

31994D0577

L 221/26

DZIENNIK URZĘDOWY WSPÓLNOT EUROPEJSKICH

26.8.1994

**DECYZJA KOMISJI**  
**z dnia 15 lipca 1994 r.**  
**dotycząca warunków zdrowotnych zwierząt i świadectw weterynaryjnych dla przywozu nasienia bydła**  
**z państw trzecich**

(94/577/WE)

KOMISJA WSPÓLNOT EUROPEJSKICH,

uwzględniając Traktat ustanawiający Wspólnotę Europejską,

uwzględniając dyrektywę Rady 88/407/EWG z dnia 14 czerwca 1988 r. ustanawiającą warunki zdrowotne zwierząt wymagane w handlu wewnątrzwspólnotowym oraz w przywozie zamrożonego nasienia bydła domowego <sup>(1)</sup>, ostatnio zmieniona dyrektywą 93/60/EWG <sup>(2)</sup>, w szczególności jej art. 10 i 11,

a także mając na uwadze, co następuje:

wykaz państw trzecich, z których Państwa Członkowskie zatwierdzają przywóz nasienia bydła domowego (zwany dalej „wykazem państw trzecich”) został ustanowiony decyzją Komisji 90/14/EWG <sup>(3)</sup>, ostatnio zmienioną decyzją 91/276/EWG <sup>(4)</sup>;

sytuacja w zakresie chorób w Izraelu doprowadziła decyzją Komisji 91/277/EWG <sup>(5)</sup> do zakazu przywozu z tego państwa;

decyzje Komisji 91/479/EWG <sup>(6)</sup>, 91/549/EWG <sup>(7)</sup>, 92/123/EWG <sup>(8)</sup>, 92/124/EWG <sup>(9)</sup>, 92/125/EWG <sup>(10)</sup>, 92/126/EWG <sup>(11)</sup>, 92/127/EWG <sup>(12)</sup>, 92/128/EWG <sup>(13)</sup>, 92/386/EWG <sup>(14)</sup>, 92/387/EWG <sup>(15)</sup> oraz 92/445/EWG <sup>(16)</sup>

ustanawiają warunki zdrowotne zwierząt oraz świadectwa weterynaryjne dla przywozu nasienia bydła, odpowiednio, ze Stanów Zjednoczonych Ameryki Północnej, Kanady, Polski, Finlandii, Nowej Zelandii, Austrii, Szwajcarii, Szwecji, Węgier, Norwegii i Czechosłowacji;

dyrektywa 93/60/EWG, która musi zostać wprowadzona w życie w Państwach Członkowskich najpóźniej do dnia 1 lipca 1994 r., zmienia dyrektywę 88/407/EWG w następstwie powodując konieczność wprowadzenia zmian do wyżej wspomnianych decyzji, dotyczących poszczególnych państw trzecich; w celu uproszczenia i wyjaśnienia legislacji wspólnotowej w tym zakresie, niezbędne jest pogrupowanie wyżej wspomnianych decyzji oraz uchylenie decyzji obowiązujących odrębnie w odniesieniu do poszczególnych państw;

z uwagi na odpowiednie przepisy Porozumienia o Europejskim Obszarze Gospodarczym, nie jest konieczne zachowanie świadectw zdrowia zwierząt dla przywozu nasienia bydła z Austrii, Finlandii, Norwegii oraz Szwecji;

zgodnie z opinią Naukowego Komitetu Weterynaryjnego, wymagany jest dodatkowy test na epizootyczną chorobę krwotoczną;

tylko w stosunku do Kanady przeprowadzane są przed pobieraniem rutynowe testy na obecność tej choroby, przeprowadzane w sześciomiesięcznych odstępach dlatego jest konieczne ustanowienie okresu przejściowego, dla wprowadzenia niniejszej decyzji

<sup>(1)</sup> Dz.U. L 194 z 22.7.1988, str. 10.

<sup>(2)</sup> Dz.U. L 186 z 28.7.1993, str. 28.

<sup>(3)</sup> Dz.U. L 8 z 11.1.1990, str. 71.

<sup>(4)</sup> Dz.U. L 135 z 30.5.1991, str. 58.

<sup>(5)</sup> Dz.U. L 135 z 30.5.1991, str. 60.

<sup>(6)</sup> Dz.U. L 258 z 16.9.1991, str. 1.

<sup>(7)</sup> Dz.U. L 298 z 29.10.1991, str. 6.

<sup>(8)</sup> Dz.U. L 48 z 22.2.1992, str. 1.

<sup>(9)</sup> Dz.U. L 48 z 22.2.1992, str. 10.

<sup>(10)</sup> Dz.U. L 48 z 22.2.1992, str. 19.

<sup>(11)</sup> Dz.U. L 48 z 22.2.1992, str. 28.

<sup>(12)</sup> Dz.U. L 48 z 22.2.1992, str. 37.

<sup>(13)</sup> Dz.U. L 48 z 22.2.1992, str. 46.

<sup>(14)</sup> Dz.U. L 204 z 21.7.1992, str. 13.

<sup>(15)</sup> Dz.U. L 204 z 21.7.1992, str. 22.

<sup>(16)</sup> Dz.U. L 247 z 27.8.1992, str. 1.

w odniesieniu do Kanady, aby kanadyjskie władze weterynaryjne uzyskały wystarczający okres czasu na wprowadzenie nowego testu w ramach ich rutynowego programu;

w następstwie najnowszych osiągnięć naukowych w rozumieniu epidemiologii choroby niebieskiego języka, przywóz nasienia bydła z Australii może być obecnie dozwolony;

ogólna sytuacja w zakresie zdrowia zwierząt w krajach, umieszczonych w wykazie państw trzecich, jest dobra oraz jest kontrolowana przez dobrze zorganizowane i o odpowiedniej strukturze służby weterynaryjne, w odniesieniu do chorób przenoszonych przez nasienie;

odpowiedzialne władze weterynaryjne państw trzecich zobowiązały się do powiadamiania Komisji i Państw Członkowskich, z wykorzystaniem teleksu lub telefaksu, w terminie 24 godzin, o potwierdzeniu wystąpienia jakiejkolwiek choroby znajdującej się w wykazie A Międzynarodowego Biura ds. Epizootyki (OIE) lub o wszelkich zmianach w polityce szczepień w zakresie dotyczącym każdej z tych chorób, w odpowiednim terminie, o występowaniu chorób z wykazu B OIE oraz o wszelkich projektowanych zmianach w zasadach przywozu dotyczących zwierząt domowych lub ich nasienia lub zarodków;

odpowiedzialne władze weterynaryjne państw trzecich, umieszczonych w wykazie, zobowiązały się do urzędowego nadzorowania wydawania świadectw na mocy niniejszej decyzji oraz do zapewnienia, że wszystkie odpowiednie świadectwa, odstępstwa i wyniki badań laboratoryjnych, na których oparte jest świadectwo, pozostaną w aktach urzędowych przez okres co najmniej 12 miesięcy od dnia wysyłki nasienia, którego dotyczy;

odpowiedzialne władze weterynaryjne państw trzecich, umieszczonych w wykazie, zobowiązały się do urzędowego zatwierdzania punktów pobierania nasienia, przeznaczonego do wywozu do Europejskiej Wspólnoty Gospodarczej, jak jest to wymagane na mocy art. 9 dyrektywy 88/407/EWG;

warunki zdrowotne zwierząt i świadectwa weterynaryjne muszą być dostosowane do sytuacji zdrowia zwierząt w danym państwie trzecim;

środki przewidziane w niniejszej decyzji są zgodne z opinią Stałego Komitetu Weterynaryjnego,

PRZYJMUJE NINIEJSZĄ DECYZJĘ:

#### Artykuł 1

Państwa Członkowskie zatwierdzają przywóz nasienia bydła, który jest zgodny z warunkami wymienionymi w świadectwach w części 1 załączników A, B, C i D oraz wyłącznie z tych państw trzecich, które uwzględnia się w części 2 odpowiednio załączników A, B, C i D.

Jednakże, Państwa Członkowskie zatwierdzają przywóz z Kanady nasienia bydła pobranego i poddanego obróbce zgodnie z decyzją 91/549/EWG do dnia 31 grudnia 1994 r.

#### Artykuł 2

Tracą moc decyzje 91/479/EWG, 92/123/EWG, 92/124/EWG, 92/125/EWG, 92/126/EWG, 92/127/EWG, 92/128/EWG, 92/386/EWG, 92/387/EWG i 92/445/EWG.

Decyzja 91/549/EWG traci moc z dniem 1 stycznia 1995 r.

#### Artykuł 3

Przepisy odnoszące się do Kanady, wskazane w art. 1 akapit pierwszy, stosuje się od dnia 1 stycznia 1995 r.

#### Artykuł 4

Niniejsza decyzja skierowana jest do Państw Członkowskich.

Sporządzono w Brukseli, dnia 15 lipca 1994 r.

W imieniu Komisji

René STEICHEN

Członek Komisji

## ZAŁĄCZNIK A

## CZĘŚĆ 1

**ŚWIADECTWO ZDROWIA**  
**dla przywozu nasienia bydła**

|                                                                       |                     |                                                  |
|-----------------------------------------------------------------------|---------------------|--------------------------------------------------|
| 1. Nadawca (nazwa i pełny adres)                                      |                     | Numer świadectwa                                 |
|                                                                       |                     | 2. Państwo trzecie pobrania                      |
| 3. Odbiorca (nazwa i pełny adres)                                     |                     | 4. Właściwy organ                                |
|                                                                       |                     | 5. Właściwe organy lokalne                       |
| 6. Miejsce załadunku                                                  |                     | 7. Nazwa i adres punktu poboru nasienia          |
| 8. Środek transportu                                                  |                     | 10. Numer identyfikacyjny punktu poboru nasienia |
| 9. Miejsce przeznaczenia i Państwo Członkowskie miejsca przeznaczenia |                     |                                                  |
| 11. Numer pieczęci pojemnika nasienia                                 |                     |                                                  |
| 12. Identyfikacja nasienia                                            |                     | świeże czy zamrożone *                           |
|                                                                       |                     | (* niepotrzebne skreślić)                        |
| a) Liczba dawek                                                       | b) Data(y) pobrania | c) Rasa                                          |
| d) Identyfikacja zwierzęcia dawcy                                     |                     |                                                  |

13. Ja, niżej podpisany urzędowy lekarz weterynarii przeczytałem i zapoznałem się z dyrektywą Rady 88/407/EWG wraz ze zmianami i niniejszym zaświadczam, że:

a) .....  
(nazwa kraju wywozu)

był wolny od pomoru bydła i pryszczycy w okresie ostatnich 12 miesięcy, niezwłocznie przed pobraniem nasienia dla wywozu i do dnia wysyłki oraz nie przeprowadzano szczepienia przeciwko tym chorobom w tym samym okresie czasu;

b) punkt poboru nasienia, w którym nasienie przeznaczone na wywóz, zostało pobrane był:

- i) zatwierdzony na warunkach określonych w załączniku A, rozdział I do dyrektywy Rady 88/407/EWG;
- ii) prowadzony i nadzorowany na warunkach określonych w załączniku A, rozdział II do dyrektywy Rady 88/407/EWG;
- iii) podczas okresu zaczynającego się 30 dni przed pobraniem nasienia przeznaczonego na wywóz i trwającego aż do 30 dnia po pobraniu (w przypadku nasienia świeżego aż do dnia wysyłki) był wolny od wścieklizny, gruźlicy, brucelozы, wąglika i zarazy płucnej bydła;

c) bydło znajdujące się w punkcie poboru nasienia:

- i) pochodzi ze stada i/lub zostało urodzone przez matki, które spełniają warunki ustanowione w załączniku B, rozdział I do dyrektywy 88/407/EWG;
- ii) przed poddaniem izolacji, zostało poddane testom wymagany na mocy załącznika B, rozdział I do dyrektywy 88/407/EWG;
- iii) zostało poddane izolacji przed wprowadzeniem do punktu i spełniło wymagania testów ustanowionych w załączniku B, rozdział I do dyrektywy 88/407/EWG;
- iv) jeśli przebywało w punkcie dłużej niż jeden rok zostało poddane rutynowym testom zgodnie z załącznikiem B, rozdział II do dyrektywy 88/407/EWG;

d) nasienie przeznaczone na wywóz:

- i) zostało pobrane od dawców, którzy przebywali w

.....  
(nazwa kraju wywozu)

w okresie sześciu miesięcy bezpośrednio poprzedzających pobranie nasienia przeznaczonego na wywóz, i którzy spełniają warunki określone w załączniku C do dyrektywy 88/407/EWG;

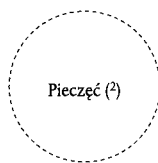
ii) zostało pobrane od dawców, którzy:

- znajdują się w punkcie poboru nasienia, w którym przebywające bydło było poddane, w okresie 12 miesięcy poprzedzających pobranie nasienia przeznaczonego na wywóz, testowi seroneutralizacji lub testowi ELISA na obecność zakaźnego zapalenia nosa i tchawicy bydła/otrętu bydła, z wynikiem negatywnym <sup>(1)</sup>,  
albo
- reagują negatywnie w teście seroneutralizacji lub teście ELISA przeprowadzanym na obecność zakaźnego zapalenia nosa i tchawicy bydła/otrętu bydła w okresie 12 miesięcy przed pobieraniem nasienia na wywóz <sup>(1)</sup>,  
albo
- reagują pozytywnie serologicznie po szczepieniu przeprowadzonym zgodnie z załącznikiem B, rozdział II do dyrektywy Rady 88/407/EWG oraz są serologicznie negatywni w testach seroneutralizacji lub ELISA przeprowadzanych w zatwierdzonym punkcie poboru nasienia przed przeprowadzeniem szczepienia <sup>(1)</sup>,

<sup>(1)</sup> Niepotrzebne skreślić.

- albo
- reagują pozytywnie serologicznie w teście seroneutralizacji lub teście ELISA na obecność zakaźnego zapalenia nosa i tchawicy bydła/otrętu bydła, nie byli szczepieni zgodnie z załącznikiem B rozdział II, do dyrektywy Rady 88/407/EWG oraz przynajmniej 10 % każdego ejakulatu nasienia przeznaczonego na wywóz (minimum 5 słomek) było poddane testowi inokulacji u zwierząt lub testowi wykrycia wirusa, z wynikiem negatywnym, przed wywozem <sup>(1)</sup>,
- (iii) było poddane obróbce, przechowywane i transportowane w warunkach, które spełniają warunki dyrektywy 88/407/EWG.

Sporządzono w ..... dnia .....  
(miejsce) (data)



Podpis <sup>(2)</sup> .....

Nazwisko drukowanymi literami: .....

Urzędowe stanowisko: .....

<sup>(1)</sup> Niepotrzebne skreślić.

<sup>(2)</sup> Podpis oraz pieczęć muszą być w kolorze różniącym się od koloru druku.

## CZĘŚĆ 2

**Wykaz krajów upoważnionych do stosowania wzoru świadectwa zdrowia określonego w załączniku A  
część 1**

REPUBLIKA CZEŚKA

WĘGRY

NOWA ZELANDIA

POLSKA

RUMUNIA

SZWAJCARIA

REPUBLIKA SŁOWACKA

---

## ZAŁĄCZNIK B

## CZĘŚĆ 1

## ŚWIADECTWO ZDROWIA

dla przywozu nasienia bydła ze Stanów Zjednoczonych Ameryki Północnej

|                                                                       |                     |                                                  |  |
|-----------------------------------------------------------------------|---------------------|--------------------------------------------------|--|
| 1. Nadawca (nazwa i pełny adres)                                      |                     | Numer świadectwa                                 |  |
|                                                                       |                     | 2. Państwo trzecie pobrania                      |  |
| 3. Odbiorca (nazwa i pełny adres)                                     |                     | 4. Właściwy organ                                |  |
|                                                                       |                     | 5. Właściwe organy lokalne                       |  |
| 6. Miejsce załadunku                                                  |                     | 7. Nazwa i adres punktu poboru nasienia          |  |
| 8. Środek transportu                                                  |                     | 10. Numer identyfikacyjny punktu poboru nasienia |  |
| 9. Miejsce przeznaczenia i Państwo Członkowskie miejsca przeznaczenia |                     |                                                  |  |
| 11. Numer pieczęci pojemnika nasienia                                 |                     |                                                  |  |
| 12. Identyfikacja nasienia                                            |                     | świeże czy zamrożone *                           |  |
|                                                                       |                     | (* niepotrzebne skreślić)                        |  |
| a) Liczba dawek                                                       | b) Data y) pobrania | c) Rasa                                          |  |
| d) Identyfikacja zwierzęcia dawcy                                     |                     |                                                  |  |

13. Ja, niżej podpisany urzędowy lekarz weterynarii przeczytałem i zapoznałem się z dyrektywą Rady 88/407/EWG wraz ze zmianami i niniejszym zaświadczam, że:

- a) ..... był wolny od pomoru bydła i pryszczycy  
(nazwa kraju wywozu)

w okresie ostatnich 12 miesięcy, bezpośrednio przed pobraniem nasienia przeznaczonego na wywóz i do czasu wysyłki oraz, że nie przeprowadzono szczepienia przeciwko tym chorobom w tym samym okresie czasu;

- b) punkt poboru nasienia, w którym nasienie przeznaczone na wywóz, zostało pobrane był:

- i) zatwierdzony na warunkach określonych w załączniku A, rozdział I do dyrektywy Rady 88/407/EWG;
- ii) prowadzony i nadzorowany na warunkach określonych w załączniku A, rozdział II do dyrektywy Rady 88/407/EWG;
- iii) podczas okresu zaczynającego się 30 dni przed pobraniem nasienia przeznaczonego na wywóz i trwającego aż do 30 dnia po pobraniu (w przypadku nasienia świeżego aż do dnia wysyłki) był wolny od wścieklizny, gruźlicy, brucelozy, wąglika i zarazy płucnej bydła;

- c) bydło znajdujące się w punkcie poboru nasienia:

- i) pochodzi ze stada lub zostało urodzone przez matki, które spełniają warunki ustanowione w załączniku B, rozdział I do dyrektywy 88/407/EWG;
- ii) przed poddaniem izolacji, zostało poddane testom wymagany w załączniku B, rozdział I do dyrektywy 88/407/EWG;
- iii) zostało poddane izolacji przed wprowadzeniem do punktu i spełniło wymagania testów określonych w załączniku B, rozdział I do dyrektywy 88/407/EWG;
- iv) jeśli przebywało w punkcie dłużej niż jeden rok, zostało poddane rutynowym testom zgodnie z załącznikiem B, rozdział II do dyrektywy 88/407/EWG;

- d) nasienie przeznaczone na wywóz:

- i) zostało pobrane od dawców, którzy przebywali w

.....  
(nazwa państwa)

w okresie sześciu miesięcy bezpośrednio poprzedzających pobranie nasienia przeznaczonego na wywóz, i którzy spełniają warunki ustanowione w załączniku C do dyrektywy 88/407/EWG;

- ii) zostało pobrane od dawców, którzy:

- znajdują się w punkcie poboru nasienia, w którym przebywające bydło było poddane, w okresie 12 miesięcy poprzedzających pobranie nasienia, testowi seroneutralizacji lub testowi ELISA na obecność zakaźnego zapalenia nosa i tchawicy bydła/otrętu bydła, z wynikiem negatywnym <sup>(1)</sup>,

albo

- reagują negatywnie w teście seroneutralizacji lub teście ELISA przeprowadzanym na obecność zakaźnego zapalenia nosa i tchawicy bydła/otrętu bydła w okresie 12 miesięcy przed pobieraniem nasienia na wywóz <sup>(1)</sup>,

albo

- reagują pozytywnie serologicznie po szczepieniu przeprowadzonym zgodnie z załącznikiem B rozdział II, do dyrektywy Rady 88/407/EWG oraz są serologicznie negatywni w testach seroneutralizacji lub ELISA przeprowadzanych w zatwierdzonym punkcie pobierania nasienia przed przeprowadzeniem szczepienia <sup>(1)</sup>,

<sup>(1)</sup> Niepotrzebne skreślić.

albo

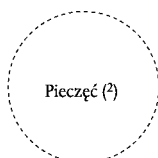
- reagują pozytywnie serologicznie w teście seroneutralizacji lub teście ELISA na obecność zakaźnego zapalenia nosa i tchawicy bydła/otrętu bydła, nie byli szczepieni zgodnie z załącznikiem B rozdział II, do dyrektywy Rady 88/407/EWG oraz przynajmniej 10 % każdego ejakulatu nasienia przeznaczonego na wywóz (minimum 5 słomek) było poddane testowi inokulacji u zwierząt lub testowi wykrycia wirusa, z wynikiem negatywnym, przed wywozem <sup>(1)</sup>,

(iii) było poddane obróbce, przechowywane i transportowane w warunkach, które spełniają warunki dyrektywy 88/407/EWG.

(iv) zostało otrzymane od dawców – buhajów, które były poddane dwukrotnie w odstępach czasowych nie dłuższych niż 12 miesięcy następującym testom przed pobraniem i po pobraniu, z wynikami negatywnymi, przeprowadzanymi w zatwierdzonych laboratoriach (test przeprowadzany po pobraniu musi być wykonany na próbce krwi pobranej nie wcześniej niż 21 dni po pobraniu nasienia na wywóz):

- testowi ELISA na obecność choroby niebieskiego języka zgodnie z załącznikiem E,
- testowi immunodifuzji w żelu agarowym zgodnym z załącznikiem E i testowi neutralizacji wirusa na wykrycie wszystkich serotypów epizootycznej choroby krwotocznej (EHD) jeżeli jest wiadome, że choroba występuje w państwie wywozu.

Sporządzono w ..... , dnia .....  
(miejsce) (data)



Podpis (2) .....

Nazwisko drukowanymi literami: .....

Urzędowe stanowisko: .....

<sup>(1)</sup> Niepotrzebne skreślić.

<sup>(2)</sup> Podpis oraz pieczęć muszą być w kolorze różniącym się od koloru druku.

## CZĘŚĆ 2

**Wykaz krajów upoważnionych do stosowania wzoru świadectwa zdrowia określonego w załączniku B część 1**

STANY ZJEDNOCZONE AMERYKI PÓŁNOCNEJ

\_\_\_\_\_

## ZAŁĄCZNIK C

## CZĘŚĆ 1

**ŚWIADECTWO ZDROWIA**  
**dla przywozu nasienia bydła**

|                                                                       |                     |                                                                        |  |
|-----------------------------------------------------------------------|---------------------|------------------------------------------------------------------------|--|
| 1. Nadawca (nazwa i pełny adres)                                      |                     | Numer świadectwa                                                       |  |
|                                                                       |                     | 2. Państwo trzecie pobrania                                            |  |
| 3. Odbiorca (nazwa i pełny adres)                                     |                     | 4. Właściwy organ                                                      |  |
|                                                                       |                     | 5. Właściwe organy lokalne                                             |  |
| 6. Miejsce załadunku                                                  |                     | 7. Nazwa i adres punktu poboru nasienia                                |  |
| 8. Środek transportu                                                  |                     | 10. Numer identyfikacyjny punktu poboru nasienia                       |  |
| 9. Miejsce przeznaczenia i Państwo Członkowskie miejsca przeznaczenia |                     |                                                                        |  |
| 11. Numer pieczęci pojemnika nasienia                                 |                     |                                                                        |  |
| 12. Identyfikacja nasienia                                            |                     | <div>świeże czy zamrożone *</div> <div>(* niepotrzebne skreślić)</div> |  |
| a) Liczba dawek                                                       | b) Data(y) pobrania | c) Rasa                                                                |  |
| d) Identyfikacja zwierzęcia dawcy                                     |                     |                                                                        |  |

13. Ja, niżej podpisany urzędowy lekarz weterynarii przeczytałem i zapoznałem się z dyrektywą Rady 88/407/EWG wraz ze zmianami i niniejszym zaświadczam, że:

a) .....  
(nazwa kraju wywozu)

był wolny od pomoru bydła i pryszczycy w okresie ostatnich 12 miesięcy, bezpośrednio przed pobraniem nasienia przeznaczonego na wywóz i do czasu jego wysyłki oraz, że nie przeprowadzono szczepienia przeciwko tym chorobom w tym samym okresie czasu;

b) punkt poboru nasienia, w którym nasienie przeznaczone na wywóz, zostało pobrane był:

- i) zatwierdzony na warunkach określonych w załączniku A, rozdział I do dyrektywy Rady 88/407/EWG;
- ii) prowadzony i nadzorowany na warunkach określonych w załączniku A, rozdział II do dyrektywy Rady 88/407/EWG;
- iii) podczas okresu czasu rozpoczynającego się 30 dni przed pobraniem nasienia przeznaczonego na wywóz i trwającego aż do 30 dnia po pobraniu (w przypadku nasienia świeżego aż do dnia wysyłki) był wolny od wścieklizny, gruźlicy, brucelozy, wąglika i zarazy płucnej bydła;

c) bydło znajdujące się w punkcie poboru nasienia:

- i) pochodzi ze stada lub zostało urodzone przez matki, które spełniają warunki ustanowione w załączniku B, rozdział I do dyrektywy 88/407/EWG;
- ii) przed poddaniem izolacji, zostało poddane testom wymaganym w załączniku B, rozdział I do dyrektywy 88/407/EWG;
- iii) zostało poddane izolacji przed wprowadzeniem do punktu i spełniło wymagania testów określonych w załączniku B, rozdział I do dyrektywy 88/407/EWG;
- iv) jeśli przebywało w punkcie dłużej niż jeden rok zostało poddane rutynowym testom zgodnie z załącznikiem B, rozdział II do dyrektywy 88/407/EWG;

d) nasienie przeznaczone na wywóz:

- i) zostało pobrane od dawców, którzy przebywali w

.....  
(nazwa państwa)

w okresie sześciu miesięcy bezpośrednio poprzedzających pobranie nasienia przeznaczonego na wywóz i którzy spełniają warunki określone w załączniku C do dyrektywy 88/407/EWG;

ii) zostało pobrane od dawców, którzy:

- znajdują się w punkcie poboru nasienia, w którym przebywające bydło było poddane, w przeciągu 12 miesięcy poprzedzających pobranie nasienia, testowi seroneutralizacji lub testowi ELISA na obecność zakaźnego zapalenia nosa i tchawicy bydła/otrętu bydła, z wynikiem negatywnym<sup>(1)</sup>,

albo

- reagują negatywnie w teście seroneutralizacji lub teście ELISA przeprowadzanym na obecność zakaźnego zapalenia nosa i tchawicy bydła/otrętu bydła w przeciągu 12 miesięcy przed pobieraniem nasienia na wywóz <sup>(1)</sup>,

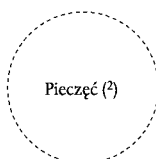
albo

- reagują pozytywnie serologicznie po szczepieniu przeprowadzonym zgodnie z załącznikiem B rozdział II do dyrektywy Rady 88/407/EWG oraz są serologicznie negatywni w testach seroneutralizacji lub ELISA przeprowadzanych w zatwierdzonym punkcie pobierania nasienia przed przeprowadzeniem szczepienia <sup>(1)</sup>,

<sup>(1)</sup> Niepotrzebne skreślić.

- albo
- reagują pozytywnie serologicznie w teście seroneutralizacji lub teście ELISA na obecność zakaźnego zapalenia nosa i tchawicy bydła/otrętu bydła, nie byli szczepieni zgodnie z załącznikiem B rozdział II, do dyrektywy Rady 88/407/EWG oraz przynajmniej 10 % każdego ejakulatu nasienia przeznaczonego na wywóz (minimum 5 słomek) było poddane testowi inokulacji u zwierząt lub testowi wykrycia wirusa, z wynikiem negatywnym, przed wywozem <sup>(1)</sup>,
- iii) było poddane obróbce, przechowywane i transportowane w warunkach, które spełniają warunki dyrektywy 88/407/EWG,
- iv) zostało otrzymane od dawców - buhajów, które były albo:
- w zatwierdzonym punkcie w dniu 1 lipca 1994 r.,
  - albo
  - wprowadzone do zatwierdzonego punktu po dniu 1 lipca 1994 r. będąc poddane następującym testom na obecność choroby niebieskiego języka i epizootycznej choroby krwotocznej w zatwierdzonym laboratorium i z negatywnymi wynikami przeprowadzonymi przed wprowadzeniem oraz były poddane, w każdym przypadku, co sześć miesięcy następującym testom, w zatwierdzonym laboratorium i z negatywnymi wynikami:
  - testowi ELISA) na obecność choroby niebieskiego języka zgodnie z załącznikiem E,
  - testowi immunodifuzji w żelu agarowym zgodnym z załącznikiem E i testowi neutralizacji wirusa na wykrycie wszystkich serotypów epizootycznej choroby krwotocznej rozpoznanych w państwie wywozu.

Sporządzono w ..... dnia .....  
(miejsce) (data)



Podpis (2): .....

Nazwisko drukowanymi literami: .....

Urzędowe stanowisko: .....

<sup>(1)</sup> Niepotrzebne skreślić.

<sup>(2)</sup> Podpis oraz pieczęć muszą być w kolorze różniącym się od koloru druku.

## CZĘŚĆ 2

**Wykaz krajów upoważnionych do stosowania wzoru świadectwa zdrowia zwierząt określonego w załączniku C część I**

KANADA: z wyłączeniem rejonu Doliny Okanagan Kolumbii Brytyjskiej, który jest oznaczony jako obszar rozgraniczony linią nakreśloną z punktu na granicy kanadyjsko-amerykańskiej 120° 15' długości geograficznej 49° szerokości geograficznej północnej do punktu 119° 35' długości geograficznej, 50° 30' szerokości geograficznej północno-wschodniej do punktu 119° długości geograficznej, 50° 45' szerokości geograficznej południowej do punktu na granicy kanadyjsko-amerykańskiej 118° 15' długości geograficznej i 49° szerokości geograficznej.

---

## ZAŁĄCZNIK D

## CZĘŚĆ 1

**ŚWIADECTWO ZDROWIA ZWIERZĄT**  
dla przywozu nasienia bydła

|                                                                                      |                                                  |         |
|--------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|---------|
| 1. Nadawca (nazwa i pełny adres)                                                     | Numer świadectwa                                 |         |
|                                                                                      | 2. Państwo trzecie pobrania                      |         |
| 3. Odbiorca (nazwa i pełny adres)                                                    | 4. Właściwy organ                                |         |
|                                                                                      | 5. Właściwe organy lokalne                       |         |
| 6. Miejsce załadunku                                                                 | 7. Nazwa i adres punktu poboru nasienia          |         |
| 8. Środek transportu                                                                 | 10. Numer identyfikacyjny punktu poboru nasienia |         |
| 9. Miejsce przeznaczenia i Państwo Członkowskie miejsca przeznaczenia                |                                                  |         |
| 11. Numer pieczęci pojemnika nasienia                                                |                                                  |         |
| 12. Identyfikacja nasienia <span style="float: right;">świeże czy zamrożone *</span> |                                                  |         |
| (* niepotrzebne skreślić)                                                            |                                                  |         |
| a) Liczba dawek                                                                      | b) Data(y) pobrania                              | c) Rasa |
| d) Identyfikacja zwierzęcia dawcy                                                    |                                                  |         |

13. Ja, niżej podpisany urzędowy lekarz weterynarii przeczytałem i zapoznałem z dyrektywą Rady 88/407/EWG wraz ze zmianami i niniejszym zaświadczam, że:

- a) ..... był wolny od pomoru bydła i pryszczycy  
(nazwa kraju wywozu)

w okresie ostatnich 12 miesięcy, bezpośrednio przed pobraniem nasienia przeznaczonego na wywóz i do czasu wysyłki oraz, że nie przeprowadzono szczepienia przeciwko tym chorobom w tym samym okresie czasu;

- b) punkt poboru nasienia, w którym nasienie przeznaczone na wywóz zostało pobrane, był:

- i) zatwierdzony zgodnie z warunkami określonymi w załączniku A, rozdział I do dyrektywy Rady 88/407/EWG;
- ii) prowadzony i nadzorowany zgodnie z warunkami określonymi w załączniku A, rozdział II do dyrektywy Rady 88/407/EWG;
- iii) podczas okresu czasu rozpoczynającego się 30 dni przed pobraniem nasienia przeznaczonego na wywóz i trwającego aż do 30 dnia po pobraniu (w przypadku nasienia świeżego aż do dnia wysyłki) był wolny od wścieklizny, gruźlicy, brucellozy, wąglika i zarazy płucnej bydła;

- c) bydło znajdujące się w punkcie poboru nasienia:

- i) pochodzi ze stada lub zostało urodzone przez matki, które spełniają warunki ustanowione w załączniku B, rozdział I do dyrektywy 88/407/EWG;
- ii) przed poddaniem izolacji, zostało poddane testom wymagany w załączniku B, rozdział I do dyrektywy 88/407/EWG;
- iii) zostało poddane izolacji przed wprowadzeniem do punktu i spełniło wymagania testów określonych w załączniku B, rozdział I do dyrektywy 88/407/EWG;
- iv) jeśli przebywało w punkcie dłużej niż jeden rok zostało poddane rutynowym testom zgodnie z załącznikiem B, rozdział II do dyrektywy 88/407/EWG;

- d) nasienie przeznaczone na wywóz:

- i) zostało pobrane od dawców, którzy przebywali w

.....  
(nazwa państwa)

w okresie sześciu miesięcy bezpośrednio poprzedzających pobranie nasienia przeznaczonego na wywóz, i które spełniają warunki określone w załączniku C do dyrektywy 88/407/EWG;

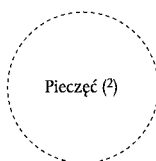
- ii) zostało pobrane od dawców, którzy:

- znajdują się w punkcie poboru nasienia, w której przebywające bydło było poddane, w przeciągu 12 miesięcy poprzedzających pobranie nasienia, testowi seroneutralizacji lub testowi ELISA na obecność zakaźnego zapalenia nosa i tchawicy bydła/otrętu bydła, z wynikiem negatywnym <sup>(1)</sup>,  
albo
- reagują negatywnie w teście seroneutralizacji lub teście ELISA przeprowadzanym na obecność zakaźnego zapalenia nosa i tchawicy bydła/otrętu bydła w przeciągu 12 miesięcy przed pobieraniem nasienia na wywóz <sup>(1)</sup>,  
albo
- reagują pozytywnie serologicznie po szczepieniu przeprowadzonym zgodnie z załącznikiem B rozdział II, do dyrektywy Rady 88/407/EWG oraz są serologicznie negatywni w testach seroneutralizacji lub ELISA przeprowadzanych w zatwierdzonym punkcie pobierania nasienia przed przeprowadzeniem szczepienia <sup>(1)</sup>,

<sup>(1)</sup> Niepotrzebne skreślić.

- albo
- reagują pozytywnie serologicznie w teście seroneutralizacji lub teście ELISA na obecność zakaźnego zapalenia nosa i tchawicy bydła/otrętu bydła, nie byli szczepieni zgodnie z załącznikiem B rozdział II, do dyrektywy Rady 88/407/EWG oraz przynajmniej 10 % każdego ejakulatu nasienia przeznaczonego na wywóz (minimum 5 słomek) było poddane testowi inokulacji u zwierząt lub testowi wykrycia wirusa, z wynikiem negatywnym, przed wywozem <sup>(1)</sup>,
- iii) było poddane obróbce, przechowywane i transportowane w warunkach, które spełniają warunki dyrektywy 88/407/EWG,
- iv) zostało otrzymane od dawców - buhajów, które były poddane dwukrotnie w odstępach czasowych nie dłuższych niż 12 miesięcy następującym testom przed pobraniem i po pobraniu, z wynikami negatywnymi, przeprowadzanymi w zatwierdzonych laboratoriach (test przeprowadzany po pobraniu musi być wykonany na próbce krwi pobranej nie wcześniej niż 21 dni po pobraniu nasienia na wywóz):
- testowi ELISA na obecność choroby niebieskiego języka zgodnie z załącznikiem E,
  - testowi immunodifuzji w żelu agarowym zgodnym z załącznikiem E i testowi neutralizacji wirusa na wykrycie wszystkich serotypów epizootycznej choroby krwotocznej (EHD) jeżeli jest wiadome, że choroba występuje w państwie wywozu,
  - testowi seroneutralizacji na obecność wirusa Akabane.

Sporządzono w ..... dnia .....  
(miejsce) (data)



Podpis <sup>(2)</sup>: .....

Nazwisko drukowanymi literami: .....

Urzędowe stanowisko: .....

<sup>(1)</sup> Niepotrzebne skreślić.

<sup>(2)</sup> Podpis oraz pieczęć muszą być w kolorze różniącym się od koloru druku.

## CZĘŚĆ 2

**Wykaz państw trzecich upoważnionych do stosowania wzoru świadectwa zdrowia określonego  
w załączniku D części 1**

AUSTRALIA

---

## ZAŁĄCZNIK E

**Protokół wykonywania testu ELISA (testu immunoabsorpcji enzymozależnej), z zastosowaniem specyficznego grupowo, monoklonalnego przeciwciała dla wykrywania wirusowych przeciwciał choroby niebieskiego języka**

**TEST ELISA SŁUŻĄCY DO WYKRYWANIA CHOROBY NIEBIESKIEGO JĘZYKA STOSUJĄCY MONOKLONALNE PRZECIWCIAŁO 3-17-A3**

Test ten służy do wykrywania przeciwciał wszystkich znanych serotypów wirusa choroby niebieskiego języka (BTV).

Zasadą testu jest blokowanie reakcji zachodzącej między antygenem choroby niebieskiego języka a specyficznym grupowo przeciwciałem monoklonalnym (3-17-A3) poprzez dodanie rozcieńczenia badanej surowicy. Zawarte w badanej surowicy przeciwciała blokują reakcję przeciwciała monoklonalnego (MAB) i w wyniku tego następuje obniżenie intensywności oczekiwanego zabarwienia po dodaniu substratu enzymu.

**MATERIAŁY I ODCZYNNIKI**

1. Mikropłytki płaskodenne.
2. Antygen: przygotowany według zamieszczonego poniżej opisu.
3. Roztwór buforowy: 5 % (w/v) „Marvel” mleko w proszku 0,1 % (v/v) Tween-20 (dostarczany jako syrop sorbitolowy polyoxyetyleny) w buforowanym roztworze chlorku sodu, fosforanu sodu i fosforanu potasu (PBS).
4. Przeciwciała monoklonalne: 3-17-A3 (dostarczane w formie supernatantu hodowli komórkowej) przechowywane w – 20 °C lub liofilizowane, rozcieńczone bezpośrednio przed użyciem w 1/50 z roztworem buforowym skierowane przeciwko specyficznemu grupowo polipetdydowi p7.
5. Koniugat: globulina przeciwciał anti-mysich (absorbowana i wypłukana) koniugowana w peroksydazę chrzanową oraz przetrzymywana w ciemności w temperaturze 4 °C.
6. Substrat i chromogen: 0,2 % ortofenylo dwuamina (OPD) rozpuszczona w roztworze buforowym zawierającym 2 553 gm kwasu cytrynowego i 4 574 gm fosforanu dwu-sodowego sporządzone do 500 ml w wodzie destylowanej, podzielone na dawki po 25 ml i przetrzymywane w ciemności w – 20 °C z 12 µl/25 ml nadtlenu wodoru (w/v 30 %) dodane tuż przed użyciem.

**OPD STOSOWAĆ OSTROŻNIE — NAKŁADAĆ GUMOWE RĘKAWICE — MOŻLIWE DZIAŁANIE MUTAGENNE.**

7. 1 molarny kwas siarkowy: 26,6 ml kwasu dodanego do 473,4 ml wody destylowanej.

**UWAGA: ZAWSZE NALEŻY DODAWAĆ KWAS DO WODY — NIGDY NIE DODAWAĆ WODY DO KWASU.**

8. Wyrząsarka obrotowa.
9. Czytnik do ELISA (test może być odczytany wizualnie).

### FORMUŁA TESTU

[illegible]

## PROTOKÓŁ DOTYCZĄCY STOSOWANIA TESTU

*Kontrola ślepa*

Rząd 1A — H jest kontrolą ślepą składającą się z antygenu BTV i koniugatu. Może ona być stosowana do sprawdzania czytnika ELISA.

*Kontrola MAB*

Rząd 2A — H jest kontrolą przeciwciała monoklonalnego i składa się z antygenu BTV, przeciwciała monoklonalnego i koniugatu. Stanowi to kontrolę ujemną. Średni odczyt gęstości optycznej z tego rzędu kontrolnego stanowi 0 % wartości zahamowania.

*Kontrola dodatnia*

Rząd 3A — H jest kontrolą dodatnią. Składa się ona z antygenu BTV, rozcieńczenia dodatniej surowicy BTV, MAB i koniugatu. Stanowi to wskaźnik czy test funkcjonuje prawidłowo a w teście powinny być otrzymane podobne poziomy zahamowania.

*Surowice badane*

W zamieszczonym powyżej schemacie testu, może zostać zbadane 18 surowic w rozcieńczeniu 1/2, 1/4/, 1/8 i 1/16. To powinno dać pewną informację o mianie przeciwciał w badanych surowicach. Rozcieńczenie surowic może być dokonywane dalej, aby otrzymać końcowe miano. Z drugiej strony dla dokonywania badań serologicznych na dużą skalę, surowice mogą być badane w jednokrotnym rozcieńczeniu (1/4) lub w dwu rozcieńczeniach (1/2 i 1/4) jako szybkie badanie odsiewowe.

## PROCEDURA

1. Rozcieńczyć antygen BTV w PBS, do stężenia przed miareczkowaniem, poddać sonifikacji (jeśli taki aparat nie jest dostępny, zamieszać intensywnie pipetą) oraz dodać 50 µl do wszystkich dołków mikro płytki ELISA. Uderzyć w boki płytki, aby rozproszyć antygen.
2. Inkubować w temperaturze 37 °C w ciągu 60 minut w wyrzäsarce obrotowej. Przeprowadzić trzykrotne płukanie płytek przez napełnianie i opróżnianie dołków niesterylnym PBS a następnie osuszyć płytkę na ligninie.
3. Dodać 50 µl roztworu buforowego na studzienkę. Dodać surowice badane i surowice dodatnie do odpowiednich dołków oraz rozcieńczyć na całej płycie używając pipety wielokanałowej. Nie należy dodawać surowic do kontroli ślepej i do kontroli MAB.
4. Niezwłocznie po rozcieńczeniu surowic, należy rozcieńczyć MAB w płynie do rozcieńczania (do rozcieńczenia przed miareczkowaniem) i dodać 50 µl do wszystkich dołków płytki, z wyjątkiem kontroli ślepej.
5. Inkubować w temperaturze 37 °C w ciągu 60 minut w wyrzäsarce obrotowej Przeprowadzić trzykrotne płukanie płytek przez napełnianie i opróżnianie dołków niesterylnym PBS a następnie osuszyć płytkę na ligninie.
6. Rozcieńczyć koncentrat globuliny przeciwciał anti-mysich do 1/5000 w roztworze buforowym i dodać 50 µl do wszystkich dołków płytki.
7. Inkubować w temperaturze 37 °C w ciągu 60 minut w wyrzäsarce obrotowej Przeprowadzić trzykrotne płukanie płytek przez napełnianie i opróżnianie dołków niesterylnym PBS a następnie osuszyć płytkę na ligninie.
8. Rozmrozić OPD oraz bezpośrednio przed użyciem dodać 12 µl 30 % nadtlenu wodoru do każdej dawki 25 ml OPD. Dodać 50 µl do każdego dołka płytki. Dać czas na pojawienie się zabarwienia, około 10 minut, a następnie należy zatrzymać reakcję 1 M kwasem siarkowym (50 µl do dołka). Zabarwienie powinno wystąpić w dołkach kontrolnych MAB oraz w dołkach nie zawierających przeciwciała przeciwko BTV.
9. Wyniki należy odczytać za pomocą czytnika ELISA albo wizualnie.

## ANALIZA WYNIKÓW

Należy obliczyć średnią wartość gęstości optycznej z kontroli MAB. Daje to wartość 0 % hamowania wartości. Odczyty gęstości optycznej surowic badanych są wyrażone jako procent hamowania wartości stosując następujące równanie:

$$\% \text{ hamowania wartości} = 100 - \frac{\text{OD w obecności surowicy badanej}}{\text{OD przy braku surowicy badanej}} \times 100$$

Wartości zahamowania wyższe niż 40 %, przy rozcieńczeniu surowicy 1/4, są uważane za dodatnie. Odczyt wizualny jest również możliwy, ponieważ 40 % zahamowania jest najniższym poziomem łatwo zauważalnym przez oko.

**PRZYGOTOWYWANIE ANTYGENU BTV DO TESTU ELISA**

1. Przemij 10 butelek roux z wyrośniętą hodowlą komórek BHK-21, trzykrotnie płynem Eagla bez surowicy i zakaż wirusem choroby niebieskiego języka serotyp 1, rozcieńczonym w płynie Eagla bez surowicy.
2. Inkubuj w 37 °C i przeglądaj codziennie czy wystąpił efekt cytopatyczny (cpe).
3. Jeśli efekt cytopatyczny obejmie 80-90 % warstwy komórek w każdej z butelek, dokonaj zbioru wirusa przez potrząsanie butelki.
4. Odwiruj przy 2 000–3 000 obrotów na minutę, aby otrzymać grudkę komórek.
5. Odrzuć supernatant i zawieś komórki z osadu w około 30 ml PHS, który zawiera 1 % sarkosylu i 2 ml fenylometylosulfanylo fluorku (bufor lizujący). Takie postępowanie może spowodować powstanie żelu z komórek i może być potrzebne dodanie więcej buforu lizującego aby zredukować ten efekt.

UWAGA: fenylometylosulfanylo fluorek jest szkodliwy i należy obchodzić się z nim ostrożnie.

6. Rozbijaj komórki sondą ultradźwiękową przez 60 sekund przy amplitudzie 30 mikronów.
7. Odwiruj przy 10 000 obrotów przez 10 minut.
8. Odstaw supernatant w temperaturze – 4 °C i rozpuść powstałą grudkę komórek w 10-20 ml buforu lizującego.
9. Sonifikuj i klaruj zbierając supernatant na każdym etapie i powtórz to trzykrotnie.
10. Połącz wszystkie supernatanty i odwiruj przy 24 000 obrotów na minutę przez 120 minut przy temperaturze + 4 °C na 5 mililitrowej poduszce 40 % sacharozy (w/v w PBS) używając 30 ml próbek Beckmana i wirnika SW 28.
11. Odrzuć supernatant, przepłucz dokładnie próbki i zawieś grudkę w PBS przez sonifikację. Przechowuj antygen w małych ilościach przy temperaturze – 70 °C.

**MIARECZKOWANIE ANTYGENU BTV DO TESTU ELISA**

Antygen BTV do testu ELISA jest miareczkowany za pośrednictwem pośredniej metody ELISA. Dwukrotne rozcieńczenie antygeny jest miareczkowane w stosunku do stałego rozcieńczenia (1/50 przeciwciała monoklonalnego 3–17-A3). Procedura wygląda następująco:

**PROCEDURA**

1. Rozcieńcz antygen BTV w PBS na całej mikropłytkę dwukrotnie (50 µl na dołek) używając pipety wielokanałowej.
2. Inkubuj 1 godzinę w temperaturze 37 °C w wyrzäsarce obrotowej.
3. Płucz płytki trzykrotnie PBS.
4. Dodaj 50 µl przeciwciała monoklonalnego 3–17-A3 (rozcieńczonego 1/50) do wszystkich dołków mikropłytki.
5. Inkubuj 1 godzinę w temperaturze 37 °C we wyrzäsarce obrotowej.
6. Płucz płytki trzykrotnie PBS.
7. Dodaj 50 µl globuliny przeciwciał anti-mysich znakowaną peroksydazą chrzanową, rozcieńczoną do koncentracji przed miareczkowaniem do wszystkich dołków mikropłytki.
8. Inkubuj 1 godzinę w temperaturze 37 °C w wyrzäsarce obrotowej.
9. Dodaj substrat i chromogen jak zostało to opisane wcześniej. Zatrzymaj reakcję po 10 minutach poprzez dodanie 1 molarne kwasu siarkowego (50 µl do dołka).

W teście Elisa za pośrednictwem blokowania, przeciwciała monoklonalne muszą być w nadmiarze, dlatego musi być wybrane takie rozcieńczenie antygeny aby znajdowało się na krzywej miareczkowania (nie w regionie plateau), które daje w przybliżeniu 0,8 OD po 10 minutach.

**Protokół dla wykonywania testu immunodyszufji w żelu agarowym na wykrywanie przeciwciał epizootycznej choroby krwotocznej**

Test immunodyszufji w żelu agarowym jest przeprowadzany zgodnie z następującym Protokołem:

**MATERIAŁY I ODCZYNNIKI**

**1. Antygen**

Antygen do precypitacji jest przygotowywany na jakiegokolwiek hodowli komórkowej, która utrzymuje szybkie rozmnażanie odpowiednich serotypów wirusa epizootycznej choroby krwotocznej (zakażenia reowirusami). System BHK lub vero jest rekomendowany. Antygen znajduje się w supernatancie pod koniec rozmnażania wirusa, ale wymaga 50- do 100-krotnego stężenia. Stężenie to może być osiągnięte poprzez standardową technikę zagęszczania; wirus w antygenie może być inaktywowany poprzez dodanie 0,3 % (w/v) beta-propiolaktonu.

**2. Znana dodatnia surowica kontrolna.**

Używając standardowej surowicy referencyjnej i antygeny wytwarzana jest surowica standardowa a następnie standaryzowana w optymalnej proporcji do międzynarodowej surowicy wzorcowej, następnie zostaje poddana procesowi liofilizacji i stosowana jako surowica kontrolna w poszczególnych badaniach.

**3. Surowica badana.**

**PROCEDURA:**

1. 1 % agarosa, przygotowana w boranowym lub sodowym buforze barbitolowym, przy pH 8,5- 9,0 jest wylana do płytek Petriego przy minimalnej głębokości 3,0 mm.
2. W agarze zostaje wycięty wzór siedmiu, pozbawionych wilgoci, studzienek każda o średnicy 5,0 mm. Wzór składa się ze studzienki centralnej oraz sześciu studzienek peryferyjnych ułożonych peryferyjnie w promieniu 3 mm.

1  
6    2  
  X  
5    3  
  4

3. Studzienka centralna zostaje napełniona standardowym antygenem. Studzienki peryferyjne 2, 4 i 6 są napełnione znaną surowicą dodatnią, studzienki 1, 3 i 5 zostają napełnione surowicami badanymi.
4. System zostaje inkubowany przez 72 godziny w temperaturze pokojowej w zamkniętej komorze wilgotnej.

**INTERPRETACJA**

Testowana surowica jest dodatnia, jeśli tworzy specyficzny prążek precypitacyjny z antygenem wirusowym i ten prążek precypitacyjny łączy się z surowicą kontrolną. Testowana surowica jest ujemna, jeśli nie tworzy specyficznego prążka precypitacyjnego z antygenem wirusowym i nie zakrzywia linii surowicy kontrolnej. Płytki Petriego powinny być oglądane w ciemności stosując oświetlenie niebezpośrednie.

---