do analizy PCR w czasie rzeczywistym zaprogramowanym na odwrotną transkrypcję i amplifikację cDNA/detekcję fluorescencyjną. Warunki amplifikacji polegają na tym, że pierwszy etap odwrotnej transkrypcji odbywa się w temperaturze 48 °C przez 25 minut, następnie 10 minut przy 95 °C („hot start”) i 40 cykli po 15 sekund w temperaturze 95 °C, 35 sekund w temperaturze 55 °C i 30 sekund w temperaturze 72 °C (lub 40 cykli w temperaturze 97 °C przez 2 sekundy i 55 °C przez 30 sekund, jeżeli odczynniki i termocykler umożliwiają stosowanie szybkich reakcji). Fluorescencja cząsteczek pojawia się na koniec etapu 55 °C.
- 2.1.5. Jeżeli uzyskane krzywe amplifikacji są nietypowe, badanie uznaje się za nieważne i należy je powtórzyć.

Próbki uznaje się za dodatnie, jeżeli wartości Ct (numer cyklu, pod którym fluorescencja wytworzona w reakcji przekracza próg fluorescencji) nie przekraczają określonego progu Ct (35) w ciągu 40 cykli PCR (Ct ≤ 35).

Próbki uznaje się za niejednoznaczne, jeżeli w 40 cyklach PCR wartość Ct jest wyższa od określonego progu Ct (35) (Ct ≥ 35).

Próbki uznaje się za ujemne, jeżeli uzyskana krzywa amplifikacji jest horyzontalna i nie przekracza progu w ciągu 40 cykli PCR.

- 2.2. *Swoisty grupowo RT-PCR w czasie rzeczywistym, Guthrie i in., 2013* ⁽¹⁾

RT-PCR w czasie rzeczywistym z wykorzystaniem sond FRET (ang.: *Förster Resonance Energy Transfer*) do wykrywania kwasu nukleinowego AHSV.

Test RT-PCR na obecność AHSV zaprojektowano z zastosowaniem sekwencji wielu krążących obecnie szczepów AHSV (Quan i in., 2010 ⁽²⁾). Obejmuje on także syntetyczny test kontroli zewnętrznej przeprowadzony przez producenta, aby sprawdzić prawidłowy przebieg oznaczania składników.

Zestawy do jednoetapowego RT-PCR w czasie rzeczywistym są dostępne w handlu. Poniżej kilka podstawowych kroków wg opisu Guthrie i in. (2013), które można modyfikować w zależności od wymogów lokalnych lub wymogów dla konkretnego przypadku, dostępnych zestawów i urządzeń.

⁽¹⁾ A.J. Guthrie, N.J. MacLachlan, C. Joone, C.W. Lourens, C.T. Weyer, M. Quan, M.S. Monyai, I.A. Gardner, Diagnostyczna precyzja dupleksowej łańcuchowej reakcji polimerazy z odwrotną transkrypcją w czasie rzeczywistym przy wykrywaniu wirusa afrykańskiego pomoru koni (ang. *Diagnostic accuracy of a duplex real-time reverse transcription quantitative PCR assay for detection of African horse sickness virus*), *Journal of Virological Methods*, 2013;189(1):30-5.

⁽²⁾ M. Quan, C.W. Lourens, N.J. MacLachlan, I.A. Gardner, A.J. Guthrie, 2010, Rozwój i optymalizacja dupleksowej ilościowej łańcuchowej reakcji polimerazy z odwrotną transkrypcją w czasie rzeczywistym ukierunkowanej na VP7 i geny NS2 wirusa afrykańskiego pomoru koni, *J. Virol. Methods* 167, s. 45–52.

▼ **M2**

Sekwencje startera i sondy na potrzeby wykrywania wirusów gatunku AHSV:

— starter sensowny	5'-AGA-GCT-CTT-GTG-CTA-GCA-GCC-T-3'
— starter antysensowny	5'-GAA-CCG-ACG-CGA-CAC-TAA-TGA-3'
— sonda TaqMan® MGB	5'-FAM-TGC-ACG-GTC-ACC-GCT-MGB-3'

- 2.2.1. Roztwory podstawowe mieszaniny startera i sondy przygotowuje się w stężeniu o 25-krotnej wartości stężenia dla 5 µM starterów sensownych i antysensownych oraz 3 µM dla sondy. Forma płytki do badań winna być odpowiednio zaprojektowana i wprowadzona do oprogramowania urządzenia do PCR w czasie rzeczywistym. Stosując formę jako wskazówkę, 5 µl próbek RNA, w tym próbki do testów oraz kontrole dodatnie i ujemne, dodaje się do odpowiednich baseników płytki, w zależności od formy.
- 2.2.2. RNA poddaje się denaturacji przez ogrzewanie w temperaturze 95 °C przez 5 minut, a następnie szybkie schłodzenie na lodzie przez co najmniej 3 minuty.
- 2.2.3. Właściwą objętość Master Mix do jednoetapowego RT-PCR w czasie rzeczywistym na liczbę próbek do badania przygotowuje się według instrukcji producenta. 1 µl 25-krotnej wartości roztworu podstawowego startera i sondy (z pkt 2.2.1 powyżej) dodaje się do Master Mix w celu uzyskania w każdym baseniku końcowego stężenia 200 nM dla każdego startera i 120 nM dla sondy. 20 µl Master Mix rozdziela się do każdego basenika płytki PCR, zawierającego zdenaturowany RNA.
- 2.2.4. Płytkę umieszcza się w termocyklerze do analizy PCR w czasie rzeczywistym zaprogramowanym na odwrotną transkrypcję i amplifikację cDNA/detekcję fluorescencyjną, zgodnie z zaleceniami producentów. Warunki amplifikacji polegają np. na tym, że pierwszy etap odwrotnej transkrypcji odbywa się w temperaturze 48 °C przez 10 minut, a następnie przez 10 minut w temperaturze 95 °C i 40 cykli po 15 sekund w temperaturze 95 °C i 45 sekund w temperaturze 60 °C.
- 2.2.5. Próbkę uznaje się za dodatnie, jeśli znormalizowana fluorescencja w teście RT-PCR na obecność AHSV przekracza próg 0,1 w ciągu 36 cykli PCR we wszystkich kontrpróbach.

Próbki uznaje się za niejednoznaczne, jeśli znormalizowana fluorescencja w teście RT-PCR na obecność AHSV przekracza próg 0,1 w ciągu 36–40 cykli PCR w jakiegokolwiek kontrpróbie.

Próbki uznaje się za ujemne, jeżeli znormalizowana fluorescencja w teście RT-PCR na obecność AHSV nie przekracza progu 0,1 w ciągu 40 cykli PCR we wszystkich kontrpróbach oraz jeżeli znormalizowana fluorescencja w syntetycznym teście kontroli zewnętrznej przeprowadzonym przez producenta przekroczyła próg 0,1 w ciągu 33 cykli PCR.



ZAŁĄCZNIK V

CZĘŚĆ A

Uchylona dyrektywa i wykaz jej kolejnych zmian

(o których mowa w art. 22)

Dyrektywa Rady 90/426/EWG
(Dz.U. L 224 z 18.8.1990, s. 42)

Dyrektywa Rady 90/425/EWG
(Dz.U. L 224 z 18.8.1990, s. 29)

tylko art. 15 ust. 3

Dyrektywa Rady 91/496/EWG
(Dz.U. L 268 z 24.9.1991, s. 56)

tylko art. 26 ust. 2, w odniesieniu do dyrektywy 90/426/EEC

Decyzja Komisji (EWG) nr 92/130
(Dz.U. L 47 z 22.2.1992, s. 26)

Dyrektywa Rady 92/36/EWG
(Dz.U. L 157 z 10.6.1992, s. 28)

tylko art. 1

Akt przystąpienia z 1994 r., załącznik I pkt V.E.I.A.3
(Dz.U. C 241 z 29.8.1994, s. 132)

Decyzja Komisji 2001/298/WE
(Dz.U. L 102 z 12.4.2001, s. 63)

tylko art. 1 ust. 1 oraz załącznik I pkt 2, w odniesieniu do dyrektywy 90/426/EEC

Decyzja Komisji 2002/160/WE
(Dz.U. L 53 z 23.2.2002, s. 37)

Rozporządzenie Rady 806/2003/WE
(Dz.U. L 122 z 16.5.2003, s. 1)

tylko załącznik III, pkt 10

Akt przystąpienia z 2003 r., załącznik II pkt 6.B.I.16
(Dz.U. L 236 z 23.9.2003, s. 381)

Dyrektywa Rady 2004/68/WE
(Dz.U. L 139 z 30.4.2004, s. 321)

tylko art. 15

Dyrektywa Rady 2006/104/WE
(Dz.U. L 363 z 20.12.2006, s. 352)

tylko załącznik, pkt I.2

Dyrektywa Rady 2008/73/WE
(Dz.U. L 219 z 14.8.2008, s. 40)

tylko art. 7

CZĘŚĆ B

Lista terminów transpozycji do prawa krajowego

(o których mowa w art. 22)

Dyrektywa	Termin transpozycji
90/426/EWG	1 stycznia 1992 r.
90/425/EWG	1 lipca 1992 r.
91/496/EWG	1 lipca 1992 r.
92/36/EWG	31 grudnia 1992 r.
2004/68/WE	19 listopada 2005 r.
2006/104/WE	1 stycznia 2007 r.
2008/73/WE	1 stycznia 2010 r.



ZAŁĄCZNIK VI

Tabela korelacji

Dyrektywa 90/426/EWG	Niniejsza dyrektywa
art. 1	art. 1
art. 2 lit. a) i b)	art. 2 lit. a) i b)
art. 2 lit. c)	art. 2 lit. c) ppkt (i) oraz (ii)
art. 2 lit. od d) do i)	art. 2 lit. od d) do i)
art. 3	art. 3
art. 4 ust. 1, 2 i 3	art. 4 ust. 1,2 i 3
art. 4 ust. 4 ppkt (i) oraz (ii)	art. 4 ust. 4 lit. a) i b)
art. 4 ust. 5 lit. a), tiret od pierwszego do szóstego	art. 4 ust. 5 lit. a), ppkt od (i) do (vi)
art. 4 ust. 5 lit. b)	art. 4 ust. 5 lit. b)
art. 4 ust. 6, akapit pierwszy, tiret od pierwszego do ósmego	art. 4 ust. 6, akapit pierwszy, lit. od a) do h)
art. 4 ust. 6, akapit drugi i trzeci	art. 4 ust. 6, akapit drugi i trzeci
art. 5 ust. 1	art. 5 ust. 1
art. 5 ust. 2 lit. a)	art. 5 ust. 2, akapit pierwszy lit. a) i b)
art. 5 ust. 2 lit. b)	art. 5 ust. 2, akapit drugi lit. a) i b)
art. 5 ust. 2 lit. c)	art. 5 ust. 3
art. 5 ust. 2 lit. d)	art. 5 ust. 4
art. 5 ust. 3 lit. a) i b)	art. 5 ust. 5 lit. a) i b)
art. 5 ust. 3 lit. c), tiret pierwsze i drugie	art. 5 ust. 5 lit. c), akapit pierwszy, ppkt (i) oraz (ii)
art. 5 ust. 3 lit. c), tiret drugie, ostatnie zdanie	art. 5 ust. 5 lit. c), akapit drugi
art. 5 ust. 3 lit. d) i e)	art. 5 ust. 5 lit. d) i e)
art. 6	art. 6
art. 7	art. 7
art. 8 ust. 1, akapit pierwszy, tiret pierwsze i drugie	art. 8 ust. 1 lit. a) i b)
art. 8 ust. 1, akapit drugi	art. 8 ust. 2
art. 8 ust. 2	art. 8 ust. 3
art. 9	art. 9
art. 10	art. 10

▼B

Dyrektywa 90/426/EWG	Niniejsza dyrektywa
art. 11 ust. 1	art. 11
art. 11 ust. 2	—
art. 12	art. 12
art. 13	art. 13
art. 14	art. 14
art. 15	art. 15
art. 16 ust. 1 lit. od a) do f)	art. 16 ust. 1 lit. od a) do f)
art. 16 ust. 1, ostatnie zdanie	—
art. 16 ust. 2	art. 16 ust. 2
art. 17	art. 18
art. 18	art. 17
art. 19 ppkt od (i) do (iv)	art. 19 lit. od a) do d)
art. 22	—
art. 23	art. 20
art. 24 ust. 1 i 2	art. 21 ust. 1 i 2
art. 24 ust. 3	—
art. 25 ust. 1 i 2	art. 21 ust. 1 i 3
art. 26	—
art. 27	—
—	art. 22
—	art. 23
art. 28	art. 24
załącznik A	załącznik I
załącznik B	załącznik II
załącznik C	załącznik III
załącznik D	załącznik IV
—	załącznik V
—	załącznik VI