**Το έγγραφο αυτό συνιστά βοήθημα τεκμηρίωσης και δεν δεσμεύει τα κοινοτικά όργανα**

►**B** **ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΕ) αριθ. 175/2010 ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ**

**της 2ας Μαρτίου 2010**

**για την εφαρμογή της οδηγίας 2006/88/ΕΚ του Συμβουλίου όσον αφορά τα μέτρα για τον περιορισμό της αυξημένης θνησιμότητας στα στρείδια του είδους *Crassostrea gigas* σε συνδυασμό με την ανίχνευση του ερπητοϊού των στρειδιών 1 μvar (OsHV-1 μvar)**

**(Κείμενο που παρουσιάζει ενδιαφέρον για τον ΕΟΧ)**

(ΕΕ L 52 της 3.3.2010, σ. 1)

Τροποποιείται από:

| | | Επίσημη Εφημερίδα | | |
|---|---|---|---|---|
| | | αριθ. | σελίδα | ημερομηνία |
| ►**M1** | Κανονισμός (ΕΕ) αριθ. 1153/2010 της Επιτροπής της 8ης Δεκεμβρίου 2010 | L 324 | 39 | 9.12.2010 |

▼B

**ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΕ) αριθ. 175/2010 ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ**

**της 2ας Μαρτίου 2010**

**για την εφαρμογή της οδηγίας 2006/88/ΕΚ του Συμβουλίου όσον αφορά τα μέτρα για τον περιορισμό της αυξημένης θνησιμότητας στα στρείδια του είδους *Crassostrea gigas* σε συνδυασμό με την ανίχνευση του ερπητοϊού των στρειδιών 1 μvar (OsHV-1 μvar)**

**(Κείμενο που παρουσιάζει ενδιαφέρον για τον ΕΟΧ)**

Η ΕΥΡΩΠΑΪΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ,

Έχοντας υπόψη:

τη συνθήκη για τη λειτουργία της Ευρωπαϊκής Ένωσης,

την οδηγία 2006/88/ΕΚ του Συμβουλίου, της 24ης Οκτωβρίου 2006, σχετικά με τις απαιτήσεις υγειονομικού ελέγχου για τα ζώα υδατοκαλλιέργειας και τα προϊόντα τους και σχετικά με την πρόληψη και την καταπολέμηση ορισμένων ασθενειών των υδρόβιων ζώων ([1]), και ιδίως το άρθρο 41 παράγραφος 3 και το άρθρο 61 παράγραφος 3,

Εκτιμώντας τα ακόλουθα:

(1) Η οδηγία 2006/88/ΕΚ θεσπίζει τις απαιτήσεις υγειονομικού ελέγχου που πρέπει να εφαρμόζονται για τη διάθεση στην αγορά ζώων υδατοκαλλιέργειας και προϊόντων τους. Επίσης, θεσπίζει ελάχιστα προληπτικά μέτρα που πρέπει να εφαρμόζονται στην περίπτωση υπόνοιας ή εστίας ορισμένων ασθενειών σε υδρόβια ζώα.

(2) Το άρθρο 41 της οδηγίας προβλέπει ότι τα κράτη μέλη λαμβάνουν τα κατάλληλα μέτρα για να ελέγξουν την κατάσταση που δημιουργείται λόγω νεοεμφανιζόμενης ασθένειας και να εμποδίσουν την εξάπλωσή της. Σε περίπτωση νεοεμφανιζόμενης ασθένειας το οικείο κράτος μέλος πληροφορεί αμέσως την Επιτροπή, τα άλλα κράτη μέλη και τα κράτη μέλη της ΕΖΕΣ, εφόσον τα πορίσματα έχουν επιδημιολογική σημασία για ένα άλλο κράτος μέλος.

(3) Αύξηση της θνησιμότητας στα στρείδια του είδους *Crassostrea gigas* («στρείδια *Crassostrea gigas*») διαπιστώθηκε σε πολλές περιοχές στη Γαλλία και στην Ιρλανδία την άνοιξη και το καλοκαίρι του 2008. Η αύξηση της θνησιμότητας αποδόθηκε σε συνδυασμό δυσμενών περιβαλλοντικών παραγόντων, στην παρουσία βακτηριδίων του γένους Vibrio και στην παρουσία του ερπητοϊού-1 (OsHV-1) των στρειδιών που περιλαμβάνει γονότυπο αυτού του ιού με την ονομασία OsHV-1 μvar, του οποίου η περιγραφή έχει γίνει πρόσφατα.

(4) Τον Αύγουστο του 2008 οι γαλλικές αρχές πληροφόρησαν την Επιτροπή, τα κράτη μέλη και τα κράτη μέλη της ΕΖΕΣ σχετικά με την κατάσταση και τα μέτρα που ελήφθησαν και τον Σεπτέμβριο του 2008 το ζήτημα επισημάνθηκε στη μόνιμη επιτροπή για την τροφική αλυσίδα και την υγεία των ζώων.

(5) Την άνοιξη του 2009 διαπιστώθηκε εκ νέου στη Γαλλία, στην Ιρλανδία και στις Αγγλονορμανδικές Νήσους αύξηση της θνησιμότητας που αποδόθηκε στον ίδιο συνδυασμό παραγόντων. Ενώ τα αίτια της θνησιμότητας παραμένουν απροσδιόριστα, σύμφωνα με τις επιδημιολογικές έρευνες που πραγματοποιήθηκαν στην Ιρλανδία και στο Ηνωμένο Βασίλειο το 2009 ο ιός OsHV-1 μvar διαδραματίζει σημαντικό ρόλο.

([1]) ΕΕ L 328 της 24.11.2006, σ. 14.

▼B

(6) Η αρμόδια αρχή αυτών των κρατών μελών και των Αγγλονορμανδικών Νήσων πληροφόρησαν την Επιτροπή σχετικά με την κατάσταση και τα μέτρα που ελήφθησαν και το ζήτημα επισημάνθηκε πολλές φορές στη μόνιμη επιτροπή για την τροφική αλυσίδα και την υγεία των ζώων.

(7) Τα μέτρα περιορισμού που έλαβε η αρμόδια αρχή των εν λόγω κρατών μελών και των Αγγλονορμανδικών Νήσων για την αντιμετώπιση της πρωτοεμφανιζόμενης ασθένειας βασίζονταν κυρίως στον περιορισμό της μετακίνησης των στρειδιών *Crassostrea gigas* εκτός των περιοχών στις οποίες εμφανίστηκε μεγάλη θνησιμότητα.

(8) Επειδή το 2009 η ασθένεια επανεμφανίστηκε και είναι πιθανό να εμφανιστεί εκ νέου και να δημιουργηθεί κίνδυνος περαιτέρω εξάπλωσής της την άνοιξη και το καλοκαίρι του 2010, είναι σκόπιμο και αναγκαίο να επεκταθούν τα μέτρα που έχουν ήδη λάβει τα κράτη μέλη που επλήγησαν, με βάση την πείρα που αποκτήθηκε.

(9) Για να εξασφαλιστούν ενιαίοι όροι εφαρμογής των απαιτήσεων της οδηγίας 2006/88/ΕΚ όσον αφορά νεοεμφανιζόμενες ασθένειες και να διασφαλιστεί ότι τα μέτρα που λαμβάνονται παρέχουν επαρκή προστασία από την περαιτέρω διασπορά, χωρίς ωστόσο να επιβάλλουν περιττούς περιορισμούς στις μετακινήσεις των στρειδιών του είδους *Crassostrea gigas*, είναι αναγκαίος ο συντονισμός των μέτρων όσον αφορά αυτή τη νεοεμφανιζόμενη ασθένεια σε ενωσιακό επίπεδο.

(10) Όταν οι αρμόδιες αρχές πληροφορούνται ότι διαπιστώνεται αύξηση της θνησιμότητας στα στρείδια του είδους *Crassostrea gigas*, θα πρέπει να πραγματοποιούνται δειγματοληψία και δοκιμές για την ανίχνευση ή τον αποκλεισμό της παρουσίας του ιού OsHV-1 μvar.

(11) Στην περίπτωση που επιβεβαιώνεται η παρουσία του γονότυπου του ιού OsHV-1 μvar, θα πρέπει να εφαρμοστούν μέτρα ελέγχου της νόσου από τα κράτη μέλη που θα περιλαμβάνουν τον καθορισμό περιοχής περιορισμού. Κατά τον καθορισμό της περιοχής περιορισμού θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη ορισμένοι παράγοντες που αναφέρονται στον παρόντα κανονισμό. Αυτά τα μέτρα ελέγχου της νόσου θα πρέπει να διαρκούν έως ότου διαπιστωθεί βάσει ελέγχων ότι δεν υπάρχει πλέον υψηλή θνησιμότητα.

(12) Πρέπει να επιβληθούν περιορισμοί στις μετακινήσεις των στρειδιών του είδους *Crassostrea gigas* εκτός των περιοχών περιορισμού έτσι ώστε να μειωθεί ο κίνδυνος διασποράς της νόσου. Ωστόσο, θα πρέπει να προβλεφθούν ορισμένες εξαιρέσεις στην περίπτωση που μειώνεται ο κίνδυνος διασποράς της νόσου. Αυτές οι εξαιρέσεις αφορούν τις μετακινήσεις ορισμένων στρειδιών του είδους *Crassostrea gigas* που προορίζονται για καλλιέργεια ή περιοχές μετεγκατάστασης σε άλλη περιοχή περιορισμού ή που προορίζονται για κατανάλωση από τον άνθρωπο. Για να εξασφαλιστεί η ιχνηλασιμότητα των φορτίων στρειδιών *Crassostrea gigas* που προορίζονται για καλλιέργεια ή περιοχές μετεγκατάστασης, θα πρέπει αυτά να συνοδεύονται από υγειονομικό πιστοποιητικό των ζώων. Κατά τη συμπλήρωση του πιστοποιητικού πρέπει να λαμβάνονται υπόψη οι επεξηγηματικές σημειώσεις του παραρτήματος V του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 1251/2008 της Επιτροπής, της 12ης Δεκεμβρίου 2008, για την εφαρμογή της οδηγίας 2006/88/ΕΚ του Συμβουλίου όσον αφορά τους όρους και τις απαιτήσεις πιστοποίησης για τη διάθεση στην αγορά και την εισαγωγή ζώων υδατοκαλλιέργειας και προϊόντων τους στην Κοινότητα, καθώς και για την κατάρτιση καταλόγου ειδών-φορέων ([1]).

([1]) ΕΕ L 337 της 16.12.2008, σ. 41.

▼B

(13) Για την απόκτηση περαιτέρω γνώσεων σχετικά με την κατάσταση αυτής της νεοεμφανιζόμενης ασθένειας στην Ένωση και ιδίως σε κράτη μέλη και διαμερίσματα που δεν έχουν πληγεί έως τώρα, και για να εξασφαλιστεί η έγκαιρη ανίχνευση τυχόν εμφάνισης του ιού OsHV-1 μvar, τα κράτη μέλη μπορεί να επιθυμούν να καταρτίσουν προγράμματα με στοχοθετημένη δειγματοληψία και δοκιμές για την έγκαιρη ανίχνευση του ιού OsHV-1 μvar. Τα στρείδια του είδους *Crassostrea gigas* που προέρχονται από τις περιοχές στις οποίες επιβλήθηκαν μέτρα περιορισμού το 2009 σύμφωνα με εθνικά μέτρα ή το 2010 σύμφωνα με τον παρόντα κανονισμό θα πρέπει να υπάγονται σε συμπληρωματικές απαιτήσεις υγείας των ζώων όταν εισάγονται για σκοπούς καλλιέργειας ή μετεγκατάστασης σε κράτη μέλη ή διαμερίσματα που καλύπτονται από τέτοιο πρόγραμμα, για όσο χρονικό διάστημα ο ιός OsHV-1 μvar δεν ανιχνευτεί στο εν λόγω κράτος μέλος ή διαμέρισμα.

(14) Προκειμένου να εξασφαλιστεί ότι τα στοιχεία που συλλέγονται στα διάφορα κράτη μέλη στο πλαίσιο των προγραμμάτων με στοχοθετημένη δειγματοληψία και δοκιμές για την έγκαιρη ανίχνευση του ιού OsHV-1 μvar είναι συγκρίσιμα, θα πρέπει να καθοριστούν ορισμένες απαιτήσεις σχετικά με το περιεχόμενο αυτών των προγραμμάτων.

(15) Είναι σημαντικό να υπάρχουν εγκαίρως ακριβείς πληροφορίες σχετικά με την κατάσταση όσον αφορά την ανίχνευση του ιού OsHV-1 μvar στα κράτη μέλη προκειμένου να εξασφαλιστεί κατάλληλος έλεγχος της νεοεμφανιζόμενης ασθένειας. Για τον σκοπό αυτό τα κράτη μέλη θα πρέπει να πληροφορήσουν την Επιτροπή και τα άλλα κράτη μέλη σχετικά με την πρώτη επιβεβαιωμένη παρουσία του ιού OsHV-1 μvar στο έδαφός τους το 2010 χωρίς αδικαιολόγητη καθυστέρηση.

(16) Επιπλέον, θα πρέπει να αξιοποιηθούν οι ενημερωτικές σελίδες στο διαδίκτυο που έχουν δημιουργηθεί σύμφωνα με το άρθρο 10 της απόφασης 2009/177/ΕΚ της Επιτροπής, της 31ης Οκτωβρίου 2008, για την εφαρμογή της οδηγίας 2006/88/ΕΚ του Συμβουλίου όσον αφορά το πρόγραμμα επιτήρησης και εξάλειψης και τον χαρακτηρισμό κρατών μελών, ζωνών και διαμερισμάτων ως απαλλαγμένων από ασθένειες [1].

(17) Για να εξασφαλιστεί η διαφάνεια και η έγκαιρη πρόσβαση στις σχετικές πληροφορίες για τη νεοεμφανιζόμενη ασθένεια, τα κράτη μέλη θα πρέπει να γνωστοποιούν στην Ευρωπαϊκή Επιτροπή και στα άλλα κράτη μέλη στοιχεία όσον αφορά τις περιοχές περιορισμού, τις περιοχές όπου ίσχυαν προηγουμένως μέτρα περιορισμού αλλά στις οποίες αποδείχθηκε η απουσία του ιού OsHV-1 μvar, και τα προγράμματα για την έγκαιρη ανίχνευση του ιού OsHV-1 μvar.

(18) Επειδή υπάρχουν ακόμη μεγάλες αβεβαιότητες ως προς τη νεοεμφανιζόμενη ασθένεια, τα μέτρα που προβλέπονται στον παρόντα κανονισμό θα πρέπει να εφαρμοστούν έως το τέλος του Δεκεμβρίου του 2010.

(19) Τα μέτρα που προβλέπονται στον παρόντα κανονισμό είναι σύμφωνα με τη γνώμη της μόνιμης επιτροπής για την τροφική αλυσίδα και την υγεία των ζώων,

[1] ΕΕ L 63 της 7.3.2009, σ. 15.

▼B

ΕΞΕΔΩΣΕ ΤΟΝ ΠΑΡΟΝΤΑ ΚΑΝΟΝΙΣΜΟ:

*Άρθρο 1*

**Ορισμός**

Για τους σκοπούς του παρόντος κανονισμού, ως OsHV-1 μvar νοείται ένας γονότυπος του ερπητοϊού των στρειδιών του τύπου 1 (OsHV-1) ο οποίος ορίζεται με βάση δεδομένα τμήματος ακολουθίας που επιδεικνύουν συστηματική απάλειψη 12 ζευγών βάσεων στο ORF 4 του γονιδιώματος σε σύγκριση με τον γονότυπο του ιού OsHV-1 (GenBank # AY509253).

*Άρθρο 2*

**Δειγματοληψία, δοκιμές και καθορισμός περιοχών περιορισμού**

1. Όταν διαπιστώνεται αύξηση της θνησιμότητας στα στρείδια του Ειρηνικού («στρείδια του είδους *Crassostrea gigas*»), οι αρμόδιες αρχές:

α) λαμβάνουν δείγματα σύμφωνα με το μέρος Α του παραρτήματος Ι·

β) πραγματοποιούν δοκιμές για την παρουσία OsHV-1 μvar σύμφωνα με τις διαγνωστικές μεθόδους που ορίζονται στο μέρος Β του παραρτήματος Ι.

2. Όταν από τα αποτελέσματα των δοκιμών που αναφέρονται στην παράγραφο 1 στοιχείο β) προκύπτει η παρουσία OsHV-1 μvar, η αρμόδια αρχή καθορίζει περιοχή περιορισμού. Η περιοχή αυτή ορίζεται με βάση ανάλυση κατά περίπτωση και συνυπολογισμό των παραγόντων που επηρεάζουν τον κίνδυνο διασποράς της ασθένειας, όπως αναφέρονται στο μέρος Γ του παραρτήματος Ι.

3. Τα κράτη μέλη πληροφορούν, χωρίς αδικαιολόγητη καθυστέρηση, την Επιτροπή και τα άλλα κράτη μέλη σχετικά με τον καθορισμό της πρώτης περιοχής περιορισμού στο έδαφός τους το 2010.

*Άρθρο 3*

**Απαιτήσεις για τη διάθεση στην αγορά στρειδιών του είδους *Crassostrea gigas* που προέρχονται από περιοχή περιορισμού η οποία αναφέρεται στο άρθρο 2**

1. Τα στρείδια του είδους *Crassostrea gigas* που προέρχονται από περιοχές περιορισμού οι οποίες καθορίστηκαν σύμφωνα με το άρθρο 2 παράγραφος 2 δεν μετακινούνται εκτός της περιοχής αυτής.

2. Κατά παρέκκλιση από την παράγραφο 1, φορτία με στρείδια του είδους *Crassostrea gigas* μπορούν να μετακινηθούν εκτός των περιοχών περιορισμού όταν:

α) προορίζονται για άλλη περιοχή περιορισμού που καθορίστηκε σύμφωνα με το άρθρο 2 παράγραφος 2·

β) προέρχονται από μέρος της περιοχής περιορισμού, περιλαμβανομένων των εκκολαπτηρίων, που δεν έχει πληγεί από την αυξημένη θνησιμότητα και τα φορτία αυτά έχουν υποβληθεί σε:

i) δειγματοληψία σύμφωνα με το μέρος Α του παραρτήματος Ι· και

ii) δοκιμές για την παρουσία OsHV-1 μvar σύμφωνα με τις διαγνωστικές μεθόδους που καθορίζονται στο μέρος Β του παραρτήματος Ι και όλα τα αποτελέσματα ήταν αρνητικά·

▼B

γ) προορίζονται για περαιτέρω μεταποίηση, κέντρα καθαρισμού, κέντρα αποστολής ή επιχειρήσεις μεταποίησης πριν από την κατανάλωση από τον άνθρωπο, τα οποία είναι εξοπλισμένα με σύστημα επεξεργασίας λυμάτων πιστοποιημένο από την αρμόδια αρχή ότι:

i) αδρανοποιεί τους ιούς με έλυτρο, ή

ii) ελαττώνει τον κίνδυνο μετάδοσης νόσων στα φυσικά ύδατα σε αποδεκτό επίπεδο·

δ) προορίζονται για κατανάλωση από τον άνθρωπο και συσκευάζονται και επισημαίνονται για τον σκοπό αυτό σύμφωνα με τον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 853/2004 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου ([1]), και:

i) δεν είναι πλέον σε θέση να επιβιώσουν ως ζώντα ζώα αν επιστρέψουν στο περιβάλλον από το οποίο προήλθαν, ή

ii) προορίζονται για περαιτέρω μεταποίηση χωρίς προσωρινή αποθήκευση στον χώρο μεταποίησης·

ε) τα φορτία ή τα προϊόντα τους προορίζονται για κατανάλωση από τον άνθρωπο χωρίς περαιτέρω μεταποίηση, υπό την προϋπόθεση ότι συσκευάζονται σε συσκευασίες λιανικής πώλησης που συμμορφώνονται με τις διατάξεις του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 853/2004 σχετικά με τις εν λόγω συσκευασίες.

3. Τα φορτία που αναφέρονται στην παράγραφο 2 στοιχεία α) και β) και προορίζονται για καλλιέργεια ή περιοχές μετεγκατάστασης συνοδεύονται από υγειονομικό πιστοποιητικό των ζώων το οποίο συμπληρώνεται σύμφωνα με το υπόδειγμα του παραρτήματος ΙΙ του παρόντος κανονισμού και τις επεξηγηματικές σημειώσεις του παραρτήματος V του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 1251/2008.

*Άρθρο 4*

**Άρση των μέτρων που προβλέπονται στα άρθρα 2 και 3**

Η αρμόδια αρχή μπορεί να άρει τα μέτρα ελέγχου όσον αφορά τις περιοχές περιορισμού που καθορίζονται σύμφωνα με το άρθρο 2 παράγραφος 2 και τους περιορισμούς διάθεσης στην αγορά που προβλέπονται στο άρθρο 3, μετά την πραγματοποίηση δύο διαδοχικών ελέγχων με απόσταση 15 ημερών μεταξύ τους, από τους οποίους προκύπτει ότι η αύξηση της θνησιμότητας σταμάτησε.

*Άρθρο 5*

**Απαιτήσεις για τη διάθεση στην αγορά των στρειδιών του είδους *Crassostrea gigas* που προέρχονται από διαμερίσματα όπου ίσχυαν προηγουμένως μέτρα περιορισμού λόγω της αυξημένης θνησιμότητας στα στρείδια του είδους *Crassostrea gigas* σε σχέση με τον ιό OsHV-1 μvar**

1. Τα στρείδια του είδους *Crassostrea gigas* που προέρχονται από διαμέρισμα στο οποίο ίσχυαν προηγουμένως μέτρα περιορισμού, είτε το 2009 είτε το 2010, λόγω της αυξημένης θνησιμότητας στα στρείδια του είδους *Crassostrea gigas* σε σχέση με τον OsHV-1 μvar:

α) συνοδεύονται από υγειονομικό πιστοποιητικό των ζώων το οποίο συμπληρώνεται σύμφωνα με το υπόδειγμα που περιέχεται στο παράρτημα ΙΙ του παρόντος κανονισμού και με τις επεξηγηματικές σημειώσεις του παραρτήματος V του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 1251/2008, αν τα ζώα:

i) προορίζονται για κράτη μέλη ή διαμερίσματα τα οποία έχουν θεσπίσει πρόγραμμα έγκαιρης ανίχνευσης του OsHV-1 μvar και στα οποία δεν έχει ανιχνευτεί ο OsHV-1 μvar, και

([1]) ΕΕ L 139 της 30.4.2004, σ. 55.

▼B

ii) προορίζονται για καλλιέργεια ή περιοχές μετεγκατάστασης·

β) προέρχονται από διαμέρισμα στο οποίο αποδείχθηκε η απουσία του OsHV-1 μVar με βάση δειγματοληψία και δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν σύμφωνα με το μέρος Α του παραρτήματος Ι· και

γ) πληρούν τις κτηνιατρικές απαιτήσεις υγειονομικού ελέγχου που ορίζονται στο υπόδειγμα πιστοποιητικού το οποίο αναφέρεται στο στοιχείο α).

2. Το πρόγραμμα έγκαιρης ανίχνευσης του OsHV-1 μvar που αναφέρεται στην παράγραφο 1 στοιχείο α) σημείο i) πληροί τις ακόλουθες απαιτήσεις:

α) το πρόγραμμα πρέπει να δηλώνεται στη μόνιμη επιτροπή για την τροφική αλυσίδα και την υγεία των ζώων·

β) η δήλωση αυτή πρέπει να είναι σύμφωνη με το σημείο 1, τα σημεία 5.1, 5.2, 5.3, 5.5 και 5.9, και τα σημεία 6 και 7 του υποδείγματος που περιέχεται στο παράρτημα ΙΙ της απόφασης 2009/177/ΕΚ·

γ) το πρόγραμμα πρέπει να περιλαμβάνει:

i) δειγματοληψία σύμφωνα με το μέρος Α του παραρτήματος Ι·

ii) δοκιμές για την παρουσία του ιού OsHV-1 μvar, σύμφωνα με τις διαγνωστικές μεθόδους που αναφέρονται στο μέρος Β του παραρτήματος Ι.

3. Η παράγραφος 1 εφαρμόζεται μία εβδομάδα από την ημερομηνία της συνεδρίασης της μόνιμης επιτροπής για την τροφική αλυσίδα και την υγεία των ζώων στην οποία δηλώνεται το πρόγραμμα που αναφέρεται στην παράγραφο 1 στοιχείο α) σημείο i).

*Άρθρο 6*

**Ενημερωτική σελίδα στο διαδίκτυο**

1. Τα κράτη μέλη κοινοποιούν στην Επιτροπή και στα άλλα κράτη μέλη:

α) κατάλογο των περιοχών περιορισμού και τους παράγοντες που ελήφθησαν υπόψη για τον καθορισμό τους, συμπεριλαμβανομένης της περιγραφής των γεωγραφικών συνόρων της σχετικής περιοχής, που καθορίστηκε σύμφωνα με το άρθρο 2 παράγραφος 2·

β) κατάλογο των διαμερισμάτων καθώς και περιγραφή των γεωγραφικών συνόρων της σχετικής περιοχής:

i) που υποβλήθηκε σε μέτρα περιορισμού το 2009 λόγω της αυξημένης θνησιμότητας στα στρείδια του είδους *Crassostrea gigas* σε σχέση με τον ιό OsHV-1 μvar,

ii) στην οποία η απουσία του ιού OsHV-1 μvar αποδείχθηκε με δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν σε δείγματα που ελήφθησαν στις περιοχές περιορισμού σύμφωνα με τα μέρη Α και Β του παραρτήματος Ι·

γ) δηλώσεις προγραμμάτων που αναφέρονται στο άρθρο 5 παράγραφος 2, συμπεριλαμβανομένης περιγραφής των γεωγραφικών συνόρων της σχετικής περιοχής.

2. Οι πληροφορίες που προβλέπονται στην παράγραφο 1 ενημερώνονται και διατίθενται μέσω των ενημερωτικών σελίδων στο διαδίκτυο που δημιουργήθηκαν σύμφωνα με το άρθρο 10 της απόφασης 2009/177/ΕΚ.

▼B

*Άρθρο 7*

**Υποβολή εκθέσεων**

Έως την 1η Οκτωβρίου 2010 το αργότερο τα κράτη μέλη υποβάλλουν έκθεση στην Επιτροπή σχετικά με τα προγράμματα που δηλώνονται σύμφωνα με το άρθρο 5 παράγραφος 2.

Η έκθεση είναι σύμφωνη με το υπόδειγμα εντύπου που ορίζεται στο παράρτημα VI της απόφασης 2009/177/ΕΚ.

*Άρθρο 8*

**Έναρξη ισχύος και εφαρμογή**

Ο παρών κανονισμός αρχίζει να ισχύει την εικοστή ημέρα από τη δημοσίευσή του στην *Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης*.

Εφαρμόζεται από τη 15η Μαρτίου 2010 έως την ►M1 30ή Απριλίου 2011 ◄.

Ο παρών κανονισμός είναι δεσμευτικός ως προς όλα τα μέρη του και ισχύει άμεσα σε κάθε κράτος μέλος.

▼B

*ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι*

ΜΕΡΟΣ Α

**Δειγματοληψία**

1. *Δειγματοληψία για τους σκοπούς του άρθρου 2*

Τα δείγματα που προβλέπονται στο άρθρο 2 αποτελούνται από τουλάχιστον 12 άτομα του είδους *Crassotrea gigas*. Κατά την επιλογή αυτών των ζώων, ως δείγματα λαμβάνονται στρείδια αδύναμα, ανοιχτά ή πρόσφατα νεκρά (όχι σε αποσύνθεση) που συλλέγονται από το διαμέρισμα στο οποίο παρατηρείται η θνησιμότητα.

2. *Δειγματοληψία για τους σκοπούς του άρθρου 3 παράγραφος 2 στοιχείο β), του άρθρου 5 παράγραφος 1 στοιχείο β) και του άρθρου 5 παράγραφος 2*

α) Η δειγματοληψία για τους σκοπούς του άρθρου 3 παράγραφος 2 στοιχείο β) αποτελείται από:

i) για τις προνύμφες, πέντε ομάδες βάρους τουλάχιστον 50 mg ολόκληρων ζώων που συλλέχθηκαν 4 έως 8 ημέρες μετά τη γονιμοποίηση, μαζί με το όστρακο, ανά φορτίο·

ii) για τους γόνους που είναι μικρότεροι από 6 mm, 30 ομάδες των 300 mg ολόκληρων ζώων, μαζί με το όστρακο, ανά φορτίο·

iii) στην περίπτωση στρειδιών που είναι μεγαλύτερα από 6 mm, 150 άτομα ανά φορτίο.

Κατά την επιλογή αυτών των ζώων, όλα τα μέρη του φορτίου πρέπει να αντιπροσωπεύονται αναλογικά στο δείγμα. Αν υπάρχουν στρείδια αδύναμα, ανοιχτά ή πρόσφατα νεκρά (όχι σε αποσύνθεση), επιλέγονται κυρίως αυτά.

β) Η δειγματοληψία για τους σκοπούς του άρθρου 5 παράγραφος 2 αποτελείται από τουλάχιστον 150 άτομα του είδους *Crassotrea gigas* ανά σημείο δειγματοληψίας. Λαμβάνονται δείγματα από όλες τις εκμεταλλεύσεις ή περιοχές καλλιέργειας μαλακίων στο κράτος μέλος ή το διαμέρισμα όπου ισχύει το πρόγραμμα.

Η δειγματοληψία για τους σκοπούς του άρθρου 5 παράγραφος 1 στοιχείο β) αποτελείται από τουλάχιστον 150 άτομα του είδους *Crassotrea gigas* ανά διαμέρισμα.

Κατά την επιλογή αυτών των ζώων λαμβάνονται υπόψη τα ακόλουθα κριτήρια:

— Αν υπάρχουν στρείδια αδύναμα, ανοιχτά ή πρόσφατα νεκρά (όχι σε αποσύνθεση), επιλέγονται κυρίως αυτά. Αν δεν υπάρχουν ζώα σε αυτή την κατάσταση, τα ζώα που επιλέγονται περιλαμβάνουν υγιή μαλάκια ηλικίας κάτω των 12 μηνών·

— Κατά τη δειγματοληψία σε εκμεταλλεύσεις στις οποίες χρησιμοποιούνται περισσότερες από μία πηγές νερού για την παραγωγή, στο δείγμα πρέπει να περιληφθούν ζώα από όλες τις πηγές νερού έτσι ώστε όλα τα μέρη της εκμετάλλευσης να αντιπροσωπεύονται αναλογικά στο δείγμα·

— Κατά τη δειγματοληψία σε περιοχές καλλιέργειας μαλακίων, στο δείγμα περιλαμβάνονται ζώα από επαρκή αριθμό σημείων δειγματοληψίας, τουλάχιστον από τρία σημεία δειγματοληψίας, έτσι ώστε όλα τα μέρη της περιοχής καλλιέργειας μαλακίων να αντιπροσωπεύονται αναλογικά στο δείγμα, συμπεριλαμβανομένων των φυσικών κοιτών που υπάρχουν στις περιοχές καλλιέργειας μαλακίων. Οι κύριοι παράγοντες που πρέπει να εξεταστούν για την επιλογή αυτών των σημείων δειγματοληψίας είναι οι ακόλουθοι: προηγούμενη ανίχνευση του ιού OsHV-1 μvar στην περιοχή, δείκτης πυκνότητας, ροές υδάτων, βαθυμετρία και πρακτικές διαχείρισης.

▼B

γ) Η δειγματοληψία που προβλέπεται στο άρθρο 5 παράγραφος 2 πραγματοποιείται κατά την περίοδο του έτους που είναι γνωστό ότι στο κράτος μέλος ή στο διαμέρισμα ο επιπολασμός του ιού OsHV-1 μvar είναι στο υψηλότερο επίπεδο. Όταν τα στοιχεία αυτά δεν είναι διαθέσιμα, η δειγματοληψία πραγματοποιείται αμέσως μετά την περίοδο κατά την οποία η θερμοκρασία του νερού υπερβαίνει τους 16 °C ή την περίοδο του έτους με τη μέγιστη κατά κανόνα θερμοκρασία.

δ) Η δειγματοληψία που προβλέπεται στο άρθρο 5 παράγραφος 1 στοιχείο β) πραγματοποιείται κατά προτίμηση κατά την περίοδο του έτους που περιγράφεται στο στοιχείο γ). Αν συλλεχθούν δείγματα εκτός αυτής της περιόδου του έτους, τα δείγματα των στρειδιών πρέπει, πριν από τη δοκιμή, να διατηρηθούν υπό συνθήκες που αντιστοιχούν σε εκείνες που περιγράφονται στο στοιχείο γ) για περίοδο κατάλληλη για την ανίχνευση του ιού OsHV-1 μvar.

ΜΕΡΟΣ Β

**Διαγνωστικές μέθοδοι ανίχνευσης του OsHV-1 μvar**

1. *Πεδίο εφαρμογής*

Η παρούσα διαδικασία περιγράφει μια πρότυπη διαγνωστική μέθοδο που πρέπει να χρησιμοποιείται για την ανίχνευση και την ταυτοποίηση του ιού OsHV-1 μvar μέσω αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (εφεξής «PCR»). Επιτρέπει τη διάκριση μεταξύ του OsHV-1 και του OsHV-1 μvar.

Προκειμένου να επιτευχθούν βέλτιστες συνθήκες αντίδρασης και προσαρμογή στον εξοπλισμό και τις συνθήκες στις εγκαταστάσεις τους, τα εργαστήρια μπορούν ενδεχομένως να εφαρμόσουν τροποποιήσεις στις μεθόδους που περιγράφονται στο παρόν παράρτημα, με την προϋπόθεση ότι μπορεί να αποδειχθεί ισοδύναμη ευαισθησία και εξειδίκευση.

2. *Ορισμός*

Ο ιός OsHV-1 μvar ορίζεται στο άρθρο 1 του παρόντος κανονισμού.

3. *Εξοπλισμός και συνθήκες περιβάλλοντος*

Η διαγνωστική δοκιμή που χρησιμοποιείται για την ανίχνευση και την ταυτοποίηση του OsHV-1 μvar μέσω PCR απαιτεί τον εξοπλισμό και τις συνθήκες περιβάλλοντος που χρησιμοποιούνται συνήθως για τις δοκιμές PCR, δηλαδή:

— Κλειστό κάλυμμα εξοπλισμένο με σύστημα που παράγει υπεριώδη ακτινοβολία (UV) για την πρόληψη πιθανών επιμολύνσεων κατά την προετοιμασία του μείγματος PCR.

— Δύο πλήρη σετ πιπετών (2 μl· 20 μl· 200 μl και 1 000 μl), το πρώτο για την εκχύλιση του DNA και το δεύτερο για την προετοιμασία του μείγματος PCR.

— Τρεις διαφορετικές πιπέτες: μία πιπέτα (2 μl) για τη διανομή των δειγμάτων στο μείγμα PCR, μία πιπέτα (20 μl) για τη δειγματοληψία EB (βρωμιούχο αιθίδιο) και μία τρίτη πιπέτα (20 μl) για τη φόρτωση των προϊόντων PCR σε πηκτές αγαρόζης.

— Στόμια πιπέτας με φίλτρο (2 μl· 20 μl· 200 μl και 1 000 μl) για την εκχύλιση του DNA, την προετοιμασία μείγματος PCR και τη διανομή δειγμάτων.

— Στόμια πιπέτας (20 μl) για τη συλλογή EB και τη φόρτωση προϊόντων ενίσχυσης σε πηκτή αγαρόζης.

— Θερμοκυκλοποιητής για τις ενισχύσεις.

— Σύστημα οριζόντιας ηλεκτροφόρησης για την ηλεκτροφόρηση των προϊόντων PCR.

— Τράπεζα UV για την παρατήρηση των προϊόντων PCR μετά την ηλεκτροφόρηση πηκτής αγαρόζης.

— Σύστημα απεικόνισης της πηκτής.

▼B

Κατά τη διάρκεια όλων των παρακάτω περιγραφόμενων σταδίων ο χειριστής πρέπει να φέρει ένδυμα και γάντια εργαστηρίου. Το ένδυμα και τα γάντια εργαστηρίου πρέπει να αλλάζονται κατά προτίμηση ύστερα από κάθε κύριο στάδιο: εκχύλιση του DNA, προετοιμασία μείγματος PCR, διανομή δειγμάτων, ενίσχυση και φόρτωση πηκτής.

Συνιστάται να πραγματοποιούνται αυτά τα στάδια σε διαφορετικούς χώρους. Ειδικότερα, η ενίσχυση και η φόρτωση/ηλεκτροφόρηση της πηκτής θα πρέπει να γίνονται σε χώρο ξεχωριστό από εκείνο της εκχύλισης του DNA, της προετοιμασίας του μείγματος PCR και της διανομής του DNA.

4. *Διαδικασία*

4.1. Προετοιμασία δείγματος

Ζωντανά ή πρόσφατα νεκρά (όχι σε αποσύνθεση) στρείδια, τα οποία μπορούν προηγουμένως να καταψυχθούν, υποβάλλονται σε επεξεργασία για την εκχύλιση του DNA.

Η επεξεργασία των δειγμάτων διαφέρει ανάλογα με το μέγεθός τους:

α) για προνύμφες, ομάδες βάρους 50 mg ολόκληρων ζώων (μαζί με το κέλυφος) συνθλίβονται με 200 μl αποσταγμένο νερό και φυγοκεντρούνται σε 1 000 g για 1 λεπτό·

β) για γόνους μεγέθους έως και 6 mm, ομάδες των 300 mg ολόκληρων ζώων (μαζί με το κέλυφος) συνθλίβονται με 1 200 μl αποσταγμένο νερό και φυγοκεντρούνται σε 1 000 g για 1 λεπτό·

γ) για γόνους μεγέθους μεταξύ 6 και 15 mm, όλοι οι μαλακοί ιστοί κάθε ζώου συνθλίβονται χωριστά·

δ) για τα ζώα που είναι μεγαλύτερα από 15 mm, χωρίζονται κομμάτια από τα βράγχια και τον μανδύα

Για την εκχύλιση του DNA χρησιμοποιείται το QIAamp® DNA Mini Kit (QIAGEN) και ακολουθούνται οι οδηγίες του πρωτοκόλλου δοκιμών σε ιστούς.

Η περαιτέρω προετοιμασία του δείγματος πραγματοποιείται με την εξής σειρά:

1. 100 μl του υπερκείμενου υγρού των δειγμάτων που αναφέρονται στο α) και στο β) ή 10 έως 50 mg ιστών από τα δείγματα που αναφέρονται στα σημεία γ) και δ) τοποθετούνται σε σωλήνα μικροφυγοκέντρησης 1,5 ml και προστίθενται 180 μl ρυθμιστικού διαλύματος ATL.

2. Προστίθενται 20 μl πρωτεϊνάσης K, αναμειγνύονται σε συσκευή vortex (κυκλοαναδευτήρας) και επωάζονται στους 56 °C έως την πλήρη λύση του ιστού (όλη τη νύχτα). Κατά τη διάρκεια της επώασης το δείγμα αναμειγνύεται σε συσκευή vortex κατά διαστήματα ώστε να επιτευχθεί πλήρης διασπορά. Σύντομη φυγοκέντρηση στον σωλήνα μικροφυγοκέντρησης των 1,5 ml για την απομάκρυνση των σταγόνων από το κάλυμμα.

3. Προστίθενται στο δείγμα 200 μl ρυθμιστικού διαλύματος AL, αναμειγνύονται με παλμικό κυκλοαναδευτήρα (pulse-vortex) κατά τη διάρκεια 15 δευτερολέπτων και επωάζονται στους 70 °C για 10 λεπτά. Σύντομη φυγοκέντρηση στον σωλήνα μικροφυγοκέντρησης των 1,5 ml για την απομάκρυνση των σταγόνων από το κάλυμμα.

4. Προστίθενται 200 μl αιθανόλης (96-100 %) στο δείγμα και αναμειγνύονται με παλμικό κυκλοαναδευτήρα (pulse-vortex) για 15 δευτερόλεπτα. Σύντομη φυγοκέντρηση στον σωλήνα μικροφυγοκέντρησης των 1,5 ml για την απομάκρυνση των σταγόνων από το κάλυμμα.

5. Το μείγμα του σταδίου 4 μεταφέρεται προσεκτικά σε στήλη φυγοκέντρησης QIAamp Spin Column (σε σωλήνα συλλογής 2 ml) χωρίς να υγρανθεί το χείλος. Τοποθετείται το πώμα και γίνεται φυγοκέντρηση με ταχύτητα 10 000 περιστροφών/λεπτό για 1 λεπτό. Η στήλη φυγοκέντρησης (QIAamp Spin Column) τοποθετείται σε καθαρό σωλήνα συλλογής 2 ml (που παρέχεται με το κιτ) και ο σωλήνας που περιέχει το διήθημα απορρίπτεται.

▼B

6. Ανοίγεται προσεκτικά η στήλη φυγοκέντρησης (QIAamp Spin Column) και προστίθενται 500 μl ρυθμιστικού διαλύματος AW1 χωρίς να υγρανθεί το χείλος. Τοποθετείται το πώμα και γίνεται φυγοκέντρηση με ταχύτητα 10 000 περιστροφών/λεπτό για 1 λεπτό. Η στήλη φυγοκέντρησης (QIAamp Spin Column) τοποθετείται σε καθαρό σωλήνα συλλογής 2 ml (που παρέχεται με το κιτ) και ο σωλήνας συγκέντρωσης που περιέχει το διήθημα απορρίπτεται.

7. Ανοίγεται προσεκτικά η στήλη φυγοκέντρησης (QIAamp Spin Column) και προστίθενται 500 μl ρυθμιστικού διαλύματος AW2 χωρίς να υγρανθεί το χείλος. Τοποθετείται το πώμα και γίνεται φυγοκέντρηση με τη μέγιστη ταχύτητα (14 000 περιστροφές/λεπτό) για 3 λεπτά.

8. (Προαιρετικό) Η στήλη φυγοκέντρησης (QIAamp Spin Column) τοποθετείται σε νέο σωλήνα συλλογής 2 ml (δεν παρέχεται με το κιτ) και ο σωλήνας συγκέντρωσης που περιέχει το διήθημα απορρίπτεται. Πραγματοποιείται φυγοκέντρηση με τη μέγιστη ταχύτητα (14 000 περιστροφές/λεπτό) για 1 λεπτό.

9. Η στήλη φυγοκέντρησης (QIAamp Spin Column) τοποθετείται σε καθαρό σωλήνα μικροφυγοκέντρησης 1,5 ml (δεν παρέχεται με το κιτ) και ο σωλήνας συλλογής που περιέχει το διήθημα απορρίπτεται. Ανοίγεται προσεκτικά η στήλη φυγοκέντρησης (QIAamp Spin Column) και προστίθενται 100 μl αποσταγμένου νερού. Πραγματοποιείται επώαση για 5 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και φυγοκέντρηση με ταχύτητα 10 000 περιστροφές/λεπτό για 1 λεπτό.

10. Ελέγχονται η ποιότητα και η αποτελεσματικότητα της εκχύλισης [για παράδειγμα, με μέτρηση της οπτικής πυκνότητας (260 nm) με φασματοφωτόμετρο ή έπειτα από ηλεκτροφόρηση πηκτής αγαρόζης].

11. Προετοιμάζεται διάλυμα των δειγμάτων σας έτσι ώστε η τελική συγκέντρωση DNA να είναι 50-100 ng/μl.

12. Τα διαλύματα DNA διατηρούνται σε θερμοκρασία 4 °C έως την πραγματοποίηση των αναλύσεων PCR.

Μπορούν να χρησιμοποιηθούν και άλλα κιτ που κυκλοφορούν στο εμπόριο για την εκχύλιση του DNA με την προϋπόθεση ότι έχει αποδειχθεί ότι τα αποτελέσματά τους είναι παρόμοια.

4.2. *Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR)*

4.2.1. Αντιδραστήρια

— Ρυθμιστικό διάλυμα 10 X (παρέχεται με την Taq DNA πολυμεράση)

— $MgCl_2$ (παρέχεται με την DNA πολυμεράση) (25 mM)

— Taq DNA — πολυμεράση (Goldstar, Eurogentec) 5 U/μl

— dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTT) Master Mix (20 mM) πρέπει να αραιωθούν 10 φορές (σε 2 mM) πριν από τη χρήση

— d $H_2O$ (αποσταγμένο $H_2O$ χωρίς DNA και RNA)

4.2.2. Εκκινητές

Πρέπει να χρησιμοποιούνται οι ακόλουθοι εκκινητές ([1]):

CF (10 μM)

CR (10 μM)

([1]) Αυτοί οι εκκινητές ή οι περιγραφές τους υπάρχουν στο κοινοτικό εργαστήριο αναφοράς για τις ασθένειες των μαλακίων (LGP-Ifremer, av de Mus de Loup, 17390 La Tremblade, Γαλλία).

▼B

4.2.3. Μείγμα PCR

Το μείγμα PCR για κάθε σωλήνα είναι:

| | Όγκος ανά σωλήνα | Τελική συγκέντρωση |
|---|---|---|
| Ρυθμιστικό διάλυμα (10 X) | 5 μl | 1X |
| $MgCl_2$ (25 mM) | 5 μl | 2,5 mM |
| dNTP (2 mM) | 5 μl | 0,2 mM |
| CF (10 μM) | 1 μl | 0,2 μM |
| CR (10 μM) | 1 μl | 0,2 μM |
| Taq πολυμεράση (5 U/μl) | 0,5 μl | 2,5 U |
| $dH_2O$ | 31,5 μl | |

— 49 μl από αυτό το μείγμα PCR διανέμεται σε κάθε σωλήνα PCR

— 1 μl από το εξαχθέν DNA (50-100 ng/μl) προστίθεται σε κάθε σωλήνα

4.2.4. Μάρτυρες

Χρησιμοποιούνται δύο είδη μαρτύρων:

— Οι αρνητικοί μάρτυρες αποτελούνται από $dH_2O$ (1 μl για 49 μl του μείγματος PCR). Αποσκοπούν στην ανίχνευση πιθανής ενεργού επιμόλυνσης ή περιβάλλοντος εργασίας. Ένας αρνητικός μάρτυρας θα πρέπει να περιλαμβάνεται σε κάθε 10 δείγματα ή έπειτα από κάθε παρτίδα δειγμάτων.

— Οι θετικοί μάρτυρες αποτελούνται από πλασμιδιακό DNA που περιέχει τη γονιδιακή περιοχή-στόχο CF-CR του OsHV-1. Οι μάρτυρες χρησιμοποιούνται με σκοπό τον έλεγχο της αποτελεσματικότητας της αντίδρασης PCR. Για κάθε ανάλυση PCR θα πρέπει να περιληφθεί ένας θετικός μάρτυρας. Θετικοί μάρτυρες διατίθενται από το κοινοτικό εργαστήριο αναφοράς.

4.2.5. Ενίσχυση

Οι κύκλοι ενίσχυσης πραγματοποιούνται σε θερμοκυκλοποιητή.

— Αρχική μετουσίωση: 2 λεπτά σε θερμοκρασία 94 °C

— Ενίσχυση: 35 κύκλοι (1 λεπτό σε θερμοκρασία 94 °C, 1 λεπτό σε θερμοκρασία 50 °C και 1 λεπτό σε θερμοκρασία 72 °C)

— Τελική επιμήκυνση: 2 λεπτά σε θερμοκρασία 72 °C

4.3. *Ηλεκτροφόρηση*

4.3.1. Αντιδραστήρια

— 50 X TAE (μπορεί να αγοραστεί έτοιμο για χρήση):

Tris base (2-αμινο-2-υδροξυμεθυλο-προπανο-1,3-διόλη) (40 mM) 242 g

Παγόμοφο οξικό οξύ (40 mM) 57,1 ml

$Na_2EDTA.2H_2O$ (1 mM) 18,61 g

$dH_2O$ για 1 λίτρο

Προσαρμόζεται σε pH 8

▼B

— Πηκτή αγαρόζης 2,5 % σε 1X TAE

Προστίθεται βρωμιούχο αιθίδιο (0,5 μg/ml) μετά την ψύξη της πηκτής.

— Κυανή χρωστική φόρτωσης:

Κυανούν της βρωμοφαινόλης 0,25 %

Κυανόλη του ξυλενίου FF 0,25 %

Σακχαρόζη 40 %

Διατηρείται στους 4 °C.

Χρησιμοποιείται αραιωμένο 6 φορές (2 μl κυανούν ρυθμιστικό διάλυμα φόρτωσης για 10 μl των προϊόντων PCR).

— Δείκτης μοριακού βάρους:

SmartLadder SF (Eurogentec): έτοιμος για χρήση δείκτης μοριακού βάρους που περιλαμβάνει 9 ζώνες κατά τακτικά διαστήματα από 100 έως 1 000 bp.

4.3.2. Προετοιμασία πηκτής αγαρόζης

1. Ζυγίζονται 2,5 g αγαρόζης, προστίθενται 100 ml από 1X TAE και θερμαίνονται έως ότου το μείγμα λειώσει.

2. Μετά την ψύξη του διαλύματος προστίθεται βρωμιούχο αιθίδιο (5 μl για 100 ml πηκτής αγαρόζης) και το διάλυμα διανέμεται σε ειδική μήτρα εξοπλισμένη με χτένια (για τον σχηματισμό εγκοπών).

3. Μετά τον πολυμερισμό της πηκτής τα χτένια απομακρύνονται και τοποθετείται γέλη σε σύστημα οριζόντιας ηλεκτροφόρησης που περιέχει αρκετό 1X TAE για την κάλυψη της πηκτής αγαρόζης.

4. 10 μl από τα προϊόντα PCR αναμειγνύονται με 2 μl κυανής χρωστικής (6X) και τοποθετούνται στις εγκοπές.

5. Ένα κοίλωμα προορίζεται ειδικά για τον δείκτη μοριακού βάρους (5 μl).

6. Εφαρμόζεται τάση 50 έως 150 Volt κατά τη διάρκεια 30 λεπτών έως 1 ώρας ανάλογα με το μέγεθος και το πάχος της πηκτής.

7. Η πηκτή παρατηρείται υπό UV.

4.4. *Ερμηνεία*

Η παρουσία του ιού OsHV-1 μVar σε ένα δείγμα μαρτυρείται από την παρουσία ζώνης του αντίστοιχου μεγέθους (157 bp αντί 173 bp για OsHV-1) σε 2,5 % πηκτή αγαρόζης με όλους τους αρνητικούς μάρτυρες να είναι αρνητικοί και όλους τους θετικούς θετικοί.

ΜΕΡΟΣ Γ

**Ορισμός της περιοχής περιορισμού**

Κατά τον καθορισμό της περιοχής περιορισμού σύμφωνα με το άρθρο 2 παράγραφος 2 λαμβάνονται υπόψη οι ακόλουθοι παράγοντες που επηρεάζουν τους κινδύνους για τη διασπορά της ασθένειας:

α) αριθμός, ποσοστό και κατανομή των μαλακίων στην προσβληθείσα εκμετάλλευση ή περιοχή καλλιέργειας μαλακίων·

β) απόσταση και πυκνότητα των γειτονικών εκμεταλλεύσεων ή περιοχών καλλιέργειας μαλακίων·

γ) γειτνίαση με τις εγκαταστάσεις μεταποίησης, εφαπτόμενες εκμεταλλεύσεις ή εφαπτόμενες περιοχές καλλιέργειας μαλακίων·

δ) είδη που βρίσκονται στις εκμεταλλεύσεις ή στις περιοχές καλλιέργειας μαλακίων·

▼B

ε) γεωργικές πρακτικές που εφαρμόζονται στις πληγείσες και γειτονικές εκμεταλλεύσεις ή περιοχές καλλιέργειας μαλακίων· και

στ) υδροδυναμικές συνθήκες και άλλοι παράγοντες με σημασία από επιζωοτική άποψη.

▼B

*ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ II*

**Υπόδειγμα υγειονομικού πιστοποιητικού για τη διάθεση στην αγορά των στρειδιών του είδους *Crassostrea gigas* *που* προορίζονται για καλλιέργεια και για περιοχές**

**ΕΥΡΩΠΑΪΚΗ ΕΝΩΣΗ** **Υγειονομικό πιστοποιητικό για το ενδοκοινοτικό εμπόριο**

**Πρώτο μέρος: Λεπτομέρειες σχετικά με την παρουσί**

| | | | |
|---|---|---|---|
| I.1. Αποστολέας<br>Όνομα<br>Διεύθυνση<br>Ταχυδρομικός κώδικας | | I.2. Αριθμός αναφοράς του πιστοποιητ | I.2.α. Αριθμός τοπικής αναφοράς |
| | | I.3. Αρμόδια κεντρική αρχή | |
| | | I.4. Αρμόδια τοπική αρχή | |
| I.5. Παραλήπτης<br>Όνομα<br>Διεύθυνση<br>Ταχυδρομικός κώδικας | | I.6. | |
| | | I.7. | |
| I.8. Χώρα καταγωγής | Κωδικός ISO<br>I.9. | I.10. Χώρα προορισμού | Κωδικός ISO<br>I.11. |
| I.12. Τόπος καταγωγής/τόπος αλίευσης<br>Εγκεκριμένο κέντρο υδατοκαλλιέργειας ☐<br>Λοιπά ☐<br>Όνομα Αριθμός έγκρισης<br>Διεύθυνση<br>Ταχυδρομικός κώδικας | | I.13. Τόπος προορισμού<br>Εγκεκριμένο κέντρο υδατοκαλλιέργειας ☐<br>Λοιπά ☐<br>Όνομα Αριθμός έγκρισης<br>Διεύθυνση<br>Ταχυδρομικός κώδικας | |
| I.14. Τόπος φόρτωσης<br>Ταχυδρομικός κώδικας | | I.15. Ημερομηνία και ώρα αναχώρησης | |
| I.16. Μέσα μεταφοράς<br>Αεροπλάνο ☐ Πλοίο ☐ Τρένο ☐<br>Οδικό όχημα ☐ Λοιπά ☐<br>Στοιχεία αναγνώρισης | | I.17. Μεταφορέας<br>Όνομα Αριθμός έγκρισης<br>Διεύθυνση<br>Ταχυδρομικός κώδικας Κράτος μέλος | |
| I.18. Είδος ζώου/ Προϊόντα | | I.19. Κωδικός προϊόντος (Κωδικός ΣΟ)<br>**03.07** | |
| | | | I.20. Αριθμός/Ποσότητα |
| I.21. | | | I.22. Αριθμός μονάδων συσκευασίας |
| I.23. Αριθμός σφραγίδας και αριθμός εμπορευματοκιβωτίου | | | I.24. .Είδος συσκευασίας |
| I.25. Ζώα/προϊόντα που έχουν πιστοποιηθεί για<br>εκτροφή ☐ επανεμβάπτιση ☐ | | | |
| I.26. Διαμετακόμιση σε τρίτες χώρες ☐<br>Τρίτες χώρες Κωδικός ISO<br>Σημείο εξόδου Κωδικός<br>Σημείο εισόδου Αριθμός ΣΣΕ | | I.27. Διαμετακόμιση στα κράτη μέλη ☐<br>Κράτος μέλος Κωδικός ISO<br>Κράτος μέλος Κωδικός ISO<br>Κράτος μέλος Κωδικός ISO | |
| I.28. Εξαγωγή ☐<br>Τρίτες χώρες Κωδικός ISO<br>Σημείο εξόδου Κωδικός | | I.29. | |
| I.30. | | | |
| I.31. Ταυτοποίηση των ζώων<br>Είδος (Επιστημονική ονομασία) Ποσότητα | | | |

▼B

**ΕΥΡΩΠΑΪΚΗ ΕΝΩΣΗ**

**Για τη διάθεση στην αγορά των στρειδιών του είδους *Crassostrea gigas* που προορίζονται για καλλιέργεια και για περιοχές μετεγκατάστασης**

**Μέρος II: Πιστοποιητικό**

| II. | **Υγειονομικές πληροφορίες** | II.α. Αριθμός αναφοράς πιστοποιητικού | II.β. |
|---|---|---|---|

([1])([2])[II.1 **Απαιτήσεις για τα στρείδια του είδους Crassostrea gigas που προέρχονται από περιοχή περιορισμού που καθορίστηκε σύμφωνα με το άρθρο 2 του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 175/2010**

Ο κάτωθι υπογεγραμμένος επίσημος επιθεωρητής βεβαιώνω ότι τα στρείδια του είδους *Crassostrea gigas* που αναφέρονται στο μέρος I του παρόντος πιστοποιητικού:

II.1.1 προέρχονται από περιοχή η οποία υπόκειται σε μέτρα ελέγχου των ασθενειών λόγω της αυξημένης θνησιμότητας των στρειδιών του είδους *Crassostrea gigas* σε σχέση με τον OsHV-1 μvar.]

([1])[II.1.2 επιτρέπεται να διατεθούν στην αγορά σύμφωνα με το άρθρο 3 παράγραφος 2 στοιχείο α) του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 175/2010]

([1])[II.1.2 προέρχονται από μέρος της περιοχής περιορισμού που δεν έχει πληγεί από την αυξημένη θνησιμότητα και το φορτίο υποβλήθηκε σε δειγματοληψία και δοκιμές σύμφωνα με το παράρτημα I του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 175/2010 για τα στρείδια του είδους *Crassostrea gigas* με αρνητικό αποτέλεσμα·]

([1])([3])[II.2 **Απαιτήσεις για τα στρείδια του είδους Crassostrea gigas που προέρχονται από κράτος μέλος ή διαμέρισμα όπου ίσχυαν προηγουμένως μέτρα περιορισμού όσον αφορά την αυξημένη θνησιμότητα στα στρείδια του είδους *Crassostrea gigas* σε σχέση με τον OsHV-1 μvar, και τα οποία προορίζονται για κράτη μέλη ή διαμερίσματα όπου ισχύει πρόγραμμα έγκαιρης ανίχνευσης του OsHV-1 μvar**

Ο κάτωθι υπογεγραμμένος επίσημος επιθεωρητής βεβαιώνω ότι τα στρείδια του είδους *Crassostrea gigas* που αναφέρονται στο μέρος I του παρόντος πιστοποιητικού:

II.2.1 προέρχονται από εκμετάλλευση ή περιοχή καλλιέργειας μαλακίων όπου σύμφωνα με τα μητρώα της εκμετάλλευσης ή της περιοχής καλλιέργειας μαλακίων δεν υπάρχει ένδειξη αυξημένης θνησιμότητας·

II.2.2 προέρχονται από διαμέρισμα στο οποίο η απουσία του OsHV-1 μvar αποδείχτηκε μέσω δειγματοληψίας και δοκιμών που πραγματοποιήθηκαν σύμφωνα με το παράρτημα I του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 175/2010 για τα στρείδια του είδους *Crassostrea gigas*.]

II.3 **Απαιτήσεις μεταφοράς και επισήμανσης**

Ο κάτωθι υπογεγραμμένος επίσημος επιθεωρητής βεβαιώνω ότι:

II.3.1 the *τα στρείδια του είδους Crassostrea gigas που αναφέρονται στο μέρος I του παρόντος πιστοποιητικού διατίθενται υπό συνθήκες, συμπεριλαμβανομένης της ποιότητας του νερού, οι οποίες δεν μεταβάλλουν το υγειονομικό καθεστώς τους·*

II.3.2 το δοχείο μεταφοράς καθαρίστηκε και απολυμάνθηκε πριν από τη φόρτωση ή χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά·

II.3.3 το φορτίο αναγνωρίζεται μέσω ευανάγνωστου σήματος στο εξωτερικό του δοχείου ή, όταν η μεταφορά γίνεται με ειδικό σκάφος (well boat), στο δηλωτικό του σκάφους, όπου αναγράφονται οι σχετικές πληροφορίες που αναφέρονται στο μέρος I, τετραγωνίδια αριθ. I.8 έως I.13 του παρόντος πιστοποιητικού, καθώς και η ακόλουθη δήλωση:

είτε ([1])[«στρείδια του είδους *Crassostrea gigas* που προορίζονται για καλλιέργεια/περιοχές μετεγκατάστασης σε περιοχή στην οποία ισχύει πρόγραμμα έγκαιρης ανίχνευσης του OsHV-1 μvar»]

είτε (1)[«στρείδια του είδους *Crassostrea gigas* που προορίζονται για καλλιέργεια/περιοχές μετεγκατάστασης σε περιοχή που υπόκειται σε μέτρα ελέγχου ασθενειών και τα οποία προέρχονται από περιοχή που υπόκειται σε μέτρα ελέγχου ασθενειών»].

**Σημειώσεις**

**Μέρος I:**

— Τετραγωνίδιο I.12: Ανάλογα με την περίπτωση, να χρησιμοποιείται ο αριθμός άδειας της αντίστοιχης εκμετάλλευσης ή περιοχής καλλιέργειας μαλακίων

— Τετραγωνίδιο I.13: Ανάλογα με την περίπτωση, να χρησιμοποιείται ο αριθμός άδειας της αντίστοιχης εκμετάλλευσης ή περιοχής καλλιέργειας μαλακίων.

— Τετραγωνίδια I.20 και 1: 31: Όσον αφορά την ποσότητα, να σημειωθεί ο συνολικός αριθμός.

— Τετραγωνίδιο I.25: Να χρησιμοποιηθεί η επιλογή «Αναπαραγωγή», αν προορίζονται για καλλιέργεια και η επιλογή «Μετεγκατάσταση», αν προορίζονται για μετεγκατάσταση

▼B

**ΕΥΡΩΠΑΪΚΗ ΕΝΩΣΗ**

**Για τη διάθεση στην αγορά των στρειδιών του είδους *Crassostrea gigas* που προορίζονται για καλλιέργεια και για περιοχές μετεγκατάστασης**

| II. **Υγειονομικές πληροφορίες** | II.α. Αριθμός αναφοράς πιστοποιητικού | II.β. |
|---|---|---|

**Μέρος II:**

([1]) Διαγράφεται η περιττή ένδειξη.

([2]) Το μέρος II.1 του παρόντος πιστοποιητικού εφαρμόζεται σε φορτία στρειδιών του είδους *Crassostrea gigas* που προέρχονται από περιοχή περιορισμού όπως καθορίστηκε σύμφωνα με το άρθρο 2 παράγραφος 2 του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 175/2010 και τα οποία σύμφωνα με το άρθρο 3 παράγραφος 2 στοιχείο α) ή στοιχείο β) αυτού του κανονισμού επιτρέπεται να εγκαταλείψουν αυτή την περιοχή.

([3]) Το μέρος II.2 του παρόντος πιστοποιητικού εφαρμόζεται σε φορτία στρειδιών του είδους *Crassostrea gigas* που αναφέρονται στο άρθρο 5 παράγραφος 1 του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 175/2010, προορίζονται για κράτη μέλη ή διαμερίσματα όπου ισχύει πρόγραμμα έγκαιρης ανίχνευσης του OsHV-1 μvar και προέρχονται από περιοχή στην οποία ίσχυαν προηγουμένως μέτρα περιορισμού σχετικά με την αυξημένη θνησιμότητα στα στρείδια του είδους *Crassostrea gigas*.

Επίσημος κτηνίατρος ή επίσημος επιθεωρητής

Ονοματεπώνυμο (με κεφαλαία): Ιδιότητα και τίτλος:

Τοπική Κτηνιατρική Μονάδα: Αριθ. της ΤΚΜ:

Ημερομηνία: Υπογραφή:

Σφραγίδα: