

Dette dokument er et dokumentationsredskab, og institutionerne påtager sig intet ansvar herfor

► **B**

RÅDETS DIREKTIV

af 26. juni 1990

om dyresundhedsmæssige betingelser for enhovedede dyrs bevægelser og indførsel af enhovedede dyr fra tredjelande

(90/426/EØF)

(EFT L 224 af 18.8.1990, s. 42)

Ændret ved:

		Tidende		
		nr.	side	dato
► <u>M1</u>	Rådets direktiv 90/425/EØF af 26. juni 1990	L 224	29	18.8.1990
► <u>M2</u>	Rådets direktiv 91/496/EØF af 15. juli 1991	L 268	56	24.9.1991
► <u>M3</u>	Kommissionens beslutning 92/130/EØF af 13. februar 1992	L 47	26	22.2.1992
► <u>M4</u>	Rådets direktiv 92/36/EØF af 29. april 1992	L 157	28	10.6.1992
► <u>M5</u>	Kommissionens beslutning 2001/298/EF af 30. marts 2001	L 102	63	12.4.2001
► <u>M6</u>	Kommissionens beslutning 2002/160/EF af 21. februar 2002	L 53	37	23.2.2002
► <u>M7</u>	Rådets forordning (EF) nr. 806/2003 af 14. april 2003	L 122	1	16.5.2003
► <u>M8</u>	Rådets direktiv 2004/68/EF af 26. april 2004	L 139	320	30.4.2004
► <u>M9</u>	Rådets direktiv 2006/104/EF af 20. november 2006	L 363	352	20.12.2006
► <u>M10</u>	Rådets direktiv 2008/73/EF af 15. juli 2008	L 219	40	14.8.2008

Ændret ved:

► <u>A1</u>	Tiltrædelsesakt for Østrig, Finland og Sverige (tilpasset ved Rådets beslutning 95/1EF, Euratom, EKSF)	C 241 L 1	21 1	29.8.1994 1.1.1995
► <u>A2</u>	Akt vedrørende vilkårene for Den Tjekkiske Republiks, Republikken Estlands, Republikken Cyperns, Republikken Letlands, Republikken Litauens, Republikken Ungarns, Republikken Maltas, Republikken Polens, Republikken Sloveniens og Den Slovakiske Republiks tiltrædelse og tilpasningerne af de traktater, der danner grundlag for Den Europæiske Union	L 236	33	23.9.2003

Berigtiget ved:

- **C1** Berigtigelse, EFT L 296 af 27.10.1990, s. 66 (90/426/EØF)
- **C2** Berigtigelse, EUT L 226 af 25.6.2004, s. 128 (2004/68/EF)



RÅDETS DIREKTIV

af 26. juni 1990

**om dyresundhedsmæssige betingelser for enhovede dyrs bevægelser
og indførsel af enhovede dyr fra tredjelande**

(90/426/EØF)

RÅDET FOR DE EUROPÆISKE FÆLLESSKABER HAR —

under henvisning til Traktaten om Oprettelse af Det Europæiske Økonomiske Fællesskab, særlig artikel 43,

under henvisning til forslag fra Kommissionen ⁽¹⁾,

under henvisning til udtalelse fra Europa-Parlamentet ⁽²⁾,

under henvisning til udtalelse fra Det Økonomiske og Sociale Udvalg ⁽³⁾, og

ud fra følgende betragtninger:

Enhovede dyr er som levende dyr medtaget på listen over de varer, der er anført i bilag II til Traktaten;

med henblik på at sikre en rationel udvikling i produktionen af enhovede dyr og dermed forøge produktiviteten inden for denne sektor bør der på fællesskabsplan fastsættes regler for enhovede dyrs bevægelser mellem medlemsstaterne;

opdrætning af enhovede dyr, især heste, indgår generelt i landbrugsaktiviteterne; den udgør en indkomstkilde for en del af landbrugsbefolkningen;

forskellene mellem medlemsstaternes dyresundhedsmæssige bestemmelser bør fjernes for at fremme samhandelen med enhovede dyr inden for Fællesskabet;

med henblik på en harmonisk udvikling af samhandelen inden for Fællesskabet bør der fastlægges en fællesskabsordning for indførsel fra tredjelande;

der bør, for så vidt angår registrerede enhovede dyr, der er forsynet med et identifikationsdokument, ligeledes opstilles regler med betingelser for deres bevægelser på nationalt område;

for at indgå i samhandelen skal enhovede dyr opfylde visse dyresundhedsmæssige krav med det formål at undgå udbredelse af smitsomme sygdomme; det vil i særdeleshed være hensigtsmæssigt at åbne mulighed for områdevis fastsættelse af restriktive foranstaltninger;

af samme grund bør der ligeledes fastsættes betingelser for transporten;

for at sikre overholdelsen af sådanne krav bør der fastsættes bestemmelser om et sundhedscertifikat, som udstedes af en embedsdyrlæge, og som ledsager dyrene til bestemmelsesstedet;

tilrettelæggelsen og opfølgningen af den kontrol, der skal gennemføres af bestemmelsesmedlemsstaten, samt de beskyttelsesforanstaltninger, der skal iværksættes, skal fastsættes inden for rammerne af de forskrifter, der skal vedtages for veterinærkontrollen i samhandelen med levende dyr inden for Fællesskabet med henblik på gennemførelsen af det indre marked;

⁽¹⁾ EFT nr. C 327 af 30. 12. 1989, s. 61.

⁽²⁾ EFT nr. C 149 af 18. 6. 1990.

⁽³⁾ EFT nr. C 62 af 12. 3. 1990, s. 46.

▼B

der bør åbnes mulighed for, at Kommissionen kan foretage kontrol; denne kontrol skal gennemføres i samarbejde med de kompetente nationale myndigheder,

fastlæggelse af en fællesskabsordning for indførsel fra tredjelande forudsætter opstilling af en liste over de tredjelande eller dele af tredjelande, fra hvilke enhovede dyr kan indføres;

valget af disse lande bør ske ud fra generelle kriterier, såsom dyrenes sundhedstilstand, veterinærtjenestens organisering og beføjelser og den gældende veterinærlovgivning;

endvidere er det vigtigt ikke at tillade indførsel af enhovede dyr fra lande, som ikke er eller i et for kort tidsrum har været fri for smitsomme dyresygdomme, der udgør en fare for bestanden inden for Fællesskabet; disse betragtninger gælder ligeledes indførsel fra tredjelande, i hvilke der gennemføres vaccinationer mod sådanne sygdomme;

de almindelige betingelser for indførsel fra tredjelande bør suppleres med særlige betingelser, der fastsættes ud fra den sundhedsmæssige situation i de enkelte tredjelande; den tekniske karakter og mangfoldigheden af de kriterier, der skal danne grundlag for disse særlige betingelser, kræver for deres fastsættelse en smidig og hurtig fællesskabsprocedure, under hvilken Kommissionen og medlemsstaterne har et snævert samarbejde;

fremlæggelse ved indførsel af enhovede dyr af et certifikat, der er i overensstemmelse med en fælles model, er et effektivt middel til at efterprøve gennemførelsen af fællesskabsforskrifterne; disse forskrifter kan omfatte særlige bestemmelser, der kan variere alt efter de enkelte tredjelande, og modellerne til certifikatet bør udarbejdes herefter;

Fællesskabets veterinærsagkyndige bør efterprøve, herunder også i tredjelande, om kravene i dette direktiv overholdes;

kontrollen ved indførsel skal omfatte de enhovede dyrs oprindelse og sundhedstilstand;

de generelle regler for den kontrol, der skal finde sted ved indførsel, skal fastsættes inde for en samlet ramme;

medlemsstaterne må have mulighed for omgående at forbyde indførsel fra et tredjeland, når denne kan frembyde fare for dyrs sundhed; i så fald er det vigtigt, med forbehold af eventuelle ændringer i listen over lande, der har tilladelse til at udføre til Fællesskabet, omgående at sikre koordineringen af medlemsstaternes holdning over for dette tredjeland;

bestemmelserne i denne forordning bør tages op til fornyet behandling som led i gennemførelsen af det indre marked;

der bør fastsættes en procedure, der sikrer et snævert og effektivt samarbejde mellem medlemsstaterne og Kommissionen i Den Stående Veterinærkomité —

UDSTEDT FØLGENDE DIREKTIV:

KAPITEL I

Almindelige bestemmelser

Artikel 1

I dette direktiv fastlægges de dyresundhedsmæssige betingelser for enhovede dyrs bevægelser mellem medlemsstaterne og indførsel af enhovede dyr fra tredjelande.

▼B*Artikel 2*

I dette direktiv forstås ved:

- a) bedrift: en landbrugs- eller træningsvirksomhed, en stald eller generelt ethvert lokale eller anlæg, hvor enhovede dyr på sædvanlig måde holdes eller opdrættes, uanset deres anvendelse
- b) enhovede dyr: husdyr eller vildtlevende dyr af hestearten — herunder også zebraer — eller æselarter eller dyr, der fremkommer ved krydsning heraf
- c) registrerede enhovede dyr: alle registrerede enhovede dyr, som defineret i direktiv 90/427/EØF ⁽¹⁾, der er identificeret ved hjælp af et identifikationsdokument udstedt af den avlsorganisation eller enhver anden kompetent myndighed i dyrets oprindelsesland, som fører stambogen eller raceregistret for det pågældende enhovede dyr, eller enhver sammenslutning eller international organisation, der administrerer konkurrence- eller væddeløbsheste
- d) slagtedy: enhovede dyr, der enten direkte eller via et godkendt marked eller opsamlingssted skal føres til slagteriet for at slagtes dér
- e) enhovede dyr til opdræt og som brugsdyr: andre enhovede dyr end dem, der er nævnt under litra c) og d)
- f) medlemsstat eller tredjeland, der er frit for hestepest: enhver medlemsstat eller ethvert tredjeland, på hvis område der ikke er noget klinisk, serologisk (hos dyr, der ikke er vaccineret) eller epidemiologisk bevis på, at der har kunnet konstateres hestepest i løbet af de sidste to år, og hvor der ikke er blevet vaccineret imod denne sygdom i løbet af de sidste tolv måneder
- g) obligatorisk anmeldepligtige sygdomme: de i bilag A nævnte sygdomme
- h) embedsdyrlæge: dyrlæge, der er udpeget af den kompetente centralmyndighed i en medlemsstat eller et tredjeland
- i) midlertidig indførsel: status for et registreret enhovedt dyr fra et tredjeland, indført på Fællesskabets område for et tidsrum på mindre end 90 dage, som skal fastsættes af Kommissionen efter fremgangsmåden i artikel 24 på grundlag af de dyresundhedsmæssige forhold i oprindelseslandet.

KAPITEL II

Regler for enhovede dyrs bevægelser*Artikel 3*

En medlemsstat giver kun tilladelse til bevægelser på sit område for så vidt angår registrerede enhovede dyr og sender kun enhovede dyr til de øvrige medlemsstats områder, hvis de opfylder betingelserne som fastsat i artikel 4 og 5.

De kompetente myndigheder i bestemmelsesmedlemsstaterne kan dog indrømme generelle eller begrænsede undtagelser for bevægelser for så vidt angår enhovede dyr:

- der til sportsmæssige eller rekreative formål rides eller føres på veje i nærheden af Fællesskabets indre grænser
- der deltager i kulturelle eller lignende foranstaltninger eller i aktiviteter, der tilrettelægges af hertil beføjede lokale organisationer i nærheden af Fællesskabets indre grænser

⁽¹⁾ Se side 55 i denne Tidende.

▼B

— der udelukkende skal græsse eller arbejde midlertidigt i nærheden af Fællesskabets indre grænser.

De medlemsstater, som udsteder en sådan tilladelse, giver Kommissionen meddelelse om indholdet af de indrømmede undtagelser.

Artikel 4

1. De enhovedede dyr må ikke udvise noget klinisk tegn på sygdom ved kontrollen. Kontrollen skal for enhovedede dyr finde sted inden for de sidste 48 timer før indladning. I forbindelse med registrerede enhovedede dyr stilles der dog, med forbehold af artikel 6, kun krav om en sådan kontrol, hvis der er tale om handel inden for Fællesskabet.

2. Med forbehold af kravene i stk. 5 for obligatorisk anmeldeligt sygdomme skal embedsdyrlægen ved kontrollen sikre sig, at intet forhold — herunder også på grundlag af erklæringer fra ejeren eller opdrætteren — viser, at de enhovedede dyr har været i kontakt med andre enhovedede dyr, der er angrebet af en infektion eller en smitsom sygdom, inden for de sidste 15 dage før kontrollen.

3. Dyrene må ikke skulle udskilles i forbindelse med et nationalt program for udryddelse af en smitsom sygdom.

4. Dyrene skal identificeres, hvilket skal ske:

- i) for registrerede heste, ved et identifikationsdokument som omhandlet i direktiv 90/427/EØF, idet dette dokument navnlig skal godtgøre, at stk. 5 og 6, og artikel 5 er overholdt. Gyldigheden af dokumentet skal suspenderes af embedsdyrlægen i den periode, hvor der gælder et forbud som omhandlet i stk. 5 eller artikel 5. Det skal efter slagtning af det registrerede dyr tilbageleveres til den myndighed, der har udstedt det. Gennemførelsesbestemmelserne til dette nummer fastsættes af Kommissionen efter fremgangsmåden i artikel 24
- ii) for enhovedede dyr til opdræt og som brugsdyr, efter en identifikationsmetode, der skal fastlægges af Kommissionen efter fremgangsmåden i artikel 24.

Indtil iværksættelsen af denne metode kan de officielt godkendte nationale identifikationsmetoder fortsat anvendes, forudsat at de meddeles Kommissionen og de øvrige medlemsstater inden for en frist på tre måneder fra datoen for vedtagelsen af dette direktiv.

5. Ud over kravet i artikel 5 må dyrene ikke stamme fra en bedrift, der er omfattet af et af følgende forbud:

- a) hvis alle dyr af arter, der er modtagelige for den pågældende sygdom, og som er til stede på bedriften, ikke er blevet slagtet eller slået ned, skal det forbud, der er indført for bedriften, hvorfra dyret kommer, i det mindste gælde:
 - med hensyn til dyr, der mistænkes for at være angrebet af dourine, i seks måneder regnet fra datoen for den seneste kontakt eller mulighed for kontakt med et sygt enhovedet dyr. Hvis det drejer sig om en hingst, skal forbuddet dog gælde, indtil dyret kastreres
 - med hensyn til snive og equin encephalomyelitis, i seks måneder regnet fra den dato, på hvilken de angrebne dyr er blevet udskilt
 - med hensyn til infektiøs anæmi, i den periode, der — fra datoen for udskillelsen af de angrebne dyr — er nødvendig for at de resterende dyr har reageret negativt på to Coggings-tests foretaget med tre måneders mellemrum
 - i seks måneder regnet fra det seneste tilfælde af vesikulær stomatitis
 - i én måned regnet fra det senest konstaterede tilfælde af rabies

▼B

- i 15 dage regnet fra det senest konstaterede tilfælde af miltbrand
- b) hvis alle dyr af arter, der er modtagelige for den pågældende sygdom, og som er til stede på bedriften, er blevet slagtet eller slået ned og lokalerne desinficeret, gælder forbuddet i tredive dage regnet fra den dato, på hvilken dyrene er blevet fjernet og lokalerne desinficeret, undtagen med hensyn til miltbrand, hvor forbuddet gælder i 15 dage.

De kompetente myndigheder kan fravige disse forbudsbestemmelser for så vidt angår hippodromer og væddeløbsbaner og underretter Kommissionen om karakteren af de indrømmede fravigelser.

6. Såfremt en medlemsstat opstiller eller har opstillet et fakultativt eller obligatorisk program til bekæmpelse af en sygdom, som kan ramme enhovede dyr, kan den forelægge Kommissionen dette program inden seks måneder regnet fra meddelelsen af dette direktiv med oplysning, navnlig om følgende:

- situationen med hensyn til den pågældende sygdom på dens område
- programmets berettigelse under hensyn til sygdommens alvor og programmets cost/benefit-fordele
- det geografiske område, hvor programmet skal anvendes
- de forskellige former for status gældende for virksomhederne, de normer, der skal opfyldes for hver enkelt art, og undersøgelsesprocedurerne
- procedurerne for kontrollen med programmet
- konsekvenserne af, at en bedrift mister sin status, uanset årsagen
- de foranstaltninger, der skal træffes, såfremt der ved kontrol, gennemført i henhold til programmet, konstateres positive resultater
- den ikke-diskriminerende karakter af forholdet mellem handelen på den pågældende medlemsstats område og handelen inden for Fællesskabet.

Kommissionen gennemgår de programmer, medlemsstaterne forelægger. I givet fald godkender den dem under overholdelse af kriterierne i første afsnit og efter fremgangsmåden i artikel 24. Efter samme fremgangsmåde kan de generelle eller begrænsede supplerende garantier, som kan kræves i samhandelen mellem medlemsstaterne, præciseres. Disse garantier må ikke være mere omfattende end dem, som medlemsstaten gennemfører på nationalt plan.

De af medlemsstaterne forelagte programmer kan ændres eller suppleres efter fremgangsmåden i artikel 25. Efter samme fremgangsmåde kan der godkendes ændringer af eller tillæg til et tidligere godkendt program eller garantier fastsat i henhold til andet afsnit.

▼M4*Artikel 5*

1. Medlemsstater, der ikke er fri for hestepest i henhold til artikel 2, litra f), kan kun sende enhovede dyr fra den del af deres område, der betragtes som angrebet i henhold til stk. 2 i nærværende artikel, hvis de opfylder betingelserne som fastsat i stk. 3 i nærværende artikel.
2. a) En del af en medlemsstats område betragtes som angrebet af hestepest, hvis:
 - der er et klinisk, serologisk (hos dyr, der ikke er vaccineret) og/eller epidemiologisk bevis på, at der har kunnet konstateres hestepest i løbet af de sidste to år, eller
 - der er blevet vaccineret mod hestepest i løbet af de sidste tolv måneder.

▼M4

- b) Den del af området, der betragtes som angrebet af hestepest, skal bestå af mindst:
- et iagttagelsesdistrikt med en radius på mindst 100 km omkring ethvert sted med udbrud af sygdommen
 - et overvågningsområde af en bredde på mindst 50 km omkring iagttagelsesdistriktet, hvor der ikke er blevet vaccineret i løbet af de sidste tolv måneder.
- c) Reglerne for kontrol med bekæmpelsesforanstaltningerne i de i litra a) og b) nævnte områder og distrikter samt undtagelsesbestemmelser i forbindelse hermed er nærmere fastlagt i direktiv 92/35/EØF ⁽¹⁾.
- d) Alle vaccinerede enhovedede dyr i iagttagelsesdistriktet skal registreres og identificeres i overensstemmelse med artikel 6, stk. 1, i direktiv 92/35/EØF.

Det skal af identifikationsdokumentet og/eller sundhedscertifikatet klart fremgå, at der er foretaget vaccination.

3. En medlemsstat må fra det i stk. 2, litra b), omhandlede iagttagelsesdistrikt og overvågningsområde kun sende enhovedede dyr, der opfylder følgende krav:

- a) de må kun sendes i visse perioder af året, afhængig af de smittebærende insekters aktivitet; perioderne fastsættes efter fremgangsmåden i artikel 25
- b) de må ikke udvise noget klinisk tegn på hestepest den dag, kontrollen som omhandlet i artikel 4, stk. 1, finder sted
- c) — hvis de ikke er blevet vaccineret mod hestepest, skal de have reageret negativt på en komplementbindingstest for hestepest som beskrevet i bilag D to gange med et interval på mellem enogtyve og tredive dage, idet test nr. 2 skal være foretaget i løbet af de sidste ti dage inden afsendelsen
- hvis de er blevet vaccineret, må det ikke være sket inden for de seneste to måneder, og der må heller ikke være foretaget den i bilag D beskrevne komplementbindingstest med de nævnte intervaller, uden at der har været konstateret en stigning i mængden af antistoffer. Kommissionen kan efter fremgangsmåden i artikel 24 og efter udtalelse fra Den Videnskabelige Veterinærkomité godkende andre kontrolmetoder
- d) de skal have været tilbageholdt på en karantænestation i en periode på mindst 40 dage inden afsendelsen
- e) de skal have været beskyttet mod smittebærende insekter i karantæneperioden og under transporten fra karantænestationen til afsendelsesstedet.

▼B*Artikel 6*

De medlemsstater, der iværksætter en alternativ kontrolordning, som giver garantier svarende til dem, der i artikel 4, stk. 5, foreskrives for enhovedede dyrs og registrerede enhovedede dyrs bevægelser inden for deres områder, navnlig på grundlag af identifikationsdokumentet, kan som en gensidig foranstaltning indrømme hinanden en fravigelse af artikel 4, stk. 1, andet punktum, og artikel 8, stk. 1, andet led.

De underretter Kommissionen herom.

⁽¹⁾ EFT nr. L 157 af 10. 6. 1992, s. 19.

▼B*Artikel 7***▼M10**

1. De enhovede dyr skal sendes hurtigst muligt fra den bedrift, hvor de opholder sig, enten direkte eller via et godkendt marked eller samlested, som defineret som »samlesteder« i artikel 2, stk. 2, litra o), i direktiv 64/432/EØF til bestemmelsesstedet ved hjælp af transportmidler og transportkasser, der regelmæssigt rengøres og desinficeres med et desinficerende middel med en hyppighed, der skal fastsættes af afsendermedlemsstaten. Transportkøretøjerne skal være indrettet på en sådan måde, at dyrenes fæces, strøelse eller foder ikke kan sive eller falde ud af køretøjet under transporten. Transporten skal foregå på en sådan måde, at dyrenes sundhedstilstand sikres effektivt, og at der tages hensyn til deres velfærd.

▼B

2. Bestemmelsesmedlemsstaten kan generelt eller begrænset indrømme en fravigelse af visse af kravene i artikel 4, stk. 5, forudsat at dyret er forsynet med et særligt mærke, der angiver, at det er bestemt til slagtning, og at det af sundhedscertifikatet fremgår, at der er indrømmet en sådan fravigelse.

Er der indrømmet en sådan fravigelse skal slagtedyret sendes direkte til det udpegede slagteri og slagtes der inden for en frist på højst fem dage fra ankomsten til slagteriet.

3. Embedsdyrlægen skal i et register indføre identifikationsnummer eller identifikationsdokumentets nummer for det enhovede dyr, der er slagtet, og på anmodning af den kompetente myndighed på afsendelsesstedet til denne fremsende en attest, hvorved det bekræftes, at dyret er slagtet.

Artikel 8

1. Medlemsstaterne drager omsorg for:

- at registrerede enhovede dyr, hvis de forlader bedriften, ledsages af det i artikel 4, stk. 4, omhandlede identifikationsdokument og, hvis de er bestemt til handel inden for Fællesskabet, af dette identifikationsdokument suppleret med den i bilag B omhandlede attest
- at enhovede dyr til opdræt eller som brugs- eller slagtedyret under transporten skal være ledsaget af et dyresundhedscertifikat, der er i overensstemmelse med bilag C.

Certifikatet, eller, i tilfælde af et identifikationsdokument, bladet med de sundhedsmæssige oplysninger, skal med forbehold af artikel 6 udstedes inden for de sidste 48 timer eller senest sidste arbejdsdag før indladrningen, på det eller de officielle sprog i afsendelsesmedlemsstaten og bestemmelsesmedlemsstaten. Certifikatet er gyldigt i ti dage. Det består af et enkelt blad.

2. Indførsel af andre enhovede dyr end registrerede enhovede dyr kan finde sted med et enkelt sundhedscertifikat pr. sending i stedet for med det i stk. 1, andet led, omhandlede individuelle certifikat.

▼M1*Artikel 9*

Bestemmelserne i Rådets direktiv 90/425/EØF af den 26. juni om veterinærkontrol i samhandelen med visse levende dyr og produkter inden for Fællesskabet med henblik på gennemførelse af det indre marked ⁽¹⁾ finder især anvendelse med hensyn til kontrol på oprindelsesstedet, tilrettelæggelse og opfølgning af den kontrol, som bestemmelsesmed-

⁽¹⁾ EFT nr. L 224 af 18. 8. 1990, s. 29.

▼ M1

lemsstaten skal foretage, samt med hensyn til de beskyttelsesforanstaltninger, der skal iværksættes.

▼ B*Artikel 10*

Kommissionens veterinærsagkyndige kan, i det omfang det er nødvendigt for en ensartet anvendelse af dette direktiv og i samarbejde med de kompetente nationale myndigheder, gennemføre kontrol på stedet. Kommissionen underretter medlemsstaterne om resultatet af den gennemførte kontrol.

Den medlemsstat, på hvis område der gennemføres en sådan kontrol, yder de sagkyndige al den hjælp, der er nødvendig for udførelsen af deres opgave.

Gennemførelsesbestemmelserne til denne artikel fastsættes efter fremgangsmåden i artikel 24.

KAPITEL III

Regler for indførsel fra tredjelande*Artikel 11*

1. Enhovede dyr, der indføres i Fællesskabet, skal opfylde betingelserne som anført i artikel 12 til 16.
2. Indtil ikrafttrædelsesdatoen for de afgørelser, der i så henseende træffes i henhold til artikel 12 til 16, anvender medlemsstaterne, for så vidt angår indførsel af enhovede dyr fra tredjelande, betingelser, der mindst er lige så omfattende som dem, der følger af anvendelsen af kapitel II.

▼ M8**▼ C2***Artikel 12*

1. Import til Fællesskabet af enhovede dyr tillades kun fra tredjelande, der er opført på en liste eller lister, der opstilles eller ændres efter proceduren i artikel 24, stk. 2.

Under hensyntagen til sundhedssituationen og de garantier, tredjelandet giver for så vidt angår enhovede dyr, kan det efter proceduren i artikel 24, stk. 2, besluttes, at den tilladelse, der er omhandlet i første afsnit, gælder for det pågældende tredjelandets samlede område eller kun for en del af dets område.

I den forbindelse og på grundlag af de relevante internationale standarder tages det i betragtning, hvordan det pågældende tredjeland anvender og gennemfører de pågældende standarder, navnlig princippet om regionalisering inden for dets eget område og dets sundhedsbetingelser for import fra andre tredjelande og fra Fællesskabet.

2. Ved udarbejdelse eller ændring af de i stk. 1 omhandlede lister tages navnlig følgende i betragtning:
 - a) den sundhedsstatus, som enhovede dyr, andre husdyr og vildtbestanden i tredjelandet har, navnlig med hensyn til eksotiske dyresygdomme og generelle sundheds- og miljøforhold i tredjelandet, der kan udgøre en fare for sundhedsstatus og miljøstatus i Fællesskabet
 - b) tredjelandets lovgivning om dyresundhed og dyrevelfærd
 - c) de kompetente veterinærmyndigheders og kontroltjenesternes opbygning, disses beføjelser, det tilsyn, de er undergivet, og de mulig-

▼ C2

heder, de har, herunder personale og laboratoriekapacitet, for effektivt at anvende den nationale lovgivning

- d) de garantier, som tredjelandets kompetente veterinærmyndigheder kan give med hensyn til opfyldelsen af eller ligestilling med de relevante dyresundhedsbetingelser, der gælder i Fællesskabet
- e) tredjelandets eventuelle medlemskab af Det Internationale Kontor for Epizootier (OIE) og den regelmæssighed og hurtighed, hvormed tredjelandet fremsender oplysninger om forekomst af smitsomme eller infektiøse sygdomme hos enhovede dyr på dets område, navnlig de sygdomme, der er anført på OIE-liste og i bilag A til dette direktiv
- f) de garantier, som tredjelandet giver med hensyn til direkte at underrette Kommissionen og medlemsstaterne:
 - i) efter højst 24 timer, om bekræftelse af forekomst af infektiøse sygdomme hos enhovede dyr, der er opført i bilag A, og om ændringer af vaccinationspolitikken over for de pågældende sygdomme
 - ii) inden for et passende tidsrum, om forslag til ændringer af de nationale sundhedsbestemmelser om enhovede dyr, navnlig vedrørende import af enhovede dyr
 - iii) regelmæssigt, om dyresundhedsstatus på dets område for så vidt angår enhovede dyr
- g) erfaringen med tidligere import af enhovede dyr fra tredjelandet og resultaterne af en eventuel importkontrol
- h) resultaterne af EF-kontrol og/eller -audit i tredjelandet, navnlig resultaterne af de kompetente myndigheders vurdering, eller hvis Kommissionen anmoder herom, en rapport fra de kompetente myndigheder om den kontrol, de har foretaget
- i) de bestemmelser, der i tredjelandet gælder for forebyggelse og bekæmpelse af infektiøse eller smitsomme dyresygdomme, og anvendelsen heraf, herunder også bestemmelser om import af enhovede dyr fra andre tredjelande.

3. Kommissionen sørger for, at ajourførte udgaver af alle lister, der er opstillet eller ændret i henhold til stk. 1, stilles til rådighed for offentligheden.

Listerne kan kombineres med andre lister, der opstilles af hensyn til dyre- og folkesundheden, og kan også indeholde modeller for sundhedscertifikater.

4. Der fastsættes særlige importbetingelser for hvert tredjeland eller hver gruppe af tredjelande under hensyntagen til dyresundhedssituationen vedrørende enhovede dyr i det pågældende tredjeland eller gruppen af tredjelande efter proceduren i artikel 24, stk. 2.

5. Der kan vedtages gennemførelsesbestemmelser til denne artikel og kriterier for at optage tredjelande eller dele af tredjelande på listerne omhandlet i stk. 1 efter proceduren i artikel 24, stk. 2.

▼ B*Artikel 13*

1. Enhovede dyr skal komme fra tredjelande, som:

- a) er fri for hestepest
- b) i to år har været fri for venezuelansk encephalomyelitis (VEE)
- c) i seks måneder har været fri for dourine og snive.

2. Kommissionen kan efter fremgangsmåden i artikel 24:

▼B

- a) træffe afgørelse om, at stk. 1 kun finder anvendelse på en del af et tredjelands område.

Fastsættes kravene angående hestepest områdevis, skal de i artikel 5, stk. 2 og 3, fastsatte foranstaltninger overholdes som et minimum;

- b) kræve yderligere garantier for sygdomme, der i Fællesskabet anses for eksotiske.

Artikel 14

Enhovede dyr skal inden dagen for deres indladning med henblik på forsendelse til bestemmelsesmedlemsstaten uafbrudt have opholdt sig på et tredjelands område eller en del af et tredjelands område eller, såfremt området er opdelt, på den del af området, der er fastsat i henhold til artikel 13, stk. 2, litra a), i en periode, der fastsættes i forbindelse med vedtagelsen af de afgørelser, der skal træffes i henhold til artikel 15.

De skal komme fra en bedrift, som er under dyrlægekontrol.

Artikel 15

Indførsel af enhovede dyr fra et tredjelands område eller en del af et tredjelands område, fastsat i henhold til artikel 13, stk. 2, litra a), der er opført på den liste, som er opstillet i henhold til artikel 12, stk. 1, er kun tilladt, hvis de, foruden kravene i artikel 13:

- a) opfylder de sundhedsmæssige betingelser, der efter fremgangsmåden i artikel 24 er vedtaget for indførsel af enhovede dyr fra det pågældende land, alt efter den pågældende art og kategorier af enhovede dyr.

Ved fastsættelsen af de dyresundhedsmæssige betingelser i henhold til første afsnit anvendes som referencebasis de normer, der er fastsat i artikel 4 og 5; og

- b) når der er tale om tredjelande, der ikke i mindst seks måneder har været fri for vesikulær stomatitis eller viral arthritis, men med hensyn til de enhovede dyr opfylder følgende krav:

i) de enhovede dyr skal komme fra en bedrift, der i mindst seks måneder har været fri for vesikulær stomatitis, og inden deres afsendelse have reageret negativt på en serologisk test

ii) for så vidt angår viral arthritis skal de enhovede dyr af hankøn, med forbehold af artikel 19, nr. ii), have reageret negativt på en serologisk test eller et isolationsvirus eller enhver anden test, som er godkendt efter fremgangsmåden i artikel 24, og som garanterer, at dyret ikke er smittet med denne sygdom.

Kommissionen kan efter fremgangsmåden i artikel 24 og efter udtalelse fra Den Videnskabelige Veterinærkomité begrænse de kategorier af enhovede dyr af hankøn, for hvilke dette krav skal gælde.

Artikel 16

1. Enhovede dyr skal identificeres i overensstemmelse med artikel 4, stk. 4, og ledsages af et certifikat, der er udfærdiget af en embedsdyrlæge i eksporttredjelandet. Certifikatet skal:

- a) være udstedt på dagen for dyrenes indladning med henblik på forsendelse til bestemmelsesmedlemsstaten, eller, når det drejer sig om registrerede heste, på sidste arbejdsdag inden indladning

▼B

- b) være affattet på mindst et af bestemmelsesmedlemsstatens officielle sprog og mindst et af de officielle sprog i den medlemsstat, hvor importkontrollen gennemføres
- c) ledsage dyrene i originaleksemplaret
- d) bekræfte, at dyrene opfylder betingelserne i dette direktiv og de til direktivets gennemførelse fastsatte betingelser for indførsel fra tredjelandet
- e) bestå af et enkelt blad
- f) være bestemt for en enkelt modtager eller, for slagtedyrs vedkommende, for en behørigt mærket og identificeret sending.

Medlemsstaterne underretter Kommissionen, hvis de gør brug af denne mulighed.

2. Certifikatet skal udfærdiges på en formular, som er i overensstemmelse med en model udarbejdet efter fremgangsmåden i artikel 24.

Artikel 17

Medlemsstaternes og Kommissionens veterinære sagkyndige efterprøver ved kontrol på stedet, om bestemmelserne i dette direktiv, særlig bestemmelserne i artikel 12, stk. 2, faktisk overholdes.

Hvis en kontrol foretaget i medfør af denne artikel afslører alvorlige mangler på en bedrift, underretter Kommissionen straks medlemsstaterne herom og vedtager omgående en afgørelse, der suspenderer autorisationen midlertidigt. En endelig afgørelse træffes efter fremgangsmåden i artikel 25.

Medlemsstaternes sagkyndige, der har til opgave at foretage denne kontrol, udpeges af Kommissionen på forslag af medlemsstaterne.

Denne kontrol foretages på Fællesskabets vegne, og dette afholder de dertil svarende omkostninger.

Hyppegheden af og de nærmere regler for denne kontrol fastsættes efter fremgangsmåden i artikel 24.

Artikel 18

1. Slagte dyr skal straks efter ankomsten til bestemmelsesmedlemsstaten føres til et slagteri, enten direkte eller via et marked eller et opsamlingssted, og i overensstemmelse med de dyresundhedsmæssige krav slagtes inden for en frist, der fastsættes i forbindelse med vedtagelsen af de afgørelser, der skal træffes i henhold til artikel 15.

2. Med forbehold af de særlige betingelser, der eventuelt fastsættes efter fremgangsmåden i artikel 24, kan den kompetente myndighed i bestemmelsesmedlemsstaten af dyresundhedsmæssige grunde udpege det slagteri, hvortil disse enhovede dyr skal sendes.

Artikel 19

Kommissionen kan efter fremgangsmåden i artikel 24:

- i) begrænse indførslen fra et tredjeland eller en del af et tredjeland til særlige arter eller kategorier af enhovede dyr
- ii) uanset artikel 15 fastsætte de særlige betingelser, hvorpå midlertidig indførsel til Fællesskabets område eller genindførsel til nævnte område efter midlertidig udførsel af registrerede enhovede dyr eller enhovede dyr, der skal anvendes til særlige formål, kan finde sted

▼B

- iii) fastsætte betingelserne for, hvorledes en midlertidig indførsel kan ændres til endelig indførsel

▼M8**▼C2**

- iv) udpege et EF-referencelaboratorium for en eller flere af de i bilag A nævnte hovdyrsygdomme og fastlægge de funktioner, opgaver og procedurer, som skal gælde for samarbejdet med de laboratorier, der har til opgave at diagnosticere infektiøse sygdomme hos hovdyr i medlemsstaterne.

▼M2**▼B**

KAPITEL IV

Afsluttende bestemmelser

Artikel 22

Bestemmelserne i dette direktiv, herunder navnlig bestemmelserne i artikel 4, stk. 1, andet punktum, samt artikel 6, 8 og 21, skal tages op til fornyet behandling inden den 1. januar 1993 som led i forslagene med henblik på gennemførelsen af det indre marked, om hvilke Rådet træffer afgørelse med kvalificeret flertal.

Artikel 23

Bilagene til dette direktiv ændres af Kommissionen efter fremgangsmåden i artikel 25.

▼M7*Artikel 24*

1. Kommissionen bistås af Den Stående Komité for Fødevarekæden og Dyresundhed nedsat ved artikel 58 i forordning (EF) nr. 178/2002 ⁽¹⁾.

2. Når der henvises til denne artikel, anvendes artikel 5 og 7 i afgørelse 1999/468/EF ⁽²⁾.

Perioden i artikel 5, stk. 6, i afgørelse 1999/468/EF fastsættes til tre måneder.

3. Komitéen vedtager selv sin forretningsorden.

Artikel 25

1. Kommissionen bistås af Den Stående Komité for Fødevarekæden og Dyresundhed.

2. Når der henvises til denne artikel, anvendes artikel 5 og 7 i afgørelse 1999/468/EF.

Perioden i artikel 5, stk. 6, i afgørelse 1999/468/EF fastsættes til 15 dage.

⁽¹⁾ EFT L 31 af 1.2.2002, s. 1.

⁽²⁾ EFT L 184 af 17.7.1999, s. 23.

▼B

Artikel 26

Bestemmelserne i artikel 34 i direktiv 72/462/EØF finder anvendelse på kravene som fastsat i kapitel III i nærværende direktiv.

Artikel 27

Medlemsstaterne sætter de nødvendige love og administrative bestemmelser i kraft for at efterkomme dette direktiv senest den 1. januar 1992. De underretter Kommissionen derom.

Artikel 28

Dette direktiv er rettet til medlemsstaterne.

▼B

BILAG A

ANMELDEPLIGTIGE SYGDOMME

Følgende sygdomme er underkastet obligatorisk anmeldepligt:

- Dourine
- Snive
- Equin encephalomyelitis (i alle former, herunder også VEE)
- Infektøs anæmi
- Rabies
- Miltbrand
- Hestepest
- Vesikulær stomatitis.

▼ M3

BILAG B

OPLYSNINGER OM SUNDHEDSTILSTAND (a)

Pasnr.

Undertegnede embedsdyrlæge erklærer (b), at ovennævnte enhovede dyr opfylder følgende betingelser :

- a) det er blevet undersøgt i dag og udviser intet klinisk tegn på sygdom
- b) det drejer sig ikke om et dyr, der skal fjernes i forbindelse med et program i medlemsstaten for udryddelse af en smitsom sygdom
- c) — det kommer ikke fra en medlemsstats/et tredjelands område eller en del af en medlemsstats/et tredjelands område, hvor der er indført restriktioner som følge af hestepest
 — det kommer fra en medlemsstats område eller en del af en medlemsstats område, hvor der er indført restriktioner som følge af hestepest, og det har på karantænestationen imellem den og den været underkastet de test, der omhandles i artikel 5, stk. 3, i direktiv 90/426/EØF (c), med tilfredsstillende resultat
 — det er ikke blevet vaccineret mod hestepest, eller det er blevet vaccineret mod hestepest den (c) (d)
- d) det kommer ikke fra en bedrift, for hvilken der af dyresundhedsmæssige grunde gælder et forbud, og det har ikke været i kontakt med enhovede dyr på en bedrift, for hvilken der af dyresundhedsmæssige grunde gælder et forbud :
- i tilfælde af enhovede dyr mistænkt for at være angrebet af dourine i seks måneder efter den seneste kontakt eller mulighed for kontakt med et sygt enhovedt dyr ; hvis der er tale om en hingst, gælder forbuddet dog, indtil den kastreres
 - i tilfælde af snive eller hesteencephalitis i seks måneder efter den dato, hvor de angrebne dyr er fjernet
 - i tilfælde af infektiøs anæmi i tilstrækkelig lang tid til, at de resterende dyr efter den dato, hvor de angrebne dyr er fjernet, har reageret negativt på to Coggins-test foretaget med tre måneders interval
 - i tilfælde af vesikulær stomatitis i seks måneder efter det sidste sygdomstilfælde
 - i tilfælde af rabies i en måned efter det sidste sygdomstilfælde
 - i tilfælde af miltbrand i femten dage efter det sidste sygdomstilfælde
 - i tilfælde, hvor alle dyr af modtagelige arter på bedriften er blevet slået eller aflivet og lokalerne desinficeret i tredive dage efter den dato, hvor dyrene er fjernet eller lokalerne desinficeret, undtagen i tilfælde af miltbrand, for hvis vedkommende forbuddet gælder i femten dage
- e) det har, så vidt mig bekendt, ikke været i kontakt med enhovede dyr, der er angrebet af smitsom sygdom eller infektion, i de sidste femten dage
- ⁽¹⁾ f) på undersøgelsestidspunktet var det egnet til at blive transporteret på den planlagte strækning efter bestemmelserne i direktiv 91/628/EØF (e). ◀

Dato	Sted	Embedsdyrlægens stempel og underskrift (*)

(*) Navn med blokbogstaver og stilling

(a) Disse oplysninger kræves ikke, hvis der foreligger en bilateral aftale i henhold til artikel 6 i direktiv 90/426/EØF.

(b) Attesten er gyldig i ti dage.

(c) Det ikke gældende overstreges.

(d) Vaccinationen skal være angivet i passet.

(e) Denne erklæring fritager ikke transportvirksomhederne for deres forpligtelser i medfør af de gældende fællesskabsbestemmelser om specielt dyrs egnethed til transport.

►⁽¹⁾ M5

▼M3

BILAG C

MODEL

SUNDHEDSCERTIFIKAT
for samhandel mellem medlemsstaterne i EØF

ENHOVEDE DYR

Nr.

Afsendermedlemsstat

Ministerium

Tjeneste

I. Antal enhovede dyr

II. Identifikation af dyrene

Antal dyr (1)	Art (heste, æsler, mulæsler, muldyr)	Race Alder Køn	Identifikationsmåde og -identifikation (2)

(1) Hvis der er tale om slagtedy, anføres arten af det særlige mærke.

(2) Certifikatet kan vedlægges et identifikationsdokument, forudsat at dyrets nummer er angivet deri.

III. Dyrets/dyrenes oprindelse og bestemmelse

Dyret/dyrene er afsendt

fra
(afsendelsessted)til
(bestemmelsesmedlemsstat og -sted)

Afsenders navn og adresse

Modtagers navn og adresse

IV. Oplysninger om sundhedstilstand (a)

Undertegnede embedsdyrlæge bekræfter, at det/de ovennævnte enhovede dyr opfylder følgende betingelser:

- 1) det/de er blevet undersøgt i dag og udviser intet klinisk tegn på sygdom
- 2) det drejer sig ikke om (et) dyr, der skal fjernes i forbindelse med et program i medlemsstaten for udryddelse af en smitsom sygdom eller infektion

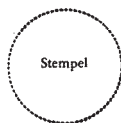
(a) Disse oplysninger kræves ikke, hvis der foreligger en bilateral aftale i henhold til artikel 6 i direktiv 90/426/EØF.

▼ M3

- 3) — det/de kommer ikke fra en medlemsstats/et tredjelands område eller en del af en medlemsstats/et tredjelands område, hvor der er indført restriktioner som følge af hestepest, eller det/de kommer fra en medlemsstats område eller en del af en medlemsstats område, hvor der er indført restriktioner som følge af hestepest, og at det/de på karantænestationen imellem den og den har været underkastet de test, der omhandles i artikel 5, stk. 3, i direktiv 90/426/EØF, med tilfredsstillende resultat (b)
- det/de er ikke blevet vaccineret mod hestepest, eller det/de er blevet vaccineret mod hestepest den (b)
- 4) det/de kommer ikke fra en bedrift, for hvilken der af dyresundhedsmæssige grunde gælder et forbud, og at det/de ikke har været i kontakt med enhovede dyr på en bedrift, for hvilken der af dyresundhedsmæssige grunde gælder et forbud:
- i tilfælde af enhovede dyr mistænkt for at være angrebet af dourine i seks måneder efter den seneste kontakt med enhovede dyr eller mulighed for kontakt med et sygt enhovedt dyr; hvis der er tale om en hingst, gælder forbuddet dog, indtil den kastreres
 - i tilfælde af snive eller hesteencephalitis i seks måneder fra den dato, hvor de angrebne dyr er fjernet
 - i tilfælde af infektiøs anæmi i tilstrækkelig lang tid til, at de resterende dyr efter den dato, hvor de angrebne dyr er fjernet, har reageret negativt på to Coggins-test foretaget med tre måneders interval
 - i tilfælde af vesikulær stomatitis i seks måneder efter det sidste sygdomstilfælde
 - i tilfælde af rabies i en måned efter det sidste sygdomstilfælde
 - i tilfælde af miltbrand i femten dage efter det sidste sygdomstilfælde
 - i tilfælde, hvor alle dyr af modtagelige arter på bedriften er blevet slået eller aflivet og lokalerna desinficeret, i tredive dage efter den dato, hvor dyrene er fjernet eller lokalerna desinficeret, undtagen i tilfælde af miltbrand, for hvis vedkommende forbuddet gælder i femten dage
- 5) det/de, så vidt mig bekendt, ikke har været i kontakt med enhovede dyr, der er angrebet af en smitsom sygdom, i de sidste femten dage
- ⁽⁶⁾ 6) på undersøgelsestidspunktet var det/de egnede/egnet til at blive transporteret på den planlagte strækning efter bestemmelserne i direktiv 91/628/EØF (d). ◀

V. Dette certifikat er gyldigt i ti dage.

Udfærdiget i, den



.....
 (underskrift)
 (dyrlægens navn med blokbogstaver
 og stilling) (c)

(b) Det ikke gældende overstreges.

(c) I Tyskland »Beamteter Tierarzt«, Belgien »Inspecteur vétérinaire« eller »Inspecteur Dierenarts«, Frankrig »Vétérinaire officiel«, Italien »Veterinario ufficiale«, Luxembourg »Inspecteur vétérinaire«, Nederlandene »Officiel Dierenarts«, Danmark »Embedsdyrlæge«, Irland »Veterinary Inspector«, Det Forenede Kongerige »Veterinary Inspector«, Grækenland »Επίσημος κτηνίατρος«, Spanien »Inspector Veterinario«, Portugal »Inspector Veterinário«, ⁽⁶⁾ Østrig »Amtstierarzt«, Finland »kunnaneläinlääkäri« eller »kaupungineläinlääkäri« eller »lääkineläinlääkäri«/»kommunalveterinär« eller »stadsveterinär« eller »länsveterinär«, Sverige »länsveterinär«, »distriktsveterinär« eller »gränsveterinär« ◀, ⁽⁹⁾ Den Tjekkiske Republik »veterinární inspektor«, Estland »veterinaarjärelevalve ametnik«, Cypern »Επίσημος Κτηνίατρος«, Letland »veterinārais inspektor«, Litauen »veterinarijos inspektorius«, Ungarn »hatóság állatorvos«, Malta »veterinarju uffiċjali«, Polen »urzędowy lekarz weterynarii«, Slovenien »veterinarski inspektor«, Slovakiet »veterinárny inšpektor«, ⁽⁹⁾ Bulgarien »ветеринарен инспектор«, Rumænien »medic veterinar autorizata«. ◀

(d) Denne erklæring fritager ikke transportvirksomhederne for deres forpligtelser i medfør af de gældende fællesskabsbestemmelser om specielt dyrs egnethed til transport.

► (1) A1► (2) M5► (3) A2► (4) M9

▼ **M6***BILAG D***AFRIKANSK HESTEPEST***DIAGNOSE*

Reagenser til de ELISA'er, der er beskrevet nedenfor, fås hos EF-referencelaboratoriet eller OIE-referencelaboratorierne for afrikansk hestepest.

1. **KOMPETITIV ELISA TIL PÅVISNING AF ANTISTOFFER MOD AFRIKANSK HESTEPESTVIRUS (AHSV) (FORESKREVET TEST)**

Kompetitiv ELISA anvendes til påvisning af specifikt AHSV-antistof i sera fra alle arter enhovede dyr. Det bredspektrede, polyklonale immunanti-AHSV-marsvineserum (i det følgende betegnet »marsvineantiserum«) er serumgruppespecifikt og kan påvise alle kendte serotyper af AHS-virus.

Testprincippet er at afbryde reaktionen mellem AHSV-antigen og et marsvineantiserum ved hjælp af en testserumprøve. AHSV-antistofferne i testserumprøven vil konkurrere med antistofferne i marsvineantiserummet, hvilket medfører, at farven bliver mindre kraftig end forventet (efter tilsætning af enzymeret antimarsvineantistof og substrat). Der kan testes sera i en enkelt fortynding på 1:5 (spottestmetode), eller der kan titreres (serumtitreringsmetode) til fortyndingsendepunkterne. Hæmningsværdier på over 50 % kan betragtes som positive.

Den testprotokol, der er beskrevet i det efterfølgende, anvendes på Regional Reference Laboratory for African horse sickness i Pirbright, Det Forenede Kongerige.

1.1. **Testprocedure**

1.1.1. *Fremstilling af plader*

1.1.1.1. ELISA-plader påføres AHSV-antigen, der er udvundet af inficerede cellekulturer og fortyndet med carbonat-bicarbonatbuffer, pH-værdi 9,6. ELISA-pladerne inkuberes natten over ved 4 °C.

1.1.1.2. Pladerne skylles 3 gange ved, at hullerne overhældes med fosfatbufferet saltopløsning (PBS), pH-værdi 7,2-7,4, tømmes og tørres med absorberende papir.

1.1.2. *Kontrolhuller*

1.1.2.1. De positive kontrolsera titreres i en tofolds fortyndingsrække mellem 1:5 og 1:640 tværs over kolonne 1 i blokerende buffer (PBS indeholdende 0,05 % (v/v) Tween-20, 5,0 % (w/v) skummetmælkspulver (Cadbury's Marvel™) og 1 % (v/v) serum fra voksent kvæg) til en slutmængde på 50 µl/hul.

1.1.2.2. Der tilsættes 50 µl negativt kontrolserum i en fortynding på 1:5 (10 µl serum + 40 µl blokerende buffer) til hul A og B i kolonne 2.

1.1.2.3. Der tilsættes 100 µl/hul blokerende buffer til hul C og D i kolonne 2 (BLANK).

1.1.2.4. Der tilsættes 50 µl blokerende buffer til hul E, F, G og H i kolonne 2 (marsvinekontrol).

1.1.3. *Spottestmetode*

1.1.3.1. Der tilsættes en 1:5-fortynding af hvert testserum i blokerende buffer til huller til dobbeltbestemmelse i kolonne 3 til 12 (10 µl sera + 40 µl blokerende buffer).

eller

1.1.4. *Serumtitreringsmetode*

1.1.4.1. Der tilberedes en tofolds fortyndingsrække af hver prøve (mellem 1:5 og 1:640) i blokerende buffer over otte huller i hver kolonne (3 til 12).

derefter

▼ **M6**

1.1.5. Der tilsættes 50 µl marsvineantisera, som forinden er fortyndet med blokerende buffer, til alle huller bortset fra BLANK-hullerne i ELISA-pladen (alle huller indeholder nu en slutmængde på 100 µl).

1.1.5.1. Der inkuberes i 1 time ved 37 °C på en orbitalryster.

1.1.5.2. Pladerne skylles tre gange og tørres som før.

1.1.5.3. Der tilsættes 50 µl kanin-antimarsvin peberrodsperoxidase-konjugat (HRP), som forinden er fortyndet med blokerende buffer, til hvert hul.

1.1.5.4. Der inkuberes i 1 time ved 37 °C på en orbitalryster.

1.1.5.5. Pladerne skylles tre gange og tørres som før.

1.1.6. *Kromogen*

Kromogen-OPD-opløsningen (OPD = ortho-phenyldiamin) tilberedes efter fabrikantens anvisninger (0,4 mg/ml i steriliseret destilleret vand) lige inden brug. Der tilsættes substrat (hydrogenperoxid = H₂O₂) til en slutkoncentration på 0,05 % (v/v) (1: 2 000 af en 30 % opløsning af H₂O₂). Der tilsættes 50 µl af OPD-opløsningen til hvert hul, og pladerne henstår på bordet i 10 minutter ved omgivelsestemperatur. Reaktionen standses ved, at der tilsættes 50 µl/hul 1 M svovlsyre (H₂SO₄).

1.1.7. *Aflæsning*

Aflæses spektrofotometrisk ved 492 nm.

1.2. Angivelse af resultater

1.2.1. Ved hjælp af en programpakke udprintes værdierne for absorbans (OD) og den procentvise hæmning (PI) for test- og kontrolsera baseret på gennemsnitsværdien for de fire marsvinkontrolhuller. Dataene udtrykt som OD- og PI-værdier anvendes til bestemmelse af, om testen er udført pålideligt nok. De øvre kontrolgrænser (UCL) og nedre kontrolgrænser (LCL) for marsvinkontrollen ligger henholdsvis mellem OD-værdierne 1,4 og 0,4. Endepunktstiteren for den positive kontrol baseret på 50 % PI bør være 1:240 (mellem 1:120 og 1:480). Plader, der ikke opfylder de ovennævnte kriterier, må kasseres. Hvis titeren for det positive kontrolserum er større end 1:480 og prøverne stadig er negative, kan de negative prøver dog accepteres.

Hullerne med negativt kontrolserum til dobbeltbestemmelse og blankhullerne til dobbeltbestemmelse bør henholdsvis give PI-værdier mellem + 25 % og - 25 % og mellem + 95 % og + 105 %. Resultater uden for disse grænser er ikke ensbetydende med, at pladen må kasseres, men tyder på, at der er ved at udvikle sig baggrundsfarve.

1.2.2. Den diagnostiske tærskel (cut-off-værdi) for testsera er 50 % (PI 50 %). Prøver, der giver PI-værdier over 50 %, registreres som positive. Prøver, der giver PI-værdier under 50 %, registreres som negative.

Prøver, der giver PI-værdier over og under tærsklen for hullerne til dobbeltbestemmelse, betragtes som tvivlsomme. Sådanne prøver kan gentestes i spottesten og ved titrering. Positive prøver kan også titreres, så der fås en indikation af, hvor positive de er.

▼M6

Spotttestskema

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	+ve. Cont.		Testsera									
A	1:5	–ve. Cont.	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
B	1:10	–ve. Cont.	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
C	1:20	Blank										
D	1:40	Blank										
E	1:80	GP Cont.										
F	1:160	GP Cont.										
G	1:320	GP Cont.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
H	1:640	GP Cont.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

–ve. Cont. = negativ kontrol.

+ve. Cont. = positiv kontrol.

GP Cont. = marsvinekontrol.

Serumtitreringsskema

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	+ve. Cont.		Testsera									
A	1:5	–ve. Cont.	1:5									1:5
B	1:10	–ve. Cont.	1:10									1:10
C	1:20	Blank	1:20									1:20
D	1:40	Blank	1:40									1:40
E	1:80	GP Cont.	1:80									1:80
F	1:160	GP Cont.	1:160									1:160
G	1:320	GP Cont.	1:320									1:320
H	1:640	GP Cont.	1:640									1:640

–ve. Cont. = negativ kontrol.

+ve. Cont. = positiv kontrol.

GP Cont. = marsvinekontrol.

2. INDIREKTE ELISA TIL PÅVISNING AF ANTISTOFFER MOD AFRIKANSK HESTEPESTVIRUS (AHSV) (FORESKREVET TEST)

Den nedenfor beskrevne test er i overensstemmelse med testbeskrivelsen i kapitel 2.1.11 i OIE's Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines, 4. udgave, 2000.

Det rekombinante VP7-protein er blevet anvendt som antigen til bestemmelse af AHSV-virusantistof på grund af dets store følsomhed og specificitet. Andre fordele er, at det er stabilt og ikke infektiøst.

2.1. Testprocedure

2.1.1. Fast fase

2.1.1.1. ELISA-plader påføres rekombinant AHSV-4 VP7 fortyndet med carbonat-bicarbonatbuffer, pH-værdi 9,6. Pladerne inkuberes natten over ved 4 °C.

2.1.1.2. Pladerne skylles fem gange med destilleret vand indeholdende 0,01 % (v/v) Tween 20 (skylleopløsning). Pladerne bankes forsigtigt mod absorberende materiale, så eventuel resterende skylleopløsning fjernes.

▼ **M6**

2.1.1.3. Pladerne blokeres med fosfatbufferet saltopløsning (PBS) + 5 % (w/v) skummetmælk (skummetmælkspulver fra Nestlé™), 200 µl/hul, i 1 time ved 37 °C.

2.1.1.4. Den blokerende opløsning fjernes, og pladerne bankes forsigtigt mod absorberende materiale.

2.1.2. *Prøver*

2.1.2.1. De serumprøver, der skal testes, og positive og negative kontrolsera fortyndes 1:25 med PBS + 5 % (w/v) skummetmælk + 0,05 % (v/v) Tween 20, 100 µl pr. hul. Der inkuberes i 1 time ved 37 °C.

Ved titrering tilberedes tofolds fortyndingsrækker fra 1:25 (100 µl/hul), ét serum pr. pladepolonne, og det samme gøres med de positive og negative kontroller. Der inkuberes i 1 time ved 37 °C.

2.1.2.2. Pladerne skylles som beskrevet på trin 2.1.1.2.

2.1.3. *Konjugat*

2.1.3.1. Der overføres 100 µl/hul peberrodsperoxidasekonjugeret (HRP) antihestegammaglobulin fortyndet med PBS + 5 % mælk + 0,05 % Tween 20, pH-værdi 7,2. Der inkuberes i 1 time ved 37 °C.

2.1.3.2. Pladerne skylles som beskrevet på trin 2.1.1.2.

2.1.4. *Kromogen/substrat*

2.1.4.1. Der tilsættes 200 µl/hul kromogen-/substratopløsning [10 ml 80,6 mM DMAB (dimethyl aminobenzaldehyd) + 10 ml 1,56 mM MBTH (3-methyl-2-benzo-thiazolin-hydraxonhydro-chlorid) + 5 µl H₂O₂].

Farveudviklingen standses ved tilsætning af 50 µl 3 N H₂SO₄ efter ca. 5-10 minutter (inden den negative kontrol begynder at antage farve).

Andre kromogener såsom ABTS (2,2'-azino-bis-[3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonsyre]), TMB (tetramethylbenzidin) eller OPD (ortho-phenyldiamin) kan også benyttes.

2.1.4.2. Pladerne aflæses ved 600 nm (eller 620 nm).

2.2. **Fortolkning af resultater**

2.2.1. Cut-off-værdien beregnes ved, at der lægges 0,6 til værdien af den negative kontrol (0,6 er den afledte standardafvigelse for en gruppe på 30 negative sera).

2.2.2. Prøver, der giver absorbansværdier, som ligger under cut-off, betragtes som negative.

2.2.3. Prøver, der giver absorbansværdier, som ligger over cut-off + 0,15, betragtes som positive.

2.2.4. Prøver, der giver mellemliggende absorbansværdier, er tvivlsomme, og resultatet skal bekræftes ved en anden metode.

3. **BLOKERENDE ELISA TIL PÅVISNING AF ANTISTOFFER MOD AFRIKANSK HESTEPESTVIRUS (AHSV) (FORESKREVET TEST)**

Den blokerende ELISA kan påvise specifikke AHSV-antistoffer i sera fra alle modtagelige arter. VP7 er det vigtigste AHSV-antigenprotein og findes inden for de ni serotyper. Da det monoklonale antistof (Mab) også er rettet mod VP7, vil testen udvise stor følsomhed og specificitet. Desuden er det rekombinante VP7-antigen helt uskadeligt og garanterer derfor en høj grad af sikkerhed.

Testprincippet er at afbryde reaktionen mellem det rekombinante VP7, det antigen, der er bundet til ELISA-pladen, og det VP7-specifikke konjugerede Mab. Antistoffet i testseraene vil blokere reaktionen mellem antigenet og Mab, hvilket medfører, at farven bliver mindre kraftig.

Den nedenfor beskrevne test udføres på EF-referencelaboratoriet for afrikansk hestepest i Algete, Spanien.

▼ **M6****3.1. Testprocedure**3.1.1. *ELISA-plader*

3.1.1.1. Pladerne påføres rekombinant AHSV-4 VP7, som er fortyndet med carbonat-bicarbonatbuffer, pH-værdi 9,6. Der inkuberes natten over ved 4 °C.

3.1.1.2. Pladerne skylles 5 gange med fosfatbufferet saltopløsning (PBS) indeholdende 0,05 % (v/v) Tween 20 (PBST).

3.1.1.3. Pladerne stabiliseres ved behandling med en stabiliserende opløsning (så de kan opbevares i lang tid ved 4 °C uden tab af aktivitet) og tørres med absorberende materiale.

3.1.2. *Prøver og kontroller*

3.1.2.1. Ved screening: Testsera og kontroller fortyndes 1:10 direkte på pladen med PBST til en slutmængde på 100 µl/hul. Der inkuberes i 1 time ved 37 °C.

3.1.2.2. Ved titrering: Der tilberedes en tofolds fortyndingsrække af testsera og positive kontroller (100 µl/hul) mellem 1:10 og 1: 1 280 over otte huller. Negativ kontrol testes ved en fortynding på 1:10.

3.1.3. *Konjugat*

Der tilsættes 50 µl/hul forfortyndet peberrodsperoxidasekonjugeret (HRP) Mab (monoklonale antistoffer, der er specifikke for VP7) til hvert hul og blandes forsigtigt, så der opnås homogenitet. Der inkuberes i 30 minutter ved 37 °C.

3.1.4. Pladerne skylles fem gange med PBST og tørres som før.

3.1.5. *Kromogen/substrat*

Der tilsættes 100 µl/hul kromogen-/substratopløsning [1 ml ABTS (2,2'-azino-bis-[3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonsyre]) 5 mg/ml ± 9 ml substratbuffer (0,1 M fosfat-citratbuffer med en pH-værdi på 4 indeholdende 0,03 % H₂O₂) og inkuberes i 10 minutter ved stuetemperatur. Farveudviklingen standses ved tilsætning af 100 µl/hul 2 % (w/v) SDS (natriumdodecylsulfat).

3.1.6. *Aflæsning*

Der aflæses ved 405 nm i en ELISA-læser.

3.2. Fortolkning af resultater3.2.1. *Validering af prøven*

Testen er pålidelig, når absorbansen (OD) af den negative kontrol (NC) er højere end 1,0, og OD af den positive kontrol (PC) er lavere end 0,2.

3.2.2. *Beregning af cut-off*

$$\text{Positiv cut-off} = \text{NC} - ((\text{NC} - \text{PC}) \times 0,3)$$

$$\text{Negativ cut-off} = \text{NC} - ((\text{NC} - \text{PC}) \times 0,2)$$

hvor NC er OD af den negative kontrol, og PC er OD af den positive kontrol.

3.2.3. *Fortolkning af resultater*

Prøver med lavere OD end den positive cut-off bør betragtes som positive for AHSV-antistoffer.

Prøver med højere OD end den negative cut-off bør betragtes som negative for AHSV-antistoffer.

Prøver med OD mellem disse to værdier bør betragtes som tvivlsomme, og der bør tages endnu en prøve fra dyrene efter 2-3 uger.