To besedilo je zgolj informativne narave in nima pravnega učinka. Institucije Unije za njegovo vsebino ne prevzemajo nobene odgovornosti. Verodostojne različice zadevnih aktov, vključno z uvodnimi izjavami, so objavljene v Uradnem listu Evropske unije. Na voljo so na portalu EUR-Lex. Uradna besedila so neposredno dostopna prek povezav v tem dokumentu

►**B**

DIREKTIVA SVETA 2009/156/ES

z dne 30. novembra 2009

o pogojih v zvezi z zdravstvenim varstvom živali, ki ureja premike in uvoz kopitarjev iz tretjih držav

(kodificirana različica)

(Besedilo velja za EGP)

(UL L 192, 23.7.2010, str. 1)

spremenjena z:

		Uradni list		
		št.	stran	datum
►**M1**	Direktiva Sveta 2013/20/EU z dne 13. maja 2013	L 158	234	10.6.2013
►**M2**	Izvedbeni sklep Komisije (EU) 2016/1840 z dne 14. oktobra 2016	L 280	33	18.10.2016

▼B

DIREKTIVA SVETA 2009/156/ES

z dne 30. novembra 2009

o pogojih v zvezi z zdravstvenim varstvom živali, ki ureja premike in uvoz kopitarjev iz tretjih držav

(kodificirana različica)

(Besedilo velja za EGP)

POGLAVJE I

SPLOŠNE DOLOČBE

Člen 1

Ta direktiva določa pogoje v zvezi z zdravstvenim varstvom živali za premike živih kopitarjev znotraj in med državami članicami in njihov uvoz iz tretjih držav.

Člen 2

V tej direktivi se uporabljajo naslednje definicije pojmov:

(a) „gospodarstvo“ pomeni kmetijski ali športni obrat, hlev ali na splošno vsak prostor ali objekt, kjer se običajno redijo ali zadržujejo kopitarji, ne glede na namen;

(b) „kopitarji“ so divje ali domače živali vrst konj, zebra in osel ter križanci prej navedenih vrst;

(c) „registrirani kopitarji“ so tisti, ki so registrirani, kakor je opredeljeno v Direktivi Sveta 90/427/EGS z dne 26. junija 1990 o zootehniških in genealoških pogojih, ki urejajo promet s kopitarji znotraj Skupnosti ([1]), in jih spremlja identifikacijski dokument, ki ga izda:

(i) rejska organizacija ali kateri koli drug pristojni organ v državi izvora, ki upravlja rodovniško knjigo oziroma register za to pasmo, ali

(ii) katera koli mednarodna zveza ali organizacija, ki upravlja s tekmovalnimi in dirkalnimi konji;

(d) „kopitarji za zakol“ so kopitarji, namenjeni bodisi neposredno v klavnico bodisi na odobren zbirni center iz člena 7 od koder se odpremlja kopitarje v klavnico;

(e) „kopitarji za rejo in rabo“ so kopitarji, ki niso navedeni v (c) in (d);

(f) „država članica ali tretja država, prosta konjske kuge“ pomeni katero koli državo članico ali tretjo državo, v kateri ni bilo kliničnih, seroloških (pri necepljenih živalih) ali epidemioloških dokazov o primerih konjske kuge na zadevnem ozemlju v zadnjih dveh letih in v kateri se v zadnjih 12 mesecih ni izvajalo cepljenje proti tej bolezni;

([1]) UL L 224, 18.8.1990, str. 55.

▼B

(g) „bolezni, ki jih je treba obvezno prijaviti“ so bolezni, naštete v Prilogi I;

(h) „uradni veterinar“ je veterinar, ki ga imenuje centralni pristojni organ države članice ali tretje države;

(i) „začasni vstop“ pomeni status registriranih kopitarjev, ki izvirajo iz tretje države in za katere je dovoljen vstop na ozemlje Skupnosti za obdobje, krajše od 90 dni, ki se določi v skladu s postopkom iz člena 21(2), glede na zdravstveno stanje v državi izvora.

POGLAVJE II

PRAVILA ZA PREMIKE KOPITARJEV ZNOTRAJ IN MED DRŽAVAMI ČLANICAMI

Člen 3

Država članica odobri premike registriranih kopitarjev na svojem ozemlju ali pošlje kopitarje v drugo državo članico samo, če izpolnjujejo pogoje, določene v členih 4 in 5.

Pristojni organi v namembnih državah članicah lahko odobrijo splošne ali omejene izjeme glede premikov kopitarjev, ki:

— se jezdijo ali vodijo, v športne ali rekreativne namene, po cestah v bližini notranjih meja Skupnosti,

— so udeleženi v kulturnih ali podobnih prireditvah ali dejavnostih, ki potekajo v bližini notranjih meja Skupnosti in jih organizirajo krajevni organi,

— so namenjeni samo za začasno pašo ali delo v bližini notranjih meja Skupnosti.

Države članice, ki uporabljajo tako odobritev, Komisijo obvestijo o vsebini odobrenega odstopanja.

Člen 4

1. Kopitarji pri pregledu ne smejo kazati nobenih kliničnih znakov bolezni. Pregled je treba opraviti v 48 urah pred njihovim vkrcavanjem ali natovarjanjem. Pri registriranih kopitarjih se ta pregled zahteva samo za trgovino znotraj Skupnosti, brez poseganja v člen 6.

2. Brez poseganja v zahteve iz odstavka 5 v zvezi z boleznimi, ki jih je obvezno treba prijaviti, se mora uradni veterinar ob pregledu prepričati – predvsem na podlagi izjav lastnika ali rejca – da ni razlogov, na podlagi katerih bi lahko sklepali, da so bili ti kopitarji 15 dni pred pregledom v stiku s kopitarji, ki so zboleli za nalezljivo ali kužno boleznijo.

▼B

3. Kopitarji ne smejo biti namenjeni za zakol v skladu z nacionalnim programom za izkoreninjenje nalezljivih ali kužnih bolezni.

4. Kopitarji morajo biti identificirani na naslednji način:

(a) registrirani kopitarji morajo imeti identifikacijski dokument, kakor je predvideno z Direktivo 90/427/EGS, ki mora zlasti potrjevati skladnost z odstavkoma 5 in 6 tega člena in členom 5 te direktive.

Uradni veterinar mora za čas prepovedi, predvidene v odstavku 5 tega člena ali v členu 5 te direktive, prekiniti veljavnost tega identifikacijskega dokumenta. Identifikacijski dokument se mora po zakolu registriranega konja vrniti organu, ki ga je izdal. Postopek za izvedbo te točke se sprejme v skladu s postopkom iz člena 21(2);

(b) kopitarji za rejo in rabo se morajo identificirati po metodi, uvedeni v skladu s postopkom iz člena 21(2).

5. Poleg zahtev, določenih v členu 5, kopitarji ne smejo prihajati z gospodarstva, ki je bilo predmet enega od naslednjih prepovednih ukrepov:

(a) če niso bile zaklane vse živali iz vrst, dovzetnih za bolezen, ki se nahajajo na gospodarstvu, mora biti obdobje prepovedi za gospodarstvo izvora najmanj:

(i) šest mesecev pri kopitarjih s sumom na spolno kugo konj od datuma zadnjega dejanskega ali možnega stika z bolno živaljo. Za žrebce prepoved velja, dokler žival ni kastrirana;

(ii) šest mesecev pri smrkavosti ali konjskem encefalomielitisu od datuma, ko so bili kopitarji, ki so zboleli za to boleznijo, zaklani;

(iii) pri infekcijski anemiji do datuma, ko so po zakolu okuženih živali preostale živali negativno reagirale na dva Cogginsova testa, izvedena v razmiku treh mesecev;

(iv) šest mesecev od zadnjega registriranega primera pri vezikularnem stomatitisu;

(v) en mesec od zadnjega zaznanega primera pri steklini;

(vi) petnajst dni od zadnjega zaznanega primera pri antraksu;

▼B

(b) če so bile vse živali vrste, dovzetne za bolezen, na gospodarstvu zaklane in prostori razkuženi, je obdobje prepovedi 30 dni od dneva, ko so bile živali uničene in prostori razkuženi, razen pri antraksu, za katerega traja obdobje prepovedi 15 dni.

Pristojni organi lahko odobrijo odstopanje od teh prepovednih ukrepov za hipodrome in dirkališča ter uradno obvestijo Komisijo o naravi vsakega odobrenega odstopanja.

6. ►M1 Če država članica pripravi ali je pripravila prostovoljen ali obvezen program nadzora nad boleznimi, za katere so dovzetni kopitarji, lahko program predloži Komisiji, v šestih mesecih od 4. julija 1990 za Belgijo, Dansko, Nemčijo, Irsko, Grčijo, Španijo, Francijo, Italijo, Luksemburg, Nizozemsko, Portugalsko in Združeno kraljestvo, od 1. januarja 1995 za Avstrijo, Finsko in Švedsko, od 1. maja 2004 za Češko, Estonijo, Ciper, Latvijo, Litvo, Madžarsko, Malto, Poljsko, Slovenijo in Slovaško, od 1. januarja 2007 za Bolgarijo in Romunijo ter od 1. julija 2013 za Hrvaško, pri čemer navede predvsem: ◄

(a) razširjenost bolezni na svojem ozemlju;

(b) razloge za program, pri čemer upošteva pomen bolezni ter prednosti stroškov in koristi programa;

(c) zemljepisno območje, kjer se bo program izvajal;

(d) statusne kategorije za obrate, standarde, ki morajo biti doseženi za vsako vrsto, in uporabljane postopke preskušanja;

(e) postopke spremljanja programa;

(f) predvidene ukrepe, če iz kakršnega koli razloga gospodarstvo izgubi svoj status;

(g) predvidene ukrepe, če bodo rezultati preiskav, opravljenih v skladu z določbami programa, pozitivni;

(h) nediskriminatorno naravo trgovine na ozemlju zadevne države članice glede na trgovino znotraj Skupnosti.

Komisija preuči programe, ki jih predložijo države članice. Kjer je primerno, jih odobri v skladu s postopkom iz člena 21(2). Vsa dodatna jamstva, splošna ali specifična, ki se lahko zahtevajo v trgovini znotraj Skupnosti, se lahko določijo v skladu z istim postopkom. Takšna jamstva ne smejo presegati tistih, ki jih država članica zahteva na svojem ozemlju.

▼B

Programe, ki jih predložijo države članice, je mogoče spreminjati ali dopolnjevati v skladu s postopkom iz člena 21(3). Spremembe ali dopolnitve že odobrenih programov ali jamstev, ki so bila opredeljena v skladu z drugim pododstavkom, se lahko odobrijo po enakem postopku.

Člen 5

1. Država članica, ki ni prosta konjske kuge, lahko odpošlje kopitarje z dela svojega ozemlja, ki se šteje za okuženo v smislu odstavka 2 tega člena, le pod pogoji iz odstavka 5.

2. Del ozemlja države članice se šteje za okuženega s konjsko kugo v naslednjih primerih:

(a) klinični, serološki (pri necepljenih živalih) in/ali epidemiološki dokazi kažejo na prisotnost konjske kuge v zadnjih dveh letih, ali

(b) v zadnjih 12 mesecih se je izvajalo cepljenje proti konjski kugi.

Del ozemlja, ki se šteje za okuženega s konjsko kugo, ima najmanj:

(a) okuženo območje s polmerom najmanj 100 km okoli vsakega središča infekcije;

(b) ogroženo območje, ki sega najmanj 50 km prek okuženega območja, v katerem v zadnjih 12 mesecih ni bilo opravljeno nobeno cepljenje.

3. Pravila za obvladovanje in ukrepi za zatiranje konjske kuge v zvezi z ozemlji in območji iz odstavka 2 in ustrezna odstopanja so določena v Direktivi Sveta 92/35/EGS z dne 29. aprila 1992 o pravilih za obvladovanje in ukrepih za zatiranje konjske kuge ([1]).

4. Vsi cepljeni kopitarji v okuženem območju morajo biti registrirani in označeni v skladu s členom 6(1)(d) Direktive 92/35/EGS.

V identifikacijskem dokumentu in/ali zdravstvenem spričevalu se takšno cepljenje tudi jasno navede.

5. Država članica lahko z ozemlja iz drugega pododstavka odstavka 2 odpošlje le kopitarje, ki izpolnjujejo naslednje zahteve:

(a) odposlati jih je treba samo v določenih obdobjih v letu, odvisno od dejavnosti insektov, ki prenašajo bolezen, ki se določijo v skladu s postopkom iz člena 21(3);

(b) na dan pregleda iz člena 4(1) ne smejo kazati nobenega kliničnega znaka konjske kuge;

([1]) UL L 157, 10.6.1992, str. 19.

▼B

(c) imeti morajo opravljen test za konjsko kugo, opisan v Prilogi IV, in sicer dvakrat v razmiku od 21 do 30 dni med obema testoma, od katerih je zadnji opravljen v 10 dneh pred odpremo:

(i) bodisi z negativnim rezultatom, če niso bili cepljeni proti konjski kugi, ali

(ii) ne da bi se jim zvišalo število protiteles in niso opravili cepljenja v zadnjih dveh mesecih, če so bili cepljeni proti konjski kugi.

V skladu s postopkom iz člena 21(2) in po mnenju Evropske agencije za varnost hrane so lahko priznane druge metode spremljanja;

(d) najmanj 40 dni pred odpremo so morali biti v karanteni;

(e) v času karantene in prevoza iz karantenske postaje na kraj odpreme so morali biti zaščiteni pred insekti, ki prenašajo bolezen.

Člen 6

Države članice, ki za gibanje kopitarjev po svojem ozemlju uporabljajo drugačne sisteme nadzora, vendar z enakimi jamstvi, kakor so določena v členu 4(5), lahko ena drugi vzajemno odobrijo odstopanja od drugega stavka člena 4(1) in člena 8(1)(b).

O tem uradno obvestijo Komisijo.

Člen 7

1. Kopitarje je treba bodisi neposredno ali prek odobrenega zbirnega centra, ki je opredeljen kot „zbirno mesto“ v členu 2(2)(o) Direktive Sveta 64/432/EGS z dne 26. junija 1964 o problemih v zvezi z zdravstvenim varstvom živali, ki vplivajo na trgovino z govedom in prašiči znotraj Skupnosti ([1]), čim prej prepeljati z gospodarstva izvora do namembnega kraja v vozilih ali zabojnikih, ki se redno čistijo in z razkužilom dezinficirajo v časovnih presledkih, ki jih določi država članica pošiljateljica. Vozila morajo biti grajena tako, da iztrebki, stelja ali krma med prevozom ne morejo padati z vozila. Brez poseganja v Uredbo (ES) št. 1/2005 mora biti prevoz izveden na način, ki omogoča učinkovito varstvo zdravja in dobro počutje kopitarjev.

2. Namembna država članica lahko odobri splošno ali omejeno odstopanje od nekaterih zahtev člena 4(5) za katero koli žival s posebno označbo, da je predvidena za zakol, pod pogojem da je tako odstopanje navedeno v zdravstvenem spričevalu v skladu s Prilogo III.

([1]) UL 121, 29.7.1964, str. 1977.

▼B

Kadar so odobrena taka odstopanja, je treba prepeljati kopitarje za zakol neposredno v določeno klavnico, kjer morajo biti zaklani v petih dneh od prihoda v klavnico.

3. Uradni veterinar mora evidentirati identifikacijsko številko ali številko identifikacijskega dokumenta zaklane živali in pristojnemu organu kraja pošiljanja na njegovo zahtevo poslati potrdilo, da je bila žival zaklana.

Člen 8

1. Države članice zagotovijo, da:

(a) registrirane kopitarje, ki zapustijo gospodarstva, spremlja identifikacijski dokument, določen v členu 4(4)(a), in potrdilo o zdravstvenem stanju, predvideno v Prilogi II, če so namenjeni za trgovino znotraj Skupnosti;

(b) kopitarje za rejo, rabo in zakol med prevozom spremlja zdravstveno spričevalo v skladu s Prilogo III.

2. Zdravstveno spričevalo ali, kadar gre za registrirane kopitarje potrdilo o zdravstvenem stanju, mora biti brez poseganja v člen 6 sestavljeno v 48 urah pred vkrcanjem in najpozneje zadnji delovni dan pred vkrcanjem vsaj v enem od uradnih jezikov države članice pošiljateljice in namembne države članice. Zdravstveno spričevalo ali potrdilo o zdravstvenem stanju je veljavno 10 dni. Zdravstveno spričevalo ali potrdilo o zdravstvenem stanju mora obsegati en sam list papirja.

3. Za premik kopitarjev med državami članicami, ki niso registrirani, jih lahko namesto posameznih zdravstvenih spričeval iz točke (b) odstavka 1 spremlja eno samo zdravstveno spričevalo na pošiljko.

Člen 9

Pravila iz Direktive 90/425/EGS se uporabljajo predvsem za preglede v državi porekla, organizacijo in nadaljnje ukrepanje po pregledih, ki jih mora opraviti namembna država članica, in za ukrepe zaščite, ki jih je treba izvesti.

Člen 10

Veterinarski izvedenci Komisije lahko v obsegu, potrebnem za zagotavljanje enotnega izvajanja te direktive, v sodelovanju s pristojnimi nacionalnimi organi opravljajo preglede na kraju samem. Komisija o rezultatih takšnih pregledov obvesti države članice.

Države članice, na ozemlju katerih se pregled izvaja, zagotovijo izvedencem pri opravljanju njihovih dolžnosti vso potrebno pomoč.

▼B

Splošne določbe za uporabo tega člena se sprejmejo v skladu s postopkom iz člena 21(2).

POGLAVJE III

PRAVILA ZA UVOZ IZ TRETJIH DRŽAV

Člen 11

Kopitarji, uvoženi v Skupnost, morajo izpolnjevati pogoje, določene v členih 12 do 16.

Člen 12

1. Uvoz kopitarjev v Skupnost se dovoli le iz tretjih držav, ki so navedene na seznamu, ki so sestavljeni ali popravljeni v skladu s postopkom iz člena 21(2).

Ob upoštevanju zdravstvenega stanja in jamstev, ki jih dajejo tretje države za kopitarje, se v skladu s postopkom iz člena 21(2) lahko odloči, da se dovoljenje iz prvega pododstavka tega člena uporablja za celotno ozemlje tretje države ali samo za del njenega ozemlja.

V ta namen in ob upoštevanju relevantnih mednarodnih standardov se upošteva, kako tretja država uporablja in izvaja te standarde, zlasti načelo regionalizacije na lastnem ozemlju in glede na njene zdravstvene zahteve za uvoz iz tretjih držav in iz Skupnosti.

2. Pri pripravi ali popravku seznama iz odstavka 1 je treba zlasti upoštevati:

(a) zdravstveno stanje kopitarjev, drugih domačih živali in prosto živečih živali v tretji državi, s posebnim ozirom na bolezni eksotičnih živali in vse vidike splošnega zdravstvenega in okoljskega stanja v tretji državi, ki bi lahko predstavljali tveganje za zdravstveno in okoljsko stanje v Skupnosti;

(b) zakonodajo tretje države na področju zdravstvenega varstva in dobrega počutja živali;

(c) organizacijo pristojne veterinarske uprave in njenih inšpekcijskih služb, pristojnosti teh služb, nadzor, ki so mu podvržene, in sredstva, ki so jim na razpolago, vključno z osebjem in laboratorijskimi zmogljivostmi, da učinkovito izvajajo nacionalno zakonodajo;

(d) zagotovila, ki jih lahko da pristojna veterinarska uprava tretje države glede skladnosti ali enakovrednost z relevantnimi pogoji zdravstvenega varstva živali, ki se uporabljajo v Skupnosti;

▼B

(e) ali je tretja država članica Svetovne organizacije za zdravje živali (OIE) in rednost in hitrost podatkov, ki jih daje tretja država glede obstoja nalezljivih ali kužnih bolezni kopitarjev na njenem ozemlju, zlasti glede bolezni, navedenih v seznamu OIE in v Prilogi I k tej direktivi;

(f) jamstva, ki jih zagotovi neposredno tretja država, da informira Komisijo in države članice:

(i) v 24 urah od potrditve pojava bolezni kopitarjev iz Priloge I in od spremembe politike cepljenja za te bolezni;

(ii) v ustreznem roku o vseh predlaganih spremembah v nacionalnih zdravstvenovarstvenih predpisih za kopitarje, zlasti glede uvoza;

(iii) v rednih časovnih presledkih o zdravstvenem stanju kopitarjev na svojem ozemlju;

(g) izkušnje iz prejšnjih uvozov živih kopitarjev iz tretje države in rezultate izvedenih uvoznih kontrol;

(h) rezultate inšpekcij in/ali revizij, ki jih je Skupnost opravila v tretji državi, zlasti rezultate ocene pristojnih organov ali, na zahtevo Komisije, poročilo, ki so ga predložili pristojni organi o izvedenih inšpekcijah;

(i) pravila o preprečevanju in nadzoru nalezljivih ali kužnih bolezni, ki veljajo v tretji državi in njihovo izvajanje, vključno s pravili o uvozu kopitarjev iz tretjih držav.

3. Komisija poskrbi, da so javnosti na razpolago ažurne verzije seznama, pripravljenega ali popravljenega v skladu z odstavkom 1.

Ta seznam se lahko objavi skupaj z drugimi seznami, pripravljenimi za namene zdravstvenega varstva živali, in lahko tudi zajema vzorce zdravstvenih spričeval.

4. V skladu s postopkom iz člena 21(2) se določijo posebni uvozni pogoji za vsako tretjo državo ali skupino tretjih držav, ob upoštevanju zdravstvenega stanja kopitarjev v zadevni tretji državi ali tretjih državah.

5. V skladu s postopkom iz člena 21(2) se lahko sprejmejo podrobna pravila za uporabo odstavkov 1 do 4 in merila za vključitev tretjih držav ali delov tretjih držav v sezname iz odstavka 1.

Člen 13

1. Kopitarji morajo izhajati iz tretjih držav, ki so:

(a) proste konjske kuge;

(b) bile zadnji dve leti proste venezuelskega encefalomielitisa kopitarjev (VEE);

(c) bile šest mesecev proste spolne kuge konj in smrkavosti.

▼B

2. V skladu s postopkom iz člena 21(2) se lahko odloči:

(a) da določbe odstavka 1 tega člena veljajo samo za del ozemlja tretje države.

Če se zahteve glede konjske kuge uporabljajo na regionalni osnovi, morajo biti izpolnjeni najmanj ukrepi, določeni v členu 5(2) in (5);

(b) da se zahteva dodatna jamstva za bolezni, ki so Skupnosti tuje.

Člen 14

Pred dnem nakladanja za prevoz v namembno državo članico morajo biti kopitarji v obdobju, ki se določi z odločbami, sprejetimi v skladu s členom 15, brez prekinitve nastanjeni na ozemlju ali delu ozemlja tretje države, v primeru regionalizacije pa na delu ozemlja, opredeljenem v skladu s členom 13(2)(a).

Izhajati morajo z gospodarstva pod veterinarskim nadzorom.

Člen 15

Uvoz kopitarjev z ozemlja tretje države ali njenega dela, kakor je opredeljeno v skladu s členom 13(2)(a), ki je na seznamu, sestavljenem v skladu s členom 12(1), se dovoli le, če kopitarji poleg zahtev iz člena 13:

(a) izpolnjujejo zahteve v zvezi z zdravstvenim varstvom živali, sprejete glede na zadevno vrsto, kategorijo kopitarjev v skladu s postopkom iz člena 21(2), za uvoz kopitarjev iz navedene države.

Referenčna osnova za določanje teh zahtev v zvezi z zdravstvenim varstvom živali so standardi, določeni v členih 4 in 5; in

(b) če tretja država vsaj zadnjih šest mesecev ni prosta vezikularnega stomatitisa ali kužnega arteritisa, morajo kopitarji izpolnjevati naslednje zahteve:

(i) izhajati morajo z gospodarstva, ki je vsaj zadnjih šest mesecev prosto vezikularnega stomatitisa, in morajo pred odpremo negativno reagirati na serološki test;

(ii) v primeru kužnega arteritisa morajo samci kopitarjev, ne glede na člen 19(b), negativno reagirati na serološki test ali na test izolacije virusa ali na kateri koli drug test, ki jamči, da so živali proste virusa, in je priznan v skladu s postopkom iz člena 21(2).

▼B

V skladu s postopkom iz člena 21(2) in glede na mnenje Evropske agencije za varnost hrane se lahko opredeli kategorije samcev kopitarjev, za katere velja ta zahteva.

Člen 16

1. Kopitarji morajo biti identificirani v skladu s členom 4(4) in spremljati jih mora zdravstveno spričevalo, ki ga izpolni uradni veterinar tretje države izvoznice. To zdravstveno spričevalo mora:

(a) biti izdano na dan nakladanja živali za pošiljanje v namembno državo članico ali, pri registriranih konjih, zadnji delovni dan pred vkrcanjem;

(b) biti sestavljeno v vsaj enem od uradnih jezikov namembnih držav članic in v enem od uradnih jezikov države članice, v kateri je izveden uvozni veterinarski pregled;

(c) spremljati živali v izvirniku;

(d) potrjevati, da živali izpolnjujejo zahteve te direktive in zahteve, določene v skladu s to direktivo, ki se nanašajo na uvoz iz tretjih držav;

(e) obsegati en sam list papirja;

(f) biti izpolnjeno za enega samega prejemnika ali, če gre za živali za zakol, za pošiljko, pod pogojem, da so živali pravilno označene in identificirane.

Če države članice uporabijo to možnost, o tem obvestijo Komisijo.

2. Zdravstveno spričevalo mora biti na obrazcu, ki ustreza vzorcu, sestavljenem v skladu s postopkom iz člena 21(2).

Člen 17

1. Kopitarji za zakol se takoj po prihodu v namembno državo članico odvedejo v klavnico, bodisi neposredno ali prek odobrenega zbirnega centra iz člena 7, in se v skladu z zahtevami v zvezi z zdravstvenim varstvom živali zakoljejo v roku, določenem s sklepi, ki so sprejeti na podlagi člena 15.

2. Brez poseganja v posebne pogoje, ki se lahko sprejmejo v skladu s postopkom iz člena 21(2), lahko pristojni organ namembne države članice na podlagi zdravstvenega stanja živali določi klavnico, v katero je treba prepeljati te kopitarje.

Člen 18

Preglede izvajajo na kraju samem veterinarski izvedenci iz držav članic in Komisije, da preverijo, ali se v praksi uporabljajo določbe te direktive, zlasti člena 12(2).

▼B

Če bi se pri pregledu, izvedenem v okviru pogojev iz tega člena, pojavila pomembna dejstva v škodo odobrenemu gospodarstvu, Komisija o tem nemudoma obvesti države članice in sprejme odločbo o začasnem preklicu odobritve. Dokončna odločba se sprejme skladno s postopkom iz člena 21(3).

Komisija na predlog držav članic imenuje strokovnjake iz držav članic, ki jim bodo takšni pregledi zaupani.

Takšni pregledi se opravljajo v imenu Skupnosti, ki krije vse z njimi povezane stroške.

Pogostost pregledov in postopek se določi v skladu s postopkom iz člena 21(2).

Člen 19

V skladu s postopkom iz člena 21(2):

(a) se lahko določi, da se uvoz iz tretje države ali dela tretje države omeji na določene vrste ali kategorije kopitarjev ali vrst uvoza;

(b) se ne glede na člen 15 določi posebne pogoje za začasen vstop registriranih kopitarjev ali kopitarjev za posebne namene na ozemlje Skupnosti ali za njihov ponovni vstop na ozemlje Skupnosti, če so bili začasno izvoženi;

(c) se določi pogoje za spremembo začasnega vstopa v trajnega;

(d) se lahko določi referenčni laboratorij Skupnosti za eno ali več bolezni kopitarjev iz Priloge I in opredeli funkcije, naloge in postopke za sodelovanje z laboratoriji, odgovornimi za diagnosticiranje nalezljivih bolezni kopitarjev v državah članicah.

POGLAVJE IV

KONČNE DOLOČBE

Člen 20

Priloge I do IV se spremenijo v skladu s postopkom iz člena 21(3).

Člen 21

1. Komisiji pomaga Stalni odbor za prehranjevalno verigo in zdravje živali, ustanovljen s členom 58 Uredbe (ES) št. 178/2002 Evropskega parlamenta in Sveta z dne 28. januarja 2002 o določitvi splošnih načel in zahtevah živilske zakonodaje, ustanovitvi Evropske agencije za varnost hrane in postopkih, ki zadevajo varnost hrane ([1]).

([1]) UL L 31, 1.2.2002, str. 1.

▼B

2. Pri sklicevanju na ta odstavek se uporabljata člena 5 in 7 Sklepa 1999/468/ES.

Obdobje iz člena 5(6) Sklepa 1999/468/ES znaša tri mesece.

3. Pri sklicevanju na ta odstavek se uporabljata člena 5 in 7 Sklepa 1999/468/ES.

Obdobje iz člena 5(6) Sklepa 1999/468/ES znaša 15 dni.

Člen 22

Direktiva 90/426/EGS, kakor je bila spremenjena z akti, navedenimi v delu A Priloge V, je razveljavljena, brez poseganja v obveznosti držav članic glede rokov za prenos direktiv v nacionalno pravo, ki so določeni v delu B Priloge V.

Sklici na razveljavljeno direktivo se upoštevajo kot sklici na to direktivo in se berejo v skladu s korelacijsko tabelo v Prilogi VI.

Člen 23

Ta direktiva začne veljati dvajseti dan po objavi v *Uradnem listu Evropske unije*.

Člen 24

Ta direktiva je naslovljena na države članice.

▼B

PRILOGA I

BOLEZNI, KI JIH JE TREBA OBVEZNO PRIJAVITI

Obvezno je treba prijaviti naslednje bolezni:

— spolna kuga konj

— smrkavost

— konjski encefalomielitis (vseh vrst, vključno z VEE)

— infekciozna anemija

— steklina

— antraks

— konjska kuga

— vezikularni stomatitis

▼B

PRILOGA II

VZOREC

POTRDILO O ZDRAVSTVENEM STANJU [a]

Št. potnega lista .....

Spodaj podpisani potrjujem [b], da zgoraj identificirana žival izpolnjuje naslednje zahteve:

(a) danes je bil pregledan in ne kaže nobenega kliničnega znaka bolezni;

(b) ni namenjen za zakol v skladu z nacionalnim programom za izkoreninjenje kužnih ali nalezljivih bolezni;

(c) — ne izvira z ozemlja ali dela ozemlja države članice, kjer velja omejitev zaradi konjske kuge, ali

izvira z ozemlja ali dela ozemlja države članice, kjer je veljala prepoved zaradi zdravstvenega stanja živali in je uspešno prestal testiranje, predvideno v členu 5(5) Direktive 2009/156/ES, v karantenskem objektu ..... med ..... in ..... [c];

— ni cepljen proti konjski kugi ali

je bil cepljen proti konjski kugi dne ..... [c] [d];

(d) ne izvira z gospodarstva, kjer je veljala prepoved zaradi zdravstvenega stanja živali, in prav tako ni bil v stiku s konji z gospodarstva, kjer je veljala prepoved zaradi zdravstvenega stanja živali:

— šest mesecev v primeru konj, pri katerih se sumi okužba s spolno kugo konj, od datuma zadnjega dejanskega ali možnega stika z bolno živaljo. Za žrebce prepoved velja, dokler žival ni kastrirana,

— šest mesecev v primeru smrkavosti ali konjskega encefalomielitisa od datuma, ko so bili kopitarji, ki so za tozadevno boleznijo zboleli, zaklani,

— v primeru infekciozne anemije do datuma, ko so po zakolu okuženih živali preostale živali negativno reagirale na dva Cogginsova testa, izvedena v razmiku treh mesecev,

— šest mesecev od zadnjega primera v primeru vezikularnega stomatitisa,

— en mesec od zadnjega primera v primeru stekline,

— 15 dni od zadnjega primera v primeru antraksa,

— če so bile vse dovzetne živali za bolezen na gospodarstvu zaklane in prostori razkuženi v 30 dneh od dneva, ko so bile živali pokončane, razen v primeru antraksa, za katerega traja obdobje prepovedi 15 dni;

---

[a] Potrdilo se ne zahteva, če obstaja dvostranski sporazum v skladu s členom 6 Direktive 2009/156/ES.

[b] Velja 10 dni.

[c] Neustrezno prečrtaj.

[d] Datum cepljenja mora biti vpisan v potni list.

▼B

(e) kolikor mi je znano, 15 dni pred to izjavo ni bil v stiku s kopitarji, ki so zboleli za nalezljivo ali kužno boleznijo;

(f) v času pregleda so bile zgoraj navedene živali sposobne za načrtovani prevoz v skladu z določbami Uredbe (ES) št. 1/2005 ([a]).

Datum	Kraj	Žig in podpis uradnega veterinarja ([1])

([1]) Ime s tiskanimi črkami in službeni položaj.

([a]) Ta izjava ne izvzema prevoznikov od izpolnjevanja njihovih obveznosti v skladu z veljavnimi predpisi Skupnosti, predvsem glede sposobnosti živali za prevoz.

▼B

PRILOGA III

VZOREC

ZDRAVSTVENO SPRIČEVALO

za trgovino med državami članicami

KOPITARJI

EVROPSKA SKUPNOST — **Spričevalo za trgovino med državami članicami Evropske skupnosti**

Del I: Podatki o predloženi pošiljki

I.1. Pošiljatelj Ime Naslov Poštna koda	I.2. Referenčna številka spričevala	I.2.a. Lokalna referenčna številka:
	I.3. Osrednji pristojni organ	
	I.4. Lokalni pristojni organ	
I.5. Prejemnik Ime Naslov Poštna koda	I.6. Številka(e) s tem spričevalom povezanega(ih) originalnega(ih) spričeval(a) Številka(e) spremnega(ih) dokumenta(ov)	
	I.7.	
I.8. Država izvora ISO koda	I.9. Regija izvora Koda	I.10. Namembna država ISO koda / I.11. Namembna regija Koda
I.12. Kraj izvora Gospodarstvo ☐ Zbirni center ☐ Drugo ☐ Ime Številka odobritve Naslov Poštna koda		I.13. Namembni kraj Gospodarstvo ☐ Zbirni center ☐ Obrat ☐ Drugo ☐ Ime Številka odobritve Naslov Poštna koda
I.14. Kraj natovarjanja Poštna koda		I.15. Datum in čas pošiljanja
I.16. Prevozno sredstvo Letalo ☐ Ladja ☐ Železniški vagon ☐ Cestno prevozno sredstvo ☐ Drugo ☐ Identifikacija:		I.17. Prevoznik Ime Številka odobritve Naslov Poštna koda Država članica
I.18. Opis blaga		I.19. Koda blaga (CN koda) I.20. Število/količina
I.21.		I.22. Število pakiranj
I.23. Identifikacija kontejnerja/Številka zalivke		I.24. Vrsta pakiranja
I.25. Blago s spričevalom za Vzrejo ☐ Registrirani kopitarji ☐ Zakol ☐ Drugo ☐		
I.26. Tranzit prek tretje države ☐ Tretja država ISO koda Izhodna točka Koda Vhodna točka Enota MKT št.:		I.27. Tranzit prek držav članic ☐ Država članica ISO koda Država članica ISO koda Država članica ISO koda
I.28. Izvoz ☐ Tretja država ISO koda Izhodna točka Koda		I.29. Ocenjeni čas potovanja
I.30. Načrt poti Da ☐ Ne ☐		
I.31. Identifikacija blaga Vrsta (Znanstveno ime) Sistem identifikacije		

▼B

EVROPSKA SKUPNOST **Registrirani kopitarji, kopitarji za rejo in rabo, kopitarji za zakol**

Del II: Izdaja spričeval

II.a. Referenčna številka spričevala	II.b. Lokalna referenčna številka

II. **Podatki o zdravstvenem stanju** (1)

Spodaj podpisani potrjujem, da živali, opisane zgoraj, izpolnjujejo naslednje zahteve:

II.1. so bile danes pregledane in ne kažejo kliničnih znakov bolezni;

II.2. niso namenjene za zakol po nacionalnem programu za izkoreninjanje kužnih ali infekcijskih bolezni;

bodisi (2) [II.3. ne izvirajo z ozemlja ali dela ozemlja države članice, za katerega zaradi konjske kuge veljajo omejitve;]

bodisi (2) [II.3. izvirajo z ozemlja ali dela ozemlja države članice, za katerega zaradi konjske kuge veljajo omejitve, so bile vsaj 40 dni pred nakladanjem v karantenskem centru z dokazano zaščito pred vektorji ..... in imajo opravljen test za odkrivanje protiteles proti virusu konjske kuge, kot je opisan v Prilogi IV k Direktivi 2009/156/ES, ki je bil izveden istočasno na dveh krvnih vzorcih, odvzetih v razmiku 21 do 30 dni, in sicer dne ..... *(vstaviti datum)* ter dne ..... *(vstaviti datum)*, pri čemer je bil drugi vzorec odvzet največ 10 dni pred nakladanjem;

bodisi (3) [z negativnim rezultatom v obeh primerih, če niso bile cepljene proti konjski kugi;]

bodisi (2) [brez povečanja števila protiteles, če so bile cepljene proti konjski kugi;]

bodisi (3) [II.4. niso bile cepljene proti konjski kugi;]

bodisi (2) [II.4. so bile cepljene proti konjski kugi dne ..... *(vstaviti datum)*,

bodisi (3) [vsaj dva meseca pred izdajo spričevala;]

bodisi (2) [vsaj dva meseca pred vstopom v karantenski center;]

II.5. ne izvirajo iz gospodarstva, za katerega je veljala prepoved zaradi zdravstvenega stanja živali, v kateri je bil določen vsaj eden od naslednjih pogojev:

bodisi (3) [niso bile zaklane vse živali na gospodarstvu iz vrst, dovzetnih za bolezni iz točk (a) do (g) v nadaljevanju, prepoved pa je veljala vsaj:

(a) za kopitarje s sumom na spolno kugo konj:

bodisi (2) [šest mesecev od datuma zadnjega dejanskega ali morebitnega stika z bolno živaljo ali živaljo, okuženo s *Trypanosoma equiperdum*;]

bodisi (2) [za žrebce: dokler ni žival kastrirana;]

(b) pri smrkavosti: šest mesecev od datuma, ko so bili kopitarji, ki so zboleli za to boleznijo ali so imeli pozitiven rezultat pri testu za odkrivanje povzročitelja bolezni *Burkholderia mallei* ali protiteles za tega povzročitelja, usmrčeni in uničeni;

(c) pri konjskem encefalomelitisu katere koli vrste: šest mesecev od datuma, ko so bili usmrčeni kopitarji, ki so zboleli za to boleznijo, razen pri okužbi z virusom zahodnega Nila, ko se šestmesečno obdobje prične na datum, ko je okuženi kopitar poginil, bil odstranjen z gospodarstva ali je popolnoma okreval;

▼B

EVROPSKA SKUPNOST **Registrirani kopitarji, kopitarji za rejo in rabo, kopitarji za zakol**

II. **Podatki o zdravstvenem stanju** (1)	II.a. Referenčna številka spričevala	II.b. Lokalna referenčna številka

(d) pri infekciozni anemiji: do datuma, ko je bila reakcija živali, preostalih po usmrtitvi okuženih živali, na dva cogginsova testa, opravljena na dveh krvnih vzorcih, odvzetih v razmiku treh mesecev, negativna;

(e) pri vezikularnem stomatitisu: šest mesecev od zadnjega primera;

(f) pri steklini: en mesec od zadnjega primera;

(g) pri antraksu: 15 dni od zadnjega primera;]

bodisi (2) [po pojavu spolne kuge konj, smrkavosti, konjskega encefalomelitisa katere koli vrste, infekciozne anemije kopitarjev, vezikularnega stomatitisa, antraksa ali stekline so bile usmrčene vse živali na gospodarstvu iz vrst, dovzetnih za zadevno bolezen, prepoved pa je veljala 30 dni oziroma 15 dni pri antraksu, s pričetkom na datum, ko so bili po usmrtitvi živali prostori ustrezno razkuženi;]

II.6. kolikor mi je znano, 15 dni pred to izjavo niso bile v stiku s kopitarji, ki so zboleli za nalezljivo ali kužno boleznijo;

II.7. v času pregleda so bile sposobne za načrtovani prevoz v skladu z določbami Uredbe (ES) št. 1/2005 (3).

Pojasnila

Del I

Rubrika I.6: za kopitarje, navedene v Washingtonski konvenciji o zaščitenih živalskih vrstah in proizvodih iz njih, se vstavi številka dovoljenja CITES.

Rubrika I.16: registrska številka (železniških vagonov ali kontejnerjev in tovornjakov), številka leta (letala) ali ime (ladje).

Rubrika I.19: uporabite ustrezno oznako harmoniziranega sistema (HS) Svetovne carinske organizacije: 01.01.01 ali 01.01.06.19.

Rubrika I.31: vrsta: konj, osel, mula, mezeg, zebra (vključno s križanci).

Identifikacijski sistem: do 31. decembra 2009 ustreza identifikacijski številki iz člena 2 Odločbe Komisije 2000/68/ES, od 1. januarja 2010 pa enotni življenjski številki iz člena 2(d) in oddelka 1(A)(4) Priloge I k Uredbi Komisije (ES) št. 504/2008.

Del II

(1) Podatkov iz točk II.1. do II.6. se ne zahteva, če obstaja dvostranski sporazum v skladu s členom 6 Direktive 2009/156/ES.

(2) Neustrezno prečrtaj.

(3) Prevozniki s to izjavo niso izvzeti od izpolnjevanja svojih obveznosti v skladu z veljavnimi predpisi Skupnosti, predvsem glede sposobnosti živali za prevoz.

— To spričevalo je veljavno 10 dni.

— Barva žiga in podpisa se mora razlikovati od barve drugih podatkov na spričevalu.

Uradni veterinar ali uradni inšpektor

Ime (z velikimi tiskanimi črkami): Izobrazba in naziv:

Lokalna veterinarska enota: Št. pristojne LVE:

Datum: Podpis:

Pečat

▼M2

PRILOGA IV

KONJSKA KUGA

DIAGNOSTIKA

DEL A

Serološki testi

V nadaljevanju opisana serološka metoda so encimski imunski testi (testi ELISA) na podlagi točke 2 oddelka B poglavja 2.5.1 Priročnika diagnostičnih testov in cepiv za kopenske živali, izdaja 2016, ki jo je maja 2012 sprejela generalna skupščina delegatov OIE.

Virusni protein VP7 je glavni imunodominantni antigen virusa konjske kuge (VKK) in je prisoten v vseh devetih serotipih VKK. Rekombinantni proteini VKK-VP7 so dokazano stabilni, neškodljivi in primerni za uporabo kot antigeni pri postopkih ELISA za določanje protiteles proti VKK z visoko stopnjo občutljivosti in specifičnosti (Laviada in sod., 1992b ([1]); Maree in Paweska, 2005). Indirektna ELISA in blok ELISA sta dva testa ELISA na VKK-VP7 za serološko diagnostiko konjske kuge.

1. **Indirektna ELISA za določanje protiteles proti virusu konjske kuge (VKK)**

Konjugat, ki se uporablja pri tej metodi, je konjugat med hrenovo peroksidazo in anti-konjskimi gama globulini, ki reagira s serumom konj, mul in oslov. Metoda, ki jo opisujeta Maree & Paweska (2005) ([2]), uporablja protein G kot konjugat, ki reagira s serumom zeber.

Antigen lahko zagotovi laboratorij Centro de Investigación en Sanidad Animal (CISA), Španija, v 4 do 6 mesecih po zahtevi.

1.1 *Postopek testa*

1.1.1 Trdna faza

1.1.1.1 V ELISA plošče nanesemo rekombinantni VKK-4-VP7, razredčen v karbonatnem/bikarbonatnem pufru, pH 9,6. Plošče inkubiramo čez noč pri 4 °C.

1.1.1.2 Plošče petkrat speremo z destilirano vodo, ki vsebuje 0,01 % (volumski delež) Tween 20 (spiralna raztopina). S ploščo nežno potolčemo po vpojnem materialu, da odstranimo ostanke spiralne tekočine.

1.1.1.3 Plošče blokiramo s fosfatnim pufrom (PBS) pH 7,2 + 5 % (utežni delež) posnetega mleka v prahu (Nestlé Dry Skim Milk™), 200 µl/vdolbinico, za 1 uro pri 37 °C.

1.1.1.4 Odstranimo pufer za blokiranje in nežno potolčemo s ploščo po vpojnem materialu.

([1]) Laviada M.D., Roy P. in Sanchez-Vizcaino J.M (1992b). *Adaptation and evaluation of an indirect ELISA and inmunoblotting test for African horse sickness antibody detection* (Prilagajanje in ocena indirektne ELISA in testa imunoblot za določanje protiteles proti virusu konjske kuge.) V: Bluetongue, African Horse Sickness and Related Orbiviruses: Proceedings of the Second International Symposium. Walton T.E. & Osburn B.I., Eds. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 646–650.

([2]) Maree S. in Paweska J.T. (2005). *Preparation of recombinant African horse sickness virus VP7 antigen via a simple method and validation of a VP7-based indirect ELISA for the detection of group-specific IgG antibodies in horse sera* (Priprava rekombinantnega antigena VKK-VP7 s preprosto metodo in potrjevanje indirektne ELISA na podlagi VP7 za določanje skupinsko specifičnih protiteles IgG v serumih konjev). J. Virol. Methods, 125 (1), 55–65.

▼M2

1.1.2 Preiskovani vzorci

1.1.2.1 Serumski vzorci, pozitivni in negativni kontrolni serum se redčijo 1: 25 v PBS + 5 % (utežni delež) posnetega mleka + 0,05 % (volumski delež) Tween 20, 100 µl na vdolbinico. Inkubiramo 1 uro pri 37 °C.

Za titracijo pripravimo serije dvakratnih razredčin od 1: 25 (100 µl/vdolbinico), en vzorec seruma na stolpec plošče, isto naredimo s pozitivnim in negativnim kontrolnim serumom. Inkubiramo 1 uro pri 37 °C.

1.1.2.2 Plošče petkrat speremo z destilirano vodo, ki vsebuje 0,01 % (volumski delež) Tween 20 (spiralna raztopina). S ploščo nežno potolčemo po vpojnem materialu, da odstranimo ostanke spiralne tekočine.

1.1.3 Konjugat

1.1.3.1 V vdolbinice dodamo po 100 µl anti-konjskih gama globulinov, označenih s hrenovo peroksidazo (HRP), razredčenih v PBS + 5 % mleka + 0,05 % Tween 20, pH 7,2. Inkubiramo 1 uro pri 37 °C.

1.1.3.2 Plošče petkrat speremo z destilirano vodo, ki vsebuje 0,01 % (volumski delež) Tween 20 (spiralna raztopina). S ploščo nežno potolčemo po vpojnem materialu, da odstranimo ostanke spiralne tekočine.

1.1.4 Kromogen/substrat

1.1.4.1 V vdolbinice dodamo po 200 µl raztopine kromogena/substrata (10 ml 80,6 mM DMAB (dimetil aminobezaldehid) + 10 ml 1,56 mM MBTH (3-metil-2-benzo-tiazolin hidrazon hidroklorid) + 5 µl H_2O_2).

Razvijanje barve se ustavi z dodatkom 50 µl 3N H_2SO_4 po približno 5 do 10 minutah (preden se začne barvati negativna kontrola).

Lahko se uporabijo tudi drugi kromogeni, kot so ABTS (2,2′-azino-bis-[3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kislina]), TMB (tetra-metil benzidin) ali OPD (orto-fenildiamin).

1.1.4.2 Plošče odčitamo pri 600 nm (ali 620 nm).

1.2 *Interpretacija rezultatov*

1.2.1 Izračunamo mejno vrednost, tako da vrednosti negativne kontrole dodamo 0,06 (0,06 je standardna deviacija, dobljena s skupino 30 negativnih serumov).

1.2.2 Preiskovani vzorci, ki dajo vrednosti absorbance nižje od mejne vrednosti, se smatrajo kot negativni.

1.2.3 Preiskovani vzorci, ki dajo vrednosti absorbance višje od mejne vrednosti + 0,15, se obravnavajo kot pozitivni.

1.2.4 Preiskovani vzorci, ki dajo vmesne vrednosti absorbance, se štejejo za neopredeljive,zato je potrebno za potrditev rezultata uporabiti drugo metodo.

▼M2

2. **Blok ELISA za določanje protiteles proti virusu konjske kuge (VKK)**

Kompetitivni blok ELISA je namenjen določanju specifičnih protiteles proti VKK v serumu katere koli vrste enoprstih kopitarjev, tj. konjev, oslov, zeber in njihovih križancev, in preprečuje težave s specifičnostjo, ki se občasno pojavlja pri uporabi indirektne ELISA.

Princip testa je blokiranje reakcije med rekombinantnim proteinom VP7, absorbiranim na ploščo ELISA, in z konjugiranim specifičnim monoklonskim protitelesom VKK-VP7 (Mpt). Protitelesa v preiskovanem serumu bodo preprečila reakcijo med antigenom in Mpt, kar bo povzročilo manjšo intenziteto obarvanja. Ker je Mpt prav tako usmerjeno proti VP7, je test visoko občutljiv in specifičen.

Kompetitivni blok ELISA je na voljo na trgu.

2.1 *Postopek testa*

2.1.1 Trdna faza

2.1.1.1 V ELISA plošče nanesemo 50–100 ng rekombinantnega VKK-4-VP7, razredčenega v karbonatnem/bikarbonatnem pufru, pH 9,6. Inkubiramo čez noč pri 4 °C.

2.1.1.2 Plošče trikrat speremo s fosfatnim pufrom (PBS) 0,1×, ki vsebuje 0,135 M NaCl in 0,05 % (volumski delež) Tween 20 (PBST). S ploščo nežno potolčemo po vpojnem materialu, da odstranimo ostanke spiralne tekočine.

2.1.2 Preiskovani vzorci in kontrole

2.1.2.1 Preiskovani serumski vzorci ter pozitivni in negativni kontrolni serum se redčijo 1: 5 v razredčilu, ki vsebuje 0,35 M NaCl, 0,05 % (volumski delež), Tween 20 in 0,1 % Kathon, 100 µl na vdolbinico. Inkubiramo 1 uro pri 37 °C.

Za titracijo pripravimo serije dvakratnih razredčin preiskovanih serumov od 1: 10 do 1: 280 preko osmih vdolbinic (100 µl/vdolbinico), en vzorec seruma na stolpec plošče, isto naredimo s pozitivnim in negativnim kontrolnim serumom. Inkubiramo 1 uro pri 37 °C.

2.1.2.2 Plošče petkrat speremo s fosfatnim pufrom (PBS) 0,1×, ki vsebuje 0,135 M NaCl in 0,05 % (volumski delež) Tween 20 (PBST). S ploščo nežno potolčemo po vpojnem materialu, da odstranimo ostanke spiralne tekočine.

2.1.3 Konjugat

2.1.3.1 V vdolbinice dodamo po 100 µl anti-VP7 Mpt, označenega s hrenovo peroksidazo. Pred tem je bilo to Mpt razredčeno na 1/5 000–1/15 000 v 1/1 raztopini stabilizatorja StabiliZyme Select® (SurModics. Referenca: SZ03) v destilirani vodi. Inkubiramo 30 minut pri 37 °C.

2.1.3.2 Plošče petkrat speremo s fosfatnim pufrom (PBS) 0,1×, ki vsebuje 0,135 M NaCl in 0,05 % (volumski delež) Tween 20 (PBST). S ploščo nežno potolčemo po vpojnem materialu, da odstranimo ostanke spiralne tekočine.

▼M2

2.1.4 Kromogen/substrat

V vdolbinice dodamo po 100 µl raztopine kromogena/substrata, tj. 1 ml ABTS (2,2′-azino-bis-[3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kislina]) in 5 mg/ml + 9 ml substratnega pufra (0,1 M fosfatno-citratni pufer s pH 4, ki vsebuje 0,03 % H_2O_2) ter inkubiramo 10 minut pri sobni temperaturi. Razvoj barve se ustavi z dodatkom 100 µl 2 % (utežni delež) SDS (natrijev dodecil sulfat) v vdolbinico.

2.1.5 Odčitavanje

V ELISA čitalcu odčitamo pri 405 nm.

2.2 *Interpretacija rezultatov*

2.2.1 Odstotek blokiranja (OB) v vsakem vzorcu določimo z uporabo naslednje enačbe, pri čemer „Pt“ pomeni protitelesa:

$$OB = \frac{Pt(kontrola^{-}) - Pt(vzorec)}{Pt(kontrola^{-}) - Pt(kontrola^{+})} \times 100$$

2.2.2 Vzorce, ki kažejo vrednost OB več kot 50 %, je treba obravnavati kot pozitivne na protitelesa proti VKK.

2.2.3 Vzorce, ki kažejo vrednost OB manj kot 45 %, je treba obravnavati kot negativne na protitelesa proti VKK.

2.2.4 Vzorce, ki kažejo vrednost OB med 45 % in 50 %, je treba obravnavati kot neopredeljive in jih je treba ponovno testirati. Če je rezultat ponovno neopredeljiv, je treba živali ponovno testirati z vzorci, ki se ne odvzamejo prej kot dva tedna po odvzemu vzorca, ki je bil obravnavan kot neopredeljiv.

DEL B

Identifikacija povzročitelja

Verižna reakcija s polimerazo z reverzno transkripcijo v realnem času (rRT-PCR)

Testi za identifikacijo povzročitelja na osnovi metod z uporabo nukleinske kisline morajo zaznati referenčne seve iz devetih serotipov VKK.

Metoda, opisana v točki 2.1, temelji na točki 1.2 oddelka B poglavja 2.5.1 Priročnika diagnostičnih testov in cepiv za kopenske živali, izdaja 2016, ki jo je maja 2012 sprejela generalna skupščina delegatov OIE.

Katera koli metoda RT-PCR za določanje, uporabljena pri testiranju vzorcev krvi ali vranice v okviru Direktive 2009/156/ES, mora biti enako ali bolj občutljiva od metod iz točke 2.

Referenčne seve inaktiviranih virusov serotipov 1 do 9 je mogoče pridobiti od referenčnega laboratorija Evropske unije ali referenčnega laboratorija OIE za konjsko kugo, Algete, Španija.

1. **Ekstrakcija virusne RNK**

Za zagotovitev dobre reakcije je treba iz vzorca ekstrahirati RNK VKK visoke kakovosti. Ekstrakcija nukleinskih kislin iz kliničnih vzorcev se lahko izvaja z vrsto notranjih in komercialno dostopnih metod.

▼M2

Komercialni kompleti uporabljajo različne pristope za izolacijo RNK. Večina temelji na enem izmed naslednjih postopkov:

— ekstrakcija nukleinskih kislin s fenol-kloroformom,

— adsorpcija nukleinskih kislin na filtrirni sistem,

— adsorpcija nukleinskih kislin na sistem z magnetnimi nizi.

Primer notranje ekstrakcije RNK je naveden spodaj:

1.1 1 g vzorca tkiva homogeniziramo v 1 ml denaturirane raztopine (4 M gvanidinijev tiocianat, 25 mM natrijev citrat, 0,1 M 2-merkaptoetanol, 0,5 % sarkozil).

1.2 Po centrifugiranju supernatantu dodamo 1 µg RNK kvasovk, 0,1 ml 2 M natrijevega acetata s pH 4, 1 ml fenola in 0,2 ml alkoholne mešanice kloroforma/izoamila (49/1).

1.3 Suspenzijo temeljito pretresemo in pustimo 15 minut hladiti na ledu.

1.4 Po centrifugiranju RNK, prisotno v vodni fazi, ekstrahiramo s fenolom, precipitiramo z etanolom in ponovno suspendiramo v sterilni vodi.

2. **Postopek RT-PCR v realnem času**

2.1 *RT-PCR v realnem času, specifična za skupino, po Agüero in sod., 2008* ([1])

Ta RT-PCR v realnem času, specifična za skupino, cilja VKK-VP7 in lahko določi vse znane serotipe VKK in seve, ki trenutno krožijo. Nacionalni referenčni laboratoriji držav članic Evropske unije, ki so sodelovali v letnih preskusih usposobljenosti, ki jih je v obdobju 2009–2015 organiziral referenčni laboratorij Evropske unije, so navedli, da je zagotovil zelo dobre rezultate. Poleg tega je bil ta protokol na podlagi krožnega testa, organiziranega leta 2015 v okviru mreže referenčnih laboratorijev OIE, v primerjavi z ostalimi uvrščen zelo visoko.

Zaporedja začetnih oligonukleotidov in sonde za določanje virusov vrste VKK:

— smiselni začetni oligonukleotid	5′-CCA-GTA-GGC-CAG-ATC-AAC-AG-3′
— protismiselni začetni oligonukleotid	5′-CTA-ATG-AAA-GCG-GTG-ACC-GT-3′
— sonda MGB-TaqMan	5′-FAM-GCT-AGC-AGC-CTA-CCA-CTA-MGB-3′

2.1.1 Osnovno koncentracijo začetnega oligonukleotida razredčimo na delovno koncentracijo 8 µM („delovna raztopina začetnega oligonukleotida 8 µM“), sonda pa se razredči na delovno koncentracijo 50 µM („delovna raztopina sonde 50 µM“). Načrt testne plošče je treba zasnovati in naložiti v programsko opremo za PCR v realnem času. Z uporabo načrta kot vodila dodamo 2,5 µl vsake 8 µM delovne raztopine začetnega oligonukleotida v vsako vdolbinico, ki bo vsebovala vzorce RNK ter pozitivne in/ali negativne kontrole (končna koncentracija sonde bo 1 µM v 20 µl mešanice RT-PCR. Ploščo shranimo na ledu.

([1]) Agüero M., Gomez-Tejedor C., Angeles Cubillo M., Rubio C., Romero E. in Jimenez-Clavero A. (2008). *Real-time fluorogenic reverse transcription polymerase chain reaction assay for detection of African horse sickness virus* (Verižna reakcija s polimerazo s fluorogeno reverzno transkripcijo v realnem času za določanje virusa konjske kuge). J. Vet. Diagn. Invest., 20, 325–328.

▼M2

2.1.2 2 µl izolirane RNK (preiskovani vzorci in pozitivna kontrola) ali 2 µl RNaz proste vode iz kontrol z negativno reakcijo zmešamo s smiselnimi in protismiselnimi začetnimi oligonukleotidi. To mešanico denaturiramo s segrevanjem pri 95 °C za 5 minut, čemur sledi hitro hlajenje z ledom za najmanj 5 minut.

2.1.3 Ustrezno količino glavne mešanice za enostopenjsko RT-PCR v realnem času za število vzorcev, ki jih testiramo, pripravimo po navodilih proizvajalca. V vsako vdolbinico, ki vsebuje vzorce RNK, dodamo po 0,1µl delovne raztopine sonde 50 µM (končna koncentracija sonde bo 0,25 µM v vsaki vdolbinici, ki vsebuje vzorce RNK). 13 µl glavne mešanice za enostopenjsko RT-PCR v realnem času dodamo v vsako vdolbinico na PCR plošči, ki vsebuje denaturirane začetne oligonukleotide in RNK.

2.1.4 Ploščo postavimo v termopomnoževalnik v realnem času, programiran za reverzno transkripcijo in amplifikacijo/fluorescenčno detekcijo cDNK. Pogoji amplifikacije vključujejo prvi korak z reverzno transkripcijo pri 48 °C za 25 minut, čemur sledi 10 minut pri 95 °C („vroč zagon“) in 40 ciklov po 15 sekund pri 95 °C, 35 sekund pri 55 °C in 30 sekund pri 72 °C (ali 40 ciklov po 2 sekundi pri 97 °C in 30 sekund pri 55 °C, če se uporabijo reagenti in termopomnoževalnik, ki omogočajo hitre reakcije). Podatke o fluorescenci pridobimo ob koncu koraka pri 55 °C.

2.1.5 Test ni veljaven, če pridobimo atipične krivulje amplifikacije, in ga je treba ponoviti.

Vzorce štejemo za pozitivne, če je vrednost Ct (številka cikla, pri katerem fluorescenca, ki nastane pri reakciji, seka fluorescenčne prage) enaka ali nižja od določenega praga Ct (35) v 40 ciklih PCR (Ct ≤ 35).

Vzorce štejemo za neopredeljive, če je vrednost Ct višja od določenega praga Ct (35) v 40 ciklih PCR (CT > 35).

Vzorce štejemo za negativne, če pridobimo horizontalno krivuljo amplifikacije, ki ne seka linije praga v 40 ciklih PCR.

2.2 *RT-PCR v realnem času, specifična za skupino, po Guthrie in sod., 2013* ([1])

RT-PCR v realnem času z uporabo sond za prenos energije fluroescenčne resonance je namenjena določanju nukleinske kisline VKK.

Opisana RT-PCR za VKK je bila zasnovana z uporabo zaporedij iz različnih sevov VKK, ki trenutno krožijo na terenu (Quan in sod., 2010 ([2])). Vključuje tudi lastniški sintetični test za zunanji nadzor za preverjanje pravilnega delovanja sestavnih elementov testa.

Kompleti za enostopenjsko PCR v realnem času so na voljo na trgu. Spodaj so opisani nekateri osnovni koraki, kot so jih opisali Guthrie in sod. (2013), ki se lahko spreminjajo glede na posebne lokalne zahteve/zahteve za posamezni primer ter uporabljene komplete in opremo.

([1]) Guthrie AJ, MacLachlan NJ, Joone C, Lourens CW, Weyer CT, Quan M, Monyai MS, Gardner IA. *Diagnostic accuracy of a duplex real-time reverse transcription quantitative PCR assay for detection of African horse sickness virus* (Diagnostična natančnost dvojne kvantitativne verižne reakcije s polimerazo z reverzno transkripcijo v realnem času za določanje virusa konjske kuge). Journal of Virological Methods. 2013;189(1):30–5

([2]) Quan, M., Lourens, C.W., MacLachlan, N.J., Gardner, I.A., Guthrie, A.J., 2010. *Development and optimisation of a duplex real-time reverse transcription quantitative PCR assay targeting the VP7 and NS2 genes of African horse sickness virus* (Razvoj in optimizacija dvojne kvantitativne PCR z reverzno transkripcijo v realnem času, ki cilja gene VKK za VP7 in NS2). J. Virol. Methods 167, 45–52.

▼M2

Zaporedja začetnih oligonukleotidov in sonde za določanje virusov vrste VKK:

— smiselni začetni oligonukleotid	5′-AGA-GCT-CTT-GTG-CTA-GCA-GCC-T-3′
— protismiselni začetni oligonukleotid	5′-GAA-CCG-ACG-CGA-CAC-TAA-TGA-3′
— sonda MGB-TaqMan	5′-FAM-TGC-ACG-GTC-ACC-GCT-MGB-3′

2.2.1 Osnovne raztopine začetnih oligonukeotidov in sonde se pripravijo v 25× koncentraciji pri 5 μM za smiselne in protismiselne začetne oligonukleotide ter pri 3 μM za sondo. Načrt testne plošče je treba zasnovati in naložiti v programsko opremo za PCR v realnem času. Z uporabo načrta kot vodila dodamo v ustrezne vdolbinice plošče po razporeditvi 5 μl vzorcev RNK, vključno s preiskovanimi vzorci ter pozitivnimi in negativnimi kontrolami.

2.2.2 RNK denaturiramo s segrevanjem pri 95 °C za 5 minut, čemur sledi hitro hlajenje z ledom za najmanj 3 minut.

2.2.3 Ustrezno količino glavne mešanice za enostopenjsko RT-PCR v realnem času za število vzorcev, ki jih testiramo, pripravimo po navodilih proizvajalca. 1 μl 25× osnovne raztopine začetnih oligonukleotidov in sonde (iz točke 2.2.1 zgoraj) vključimo v glavno mešanico, da dobimo končno koncentracijo v vsaki vdolbinici 200 nM za vsak začetni oligonukleotid in 120 nM za vsako sondo. 20 μl glavne mešanice dodamo v vsako vdolbinico na plošči PCR, ki vsebuje denaturirano RNK.

2.2.4 Ploščo postavimo v termopomnoževalnik v realnem času, programiran za reverzno transkripcijo in amplifikacijo/fluorescenčno detekcijo cDNK, kot to predlagajo proizvajalci. Pogoji amplifikacije vključujejo na primer prvi korak z reverzno transkripcijo pri 48 °C za 10 minut, čemur sledi 10 minut pri 95 °C in 40 ciklov po 15 sekund pri 95 °C ter 45 sekund pri 60 °C.

2.2.5 Vzorce štejemo za pozitivne, če normirana fluorescenca pri testu RT-PCR za VKK preseže prag 0,1 pred 36. ciklom PCR pri vseh ponovitvah vzorca.

Vzorce štejemo za neopredeljive, če normirana fluorescenca pri testu RT-PCR za VKK preseže prag 0,1 med 36. in 40. ciklom PCR pri kateri koli od ponovitev vzorca.

Vzorce štejemo za negativne, če normirana fluorescenca pri testu RT-PCR za VKK ne preseže praga 0,1 pred 40. ciklom PCR pri vseh ponovitvah vzorca in če normirana fluorescenca pri lastniškem sintetičnem testu za zunanji nadzor preseže prag 0,1 pred 33. ciklom PCR.

▼B

PRILOGA V

DEL A

Razveljavljena direktiva s seznamom njenih zaporednih sprememb

(iz člena 22)

Direktiva Sveta 90/426/EGS (UL L 224, 18.8.1990, str. 42)	
Direktiva Sveta 90/425/EGS (UL L 224, 18.8.1990, str. 29)	Samo člen 15(3)
Direktiva Sveta 91/496/EGS (UL L 268, 24.9.1991, str. 56)	Samo glede sklicevanja na Direktivo 90/426/EGS v členu 26(2)
Odločba Komisije 92/130/EGS (UL L 47, 22.2.1992, str. 26)	
Direktiva Sveta 92/36/EGS (UL L 157, 10.6.1992, str. 28)	Samo člen 1
1994, Akt o pristopu, Priloga I, točka V.E.I.A.3 (UL C 241, 29.8.1994, str. 132)	
Odločba Komisije 2001/298/ES (UL L 102, 12.4.2001, str. 63)	Samo glede sklicevanja na Direktivo 90/426/EGS v členu 1(1) in Prilogi I, točka 2
Odločba Komisije 2002/160/ES (UL L 53, 23.2.2002, str. 37)	
Uredba Sveta (ES) št. 806/2003 (UL L 122, 16.5.2003, str. 1)	Samo Priloga III, točka 10
2003, Akt o pristopu, Priloga II, točka 6.B.I.16 (UL L 236, 23.9.2003, str. 381)	
Direktiva Sveta 2004/68/ES (UL L 139, 30.4.2004, str. 321)	Samo člen 15
Direktiva Sveta 2006/104/ES (UL L 363, 20.12.2006, str. 352)	Samo Priloga, točka I.2
Direktiva Sveta 2008/73/ES (UL L 219, 14.8.2008, str. 40)	Samo člen 7

DEL B

Roki za prenos v nacionalno pravo

(iz člena 22)

Direktiva	Roki za prenos
90/426/EGS	1. januar 1992
90/425/EGS	1. julij 1992
91/496/EGS	1. julij 1992
92/36/EGS	31. december 1992
2004/68/ES	19. november 2005
2006/104/ES	1. januar 2007
2008/73/ES	1. januar 2010

▼B

PRILOGA VI

Korelacijska Tabela

Direktiva 90/426/EGS	Ta direktiva
Člen 1	Člen 1
Člen 2(a) in (b)	Člen 2(a) in (b)
Člen 2(c)	Člen 2(c)(i) in (ii)
Člen 2(d) do (i)	Člen 2(d) do (i)
Člen 3	Člen 3
Člen 4(1), (2) in (3)	Člen 4(1), (2) in (3)
Člen 4(4)(i) in (ii)	Člen 4(4)(a) in (b)
Člen 4(5)(a), prva do šesta alinea	Člen 4(5)(a), (i) do (vi)
Člen 4(5)(b)	Člen 4(5)(b)
Člen 4(6), prvi pododstavek, prva do osma alinea	Člen 4(6), prvi pododstavek, (a) do (h)
Člen 4(6), drugi in tretji pododstavek	Člen 4(6), drugi in tretji pododstavek
Člen 5(1)	Člen 5(1)
Člen 5(2)(a)	Člen 5(2), prvi pododstavek, (a) in (b)
Člen 5(2)(b)	Člen 5(2), drugi pododstavek, (a) in (b)
Člen 5(2)(c)	Člen 5(3)
Člen 5(2)(d)	Člen 5(4)
Člen 5(3)(a) in (b)	Člen 5(5)(a) in (b)
Člen 5(3)(c), prva in druga alinea	Člen 5(5)(c), prvi pododstavek, (i) in (ii)
Člen 5(3)(c), druga alinea, zadnji stavek	Člen 5(5)(c), drugi pododstavek
Člen 5(3)(d) in (e)	Člen 5(5)(d) in (e)
Člen 6	Člen 6
Člen 7	Člen 7
Člen 8(1), prvi pododstavek, prva in druga alinea	Člen 8(1)(a) in (b)
Člen 8(1), drugi pododstavek	Člen 8(2)
Člen 8(2)	Člen 8(3)
Člen 9	Člen 9
Člen 10	Člen 10

▼B

Direktiva 90/426/EGS	Ta direktiva
Člen 11(1)	Člen 11
Člen 11(2)	—
Člen 12	Člen 12
Člen 13	Člen 13
Člen 14	Člen 14
Člen 15	Člen 15
Člen 16(1)(a) do (f)	Člen 16(1)(a) do (f)
Člen 16(1), zadnji stavek	—
Člen 16(2)	Člen 16(2)
Člen 17	Člen 18
Člen 18	Člen 17
Člen 19(i) do (iv)	Člen 19(a) do (d)
Člen 22	—
Člen 23	Člen 20
Člen 24(1) in (2)	Člen 21(1) in (2)
Člen 24(3)	—
Člen 25(1) in (2)	Člen 21(1) in (3)
Člen 26	—
Člen 27	—
—	Člen 22
—	Člen 23
Člen 28	Člen 24
Priloga A	Priloga I
Priloga B	Priloga II
Priloga C	Priloga III
Priloga D	Priloga IV
—	Priloga V
—	Priloga VI