Dokument ten służy wyłącznie do celów dokumentacyjnych i instytucje nie ponoszą żadnej odpowiedzialności za jego zawartość

►**B**

ROZPORZĄDZENIE KOMISJI (UE) NR 175/2010

z dnia 2 marca 2010 r.

w sprawie wykonania dyrektywy Rady 2006/88/WE w zakresie środków mających na celu zwalczanie podwyższonej śmiertelności ostryg z gatunku *Crassostrea gigas* w związku z wykryciem herpeswirusa 1 µvar u ostryg (OsHV-1 µvar)

(Tekst mający znaczenie dla EOG)

(Dz.U. L 52 z 3.3.2010, str. 1)

zmienione przez:

		Dziennik Urzędowy		
		nr	strona	data
►**M1**	Rozporządzenie Komisji (UE) nr 1153/2010 z dnia 8 grudnia 2010 r.	L 324	39	9.12.2010

▼B

ROZPORZĄDZENIE KOMISJI (UE) NR 175/2010

z dnia 2 marca 2010 r.

w sprawie wykonania dyrektywy Rady 2006/88/WE w zakresie środków mających na celu zwalczanie podwyższonej śmiertelności ostryg z gatunku *Crassostrea gigas* w związku z wykryciem herpeswirusa 1 µvar u ostryg (OsHV-1 µvar)

(Tekst mający znaczenie dla EOG)

KOMISJA EUROPEJSKA,

uwzględniając Traktat o funkcjonowaniu Unii Europejskiej,

uwzględniając dyrektywę Rady 2006/88/WE z dnia 24 października 2006 r. w sprawie wymogów w zakresie zdrowia zwierząt akwakultury i produktów akwakultury oraz zapobiegania niektórym chorobom zwierząt wodnych i zwalczania tych chorób ([1]), w szczególności jej art. 41 ust. 3 i art. 61 ust. 3,

a także mając na uwadze, co następuje:

(1) W dyrektywie 2006/88/WE ustanowiono wymogi dotyczące zdrowia zwierząt, jakie należy stosować do wprowadzania do obrotu zwierząt akwakultury i ich produktów. Ponadto ustanowiono w niej minimalne środki zapobiegawcze, jakie należy stosować w przypadku podejrzewania pojawienia się lub nagłego wystąpienia niektórych chorób zwierząt wodnych.

(2) Artykuł 41 tej dyrektywy stanowi, że państwa członkowskie przyjmują odpowiednie środki w celu zwalczenia nowo pojawiającej się choroby oraz zapobiegnięcia jej rozprzestrzenianiu się. W przypadku wystąpienia nowo pojawiającej się choroby państwo członkowskie, którego to dotyczy, niezwłocznie powiadamia o tym fakcie państwa członkowskie, Komisję oraz państwa członkowskie EFTA, jeśli wyniki jego badań są istotne z epidemiologicznego punktu widzenia dla innego państwa członkowskiego.

(3) Podwyższoną śmiertelność ostryg z gatunku *Crassostrea gigas* („ostrygi *Crassostrea gigas*") wykryto na kilku obszarach we Francji i w Irlandii późną wiosną i latem 2008 r. Przypisano ją połączeniu negatywnych czynników środowiskowych przy obecności bakterii z gatunku Vibrio i wirusa herpeswirus-1 u ostryg (OsHV-1), w tym nowo opisanego genotypu tego wirusa nazwanego OsHV-1 µvar.

(4) Władze Francji poinformowały Komisję, państwa członkowskie i państwa członkowskie EFTA o zaistniałej sytuacji i o środkach podjętych w sierpniu 2008 r., a we wrześniu 2008 r. sprawę przedłożono Stałemu Komitetowi ds. Łańcucha Żywnościowego i Zdrowia Zwierząt.

(5) Wiosną 2009 r. podwyższoną śmiertelność przypisywaną takiemu samemu połączeniu czynników wykryto ponownie we Francji, w Irlandii i na Wyspach Normandzkich. Podczas gdy przyczyny śmiertelności pozostają nadal niepewne, dochodzenia epidemiologiczne podjęte w Irlandii i w Zjednoczonym Królestwie w 2009 r. sugerują, że wirus OsHV-1 µvar odgrywa główną rolę w przypadkach śmiertelności.

([1]) Dz.U. L 328 z 24.11.2006, s. 14.

▼B

(6) Właściwe organy tych państw członkowskich i Wysp Normandzkich poinformowały Komisję o zaistniałej sytuacji i o podjętych środkach, a sprawę przedłożono Stałemu Komitetowi ds. Łańcucha Żywnościowego i Zdrowia Zwierząt.

(7) Środki zapobiegania rozprzestrzenianiu się choroby podjęte przez właściwe organy w tych państwach członkowskich i na Wyspach Normandzkich w celu zwalczania nowo pojawiającej się choroby opierały się głównie na ograniczeniu przemieszczania ostryg *Crassostrea gigas* poza obszary, na których wystąpiła podwyższona śmiertelność.

(8) Biorąc pod uwagę ponowne wystąpienie nowo pojawiającej się choroby w 2009 r., jego ewentualne powtórzenia i ryzyko dalszego rozprzestrzeniania się choroby wiosną i latem 2010 r. oraz na podstawie zdobytego doświadczenia, poszerzenie zakresu środków podjętych już przez państwa członkowskie, w których wystąpiła choroba, jest właściwe i konieczne.

(9) W celu zapewnienia jednolitych warunków wdrażania wymogów dyrektywy 2006/88/WE w odniesieniu do nowo pojawiających się chorób oraz dopilnowania, aby podjęte środki stanowiły wystarczającą ochronę przed dalszym rozprzestrzenianiem się choroby, nie nakładając jednocześnie niekoniecznych ograniczeń na przemieszczanie ostryg *Crassostrea gigas*, konieczna jest koordynacja środków dotyczących nowo pojawiającej się choroby na szczeblu Unii Europejskiej.

(10) W przypadku uzyskania przez właściwe organy informacji o wykryciu podwyższonej śmiertelności ostryg *Crassostrea gigas* należy pobrać próbki i przeprowadzić badanie w celu wykrycia lub wykluczenia obecności wirusa OsHV-1 µvar.

(11) W przypadku potwierdzenia obecności genotypu OsHV-1 µvar wirusa państwa członkowskie powinny wdrożyć środki zwalczania choroby, w tym ustanowić obszar zapobiegania rozprzestrzenianiu się choroby. Określając obszar zapobiegania rozprzestrzenianiu się choroby, należy uwzględnić niektóre czynniki określone w niniejszym rozporządzeniu. Przedmiotowe środki zwalczania choroby należy utrzymać do czasu wykazania poprzez inspekcje, że podwyższona śmiertelność ustała.

(12) W celu ograniczenia ryzyka rozprzestrzeniania się choroby należy ustanowić ograniczenie przemieszczania ostryg *Crassostrea gigas* poza obszary zapobiegania rozprzestrzenianiu się choroby. Należy jednak przewidzieć pewne odstępstwa w przypadku zmniejszonego ryzyka rozprzestrzenienia się choroby. Przedmiotowe odstępstwa wpływają na przemieszczanie niektórych ostryg *Crassostrea gigas* przeznaczonych do obszarów hodowli lub obszarów przejściowych w innym obszarze zapobiegania rozprzestrzenianiu się choroby lub przeznaczonych do spożycia przez ludzi. W celu zapewnienia identyfikowalności przesyłek ostryg *Crassostrea gigas* przeznaczonych do obszarów hodowli lub obszarów przejściowych powinno towarzyszyć im świadectwo zdrowia zwierząt. Przy wypełnianiu świadectwa należy uwzględnić uwagi wyjaśniające zawarte w załączniku V do rozporządzenia Komisji (WE) nr 1251/2008 z dnia 12 grudnia 2008 r. wdrażającego dyrektywę Rady 2006/88/WE w zakresie warunków oraz wymagań certyfikacji w odniesieniu do wprowadzania do obrotu i przywożenia do Wspólnoty zwierząt akwakultury i produktów akwakultury oraz ustanawiającego wykaz gatunków-wektorów ([1]).

([1]) Dz.U. L 337 z 16.12.2008, s. 41.

▼B

(13) W celu poszerzenia wiedzy na temat statusu nowo pojawiającej się choroby w Unii, w szczególności w państwach członkowskich i enklawach, w których dotychczas nie wystąpiła, oraz zapewnienia wczesnego wykrywania każdego przypadku wystąpienia wirusa OsHV-1 µvar państwa członkowskie mogą zdecydować o ustanowieniu programów ukierunkowanego pobierania próbek i przeprowadzania badań dla celów wczesnego wykrywania wirusa OsHV-1 µvar. Ostrygi *Crassostrea gigas* pochodzące z obszarów, które objęto środkami zapobiegania rozprzestrzenianiu się choroby w 2009 r. zgodnie ze środkami krajowymi lub w 2010 r. zgodnie z niniejszym rozporządzeniem, należy objąć dodatkowymi wymogami w zakresie zdrowia zwierząt w przypadku wprowadzania ich do państw członkowskich lub enklaw objętych takim programem w celach hodowli lub umieszczenia na obszarach przejściowych, tak długo jak wirus OsHV-1 µvar nie występuje w danym państwie członkowskim lub w danej enklawie.

(14) W celu zapewnienia porównywalności danych zbieranych w różnych państwach członkowskich w kontekście programów ukierunkowanego pobierania próbek i przeprowadzania badań dla celów wczesnego wykrywania wirusa OsHV-1 µvar, należy określić niektóre wymogi dotyczące zawartości tych programów.

(15) Dostępność dokładnych i uzyskiwanych w odpowiednim czasie informacji na temat sytuacji w zakresie wykrywania wirusa OsHV-1 µvar w państwach członkowskich jest kluczowym elementem pozwalającym na zapewnienie odpowiedniego zwalczania nowo pojawiającej się choroby. W tym celu państwa członkowskie powinny bez zbędnej zwłoki poinformować Komisję i inne państwa członkowskie o pierwszym potwierdzonym przypadku obecności wirusa OsHV-1 µvar na ich terytorium w 2010 r.

(16) Ponadto należy wykorzystywać informacyjne strony internetowe stworzone zgodnie z art. 10 decyzji Komisji 2009/177/WE z dnia 31 października 2008 r. wdrażającej dyrektywę Rady 2006/88/WE w odniesieniu do programów nadzoru i eliminowania chorób oraz statusu państw członkowskich, stref i enklaw wolnych od choroby ([1]).

(17) W celu zapewnienia przejrzystości odpowiednich informacji na temat nowo pojawiającej się choroby i dostępu do tych informacji w odpowiednim czasie państwa członkowskie powinny udostępniać Komisji Europejskiej i innym państwom członkowskim informacje dotyczące obszarów zapobiegania rozprzestrzenianiu się choroby, obszarów wcześniej objętych środkami zapobiegania rozprzestrzenianiu się choroby, w odniesieniu do których wykazano jednak nieobecność wirusa OsHV-1 µvar i ustanowiono programy wczesnego wykrywania wirusa OsHV-1 µvar.

(18) Ponieważ nadal istniej duża niepewność co do sytuacji w zakresie nowo pojawiającej się choroby, środki przewidziane w niniejszym rozporządzeniu powinny mieć zastosowanie do końca grudnia 2010 r.

(19) Środki przewidziane w niniejszym rozporządzeniu są zgodne z opinią Stałego Komitetu ds. Łańcucha Żywnościowego i Zdrowia Zwierząt,

([1]) Dz.U. L 63 z 7.3.2009, s. 15.

▼B

PRZYJMUJE NINIEJSZE ROZPORZĄDZENIE:

Artykuł 1

Definicja

Dla celów niniejszego rozporządzenia OsHV-1 µvar oznacza genotyp wirusa herpeswirus-1 ostryg (OsHV-1), który zdefiniowano na podstawie danych dotyczących częściowej sekwencji wykazującej systematyczną delecję 12 par zasad w ORF 4 genomu w porównaniu z OsHV-1 (GenBank numer dostępu AY509253).

Artykuł 2

Pobieranie próbek, badanie i ustanawianie obszarów zapobiegania rozprzestrzenianiu się choroby

1. W przypadku wykrycia podwyższonej śmiertelności ostryg z gatunku *Crassostrea gigas* („ostryg *Crassostrea gigas*") właściwy organ:

a) pobiera próbki zgodnie z częścią A załącznika I;

b) przeprowadza badania na obecność wirusa OsHV-1 µvar zgodnie z metodami diagnostycznymi określonymi w części B załącznika I.

2. Gdy wyniki badań, o których mowa w ust. 1 lit. b), wykazują obecność wirusa OsHV-1 µvar, właściwy organ ustanawia obszar zapobiegania rozprzestrzenianiu się choroby. Dany obszar określa się na podstawie każdej indywidualnej analizy z uwzględnieniem czynników wpływających na ryzyko rozprzestrzenienia choroby określone w części C załącznika I.

3. Państwa członkowskie niezwłocznie informują Komisję i inne państwa członkowskie o pierwszym obszarze zapobiegania rozprzestrzenianiu się choroby ustanowionym na ich terytorium w 2010 r.

Artykuł 3

Wymogi w zakresie wprowadzania do obrotu dotyczące ostryg *Crassostrea gigas* pochodzących z obszaru zapobiegania rozprzestrzenianiu się choroby, o którym mowa w art. 2

1. Ostryg *Crassostrea gigas* pochodzących z obszarów zapobiegania rozprzestrzenianiu się choroby ustanowionych zgodnie z art. 2 ust. 2 nie przemieszcza się poza ten obszar.

2. W drodze odstępstwa od ust. 1 przesyłki ostryg *Crassostrea gigas* można przemieszczać poza obszar zapobiegania rozprzestrzenianiu się choroby, jeżeli:

a) są przeznaczone do innego obszaru zapobiegania rozprzestrzenianiu się choroby ustanowionego zgodnie z art. 2 ust. 2;

b) pochodzą z części obszaru zapobiegania rozprzestrzenianiu się choroby, w tym wylęgarni, w której nie występuje podwyższona śmiertelność, a przesyłkę poddano:

(i) pobraniu próbki zgodnie z częścią A załącznika I; i

(ii) badaniom na obecność wirusa OsHV-1 µvar zgodnie z metodami diagnostycznymi określonymi w części B załącznika I, przy czym wszystkie badania dały wynik ujemny;

▼B

c) przed spożyciem przez ludzi są przeznaczone do dalszego przetwarzania, zakładów oczyszczania, zakładów wysyłkowych lub zakładów przetwórczych wyposażonych w zatwierdzony przez właściwy organ system oczyszczania ścieków, który:

(i) dezaktywuje wirusy z otoczką; lub

(ii) ogranicza ryzyko przeniesienia chorób do wód naturalnych do poziomu możliwego do przyjęcia;

d) są przeznaczone do spożycia przez ludzi oraz w tym celu pakowane i oznakowane zgodnie z rozporządzeniem (WE) nr 853/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady ([1]) i:

(i) nie są w stanie przetrwać jako żywe zwierzęta, jeżeli powrócą do środowiska, z którego pochodzą; lub

(ii) są przeznaczone do dalszego przetwarzania bez tymczasowego składowania w miejscu przetwarzania;

e) przesyłki takich ostryg lub produkty z nich uzyskiwane są przeznaczone do spożycia przez ludzi bez dalszego przetwarzania, pod warunkiem że umieszczone są w opakowaniach przeznaczonych do sprzedaży detalicznej zgodnych z przepisami dotyczącymi takich opakowań określonymi w rozporządzeniu (WE) nr 853/2004.

3. Przesyłkom, o których mowa w ust. 2 lit. a) i lit. b), przeznaczonym do obszarów hodowli lub obszarów przejściowych towarzyszy świadectwo zdrowia zwierząt wypełnione zgodnie z wzorem określonym w załączniku II do niniejszego rozporządzenia i z uwagami wyjaśniającymi zawartymi w załączniku V do rozporządzenia (WE) nr 1251/2008.

Artykuł 4

Zniesienie środków przewidzianych w art. 2 i 3

Właściwy organ może znieść środki zwalczania choroby odnoszące się do obszarów zapobiegania rozprzestrzenianiu się choroby ustanowionych zgodnie z art. 2 ust. 2 i ograniczenia w zakresie wprowadzania do obrotu przewidziane w art. 3 po przeprowadzeniu dwóch kolejnych inspekcji w odstępie 15 dni, które wykazują, że podwyższona śmiertelność ustała.

Artykuł 5

Wymogi w zakresie wprowadzania do obrotu dotyczące ostryg *Crassostrea gigas* pochodzących z enklawy wcześniej objętej środkami zwalczania z powodu podwyższonej śmiertelności ostryg *Crassostrea gigas* związanej z wirusem OsHV-1 µvar

1. Ostrygi *Crassostrea gigas*, które są wprowadzane do obrotu, a pochodzą z enklawy objętej środkami zapobiegania rozprzestrzenianiu się choroby w 2009 lub 2010 r. z powodu podwyższonej śmiertelności ostryg *Crassostrea gigas* związanej z wirusem OsHV-1 µvar:

a) są zaopatrzone w świadectwo zdrowia zwierząt wypełnione zgodnie z wzorem określonym w załączniku II do niniejszego rozporządzenia i z uwagami wyjaśniającymi zawartymi w załączniku V do rozporządzenia (WE) nr 1251/2008, jeżeli zwierzęta:

(i) są przeznaczone do państw członkowskich lub enklaw, w których wprowadzono program wczesnego wykrywania wirusa OsHV-1 µvar i w których nie wykryto wirusa OsHV-1 µvar; oraz

([1]) Dz.U. L 139 z 30.4.2004, s. 55.

▼B

(ii) są przeznaczone do obszarów hodowli lub obszarów przejściowych;

b) pochodzą z enklawy, w odniesieniu do której wykazano nieobecność wirusa OsHV-1 µvar poprzez pobranie próbek i przeprowadzenie badania zgodnie z częścią A załącznika I; oraz

c) spełniają wymogi w zakresie zdrowia zwierząt określone we wzorze świadectwa, o którym mowa w lit. a).

2. Program wczesnego wykrywania wirusa OsHV-1 µvar, o którym mowa w ust. 1 lit. a) ppkt (i), spełnia następujące wymogi:

a) program musi zostać zgłoszony Stałemu Komitetowi ds. Łańcucha Żywnościowego i Zdrowia Zwierząt;

b) zgłoszenie takie musi być zgodne z pkt 1, pkt 5.1, 5.2, 5.3, 5.5, 5.9 oraz pkt 6 i 7 wzoru określonego w załączniku II do decyzji 2009/177/WE;

c) program musi obejmować:

(i) pobieranie próbek zgodnie z częścią A załącznika I;

(ii) badania na obecność wirusa OsHV-1 µvar zgodnie z metodami diagnostycznymi określonymi w części B załącznika I.

3. Ustęp 1 stosuje się jeden tydzień od dnia posiedzenia Stałego Komitetu ds. Łańcucha Żywnościowego i Zdrowia Zwierząt, na którym zgłoszono program, o którym mowa w ust. 1 lit. a) ppkt (i).

Artykuł 6

Informacyjna strona internetowa

1. Państwa członkowskie udostępniają Komisji i pozostałym państwom członkowskim:

a) wykaz obszarów zapobiegania rozprzestrzenianiu się choroby i czynników, które uwzględniono przy określaniu tych obszarów, wraz z opisem granic geograficznych odnośnego obszaru, które ustanowiono zgodnie z art. 2 ust. 2;

b) wykaz enklaw wraz z opisem granic geograficznych odnośnego obszaru, w odniesieniu do których:

(i) zastosowano środki zapobiegania rozprzestrzenianiu się choroby w 2009 r. z powodu podwyższonej śmiertelności ostryg *Crassostrea gigas* związanej z wirusem OsHV-1 µvar;

(ii) wykazano nieobecność wirusa OsHV-1 µvar poprzez badania przeprowadzone zgodnie z częściami A i B załącznika I na próbkach pobranych z obszaru zapobiegania rozprzestrzenianiu się choroby;

c) zgłoszenia programów, o których mowa w art. 5 ust. 2, wraz z opisem granic geograficznych odnośnego obszaru.

2. Informacje przewidziane w ust. 1 są aktualizowane i udostępniane za pośrednictwem informacyjnych stron internetowych stworzonych zgodnie z art. 10 decyzji 2009/177/WE.

▼B

Artykuł 7

Sprawozdawczość

Najpóźniej do dnia 1 października 2010 r. państwa członkowskie przedstawiają Komisji sprawozdanie w sprawie programów zgłoszonych zgodnie z art. 5 ust. 2.

Sprawozdanie jest zgodne z wzorem określonym w załączniku VI do decyzji 2009/177/WE.

Artykuł 8

Wejście w życie i stosowanie

Niniejsze rozporządzenie wchodzi w życie trzeciego dnia po jego opublikowaniu w *Dzienniku Urzędowym Unii Europejskiej*.

Niniejsze rozporządzenie stosuje się od dnia 15 marca 2010 r. do dnia ►M1 30 kwietnia 2011 r. ◄

Niniejsze rozporządzenie wiąże w całości i jest bezpośrednio stosowane we wszystkich państwach członkowskich.

▼B

ZAŁĄCZNIK I

CZĘŚĆ A

Pobieranie próbek

1. *Pobieranie próbek do celów art. 2*

Próbki, o których mowa w art. 2, powinny obejmować co najmniej 12 osobników ostryg *Crassostrea gigas*. Przy wyborze ostryg do próbki uwzględnia się osobniki słabe, o rozszczelnionych muszlach lub wkrótce po śmierci (które nie uległy rozkładowi), pochodzące z enklawy, w której stwierdzono śmiertelność.

2. *Pobieranie próbek do celów art. 3 ust. 2 lit. b), art. 5 ust. 1 lit. b) i art. 5 ust. 2*

a) Pobieranie próbek do celów art. 3 ust. 2 lit. b) obejmuje:

(i) w przypadku larw – pięć próbek z każdej przesyłki zawierających co najmniej 50 mg całych osobników zebranych w ciągu 4–8 dni od zapłodnienia, w tym muszle;

(ii) w przypadku jaj mniejszych niż 6 mm – 30 próbek z każdej przesyłki zawierających 300 mg całych osobników, w tym muszle;

(iii) w przypadku ostryg większych niż 6 mm – 150 osobników z każdej przesyłki.

Przy wyborze tych osobników wszystkie części przesyłki muszą być proporcjonalnie reprezentowane w próbce. Jeżeli obecne są osobniki słabe, o rozszczelnionych muszlach lub wkrótce po śmierci (które nie uległy rozkładowi), wybiera się je w pierwszej kolejności.

b) Pobieranie próbek do celów art. 5 ust. 2 obejmuje co najmniej 150 osobników *Crassostrea gigas* z każdego punktu pobierania próbek. Próbki pobiera się we wszystkich gospodarstwach lub obszarach hodowli mięczaków w państwie członkowskim lub enklawie objętej programem.

Pobieranie próbek do celów art. 5 ust. 1 lit. b) obejmuje co najmniej 150 osobników *ostryg Crassostrea gigas* z każdej enklawy.

Przy wyborze tych osobników uwzględnia się następujące kryteria:

— jeżeli obecne są osobniki słabe, o rozszczelnionych muszlach lub wkrótce po śmierci (które nie uległy rozkładowi), wybiera się je w pierwszej kolejności; jeżeli takie osobniki nie są obecne, wśród wybranych osobników znajdują się zdrowe mięczaki w wieku poniżej 12 miesięcy,

— przy pobieraniu próbek w gospodarstwach, w których do produkcji wykorzystuje się więcej niż jedno źródło wodne, pobranie próbek obejmuje osobniki reprezentujące wszystkie źródła w taki sposób, aby wszystkie części gospodarstwa były proporcjonalnie reprezentowane w próbce,

— przy pobieraniu próbek na obszarach hodowli mięczaków pobranie próbek obejmuje osobniki z wystarczającej liczby punktów pobierania próbek – z co najmniej trzech punktów pobierania próbek – w ten sposób, aby wszystkie części obszaru hodowli mięczaków były proporcjonalnie reprezentowane w próbce, w tym naturalne siedliska występujące na obszarze hodowli mięczaków. Najważniejsze czynniki, które należy uwzględnić podczas wybierania punktów pobierania próbek, są następujące: wcześniejsze wykrycie wirusa OsHV-1 µvar na danym obszarze, gęstość obsady, przepływ wody, batymetria i praktyki zarządzania.

▼B

c) Pobieranie próbek, o którym mowa w art. 5 ust. 2, przeprowadza się w okresie roku, w którym wiadomo, że częstość występowania wirusa OsHV-1 µvar w państwie członkowskim lub enklawie jest największa. Jeżeli takie dane są niedostępne, pobieranie próbek przeprowadza się niezwłocznie po okresie, w którym temperatura wody przekracza 16 °C lub w porze roku, w której temperatura zazwyczaj osiąga maksymalną roczną wartość.

d) Pobieranie próbek, o którym mowa w art. 5 ust. 1 lit. b) najlepiej jest przeprowadzić w okresie roku opisanym w lit. c). Jeżeli próbki pobiera się poza tym okresem roku, ostrygi, od których pobiera się próbki, zanim zostaną zbadane, muszą być utrzymywane w warunkach równoważnych z warunkami opisanymi w lit. c) przez okres odpowiedni do wykrycia wirusa OsHV-1 µvar.

CZĘŚĆ B

Metody diagnostyczne wykrywania wirusa OsHV-1 µvar

1. *Zakres*

Niniejsza procedura wyjaśnia standardową metodę diagnostyczną, którą należy stosować do wykrywania i identyfikacji wirusa OsHV-1 µvar za pomocą reakcji łańcuchowej polimerazy (zwanej dalej „PCR"). Umożliwia ona rozróżnienie między wirusem OsHV-1 a wirusem OsHV-1 µvar.

W stosownych przypadkach – w celu zoptymalizowania warunków reakcji i dostosowania wyposażenia i warunków w laboratoriach – laboratoria mogą wprowadzić modyfikacje do metod opisanych w niniejszym załączniku, pod warunkiem że możliwe jest wykazanie jednakowej czułości i swoistości.

2. *Definicja*

Wirus OsHV-1 µvar jest zdefiniowany w art. 1 niniejszego rozporządzenia.

3. *Wyposażenie i warunki otoczenia*

Badanie diagnostyczne stosowane do wykrywania i identyfikacji wirusa OsHV-1 µvar za pomocą metody PCR wymaga następującego wyposażenia i warunków otoczenia zwyczajowo stosowanych w analizie PCR:

— zamkniętego dygestorium wyposażonego w urządzenie wytwarzające promieniowanie UV w celu wyeliminowania możliwości skażenia podczas przygotowywania mieszaniny reakcyjnej PCR,

— dwóch pełnych zestawów pipet (2 µl, 20 µl, 200 µl i 1 000 µl), pierwszego w celu ekstrakcji DNA, drugiego w celu przygotowania mieszaniny reakcyjnej PCR,

— trzech różnych pipet: jednej pipety (2 µl) w celu dozowania próbek w mieszaninie reakcyjnej PCR, jednej pipety (20 µl) w celu analizy EB próbek i kolejnej pipety (20 µl) w celu umieszczenia produktów reakcji PCR w żelu agarozowym,

— końcówek filtrujących do pipet (2 µl, 20 µl, 200 µl i 1 000 µl) w celu ekstrakcji DNA, przygotowywania mieszaniny reakcyjnej PCR i dozowania próbek,

— końcówek do pipet (20 µl) w celu zebrania próbek do analizy EB i do umieszczenia produktów amplifikacji w żelu agarozowym,

— termocyklera w celu przeprowadzenia amplifikacji,

— urządzenia do elektroforezy poziomej w celu przeprowadzenia elektroforezy produktów PCR,

— tabeli UV w celu obserwacji produktów PCR po elektroforezie żelu agarozowego,

— systemu uzyskiwania obrazów żelu.

▼B

Podczas wszystkich opisanych poniżej poszczególnych etapów laborant musi być ubrany w fartuch laboratoryjny i nosić rękawice. Fartuch laboratoryjny i rękawice należy zmieniać najlepiej po każdym głównym etapie: ekstrakcji DNA, przygotowaniu mieszaniny reakcyjnej PCR, dozowaniu próbek, amplifikacji i umieszczaniu w żelu.

Zaleca się przeprowadzanie tych etapów w różnych pomieszczeniach. Przede wszystkim amplifikacja i umieszczanie w żelu/elektroforeza powinny odbywać się w innym pomieszczeniu niż ekstrakcja DNA, przygotowanie mieszaniny reakcyjnej PCR i dozowanie DNA.

4. *Procedura*

4.1. Przygotowanie próbek

Ostrygi żywe lub wkrótce po śmierci (które nie uległy rozkładowi), które można uprzednio zamrozić, przygotowuje się w celu ekstrakcji DNA.

Sposób przygotowania próbek zależy od ich rozmiaru:

a) w przypadku larw – próbki zawierające 50 mg całych osobników (w tym muszle) i uzupełnione 200 µl wody destylowanej rozgniata się i odwirowuje z prędkością 1 000 g na 1 min;

b) w przypadku jaj mniejszych lub równych 6 mm – próbki zawierające 300 mg całych osobników (w tym muszle) i uzupełnione 1 200 µl wody destylowanej rozgniata się i odwirowuje z prędkością 1 000 g na 1 min;

c) w przypadku jaj o wielkości 6–15 mm – wszystkie tkanki miękkie każdego osobnika rozgniata się indywidualnie;

d) w przypadku osobników większych niż 15 mm oddziela się skrzela i płaszcz.

Ekstrakcję DNA przeprowadza się przy użyciu QIAamp® DNA Mini Kit (QIAGEN) i zgodnie z instrukcjami protokołu badania tkanki.

Dalsze przygotowanie próbki przeprowadza się w następującej kolejności:

1. Umieścić 100 µl supernatantu w przypadku próbek, o których mowa w lit. a) i b), lub 10–50 mg tkanki w przypadku próbek, o których mowa w lit. c) i d), w rurce wirówki o pojemności 1,5 ml i dodać 180 µl buforu ATL.

2. Dodać 20 µl roztworu Proteinase K, mieszać, wirując i inkubować w temperaturze 56 °C do momentu całkowitego rozpadu tkanki (przez noc). Podczas inkubacji, aby rozproszyć próbkę, wirować od czasu do czasu. Odwirować krótko rurkę mikrowirówki o pojemności 1,5 ml, aby usunąć krople z przykrywki.

3. Do próbki dodać 200 µl buforu AL, mieszać, wirując pulsacyjnie, przez 15 s i inkubować w temperaturze 70 °C przez 10 min. Odwirować krótko rurkę mikrowirówki o pojemności 1,5 ml, aby usunąć krople z przykrywki.

4. Do próbki dodać 200 µl etanolu (96–100 %) i mieszać, wirując pulsacyjnie, przez 15 s. Odwirować krótko rurkę mikrowirówki o pojemności 1,5 ml, aby usunąć krople z przykrywki.

5. Wprowadzić ostrożnie mieszaninę opisaną w kroku 4 do kolumny QIAamp Spin (w probówce o pojemności 2 ml), unikając zwilżenia krawędzi. Założyć przykrywkę i odwirowywać przez 1 minutę z prędkością 10 000 obr./min. Umieścić kolumnę QIAamp Spin w czystej probówce o pojemności 2 ml (znajdującej się w zestawie) i odstawić rurkę zawierającą filtrat.

▼B

6. Ostrożnie otworzyć kolumnę QIAamp Spin i dodać 500 µl buforu AW1, nie mocząc krawędzi. Założyć przykrywkę i odwirowywać przez 1 minutę z prędkością 10 000 obr./min. Umieścić kolumnę QIAamp w czystej probówce o pojemności 2 ml (znajdującej się w zestawie) i odstawić probówkę zawierającą filtrat.

7. Ostrożnie otworzyć kolumnę QIAamp Spin i dodać 500 µl buforu AW2, nie mocząc krawędzi. Założyć przykrywkę i odwirowywać przez 3 minuty z pełną prędkością (14 000 obr./min).

8. (Nieobowiązkowo) Umieścić kolumnę QIAamp Spin w nowej probówce o pojemności 2 ml (nieznajdującej się w zestawie) i odstawić probówkę zawierającą filtrat. Odwirowywać przez 1 minutę z pełną prędkością (14 000 obr./min).

9. Umieścić kolumnę QIAamp Spin w czystej rurce mikrowirówki o pojemności 1,5 ml (nieznajdującej się w zestawie) i odstawić probówkę zawierającą filtrat. Ostrożnie otworzyć kolumnę QIAamp Spin i dodać 100 µl wody destylowanej. Inkubować przez 5 minut w temperaturze pokojowej i odwirowywać przez 1 minutę z prędkością 10 000 obr./min.

10. Kontrolować jakość i skuteczność ekstrakcji (na przykład, mierząc OD (260 nm) za pomocą spektrofotometru lub po elektroforezie w żelu agarozowym).

11. Przygotować rozcieńczone próbki w celu uzyskania końcowej koncentracji DNA wynoszącej 50–100 ng/µl.

12. Do czasu przeprowadzenia analiz PCR roztwory DNA przechowuje się w temperaturze 4 °C.

Do ekstrakcji DNA można wykorzystywać inne zestawy znajdujące się w sprzedaży, pod warunkiem udowodnienia, że dają podobne wyniki.

4.2. *Łańcuchowa reakcja polimerazy (PCR)*

4.2.1. Odczynniki

— bufor 10 X (dostarczany z polimerazą Taq DNA)

— $MgCl_2$ (dostarczany z polimerazą DNA) (25 mM)

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

— przed użyciem dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTT) Master Mix (20 mM) należy rozcieńczyć 10-krotnie (do 2 mM)

— dH_2O (destylowane H_2O bez DNA i RNA)

4.2.2. Startery

Należy stosować następujące startery ([1]):

CF (10 µM)

CR (10 µM)

([1]) Startery te lub ich opisy można otrzymać ze wspólnotowego laboratorium referencyjnego ds. chorób mięczaków (LGP-Ifremer, av de Mus de Loup, 17390 La Tremblade, Francja).

▼B

4.2.3. Mieszanina PCR

Mieszanina PCR dla każdej rurki:

	Objętość na rurkę	Końcowa koncentracja
Bufor (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
Polimeraza Taq (5 U/µl)	0,5 µl	2,5 U
dH_2O	31,5 µl	

— w każdej rurce PCR umieszcza się 49 µl mieszaniny PCR

— do każdej rurki dodaje się 1 µl ekstrahowanego DNA (50–100 ng/µl)

4.2.4. Kontrole

Stosuje się dwa rodzaje kontroli:

— kontrole negatywne składają się z dH_2O (1 µl na 49 µl mieszaniny PCR). Mają one na celu wykrycie ewentualnego zanieczyszczenia odczynników lub środowiska pracy; jedną kontrolę negatywną należy przeprowadzić na co dziesiątej próbce lub po każdej partii próbek,

— kontrole pozytywne oparte na DNA plazmidowym zawierającym obszar CF-CR docelowego genomu OsHV-1, które mają na celu skontrolowanie skuteczności reakcji PCR. Przy każdej analizie PCR należy przeprowadzić jedną kontrolę pozytywną. Kontrole pozytywne dostępne są we wspólnotowym laboratorium referencyjnym.

4.2.5. Amplifikacja

Cykle amplifikacji przeprowadza się w termocyklerze.

— Początkowa denaturacja: 2 min w temperaturze 94 °C

— Amplifikacja: 35 cykli (1 min w temperaturze 94 °C, 1 min w temperaturze 50 °C i 1 min w temperaturze 72 °C)

— Końcowa elongacja: 5 min w temperaturze 72 °C

4.3. *Elektroforeza*

4.3.1. Odczynniki

— 50 X TAE (możliwość zakupienia bezpośrednio gotowego do użytku):

bufor tris (40 mM) 242 g

kwas octowy lodowaty (40 mM) 57,1 ml

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

dH_2O na 1 litr

Doprowadzić pH do wartości 8

▼B

— Żel agarozowy 2,5 % w 1X TAE

Bromek etydyny (0,5 μg/ml) dodany po schłodzeniu żelu.

— Niebieski barwnik ładujący:

błękit bromofenolowy 0,25 %

cyjanoksylen FF 0,25 %

sacharoza 40 %

Przechowywać w temperaturze 4 °C.

Należy stosować po 6-krotnym rozcieńczeniu (2 μl niebieskiego bufora ładującego na 10 μl produktów PCR).

— Marker masy cząsteczkowej:

SmartLadder SF (Eurogentec): gotowy do użycia marker masy cząsteczkowej zawierający 9 regularnie rozstawionych pasm od 100 do 1 000 bp.

4.3.2. Przygotowanie żelu agarozowego

1. Zważyć 2,5 g agarozy, dodać 100 ml 1X TAE i podgrzewać aż do rozpuszczenia mieszaniny.

2. Po schłodzeniu roztworu dodaje się bromek etydyny (5 μl na 100 ml żelu agarozowego) i umieszcza się roztwór w specjalnej formie wyposażonej w grzebienie (aby ukształtować dołki).

3. Po polimeryzacji żelu usuwa się grzebienie, a żel umieszcza w zestawie do elektroforezy poziomej zawierającym wystarczająco 1X TAE, aby pokryć żel agarozowy.

4. 10 μl produktów PCR miesza się z 2 μl niebieskiego barwnika (6X) i umieszcza w dołkach.

5. Jednemu dołkowi odpowiada jeden marker masy cząsteczkowej (5 μl).

6. Stosuje się napięcie 50–150 V przez okres od 30 min do 1 godz. w zależności od objętości i gęstości żelu.

7. Żel obserwuje się w świetle ultrafioletowym.

4.4. *Interpretacja*

Obecność pasma odpowiedniej szerokości (157 bp zamiast 173 bp dla OsHV-1) na 2,5 % żelu agarozowym przy ujemnych wynikach wszystkich kontroli negatywnych i dodatnich wynikach wszystkich kontroli pozytywnych wskazuje na obecność OsHV-1 μVar w próbce.

CZĘŚĆ C

Określanie obszaru zapobiegania rozprzestrzenianiu się choroby

Przy określaniu obszaru zapobiegania rozprzestrzenianiu się choroby należy uwzględnić następujące czynniki wpływające na ryzyko rozprzestrzeniania się takiej choroby zgodnie z art. 2 ust. 2:

a) liczbę, odsetek i rozmieszczenie mięczaków w zakażonym gospodarstwie lub na zakażonym obszarze hodowli mięczaków;

b) odległość i zagęszczenie sąsiednich gospodarstw lub sąsiednich obszarów hodowli mięczaków;

c) odległość od zakładu przetwórczego, przyległych gospodarstw lub przyległych obszarów hodowli mięczaków;

d) gatunki znajdujące się w gospodarstwach lub na obszarach hodowli mięczaków;

▼B

e) praktyki hodowlane stosowane w zakażonych i sąsiednich gospodarstwach lub na zakażonych i sąsiednich obszarach hodowli mięczaków; oraz

f) ustalone warunki hydrodynamiczne i inne czynniki o znaczeniu epizootiologicznym.

▼B

ZAŁĄCZNIK II

Wzór świadectwa zdrowia zwierząt dla celów wprowadzania do obrotu ostryg *Crassostrea gigas* przeznaczonych do obszarów hodowli i obszarów przejściowych

UNIA EUROPEJSKA — **Świadectwo zdrowia dla zwierząt w obrocie wewnątrzwspólnotowym**

Część I: Szczegóły dotyczące przesyłki

I.1. Nadawca Nazwa Adres Kod pocztowy	I.2. Numer referencyjny świadectwa / I.2.a. lokalny numer referencyjny: I.3. Odpowiedzialna władza centralna I.4. Odpowiedzialna władza lokalna
I.5. Odbiorca Nazwa Adres Kod pocztowy	I.6. I.7.
I.8. Kraj pochodzenia — Kod ISO / I.9.	I.10. Kraj przeznaczenia — Kod ISO / I.11.
I.12. Miejsce pochodzenia/Miejsce zbioru Zatwierdzone gospodarstwo akwakultury ☐ Inne ☐ Nazwa — Numer zatwierdzenia Adres Kod pocztowy	I.13. Miejsce przeznaczenia Zatwierdzone gospodarstwo akwakultury ☐ Inne ☐ Nazwa — Numer zatwierdzenia Adres Kod pocztowy
I.14. Miejsce załadunku Kod pocztowy	I.15. Data i godzina wyjazdu
I.16. Środki transportu Samolot ☐ Statek ☐ Kolej ☐ Samochód ☐ Inne ☐ Oznakowanie:	I.17. Przewoźnik Nazwa — Numer zatwierdzenia Adres Kod pocztowy — Kraj Członkowski
I.18. Gatunek zwierząt/Produkt	I.19. Kod Taryfy Celnej (PCN) **03.07** I.20. Liczba zwierząt/Masa
I.21.	I.22. Liczba opakowań
I.23. Oznakowanie kontenera/Nr plomby	I.24. Rodzaj opakowań
I.25. Zwierzęta/Produkty przeznaczone do Hodowli ☐ Pociągowe ☐	
I.26. Tranzyt Przez kraj trzeci ☐ Kraj trzeci — Kod ISO Punkt wejścia — Kod Punkt wejścia — Nr PKG	I.27. Tranzyt przez państwa członkowskie ☐ Kraj członkowski — Kod ISO Kraj członkowski — Kod ISO Kraj członkowski — Kod ISO
I.28. Eksport ☐ Kraj trzeci — Kod ISO Punkt wejścia — Kod	I.29.
I.30.	
I.31. Oznakowanie zwierząt Gatunek (Nazwa naukowa) — Ilość	

▼B

UNIA EUROPEJSKA

Wprowadzanie do obrotu ostryg *Crassostrea gigas* przeznaczonych do obszarów hodowli i obszarów przejściowych

Część II: Zaświadczenie

II.	**Informacje zdrowotne**	II.a. Numer referencyjny świadectwa	II.b.

([1])([2])[II.1 **Wymogi dotyczące ostryg *Crassostrea gigas* pochodzących z obszarów zapobiegania rozprzestrzenianiu się choroby ustanowionych zgodnie z art. 2 rozporządzenia (WE) nr 175/2010.**

Ja, niżej podpisany urzędowy inspektor, niniejszym zaświadczam, że ostrygi *Crassostrea gigas* określone w części I niniejszego świadectwa:

II.1.1 pochodzą z obszaru objętego środkami zwalczania chorób w związku z podwyższoną śmiertelności ostryg *Crassostrea gigas* spowodowanymi przez wirus OsHV-1 µvar;.

([1])[II.1.2 mogą być wprowadzane do obrotu zgodnie z art. 3 ust. 2 lit. a) rozporządzenia (UE) nr 175/2010;]

([1])[II.1.2 pochodzą z części obszaru zapobiegania rozprzestrzenianiu się choroby, w której nie występuje podwyższona śmiertelność, a z przesyłki pobrano próbki ostryg *Crassostrea gigas* i poddano je badaniu zgodnie z załącznikiem I do rozporządzenia (UE) nr 175/2010 z wynikiem ujemnym;]

([1])([3])[II.2 **Wymogi dotyczące ostryg *Crassostrea gigas* pochodzących z państwa członkowskiego lub z enklawy wcześniej objętych środkami zapobiegania rozprzestrzenianiu się choroby z powodu podwyższonej śmiertelności ostryg *Crassostrea gigas* związanej z wirusem OsHV-1 µvar i przeznaczonych dla państw członkowskich lub enklaw objętych programem wczesnego wykrywania OsHV-1 µvar**

Ja, niżej podpisany urzędowy inspektor, niniejszym zaświadczam, że ostrygi *Crassostrea gigas* określone w części I niniejszego świadectwa:

II.2.1 pochodzą z gospodarstwa lub obszaru hodowli mięczaków, w którym zgodnie z rejestrami gospodarstwa lub obszaru nie zaobserwowano podwyższonej śmiertelności;

II.2.2 pochodzą z enklawy, w odniesieniu do której wykazano nieobecność wirusa OsHV-1 µvar przez pobranie próbek ostryg *Crassostrea gigas* i poddanie ich badaniu zgodnie z załącznikiem I do rozporządzenia (UE) nr 175/2010.]

II.3 **Wymogi dotyczące przewozu i oznakowania**

Ja, niżej podpisany urzędowy inspektor, niniejszym zaświadczam, że:

II.3.1 ostrygi *Crassostrea gigas* określone w części I niniejszego świadectwa są trzymane w warunkach, w tym dotyczących jakości wody, które nie zmieniają ich stanu zdrowia;

II.3.2 przed załadunkiem pojemnik do przewozu został poddany czyszczeniu i dezynfekcji lub nie był wcześniej używany;

II.3.3 przesyłka jest zidentyfikowana czytelną etykietą znajdującą się na zewnątrz pojemnika lub w razie przewozu na pokładzie statku z sadzem, w manifeście ładunkowym, zawierającą stosowne informacje, o których mowa w rubrykach I.8–I.13 części I niniejszego świadectwa, a także następujące oświadczenie:

([1])[„Ostrygi *Crassostrea gigas* przeznaczone do celów hodowlanych lub naturalnego oczyszczania na obszarze objętym programem wczesnego wykrywania wirusa OsHV-1 µvar"]

albo ([1])[„Ostrygi *Crassostrea gigas* przeznaczone do celów hodowlanych lub naturalnego oczyszczania na obszarze objętym środkami zwalczania chorób oraz pochodzące z obszaru objętego środkami zwalczania chorób"].

Uwagi

Część I:

— Rubryka I.12: W stosownych przypadkach podać numer zatwierdzenia przedmiotowego gospodarstwa lub obszaru hodowli mięczaków.

— Rubryka I.13: W stosownych przypadkach podać numer zatwierdzenia przedmiotowego gospodarstwa lub obszaru hodowli mięczaków.

— Rubryki I.20 i I.31: W odniesieniu do ilości podać całkowitą liczbę.

— Rubryka I.25: Zaznaczyć opcję „w celu chowu" jeżeli ostrygi są przeznaczone do celów hodowlanych, „w celu naturalnego oczyszczania", jeżeli są przeznaczone do naturalnego oczyszczania.

▼B

UNIA EUROPEJSKA

Wprowadzanie do obrotu ostryg *Crassostrea gigas* przeznaczonych do obszarów hodowli i obszarów przejściowych

II. **Informacje zdrowotne**	II.a. Numer referencyjny świadectwa	II.b.

Część II:

([1]) Niepotrzebne skreślić.

([2]) Część II.1 niniejszego świadectwa stosuje się do przesyłek ostryg *Crassostrea gigas* pochodzących z obszaru zapobiegania rozprzestrzenianiu się choroby ustanowionego zgodnie z art. 2 ust. 2 rozporządzenia (UE) nr 175/2010, które zgodnie z art. 3 ust. 2 lit. a) lub lit. b) tego rozporządzenia mogą opuścić taki obszar.

([3]) Cześć II.2 niniejszego świadectwa stosuje się do przesyłek ostryg *Crassostrea gigas* określonych w art. 5 ust. 1 rozporządzenia (UE) nr 175/2010, przeznaczonych dla państw członkowskich lub enklaw objętych programem wczesnego wykrywania wirusa OsHV-1 µvar i pochodzących z obszaru wcześniej objętego środkami zapobiegania rozprzestrzenianiu się choroby w związku z podwyższoną śmiertelnością ostryg *Crassostrea gigas*.

Urzędowy lekarz weterynarii lub urzędowy inspektor

Imię i nazwisko (wielkimi literami): Kwalifikacje i tytuł:

Lokalna jednostka weterynaryjna: Numer LJW:

Data: Podpis:

Pieczęć: