

Tämä asiakirja on ainoastaan dokumentoinnin apuväline eikä sillä ole oikeudellista vaikutusta. Unionin toimielimet eivät vastaa sen sisällöstä. Säädösten todistusvoimaiset versiot on johdanto-osineen julkaistu Euroopan unionin virallisessa lehdessä ja ne ovat saatavana EUR-Lexissä. Näihin virallisiin teksteihin pääsee suoraan tästä asiakirjasta siihen upotettujen linkkien kautta.

► **B** NEUVOSTON DIREKTIIVI 2009/156/EY,  
annettu 30 päivänä marraskuuta 2009,  
eläinten terveyttä koskevista vaatimuksista elävien hevoseläinten liikkuvuuden ja kolmansista maista tapahtuvan tuonnin osalta  
(kodifioitu toisinto)  
(ETA:n kannalta merkityksellinen teksti)  
(EUVL L 192, 23.7.2010, s. 1)

sellaisena kuin se on muutettuna seuraavilla:

		virallinen lehti		
		N:o	sivu	päivämäärä
► <b><u>M1</u></b>	Neuvoston direktiivi 2013/20/EU, annettu 13 päivänä toukokuuta 2013	L 158	234	10.6.2013
► <b><u>M2</u></b>	Komission täytäntöönpanopäätös (EU) 2016/1840, annettu 14 päivänä lokakuuta 2016	L 280	33	18.10.2016



**NEUVOSTON DIREKTIIVI 2009/156/EY,**

**annettu 30 päivänä marraskuuta 2009,**

**eläinten terveyttä koskevista vaatimuksista elävien hevoseläinten liikkuvuuden ja kolmansista maista tapahtuvan tuonnin osalta**

**(kodifioitu toisinto)**

**(ETA:n kannalta merkityksellinen teksti)**

**I LUKU**

**YLEISET SÄÄNNÖKSET**

*1 artikla*

Tässä direktiivissä säädetään eläinten terveyttä koskevista vaatimuksista elävien hevoseläinten liikkuvuuden jäsenvaltioiden välillä ja hevoseläinten kolmansista maista tapahtuvan tuonnin osalta.

*2 artikla*

Tässä direktiivissä tarkoitetaan

- a) 'tilalla' maatalouslaitosta tai valmennustallia, tallia tai yleisesti ottaen tiloja, joissa tavallisesti pidetään tai kasvatetaan hevoseläimiä mitä tahansa käyttöä varten;
- b) 'hevoseläimillä' villejä tai kesytettyjä hevosen- (seeprat mukaan lukiin) tai aasinsukuisiin eläimiin kuuluvia eläimiä tai näiden lajien risteytysten jälkeläisiä;
- c) 'rekisteröidyillä hevoseläimillä' jalostusta ja polveutumista koskevista edellytyksistä yhteisön sisäisessä hevoseläinten kaupassa 26 päivänä kesäkuuta 1990 annetussa neuvoston direktiivissä 90/427/ETY <sup>(1)</sup> määritellyllä tavalla rekisteröityjä hevoseläimiä, jotka tunnustetaan
  - i) hevoskasvatusviranomaisen tai muun eläimen alkuperämaan toimivaltaisen viranomaisen, joka hoitaa kyseisen eläinrodun kantakirjaa tai rekisteriä, taikka
  - ii) kansainvälisen kilpailu- tai urheiluhevosta hallinnoivan yhdistyksen tai organisaation antaman tunnistusasiakirjan avulla;
- d) 'teurastettaviksi tarkoitetuilla hevoseläimillä' hevoseläimiä, jotka on tarkoitettu kuljetettaviksi joko suoraan tai 7 artiklassa tarkoitetun hyväksytyyn keräilykeskuksen kautta teurastamoon teurastettaviksi;
- e) 'jalostukseen ja tuotantoon tarkoitetuilla hevoseläimillä' muita kuin c ja d alakohdassa tarkoitettuja hevoseläimiä;
- f) 'afrikkalaisesta hevosrutosta vapaalla jäsenvaltiolla tai kolmannella maalla' jäsenvaltiota tai kolmatta maata, jossa ei ole ollut kliinisiä, serologisia (rokottamattomissa hevoseläimissä) tai epidemiologisia afrikkalaisen hevosruton merkkejä kyseessä olevalla alueella kahden edeltävän vuoden aikana ja joissa ei ole suoritettu rokotuksia tätä tautia vastaan 12 edellisen kuukauden aikana;

<sup>(1)</sup> EYVL L 224, 18.8.1990, s. 55.

**▼B**

- g) 'ilmoituspakon alaisilla taudeilla' liitteessä I lueteltuja tauteja;
- h) 'virkaeläinlääkärillä' jäsenvaltion tai kolmannen maan toimivaltaisen keskusviranomaisen nimeämää eläinlääkärinä;
- i) 'tilapäisellä pääsyllä' kolmannelle maalle peräisin olevan ja yhteisön alueelle enintään 90 päivän ajaksi päästetyn rekisteröidyn hevoseläimen asemaa, joka vahvistetaan 21 artiklan 2 kohdassa tarkoitettua menettelyä noudattaen alkuperämaan tautitilanteesta riippuen.

## II LUKU

**HEVOSELÄINTEN LIKKUVUUTTA JÄSENVALTIOIDEN VÄLILLÄ  
KOSKEVAT SÄÄNNÖT***3 artikla*

Jäsenvaltioiden on sallittava rekisteröityjen hevoseläinten liikkuvuus alueellaan tai hevoseläinten lähettäminen toiseen jäsenvaltioon vain, jos ne täyttävät 4 ja 5 artiklassa säädetyt edellytykset.

Määrävaltiona olevan jäsenvaltion toimivaltaiset viranomaiset voivat kuitenkin myöntää yleisen tai rajoitetun poikkeuksen jos kyseessä on sellaisten hevoseläinten liikkuvuus,

- joilla ratsastetaan tai joita kuljetetaan urheilu- tai virkistystarkoituksissa yhteisön sisäisten rajojen läheisyydessä sijaitsevia teitä pitkin,
- jotka osallistuvat kulttuuritapahtumiin tai vastaaviin tapahtumiin tai valtuutettujen paikallisten laitosten järjestämiin tapahtumiin yhteisön sisäisten rajojen lähellä,
- jotka on tarkoitettu väliaikaisesti ainoastaan laiduntamaan tai tekemään työtä yhteisön sisäisten rajojen läheisyydessä.

Jäsenvaltioiden, jotka käyttävät tällaista oikeutta, on ilmoitettava myönnettujen poikkeuksien sisällöstä komissiolle.

*4 artikla*

1. Hevoseläimissä ei saa tarkastettaessa näkyä taudin kliinisiä merkkejä. Tarkastus on suoritettava 48 tunnin kuluessa ennen niiden laivasta tai lastausta. Kun kyseessä ovat rekisteröidyt hevoseläimet, tämä tarkastus vaaditaan kuitenkin vain yhteisön sisäistä kauppaa varten, edellä sanotun kuitenkaan rajoittamatta 6 artiklan soveltamista.

2. Virkaeläinlääkärin on tarkastuksen yhteydessä varmistuttava siitä, ettei ole syytä – erityisesti omistajan tai kasvattajan ilmoitusten perusteella – olettaa hevoseläinten olleen yhteydessä tarttuvasta taudista tai tartuntataudista kärsiviin hevoseläimiin 15:n tutkimusta välittömästi edeltävän päivän aikana, sanotun kuitenkaan rajoittamatta 5 kohdan soveltamista pakollisesti ilmoitettaviin tauteihin.

**▼B**

3. Hevoseläimet eivät saa olla jäsenvaltion tarttuvan taudin tai tartuntataudin hävittämishjelmassa teurastettaviksi tarkoitettuja.

4. Hevoseläimet on voitava tunnistaa seuraavasti:

a) rekisteröityjen hevoseläinten ollessa kyseessä, direktiivissä 90/427/ETY säädetyin tunnistusasiakirjan avulla, jossa on todistettava erityisesti, että tämän artiklan 5 ja 6 kohtaa ja tämän direktiivin 5 artiklaa on noudatettu.

Virkaeläinlääkäriin on keskeytettävä tunnistusasiakirjan voimassaolo tämän artiklan 5 kohdassa tai tämän direktiivin 5 artiklassa säädettyjen kieltojen ajaksi. Tunnistusasiakirja on palautettava rekisteröidyn hevosen teurastuksen jälkeen sen myöntäneelle viranomaiselle. Säännökset tämän kohdan täytäntöönpanosta annetaan 21 artiklan 2 kohdassa tarkoitettua menettelyä noudattaen;

b) jalostukseen ja tuotantoon tarkoitettujen hevoseläimien 21 artiklan 2 kohdassa tarkoitettua menettelyä noudattaen vahvistetulla menetelmällä.

5. Jäljempänä 5 artiklassa säädettyjen vaatimusten lisäksi hevoseläimet eivät saa olla peräisin tilalta, joka on ollut jonkin seuraavan kielto määräyksen alainen:

a) jos kaikkia taudille alttiiseen lajiin kuuluvia tilalla olevia eläimiä ei ole teurastettu, alkuperätilaa koskevan kiellon on oltava kestoltaan vähintään

i) kuusi kuukautta, kun kyseessä ovat hevoseläimet, joiden epäillään saaneen astumataudin, alkaen viimeisestä todellisesta tai mahdollisesta kosketusajankohdasta sairaaseen eläimeen. Kun kyseessä on ori, kiello on kuitenkin voimassa, kunnes eläin kuohitaan;

ii) kuusi kuukautta, kun kyseessä on räkätauti tai hevosen tarttuva aivo-selkäydintulehdus, alkaen siitä päivästä, kun kyseisestä taudista kärsivät hevoseläimet on teurastettu;

iii) siihen saakka, jolloin tartunnan saaneiden eläinten teurastuksen jälkeen jäljellä olevien eläinten reaktio kahteen kolmen kuukauden välein suoritettuun Cogginsin kokeeseen on negatiivinen, kun kyseessä on näivetystauti;

iv) kuusi kuukautta viimeisestä todetusta tapauksesta, kun kyseessä on *vesicular stomatitis* -tartunta;

v) yksi kuukausi viimeisestä todetusta tapauksesta, kun kyseessä on raivotauti;

vi) 15 päivää viimeisestä todetusta tapauksesta, kun kyseessä on pernarutto;

**▼B**

- b) jos kaikki taudille alttiiseen lajiin kuuluvat tilalla olevat eläimet on teurastettu ja tilat desinfioitu, kiellon on oltava kestoltaan 30 päivää eläinten hävittämispäivästä ja tilojen desinfiointipäivästä alkaen, lukuun ottamatta pernaruttoa, jolloin kiellon kesto on 15 päivää.

Toimivaltaiset viranomaiset voivat poiketa näistä kieltomääräyksistä hippodromien ja kilparatojen osalta, ja niiden on ilmoitettava myönnettyjen poikkeusten laadusta komissiolle.

6. ►**M1** Kun jäsenvaltio laatii tai on laatinut vapaaehtoisen tai pakollisen torjuntaohjelman jotakin sellaista tautia varten, jolle hevoseläimet ovat alttiita, se voi esittää ohjelman komissiolle Belgian, Tanskan, Saksan, Irlannin, Kreikan, Espanjan, Ranskan, Italian, Luxemburgin, Alankomaiden, Portugalin ja Yhdistyneen kuningaskunnan osalta kuuden kuukauden kuluessa 4 päivästä heinäkuuta 1990, Itävallan, Suomen ja Ruotsin osalta 1 päivästä tammikuuta 1995, Tšekin, Viron, Kyproksen, Latvian, Liettuan, Unkarin, Maltan, Puolan, Slovenian ja Slovakian osalta 1 päivästä toukokuuta 2004, Bulgarian ja Romanian osalta 1 päivästä tammikuuta 2007 sekä Kroatian osalta 1 päivästä heinäkuuta 2013, ilmoittaen siinä erityisesti: ◀

- a) tautitilanteen alueellaan;
- b) ohjelman perusteet ottaen huomioon taudin merkityksen ja ohjelman kulut suhteessa siitä saatavaan hyötyyn;
- c) maantieteellisen alueen, jossa ohjelma pannaan täytäntöön;
- d) laitoksiin sovellettavat luokitukset, vaatimukset, jotka kunkin lajin on saavutettava ja käytettävät koemenettelyt;
- e) ohjelman valvontamenettelyt;
- f) toimenpiteet, jotka toteutetaan, jos tila jostakin syystä menettää asemansa;
- g) toimenpiteet, jotka toteutetaan, jos ohjelman määräysten mukaisesti suoritettujen kokeiden tulokset ovat positiivisia;
- h) kyseisen jäsenvaltion alueella käytävän kaupan ja yhteisön sisäisen kaupan välisen suhteen syrjimättömän luonteen.

Komissio tutkii jäsenvaltioiden esittämät ohjelmat. Se hyväksyy tarvittaessa ohjelmat 21 artiklan 2 kohdassa tarkoitettua menettelyä noudattaen. Muut yleiset tai erityiset lisätakeet, joita saatetaan tarvita yhteisön sisäisessä kaupassa, voidaan määritellä samaa menettelyä noudattaen. Tällaiset takeet eivät saa ylittää jäsenvaltion omalla alueellaan vaatimia takuita.

**▼B**

Jäsenvaltioiden esittämiä ohjelmia voidaan muuttaa tai täydentää 21 artiklan 3 kohdassa tarkoitettua menettelyä noudattaen. Jo hyväksytyt ohjelmia tai toisen alakohdan mukaisesti määritellyjä takeita voidaan muuttaa tai täydentää samaa menettelyä noudattaen.

*5 artikla*

1. Jäsenvaltiot, jotka eivät ole vapaat afrikkalaisesta hevosrutosta, saavat lähettää hevoseläimiä alueensa siitä osasta, jota pidetään tämän artiklan 2 kohdassa tarkoitettuna tartunta-alueena, ainoastaan 5 kohdassa säädetyillä edellytyksillä.

2. Jäsenvaltion alueen osaa pidetään afrikkalaisen hevosruton tartunta-alueena, jos

- a) kliiniset, serologiset (rokottamattomissa eläimissä) ja/tai epidemiologiset tulokset ovat osoittaneet, että afrikkalaista hevosruttoa on esiintynyt kahden edellisen vuoden aikana, tai
- b) rokotuksia afrikkalaista hevosruttoa vastaan on suoritettu 12 edellisen kuukauden aikana.

Sen alueen osan, jota pidetään afrikkalaisen hevosruton tartunta-alueena, on käsitettävä vähintään

- a) tartuntakeskuksen ympärillä oleva suojavyöhyke, joka on säteeltään vähintään 100 kilometriä;
- b) valvontavyöhyke, joka ulottuu vähintään 50 kilometriä suojavyöhykkeen ulkopuolelle ja jolla ei ole suoritettu rokotuksia 12 edellisen kuukauden aikana.

3. Edellä 2 kohdassa tarkoitettuihin alueisiin ja vyöhykkeisiin liittyvät afrikkalaisen hevosruton valvontasäännöt ja torjuntatoimenpiteet ja niihin liittyvät poikkeukset eritellään afrikkalaisen hevosruton valvontasäännöistä ja torjuntatoimenpiteistä 29 päivänä huhtikuuta 1992 annetussa neuvoston direktiivissä 92/35/ETY<sup>(1)</sup>.

4. Kaikki suojavyöhykkeellä olevat rokotetut hevoseläimet on rekisteröitävä ja merkittävä direktiivin 92/35/ETY 6 artiklan 1 kohdan d alakohdan mukaisesti.

Tunnistusasiakirjassa ja/tai terveystodistuksessa on viitattava selvästi tällaiseen rokotukseen.

5. Jäsenvaltio saa lähettää 2 kohdan toisessa alakohdassa tarkoitettua alueelta vain seuraavat vaatimukset täyttäviä hevoseläimiä:

- a) ne on lähetettävä tartuntaa levittävien hyönteisten vaikutus huomioon ottaen vain tiettyinä aikoina vuodesta, jotka vahvistetaan 21 artiklan 3 kohdassa tarkoitettua menettelyä noudattaen;
- b) niissä ei saa näkyä mitään afrikkalaisen hevosruton kliinisiä oireita 4 artiklan 1 kohdassa tarkoitetun tutkimuksen suorittamispäivänä;

<sup>(1)</sup> EYVL L 157, 10.6.1992, s. 19.

**▼B**

c) niille on tehty kahdesti liitteessä IV kuvailtu testi afrikkalaisen hevosruton varalta; kokeiden välin on oltava 21–30 päivää ja jälkimmäinen koe on oltava tehty viimeistään 10 päivää ennen lähettämistä, ja tuloksena on joko

i) negatiivinen tulos, jos niitä ei ole rokotettu afrikkalaista hevosruttoa vastaan, tai

ii) ettei vasta-aineen määrän kasvua ole todettu ja rokotusta ei ole suoritettu kahden edellisen kuukauden aikana, jos ne on rokotettu afrikkalaista hevosruttoa vastaan.

Jäljempänä 21 artiklan 2 kohdassa tarkoitettua menettelyä noudattaen voidaan, kun Euroopan elintarviketurvallisuusviranomaisen lausunto on saatu, hyväksyä muita valvontamenetelmiä;

d) niitä on täytynyt pitää karanteenasemalla vähintään 40 päivän ajan ennen lähettämistä;

e) niitä on suojeltu tartuntaa levittävilä hyönteisiltä karanteenijakson aikana ja karanteenasemalta lähetyspaikalle kuljettamisen aikana.

*6 artikla*

Jäsenvaltiot, jotka panevat täytäntöön 4 artiklan 5 kohdassa säädettyjä takeita vastaavat takeet antavan vaihtoehtoisen valvontajärjestelmän hevoseläinten liikkuvuudesta niiden alueella, voivat vastavuoroisesti myöntää toisilleen poikkeuksia 4 artiklan 1 kohdan toisen virkkeen ja 8 artiklan 1 kohdan b alakohdan säännöksistä.

Niiden on ilmoitettava tästä komissiolle.

*7 artikla*

1. Hevoseläimet on kuljetettava mahdollisimman pian alkuperätilalta joko suoraan tai eläinten terveyteen liittyvistä ongelmista yhteisön sisäisessä nautaeläinten ja sikojen kaupassa 26 päivänä kesäkuuta 1964 annetun neuvoston direktiivin 64/432/ETY (<sup>1</sup>) 2 artiklan 2 kohdan o alakohdassa määritellyn hyväksytyyn keräilykeskuksen, ”keräyskeskus”, kautta määräpaikkaan ajoneuvoissa tai konteissa, jotka on puhdistettu säännöllisesti ja desinfioitu desinfiointiaineella lähettävän jäsenvaltion vahvistamin säännöllisin määräajoin. Ajoneuvojen on oltava siten suunniteltuja, ettei hevoseläinten lantaa, kuivikkeita tai rehua pääse leviämään ajoneuvosta kuljetuksen aikana. Rajoittamatta asetuksen (EY) N:o 1/2005 soveltamista, kuljetus on suoritettava siten, että hevoseläinten terveyttä ja hyvinvointia voidaan suojella tehokkaasti.

2. Määrävaltiona oleva jäsenvaltio voi myöntää yleisen tai rajoitetun poikkeuksen joistakin 4 artiklan 5 kohdan vaatimuksista sellaisen eläimen osalta, jonka mukana on erityinen merkintä, joka osoittaa sen olevan tarkoitettu teurastettavaksi edellyttäen, että liitteen III mukaisessa terveystodistuksessa mainitaan tämä poikkeus.

(<sup>1</sup>) EYVL 121, 29.7.1964, s. 1977/64.

**▼ B**

Jos tällainen poikkeus myönnetään, on teurastettaviksi tarkoitettut hevoseläimet kuljetettava suoraan määrättyyn teurastamoon ja teurastettava viiden päivän kuluessa niiden teurastamoon tuomisesta.

3. Virkaeläinlääkäriin on merkittävä rekisteriin teurastetun eläimen tunnistusnumero tai tunnistusasiakirjan numero ja toimitettava lähetyspaikan toimivaltaiselle viranomaiselle tämän pyynnöstä vakuutus siitä, että eläin on teurastettu.

*8 artikla*

1. Jäsenvaltioiden on huolehdittava siitä, että
  - a) tiloilta pois vietävien rekisteröityjen hevoseläinten mukana on 4 artiklan 4 kohdan a alakohdassa säädetty tunnistusasiakirja sekä, jos ne on tarkoitettu yhteisön sisäiseen kauppaan, liitteessä II säädetty terveyttä koskeva vakuutus;
  - b) jalostusta, tuotantoa tai teurastusta varten tarkoitettujen hevoseläinten mukana on oltava niiden kuljetuksen aikana liitteen III mukainen terveystodistus.
2. Terveystodistus tai, rekisteröityjen hevoseläinten ollessa kyseessä terveyttä koskeva vakuutus, on, tämän kuitenkaan rajoittamatta 6 artiklan soveltamista, laadittava hevosten lastausta edeltävien 48 tunnin aikana tai muussa tapauksessa viimeistään viimeisenä sitä edeltävänä työpäivänä vähintään yhdellä lähetettävän ja määräpaikkana olevan jäsenvaltion virallisista kielistä. Terveystodistuksen tai terveyttä koskevan vakuutuksen voimassaoloaika on 10 päivää. Terveystodistus tai terveyttä koskeva vakuutus on laadittava yhdelle liuskalle.
3. Muiden kuin rekisteröityjen hevoseläinten liikkuvuudessa jäsenvaltioiden välillä voidaan käyttää yhtä terveystodistusta lähetystä kohti, 1 kohdan b alakohdassa tarkoitettuna yksittäisen terveystodistuksen sijasta.

*9 artikla*

Direktiivissä 90/425/ETY säädettyjä sääntöjä sovelletaan erityisesti alkuperäpaikassa suoritettaviin tarkastuksiin, määräpaikkana olevassa jäsenvaltiossa suoritettavien tarkastusten järjestämiseen ja seurantaan sekä täytäntöön pantaviin suojatoimenpiteisiin.

*10 artikla*

Komission eläinlääkintäasiantuntijat voivat tarpeen mukaan tämän direktiivin yhtenäisen soveltamisen varmistamiseksi ja yhteistyössä toimivaltaisten kansallisten viranomaisten kanssa suorittaa tarkastuksia kyseessä olevassa paikassa. Komissio ilmoittaa jäsenvaltioille tällaisten tarkastusten tuloksista.

Jäsenvaltioiden, joiden alueella tarkastus suoritetaan, on annettava asiantuntijoille kaikkea heidän tehtävänsä suorittamisessa tarvittavaa apua.



**▼B**

Yleiset säännökset tämän artiklan täytäntöönpanosta annetaan 21 artiklan 2 kohdassa tarkoitettua menettelyä noudattaen.

## III LUKU

**KOLMANSISTA MAISTA TAPAHTUVAA HEVOSELÄINTEN TUONTIA  
KOSKEVAT SÄÄNNÖT***11 artikla*

Yhteisöön tuotujen hevoseläinten on täytettävä 12–16 artiklassa säädetyt edellytykset.

*12 artikla*

1. Hevoseläimiä saa tuoda yhteisöön ainoastaan niistä kolmansista maista, jotka mainitaan 21 artiklan 2 kohdassa tarkoitettua menettelyä noudattaen laadittavassa tai muutettavassa luettelossa.

Kun otetaan huomioon terveystilanne ja kolmannen maan hevoseläinten osalta toimittamat takeet, 21 artiklan 2 kohdassa tarkoitettua menettelyä noudattaen voidaan päättää, että tämän kohdan ensimmäisessä alakohdassa tarkoitettu lupa koskee kolmannen maan koko aluetta tai ainoastaan osaa sen alueesta.

Tätä varten on asiaan liittyvien kansainvälisten standardien pohjalta otettava huomioon se, miten kolmas maa soveltaa ja panee täytäntöön kyseisiä standardeja, erityisesti alueellistamisen periaatetta, omalla alueellaan ja muista kolmansista maista ja yhteisöstä tapahtuvaa tuontia koskeviin kyseisen maan terveysvaatimuksiin nähden.

2. Laadittaessa tai muutettaessa 1 kohdassa säädettyä luetteloa on erityisesti otettava huomioon seuraavat seikat:

- a) hevoseläinten, muiden kotieläiminä pidettävien eläinten ja luonnonvaraisten eläinten terveystilanne kolmannessa maassa erityisesti eksoottisten eläintautien osalta ja kaikki sellaiset yleiseen terveys- ja ympäristötilanteeseen kolmannessa maassa liittyvät näkökohdat, jotka saattavat aiheuttaa riskin yhteisön terveys- ja ympäristötilanteelle;
- b) eläinten terveyttä ja hyvinvointia koskeva kolmannen maan lainsäädäntö;
- c) toimivaltaisen eläinlääkintäviranomaisen ja sen tarkastusyksiköiden organisaatio, näiden yksiköiden valtuudet, niihin kohdistuva valvonta sekä niiden käytettävissä olevat mahdollisuudet soveltaa kansallista lainsäädäntöä tehokkaasti, henkilöstö ja laboratoriovalmiudet mukaan lukien;
- d) takeet, jotka kolmannen maan toimivaltainen eläinlääkintäviranomaisen voi antaa kyseessä olevien, eläinten terveyttä koskevien yhteisön edellytysten noudattamisen tai vastaavuuden osalta;

**▼B**

- e) kolmannen maan mahdollinen jäsenyys Maailman eläintautijärjestössä (OIE) sekä kolmannen maan toimittamien, hevoseläinten tarttuvien tautien tai tartuntatautien ja erityisesti OIE:n luetteloimien ja tämän direktiivin liitteessä I lueteltujen tautien esiintymistä sen alueella koskevien tietojen säännöllisyys ja nopeus;
- f) kolmannen maan antamat takeet siitä, että se ilmoittaa suoraan komissiolle ja jäsenvaltioille
  - i) 24 tunnin kuluessa liitteessä I lueteltujen hevoseläinten tartuntatautien esiintymisen vahvistumisesta ja kaikista kyseisten tautien rokotuspolitiikkaan tehdyistä muutoksista;
  - ii) sopivan määräajan kuluessa kaikista hevoseläimiä ja erityisesti niiden tuontia koskeviin kansallisiin terveysäntöihin ehdoteuista muutoksista;
  - iii) säännöllisin väliajoin hevoseläinten terveystilanteesta alueellaan;
- g) kokemukset aiemmasta elävien hevoseläinten tuonnista kyseisestä kolmannelle maasta ja mahdollisten tuontitarkastusten tulokset;
- h) kolmannessa maassa tehtyjen yhteisön tarkastusten ja/tai valvontakäyntien tulokset, erityisesti tulokset toimivaltaisten viranomaisten arvioimisesta, sekä, jos komissio sitä vaatii, toimivaltaisten viranomaisten esittämä raportti niiden suorittamista tarkastuksista;
- i) kolmannessa maassa voimassa olevat tarttuvien eläintautien ja eläinten tartuntatautien ehkäisyä ja valvontaa koskevat säännöt ja niiden täytäntöönpano, muista kolmansista maista tapahtuvaa hevoseläinten tuontia koskevat säännöt mukaan lukien.

3. Komissio huolehtii siitä, että 1 kohdan mukaisesti laadittu tai muutettu ajan tasalle saatettu luettelo julkistetaan.

Kyseinen luettelo voidaan yhdistää muihin eläinten ja kansanterveyden suojelemiseksi laadittuihin luetteluihin, ja se voi sisältää myös terveystodistusten malleja.

4. Erityiset tuontiedellytykset kullekin kolmannelle maalle tai kolmansien maiden ryhmälle vahvistetaan 21 artiklan 2 kohdassa tarkoitettua menettelyä noudattaen ottaen huomioon hevoseläinten terveystilanteen kyseisessä kolmannessa maassa tai kyseisissä kolmansissa maissa.

5. Yksityiskohtaiset säännöt 1–4 kohdan soveltamiseksi ja perusteet kolmansien maiden tai niiden osien sisällyttämiseksi 1 kohdassa säädettyyn luetteloon voidaan antaa 21 artiklan 2 kohdassa tarkoitettua menettelyä noudattaen.

### 13 artikla

- 1. Hevoseläinten on oltava peräisin kolmansista maista, jotka
  - a) ovat vapaita afrikkalaisesta hevosrutosta;
  - b) ovat olleet vapaita Venezuelan *equine encephalomyelitis*-tartunnasta (VEE) kahden vuoden ajan;
  - c) ovat olleet vapaita astumataudista ja räkätäudista kuuden kuukauden ajan.

**▼B**

2. Jäljempänä 21 artiklan 2 kohdassa tarkoitettua menettelyä noudattaen voidaan

- a) päättää, että tämän artiklan 1 kohdan säännöksiä sovelletaan vain osaan kolmannen maan alueesta.

Niissä tapauksissa, joissa afrikkalaista hevosruttoa koskevia vaatimuksia sovelletaan alueellisesti, on noudatettava vähintään 5 artiklan 2 ja 5 kohdassa säädettyjä toimenpiteitä;

- b) vaatia lisätakeita yhteisölle vieraiden tautien osalta.

*14 artikla*

Hevoseläinten on ennen sitä päivää, jona ne lastataan määrävaltiona olevaan jäsenvaltioon kuljettamista varten, oltava ollut keskeytyksettä 15 artiklaa noudattaen tehtävissä päätöksissä määritettävän ajan kolmannen maan alueella tai alueen osassa taikka, jos säännöksiä sovelletaan alueellisesti, 13 artiklan 2 kohdan a alakohdan mukaisesti määritellyssä alueen osassa.

Niiden on oltava peräisin eläinlääkinnälliseen valvontaan asetetulta tilalta.

*15 artikla*

Hevoseläinten tuonti kolmannen maan alueelta tai sen 13 artiklan 2 kohdan a alakohdan mukaisesti määritellystä, 12 artiklan 1 kohdan mukaisesti laaditussa luettelossa mainitusta osasta, on sallittua vain, jos hevoseläimet 13 artiklassa olevien vaatimusten lisäksi

- a) ovat 21 artiklan 2 kohdassa tarkoitettua menettelyä noudattaen hyväksytyjen hevoseläinten tuontia kyseisestä maasta koskevien terveysvaatimusten mukaisia kyseessä oleva laji ja hevoseläinten ryhmitely huomioon ottaen.

Edellä 4 ja 5 artiklassa säädetyt vaatimukset ovat vertailuperusteena kyseisten terveysvaatimusten vahvistamiselle; ja

- b) hevoseläinten on täytettävä seuraavat vaatimukset, kun kolmas maa ei ole ollut vapaa *vesicular stomatitis* -tartunnasta tai virusarteriitista vähintään kuuden kuukauden ajan:

i) niiden on oltava peräisin tilalta, joka on ollut vapaa *vesicular stomatitis* -tartunnasta vähintään kuuden kuukauden ajan ja niiden on täytynyt reagoida negatiivisesti ennen lähettämistä suoritettuun serologiseen kokeeseen;

ii) kun kyseessä on virusarteriitti, on urospuolisten hevoseläinten täytynyt reagoida negatiivisesti serologiseen kokeeseen tai viruksen eristämiskokeeseen tai muuhun 21 artiklan 2 kohdassa tarkoitettua menettelyä noudattaen hyväksytyyn kokeeseen, joka takaisi että eläin on viruksesta vapaa, sanotun kuitenkin rajoittamatta 19 artiklan b alakohdan soveltamista.

**▼B**

Jäljempänä 21 artiklan 2 kohdassa tarkoitettua menettelyä noudattaen voidaan, kun Euroopan elintarviketurvallisuusviranomaisen lausunto on saatu, määritellä ne urospuolisten hevoseläinten ryhmät, joihin tätä vaatimusta sovelletaan.

*16 artikla*

1. Hevoseläimet on voitava tunnistaa 4 artiklan 4 kohdan mukaisesti ja niiden mukana on oltava viejämäana olevan kolmannen maan virkaeläinlääkärin antama terveystodistus. Tämä terveystodistus / tämän terveystodistuksen on

- a) annettava eläinten lastauspäivänä määräpaikkana olevaan jäsenvaltioon lähettämistä varten tai, kun kyseessä ovat rekisteröidyt hevoset, viimeisenä työpäivänä ennen lastausta;
- b) laadittava ainakin yhdellä määrävaltiona olevan jäsenvaltion virallisella kielellä ja yhdellä sen jäsenvaltion virallisista kielistä, jossa tuontitarkastus suoritetaan;
- c) oltava eläinten mukana alkuperäiskappaleena;
- d) todistettava, että eläimet täyttävät tämän direktiivin ja tämän direktiivin perusteella säädetty vaatimukset kolmansista maista tulevan tuonnin osalta;
- e) oltava laadittu yhdelle liuskalle;
- f) oltava osoitettu yhdelle vastaanottajalle tai, kun kyse on teurastettaviksi tarkoitetuista eläimistä, yhdelle lähetykselle edellyttäen, että eläimet on merkitty ja yksilöity oikein.

Jäsenvaltioiden on ilmoitettava komissiolle tämän mahdollisuuden käytöstä.

2. Terveystodistus on laadittava 21 artiklan 2 kohdassa tarkoitettua menettelyä noudattaen vahvistetun mallin mukaiselle lomakkeelle.

*17 artikla*

1. Teurastettaviksi tarkoitetut hevoseläimet on vietävä joko suoraan 7 artiklassa tarkoitetun hyväksytyyn keräilykeskuksen kautta teurastamoon välittömästi niiden saavuttua määrävaltiona olevaan jäsenvaltioon ja ne on teurastettava 15 artiklan mukaisesti tehtävissä päätöksissä eriteltävän määräajan kuluessa terveysvaatimusten mukaisesti.

2. Jollei 21 artiklan 2 kohdassa tarkoitettua menettelyä noudattaen mahdollisesti hyväksytyissä erityisissä edellytyksissä toisin säädetä, määräpaikkana olevan jäsenvaltion toimivaltainen viranomainen voi eläinten terveyssyistä määrätä, mihin teurastamoon tällaiset hevoseläimet on vietävä.

*18 artikla*

Jäsenvaltioiden ja komission eläinlääkintäasiantuntijat suorittavat tarkastuksia paikalla sen todentamiseksi, noudatetaanko tämän direktiivin ja erityisesti 12 artiklan 2 kohdan säännöksiä käytännössä.

**▼B**

Jos tämän artiklan mukaisesti suoritetuissa tarkastuksissa tulee esiin vakavia tosiasioita hyväksytyä tilaa vastaan, komissio ilmoittaa tästä välittömästi jäsenvaltioille ja tekee heti päätöksen, jolla hyväksyminen keskeytetään. Lopullinen päätös tehdään 21 artiklan 3 kohdassa tarkoitettua menettelyä noudattaen.

Komissio nimeää jäsenvaltioiden ehdotuksesta jäsenvaltioiden asiantuntijat, joille kyseiset tarkastukset uskotaan.

Tarkastukset tehdään yhteisön nimissä ja se vastaa kaikista tästä aiheutuvista kuluista.

Kyseisten tarkastusten taajuus ja menettely on määritettävä 21 artiklan 2 kohdassa tarkoitettua menettelyä noudattaen.

*19 artikla*

Jäljempänä 21 artiklan 2 kohdassa tarkoitettua menettelyä noudattaen

- a) voidaan päättää, että kolmannelta maasta tai kolmannen maan osasta tuleva tuonti rajoitetaan hevoseläinten tiettyihin lajeihin tai ryhmiin;
- b) sen estämättä mitä 15 artiklassa säädetään, on vahvistettava erityiset edellytykset rekisteröityjen hevoseläinten tai erityistarkoituksiin tarkoitettujen hevoseläinten väliaikaista yhteisön alueelle tuomista varten tai niiden takaisin yhteisön alueelle tuomista varten tilapäisen poisviennin jälkeen;
- c) on määritettävä edellytykset tilapäisen maahantuloluvan muuttamiseksi pysyväksi maahantuloluvaiksi;
- d) voidaan nimetä yhteisön vertailulaboratorio yhtä tai useampaa liitteessä I lueteltua hevoseläinten tautia varten ja vahvistaa hevoseläinten infektioautien taudinmäärityksestä jäsenvaltioissa vastaavien laboratorioden kanssa tehtävää yhteistyötä koskevat toimet, tehtävät ja menettelyt.

## IV LUKU

## LOPPUSÄÄNNÖKSET

*20 artikla*

Liitteitä I–IV muutetaan 21 artiklan 3 kohdassa tarkoitettua menettelyä noudattaen.

*21 artikla*

1. Komissiota avustaa elintarvikelainsäädäntöä koskevista yleisistä periaatteista ja vaatimuksista, Euroopan elintarviketurvallisuusviranomaisen perustamisesta sekä elintarvikkeiden turvallisuuteen liittyvistä menettelyistä 28 päivänä tammikuuta 2002 annetun Euroopan parlamentin ja neuvoston asetuksen (EY) N:o 178/2002 <sup>(1)</sup> 58 artiklalla perustettu elintarvikeketjua ja eläinten terveyttä käsittelevä pysyvä komitea.

<sup>(1)</sup> EYVL L 31, 1.2.2002, s. 1.

**▼B**

2. Jos tähän kohtaan viitataan, sovelletaan päätöksen 1999/468/EY 5 ja 7 artiklaa.

Päätöksen 1999/468/EY 5 artiklan 6 kohdassa tarkoitetuksi määräajaksi vahvistetaan kolme kuukautta.

3. Jos tähän kohtaan viitataan, sovelletaan päätöksen 1999/468/EY 5 ja 7 artiklaa.

Päätöksen 1999/468/EY 5 artiklan 6 kohdassa tarkoitetuksi määräajaksi vahvistetaan 15 päivää.

*22 artikla*

Kumotaan direktiivi 90/426/ETY, sellaisena kuin se on muutettuna liitteessä V olevassa A osassa mainituilla säädöksillä, sanotun kuitenkin rajoittamatta jäsenvaltioiden velvollisuutta noudattaa liitteessä V olevassa B osassa olevia määräaikoja, joiden kuluessa niiden on saatettava siinä mainitut direktiivit osaksi kansallista lainsäädäntöä.

Viittauksia kumottuun direktiiviin pidetään viittauksina tähän direktiiviin liitteessä VI olevan vastaavuustaulukon mukaisesti.

*23 artikla*

Tämä direktiivi tulee voimaan kahdentenakymmenentenä päivänä sen jälkeen, kun se on julkaistu *Euroopan unionin virallisessa lehdessä*.

Sitä sovelletaan 2 päivästä tammikuuta 2010.

*24 artikla*

Tämä direktiivi on osoitettu kaikille jäsenvaltioille.

**▼B**

*LIITE I*

**TAUDIT, JOISTA ON ILMOITETTAVA**

Seuraavista taudeista on ilmoitettava:

- astumatauti
- räkätauti
- hevosen tarttuva aivo-selkäydintulehdus (kaikki tyypit mukaan lukien VEE)
- näivetystauti
- raivotauti
- pernarutto
- afrikkalainen hevosrutto
- *vesicular stomatitis*



*LIITE II*

MALLI

**TERVEYTTÄ KOSKEVA VAKUUTUS <sup>(a)</sup>**

Passin numero .....

Minä allekirjoittanut todistan <sup>(b)</sup>, että edellä mainittu eläin täyttää seuraavat vaatimukset:

- a) se on tutkittu tänään eikä siinä näy taudin kliinisiä merkkejä,
- b) sitä ei ole tarkoitettu teurastettavaksi tartuntataudin kansallisen hävittämissuunnitelman mukaisesti,
- c) — se ei ole peräisin jäsenvaltion alueelta tai alueen osasta, johon sovelletaan rajoituksia afrikkalaisen hevosruton vuoksi, tai

se on peräisin jäsenvaltion alueelta tai alueen osasta, johon sovelletaan rajoituksia afrikkalaisen hevosruton vuoksi, ja sille on hyväksyttävien tuloksien suoritettu direktiivin 2009/156/EY 5 artiklan 5 kohdassa tarkoitetut testit ..... in karanteeniasemalla ..... ja ..... välisenä aikana <sup>(c)</sup>,

— sitä ei ole rokotettu afrikkalaista hevosruttoa vastaan tai

se on rokotettu afrikkalaista hevosruttoa vastaan päivänä kuuta <sup>(c)</sup> <sup>(d)</sup>,

- d) se ei ole peräisin tilalta, johon sovelletaan eläinten terveyteen liittyvistä syistä kieltomääräyksiä, eikä se ole ollut kosketuksissa sellaisen tilan hevoseläimiin, johon sovellettiin eläinten terveyteen liittyvistä syistä kieltomääräyksiä:

— astumatautiin sairastuneeksi epäiltyjen hevoseläinten osalta kuuden kuukauden aikana viimeisestä päivästä, jolloin eläin on ollut tai on mahdollisesti ollut yhteydessä sairaaseen eläimeen. Oriiden osalta kieltä on kuitenkin voimassa eläimen kuohintaan asti,

— räkätaudin tai hevosen enkefalomyeliitin osalta kuuden kuukauden aikana siitä päivästä, jona näihin tauteihin sairastuneet hevoseläimet on teurastettu,

— näivetystaudin osalta siihen päivään asti, jona tartunnan saaneiden eläinten teurastuksen jälkeen jäljelle jääneet eläimet ovat reagoineet negatiivisesti kahteen kolmen kuukauden välein suoritettuun Cogginsin testiin,

— vesikulaarisen stomatiitin osalta kuuden kuukauden aikana viimeisestä tapauksesta,

— rabioksen osalta yhden kuukauden aikana viimeisestä tapauksesta,

— pernaruton osalta 15 vuorokauden aikana viimeisestä tapauksesta,

— jos tilan kaikki taudille alttiiseen lajiin kuuluvat eläimet on teurastettu ja tilat desinfioitu 30 vuorokauden aikana siitä, kun eläimet hävitettiin ja tilat desinfioitiin, jollei kyseessä ole pernarutto, jolloin kieltoaika on 15 vuorokautta,

<sup>(a)</sup> Tätä vakuutusta ei tarvita, jos on olemassa direktiivin 2009/156/EY 6 artiklan mukainen kahdenvälinen sopimus.

<sup>(b)</sup> Voimassa 10 päivän ajan.

<sup>(c)</sup> Tarpeeton viivataan yli.

<sup>(d)</sup> Rokotuspäivä on merkittävä passiin.



**▼B**

- e) parhaan tietoni mukaan se ei ole ollut kosketuksissa tarttuvaan tautiin sairastuneisiin hevoseläimiin tämän ilmoituksen antamista edeltäneiden 15 vuorokauden aikana,
- f) se on tarkastusajankohtana siinä kunnossa, että se voidaan kuljettaa aiotulla matkalla asetuksen (EY) N:o 1/2005 <sup>(4)</sup> säännösten mukaisesti.

Päivämäärä	Paikka	Virkaeläinlääkärin leima ja allekirjoitus <sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Nimi suuraakkosin ja asema

<sup>(4)</sup> Tällä säännöksellä ei myönnetä eläinkuljetusten harjoittajille poikkeusta niille voimassa olevissa yhteisön säännöksissä asetetuista velvoitteista, erityisesti kun on kyse eläinten kuntoa kuljetuksen aikana koskevista vaatimuksista.



## LIITE III

## MALLI

## TERVEYSTODISTUS

## Jäsenvaltioiden välistä kauppaa varten

## HEVOSELÄIMET

## EUROOPAN YHTEISÖ

## Yhteisön sisäisen kaupan todistus

Osa I: Eräai koskevat tiedot	I.1. Lähettäjä Nimi Osoite Postinro				I.2. Todistuksen viitenumero		I.2.a. Paikallinen viitenumero								
					I.3. Toimivaltainen keskusviranomainen										
					I.4. Toimivaltainen paikallishallintoviranomainen										
	I.5. Vastaanottaja Nimi Osoite Postinro				I.6. Alkuperäisten liitetodistusten numerot Lähetyistä seuraavien asiakirjojen numerot										
					I.7.										
	I.8. Alkuperämaa		ISO-koodi	I.9. Alkuperäalue		Koodi		I.10. Määränpäämaa	ISO-koodi						
								I.11. Määränpääalue	Koodi						
	I.12. Alkuperäpaikka Tila <input type="checkbox"/> Keräyskeskus <input type="checkbox"/> Muu <input type="checkbox"/> Nimi Osoite Postinro				I.13. Määräpaikka Tila <input type="checkbox"/> Keräyskeskus <input type="checkbox"/> Käsittelylaitos <input type="checkbox"/> Muu <input type="checkbox"/> Nimi Osoite Postinro										
					Hyväksyntänumero				Hyväksyntänumero						
	I.14. Lastauspaikka Postinro				I.15. Lähtöpäivä ja -aika										
	I.16. Kuljetusvälineet Lentokone <input type="checkbox"/> Laiva <input type="checkbox"/> Junavaunu <input type="checkbox"/> Maantieajoneuvo <input type="checkbox"/> Muu <input type="checkbox"/> Tunnistetiedot:				I.17. Kuljetusyritys Nimi Osoite Postinro				Hyväksyntänumero Jäsenvaltio						
	I.18. Tavarankuvaus				I.19. Nimikenumero (CN-koodi)										
									I.20. Lukumäärä/paino						
	I.21.								I.22. Pakkausten lukumäärä						
	I.23. Sinetin/kontin nro								I.24. Pakkausten tyyppi						
I.25. Tavaralle annettu todistus seuraavaan tarkoitukseen Karjankasvatus <input type="checkbox"/> Rekisteröidyt hevoset <input type="checkbox"/> Teurastus <input type="checkbox"/> Muu <input type="checkbox"/>															
I.26. Kauttakuljetus kolmannessa maassa <input type="checkbox"/> Kolmas maa Poistumispaikka Maahantulopaikka				ISO-koodi Koodi Rajatarkastusaseman nro				I.27. Kauttakuljetus jäsenvaltioissa <input type="checkbox"/> Jäsenvaltio Jäsenvaltio Jäsenvaltio				ISO-koodi ISO-koodi ISO-koodi			
I.28. Vienti <input type="checkbox"/> Kolmas maa Poistumispaikka				ISO-koodi Koodi				I.29. Arvioitu kuljetusaika							
I.30. Reittisuunnitelma Kyllä <input type="checkbox"/> Ei <input type="checkbox"/>															
I.31. Tavaroiden tunnistustiedot Laji (Tieteellinen nimi)								Tunnistusjärjestelmä							



EUROOPAN YHTEISÖ		Rekisteröidyt hevoseläimet, jalostukseen ja kasvatukseen tarkoitetut hevoseläimet, teurastettaviksi tarkoitetut hevoseläimet		
		II.a. Todistuksen viite-numero	II.b. Paikallinen viite-numero	
II Osa: Todistus	II.	<b>Terveyttä koskevat tiedot <sup>(1)</sup></b>		
		Minä allekirjoittanut todistan, että edellä esitetty/esitetty eläin/eläimet täyttää/täyttävät seuraavat vaatimukset:		
		II.1.	se/ne on tutkittu tänään eikä siinä/niissä näy taudin kliinisiä merkkejä;	
		II.2.	sitä/niitä ei ole tarkoitettu teurastettavaksi/teurastettaviksi tartuntataudin kansallisen hävittämissuunnitelman mukaisesti;	
		<i>joko</i> <sup>(2)</sup>	II.3.	se/ne ei/eivät ole peräisin jäsenvaltion alueelta tai alueen osasta, johon sovelletaan rajoituksia afrikkalaisen hevosruton vuoksi;]
		<i>tai</i> <sup>(2)</sup>	II.3.	se/ne on/ovat peräisin jäsenvaltion alueelta tai alueen osasta, johon sovelletaan rajoituksia afrikkalaisen hevosruton vuoksi, on/ovat ollut/olleet vähintään 40 päivän ajan ennen lähettämistä tartunnanlevittäjiltä suojatulla ..... karanteeniasemalla ja sille/niille on suoritettu direktiivin 2009/156/EY liitteessä IV kuvailtu testi afrikkalaisen hevosruton viruksen vasta-aineiden osoittamiseksi, joka on suoritettu samanaikaisesti kahdesta verinäytteestä, joiden ottamisväli on 21–30 päivää ja joista toinen on otettu ..... ( <i>lisää päivämäärä</i> ) ja toinen lähettämistä edeltävien 10 päivän aikana ..... ( <i>lisää päivämäärä</i> );
			<i>joko</i> <sup>(3)</sup>	[negatiivinen tulos kummassakin, jos sitä/niitä ei ole rokotettu afrikkalaista hevosruttoa vastaan;]
			<i>tai</i> <sup>(2)</sup>	[ei vasta-aineiden määrän kasvua, jos se/ne on rokotettu afrikkalaista hevosruttoa vastaan;]
		<i>joko</i> <sup>(3)</sup>	II.4.	sitä/niitä ei ole rokotettu afrikkalaista hevosruttoa vastaan;]
		<i>tai</i> <sup>(2)</sup>	II.4.	[II.4 se/ne on rokotettu afrikkalaista hevosruttoa vastaan ..... ( <i>lisää päivämäärä</i> ); ,
			<i>joko</i> <sup>(3)</sup>	[vähintään kaksi kuukautta ennen todistuksen antamista;]
			<i>tai</i> <sup>(2)</sup>	[vähintään kaksi kuukautta ennen karanteeniasemalle tuloa;]
		II.5.	se/ne ei/eivät ole peräisin tilalta/tiloilta, johon/joihin sovelletaan eläinten terveyteen liittyvistä syistä kieltomääräyksiä, joissa määrätään vähintään yhdestä seuraavista ehdoista:	
		<i>joko</i> <sup>(3)</sup>	[tilan kaikkia a–g kohdassa luettelulle taudille alttiiseen lajiin kuuluvia eläimiä ei teurastettu ja kielto oli voimassa vähintään:	
		a)	astumatautiin sairastuneiksi epäiltyjen hevoseläinten osalta	
	<i>joko</i> <sup>(2)</sup>	[kuuden kuukauden ajan viimeisestä päivästä alkaen, jolloin eläin on ollut tai on mahdollisesti ollut yhteydessä sairaaseen eläimeen tai <i>Trypanosoma equiperdum</i> -tartunnan saaneeseen eläimeen;]		
	<i>tai</i> <sup>(2)</sup>	[oriin osalta eläimen kuohintaan asti;]		
	b)	räkätaudin osalta kuuden kuukauden ajan siitä päivästä alkaen, jona tautiin sairastuneet hevoseläimet tai hevoseläimet, joiden osalta <i>Burkholderia mallei</i> -tudinaiheuttajan tai kyseisen tudinaiheuttajan vasta-aineiden osoittamiseksi tehdyn testin tulos oli positiivinen, lopetettiin ja hävitettiin;		
	c)	hevosen enkefalomyeliitin kaikkien tyyppien osalta kuuden kuukauden ajan siitä päivästä alkaen, jona tautiin sairastuneet hevoseläimet on teurastettu, lukuun ottamatta Länsi-Niilin virusinfektiota, jonka osalta kuuden kuukauden aika alkaa siitä päivästä, jona sairastuneet hevoseläimet kuolivat, poistettiin tilalta tai parantuivat täysin;		



**EUROOPAN YHTEISÖ** **Rekisteröidyt hevoseläimet, jalostukseen ja kasvatukseen tarkoitetut hevoseläimet, teurastettaviksi tarkoitetut hevoseläimet**

II. <b>Terveyttä koskevat tiedot</b> <sup>(1)</sup>	II.a. Todistuksen viite-numero	II.b. Paikallinen viite-numero
<p>d) näivetystaudin osalta siihen päivään asti, jona tartunnan saaneiden eläinten teurastuksen jälkeen jäljelle jääneet eläimet ovat reagoineet negatiivisesti Cogginsin testiin, joka on tehty kahdesta kolmen kuukauden välein otetusta verinäytteestä;</p> <p>e) vesikulaarisen stomatiitin osalta kuuden kuukauden ajan viimeisestä tapauksesta;</p> <p>f) rabieksen osalta yhden kuukauden ajan viimeisestä tapauksesta;</p> <p>g) pernaruton osalta 15 päivän ajan viimeisestä tapauksesta;]</p> <p><i>tai</i> <sup>(2)</sup> [astumataudin, räkätaudin, hevosen enkefalomyeliitin kaikkien tyyppien, näivetystaudin, vesikulaarisen stomatiitin, pernaruton tai rabieksen esiintymisen jälkeen tilan kaikki kyseiselle taudille alttiiseen lajiin kuuluvat eläimet on teurastettu tai lopetettu ja kielto oli voimassa 30 päivän, tai pernaruton osalta 15 päivän ajan siitä päivästä alkaen, jolloin eläinten hävittämisen jälkeen tilojen desinfiointi oli saatu tyydyttävästi päätökseen;]</p> <p>II.6. parhaan tietoni mukaan se/ne ei/eivät ole ollut/olleet kosketuksissa tarttuvaan tautiin sairastuneisiin hevoseläimiin tämän ilmoituksen antamista edeltäneiden 15 vuorokauden aikana;</p> <p>II.7. se/ne oli/olivat tarkastusajankohtana siinä kunnossa, että se/ne voidaan kuljettaa aiotulla matkalla asetuksen (EY) N:o 1/2005 <sup>(3)</sup> säännösten mukaisesti.</p>		
<b>Huomautukset</b>		
<b>I osa</b>		
Kohta I.6: Vastaa CITES-lup numeron uhanalaisia lajeja ja niistä valmistettuja tuotteita koskevassa Washingtonin yleissopimuksessa lueteltujen hevoseläinten tapauksessa.		
Kohta I.16: Rekisteröintinumero (junavaunut tai kontti ja kuorma-autot), lennon numero (ilma-alus) tai nimi (laiva).		
Kohta I.19: Käytetään Maailman tullijärjestön harmonoidun järjestelmän asianmukaista HS-nimikettä: 01.01.01 tai 01.01.06.19		
Kohta I.31: Laji: hevonen, aasi, muuli, muuliaasi, seepra (risteytykset mukaan lukien)		
Tunnistusjärjestelmä: 31. joulukuuta 2009 saakka vastaa komission päätöksen 2000/68/EY 2 artiklassa tarkoitettua tunnistusnumeroa ja 1. tammikuuta 2010 alkaen komission asetuksen (EY) N:o 504/2008 2 artiklan 2 kohdan d alakohdassa ja liitteessä I olevan 1 luvun A osan 4 kohdassa tarkoitettua yksilöllistä tunnistusnumeroa.		
<b>II osa</b>		
<sup>(1)</sup> II.1–II.6 kohdan tietoja ei tarvita, jos on olemassa direktiivin 2009/156/EY 6 artiklan mukainen kahdenväläinen sopimus.		
<sup>(2)</sup> Tarpeeton viivataan yli.		
<sup>(3)</sup> Tällä säännöksellä ei myönnetä eläinkuljetusten harjoittajille poikkeusta niille voimassaolevissa yhteisön säännöksissä asetetuista velvoitteista, erityisesti kun on kyse eläinten kuntoa kuljetuksen aikana koskevista vaatimuksista.		
— Tämä todistus on voimassa 10 päivää.		
— Leima ja allekirjoitus on tehtävä eri värillä kuin muut todistuksen merkinnät.		
Virkaeläinlääkäri tai virallinen tarkastaja		
Nimi (suuraakkosin):	Pätevyys ja virka-asema:	
Paikallinen eläinlääkintäyksikkö:	Paikallisen eläinlääkintäyksikön numero:	
Päiväys:	Allekirjoitus:	
Leima:		

▼ **M2***LIITE IV***AFRIKKALAINEN HEVOSRUTTO****DIAGNOSOINTI****A OSA**

## Serologiset testit

Jäljempänä kuvailtu serologinen menetelmä muodostuu entsyymi-immunologisista määrytyksistä (ELISA), jotka perustuvat OIE:n maaeläinten diagnostisia testejä ja rokotteita käsittelevän käsikirjan vuoden 2016 laitoksen, sellaisena kuin sen on hyväksynyt OIE:n kokous toukokuussa 2012, 2.5.1 luvun B jakson 2 kohtaan.

Virusproteiini VP7 on merkittävä afrikkalaisen hevusruton viruksen (AHRV) immunodominantti antigeeni, joka on konservoitunut ja todettavissa kaikissa yhdeksässä AHRV:n serotyypissä. AHRV:n rekombinantit VP7-proteiinit ovat osoittautuneet stabiileiksi ja vaarattomiksi ja soveltuvat käytettäviksi antigeeneinä ELISA-menettelyissä AHRV:n vasta-aineiden määrytyksessä, ja ne tarjoavat korkean herkkyyden ja spesifisyyden (Laviada et al., 1992b <sup>(1)</sup>; Maree ja Paweska, 2005). Epäsuora ELISA ja esto-ELISA ovat ne kaksi AHR-VP7-testiä, jotka soveltuvat afrikkalaisen hevusruton (AHR) serologiseen diagnosointiin.

**1. Epäsuora ELISA-testi afrikkalaisen hevusruton viruksen (AHRV) vasta-aineiden osoittamiseksi**

Tässä menetelmässä käytettävä konjugaatti on piparjuuriperoksidiasikonjugoitu hevosen gammaglobuliinia vastaan tehty antiseerumi, joka reagoi hevosten, muulien ja aasien seerumin kanssa. Julkaisussa Maree & Paweska (2005) <sup>(2)</sup> kuvaillussa menetelmässä käytetään konjugaattina proteiinia G, joka reagoi myös seepran seerumin kanssa.

Espanjassa sijaitseva laitos Centro de Investigación en Sanidad Animal (CISA) voi toimittaa antigeeniä 4–6 kuukauden kuluessa pyynnöstä.

**1.1 Testimenettely**

**1.1.1 Kiinteä faasi**

**1.1.1.1** ELISA-levyt pinnoitetaan karbonaatti/bikarbonaattipuskurissa (pH 9,6) laimennetulla AHRV-4:n rekombinantilla VP7:llä. Levyjä inkuboidaan yön yli 4 °C:ssa.

**1.1.1.2** Levyt pestään viidesti tislattulla vedellä, jossa on 0,01 % (v/v) Tween 20:tä (pesuliuos). Levyjä taputetaan varovasti imukykyisen materiaalin päällä, jotta kaikki neste saadaan imeytettyä pois.

**1.1.1.3** Levyille annostellaan liuosta, jossa on fosfaattipuskuroitua suolaliuosta (PBS), pH 7,2, ja 5 % (w/v) rasvatonta maitoa (kuivattu rasvaton maito Nestlé Dry Skim Milk<sup>TM</sup>), 200 µl/kuoppa, ja annetaan olla 1 tunti lämpötilassa 37 °C.

**1.1.1.4** Estoliuos poistetaan, ja levyjä taputetaan varovasti imukykyisen materiaalin päällä, jotta kaikki neste saadaan pois.

<sup>(1)</sup> Laviada M.D., Roy P. and Sanchez-Vizcaino J.M. (1992b). Adaptation and evaluation of an indirect ELISA and immunoblotting test for African horse sickness antibody detection. Julkaisussa: Bluetongue, African Horse Sickness and Related Orbiviruses: Proceedings of the Second International Symposium. Walton T.E. & Osburn B.I., Eds. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 646–650.

<sup>(2)</sup> Maree S. and Paweska J.T. (2005). Preparation of recombinant African horse sickness virus VP7 antigen via a simple method and validation of a VP7-based indirect ELISA for the detection of group-specific IgG antibodies in horse sera. J. Virol. Methods, 125 (1), 55–65.

▼ **M2**

- 1.1.2 Testinäytteet
- 1.1.2.1 Testattavat seeruminäytteet sekä positiiviset ja negatiiviset kontrolliseerumit laimennetaan suhteessa 1:25 liuoksella, jonka koostumus on PBS + 5 % (w/v) rasvatonta maitoa + 0,05 % (v/v) Tween 20:tä, ja pipetoidaan 100 µl kuoppaa kohti. Inkuboidaan 1 tunnin ajan 37 °C:ssa.

Titrausta varten tehdään kaksoislaimennosten sarja alkaen laimennussuhteesta 1:25 (100 µl/kuoppa), yksi seerumi levyriiviä kohti, ja sama toistetaan positiivisten ja negatiivisten kontrollien kanssa. Inkuboidaan 1 tunnin ajan 37 °C:ssa.

- 1.1.2.2 Levyt pestään viidesti tislatulla vedellä, jossa on 0,01 % (v/v) Tween 20:tä (pesuliuos). Levyjä taputetaan varovasti imukykyisen materiaalin päällä, jotta kaikki neste saadaan imeytettyä pois.

## 1.1.3 Konjugaatti

- 1.1.3.1 Lisätään 100 µl/kuoppa piparjuuriperoksidaasi(HRP)-konjugoitua hevosen gammaglobuliinia vastaan tehtyä antiseerumia, joka on esilaimennettu (PBS + 5 % maito + 0,05 % Tween 20, pH 7,2). Inkuboidaan 1 tunnin ajan 37 °C:ssa.

- 1.1.3.2 Levyt pestään viiteen kertaan tislatulla vedellä, jossa on 0,01 % (v/v) Tween 20:tä (pesuliuos). Levyjä taputetaan varovasti imukykyisen materiaalin päällä, jotta kaikki neste saadaan imeytettyä pois.

## 1.1.4 Kromogeeni/substraatti

- 1.1.4.1 Lisätään 200 µl/kuoppa kromogeeni-substraattiliuosta [10 ml 80,6 mM DMAB (dimetyyli-aminobentsaldehydi) + 10 ml 1,56 mM MBTH (3-metyyli-2-bentso-tiatsoliinihydratsonihydrokloridi) + 5 µl H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>].

Värimuutos pysäytetään lisäämällä 50 µl 3 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:ää noin 5–10 minuutin jälkeen (ennen kuin negatiivinen kontrolli alkaa värjäytyä).

Muita kromogeeniä, kuten ABTS (2,2'-atsino-bis-[3-etyylibentsotiatsooliini-6-sulfonihappo]), TMB (tetrametyylibentsidiini) tai OPD (ortofenylenidiamiini), voidaan myös käyttää.

- 1.1.4.2 Levyt luetaan aallonpituudella 600 nm (tai 620 nm).

## 1.2 Tulosten tulkinta

- 1.2.1 Raja-arvo lasketaan lisäämällä negatiivisen kontrollin arvoon 0,06. (0,06 on 30 negatiivisen seerumin ryhmällä saatu vakiopoikkeama.)

- 1.2.2 Raja-arvon alittavan absorbanssin antavia testinäytteitä pidetään negatiivisina.

- 1.2.3 Raja-arvon +0,15 ylittävän absorbanssin antavia testinäytteitä pidetään positiivisina.

- 1.2.4 Testinäytteitä, joiden absorbanssi on edellä mainittujen välillä, pidetään epävarmoina, ja jotain muuta menetelmää on käytettävä tuloksen vahvistamiseksi.

▼ **M2****2. Esto-ELISA-testi afrikkalaisen hevosruton viruksen (AHRV) vasta-aineiden osoittamiseksi**

Kompetitiivista esto-ELISA-testiä käytetään spesifisten AHRV-vasta-aineiden osoittamiseksi kaikkien hevoseläinten (hevosten, aasien, seeprojen ja niiden risteymien) seerumista. Sen avulla voidaan välttää epäsuoraa ELISAA käyttäessä toisinaan esiintyvä spesifisyysongelma.

Kokeen periaate on, että ELISA-levyyn sitoutuneen rekombinantin VP7-proteiinin ja ARH-VP7:lle spesifisen konjugoidun monoklonaalisen vasta-aineen (Mab) reaktio estetään. Testiseerumeissa oleva vasta-aine estää antigeenin ja monoklonaalisen vasta-aineen välisen reaktion, mikä heikentää syntyvää väriä. Koska testissä käytetty monoklonaalinen vasta-aine toteaa myös VP7-antigeenin, testi on hyvin herkkä ja spesifinen.

Kompetitiivinen esto-ELISA on kaupallisesti saatavilla.

**2.1 Testimenettely****2.1.1 Kiinteä faasi**

2.1.1.1 ELISA-levyt pinnoitetaan 50–100 ng:llä karbonaatti/bikarbonaattipuskurissa (pH 9,6) laimennettua AHRV-4:n rekombinanttia VP7:ää. Levyjä inkuboidaan yön yli 4 °C:ssa.

2.1.1.2 Levyt pestään kolmesti fosfaattipuskuroidulla suolaliuksella (PBS 0,1 ×), jossa on 0,135 M NaCl:a ja 0,05 % (v/v) Tween-20:tä (PBST). Levyjä taputetaan varovasti imukykyisen materiaalin päällä, jotta kaikki neste saadaan imeytettyä pois.

**2.1.2 Testinäytteet ja kontrollit**

2.1.2.1 Testattavat seeruminäytteet sekä positiiviset ja negatiiviset kontrolliseerumit laimennetaan suhteessa 1:5 laimenteella, joka sisältää 0,35 M NaCl:a, 0,05 % (v/v) Tween 20:tä ja 0,1 % Kathonia, siten, että lopputilavuus on 100 µl/kuoppa. Inkuboidaan 1 tunnin ajan 37 °C:ssa.

Titrausta varten valmistetaan testiseerumeista kaksoislaimennosten sarja (1:10–1:280) kahdeksaan kuoppaan (100 µl/kuoppa), yksi seerumi levyriiviä kohti, ja sama toistetaan positiivisten ja negatiivisten kontrollien kanssa. Inkuboidaan 1 tunnin ajan 37 °C:ssa.

2.1.2.2 Levyt pestään viidesti fosfaattipuskuroidulla suolaliuksella (PBS 0,1 ×), jossa on 0,135 M NaCl:a ja 0,05 % (v/v) Tween-20:tä (PBST). Levyjä taputetaan varovasti imukykyisen materiaalin päällä, jotta kaikki neste saadaan imeytettyä pois.

**2.1.3 Konjugaatti**

2.1.3.1 Lisätään piparjuuriperoksidaasikonjugoitua VP7:n monoklonaalista vasta-ainetta 100 µl/kuoppa. Tämä monoklonaalinen vasta-aine on edeltä käsin laimennettu suhteessa 1/5 000–1/15 000 liuoksessa, joka sisältää suhteessa 1:1 ainetta StabiliZyme Select® Stabilizer (SurModics. Reference: SZ03) ja tislattua vettä. Inkuboidaan 30 minuutin ajan 37 °C:ssa.

2.1.3.2 Levyt pestään viidesti fosfaattipuskuroidulla suolaliuksella (PBS 0,1 ×), jossa on 0,135 M NaCl:a ja 0,05 % (v/v) Tween-20:tä (PBST). Levyjä taputetaan varovasti imukykyisen materiaalin päällä, jotta kaikki neste saadaan imeytettyä pois.

▼ **M2**

## 2.1.4 Kromogeeni/substraatti

Lisätään kromogeeni-substraattiliuosta [1 ml ABTS (2,2'-atsino-bis-[3-etyyli-bentsotiatsoliini-6-sulfonihappo]) (5 mg/ml) + 9 ml substraattipuskuria (0,1 M fosfaattisitraattipuskuria, jonka pH on 4 ja jossa on 0,03 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-ta)] 100 µl kuoppaa kohden ja inkuboidaan 10 minuuttia huoneenlämmössä. Värimuutos pysäytetään lisäämällä 2 % (w/v) SDS:ää (natriumdodekyylisulfaatti) 100 µl kuoppaa kohden.

## 2.1.5 Lukema

Levyt luetaan aallonpituudella 405 nm ELISA-lukulaitteessa.

2.2 *Tulosten tulkinta*

## 2.2.1 Kunkin näytteen estoprosentti (BP) määritetään käyttämällä seuraavaa kaavaa, jossa Abs tarkoittaa vasta-aineita:

$$BP = \frac{\text{Abs(kontrolli}^{-})} - \text{Abs(näyte)}}{\text{Abs(kontrolli}^{-})} - \text{Abs(näyte}^{+})} \times 100$$

## 2.2.2 Näytteitä, joiden estoprosentti on suurempi kuin 50, on pidettävä AHRV-vasta-ainepositiivisina.

## 2.2.3 Näytteitä, joiden estoprosentti on pienempi kuin 45, on pidettävä AHRV-vasta-ainenegatiivisina.

## 2.2.4 Näytteitä, joiden estoprosentti on 45–50, on pidettävä epävarmoina, ja ne on testattava uudestaan. Jos tulos on edelleen epävarma, kyseiset eläimet on testattava uudelleen uusilla näytteillä, jotka otetaan aikaisintaan kahden viikon kuluttua epävarmoiksi todettujen näytteiden ottamisesta.

## B OSA

## Taudinaiheuttajan tunnistaminen

Reaaliaikainen käänteiskopiointipolymeraasiketjureaktio (rRT-PCR)

Nukleiinihappoihin perustuvilla taudinaiheuttajien tunnistustesteillä on voitava havaita AHRV:n kaikkien yhdeksän serotyypin vertailukannat.

Jäljempänä 2.1 kohdassa kuvailtu menetelmä perustuu OIE:n maaeläinten diagnostisia testejä ja rokotteita käsittelevän käsikirjan vuoden 2016 laitoksen, sellaisena kuin sen on hyväksynyt OIE:n kokous toukokuussa 2012, 2.5.1 luvun B jakson 1.2 kohtaan.

Kaikkien RT-PCR-tunnistusmenetelmien, joita käytetään veri- tai pernanäytteiden testaamiseen direktiivin 2009/156/EY soveltamisen yhteydessä, on oltava sensitiivisyydeltään vähintään 2 kohdassa kuvailtuja menetelmiä vastaavia.

Serotyyppien 1–9 virusten inaktivoituja vertailukantoja on saatavilla Euroopan unionin vertailulaboratoriosta tai Algetessa Espanjassa sijaitsevasta OIE:n afrikkalaisen hevusruton vertailulaboratoriosta.

1. **Virus-RNA:n erottaminen**

Hyvän reaktion varmistamiseksi on välttämätöntä erottaa näytteestä korkealaatuinen AHRV-RNA. Nukleiinihappojen erottaminen kliinisistä näytteistä voidaan tehdä erilaisilla laitoksen omilla tai kaupallisesti saatavilla olevilla menetelmillä.



▼ **M2**

Kaupallisissa diagnostiikkasarjoissa käytetään erilaisia tapoja RNA:n eristämiseksi. Useimmat niistä perustuvat johonkin seuraavista menetelyistä:

- nukleiinihappojen fenoli-kloroformiuutto
- nukleiinihappojen absorbointi suodatinjärjestelmään
- nukleiinihappojen absorbointi magneettihelmijärjestelmään.

Seuraavassa annetaan esimerkki ei-kaupallisesta RNA-erotusmenetelmästä:

- 1.1 Homogenoidaan 1 g kudoksenäytettä 1 ml:ssä denaturointiliuosta (4 M guanidiniitiiosyanaattia, 25 mM natriumsitraattia, 0,1 M 2-merkaptotetanolia, 0,5 % sarkosyyliä).
- 1.2 Sentrifugoinnin jälkeen supernatanttiin lisätään seuraavat: 1 µg hiiva-RNA:tta; 0,1 ml natriumasettaattia, 2 M, pH 4; 1 ml fenolia; 0,2 ml kloroformi-isoamyylialkoholiseosta (49/1).
- 1.3 Suspensiota ravistetaan voimakkaasti ja jäädytetään jäissä 15 minuutin ajan.
- 1.4 Sentrifugoinnin jälkeen vesifaasissa oleva RNA uutetaan fenolilla, saostetaan etanolilla ja suspendoidaan uudelleen steriiliin veteen.

## 2. **Reaaliaikainen RT-PCR-menettely**

- 2.1 *Ryhmäspesifinen reaaliaikainen RT-PCR (Agüero et al., 2008) <sup>(1)</sup>*

Ryhmäspesifinen reaaliaikainen RT-PCR kohdistuu AHRV:n VP7:ään, ja sen avulla voidaan havaita kaikki tunnetut nykyisin liikkeessä olevat AHRV:n serotyypit ja kannat. Sitä on käytetty erittäin hyvin tuloksin osallistuvissa Euroopan unionin jäsenvaltioiden vertailulaboratorioissa pätevyyttä koskevista testeistä, joita Euroopan unionin vertailulaboratorio on järjestänyt vuosittain vuosina 2009–2015. OIE:n vertailulaboratorieverkoston puitteissa vuonna 2015 järjestetyssä kansainvälisessä laboratorioden välisessä vertailussa tämä menetelmä arvioitiin erittäin hyväksi.

Aluke- ja koetinjakso AHRV-lajien virusten havaitsemista varten:

- |                     |                                       |
|---------------------|---------------------------------------|
| — Etualuke          | 5'-CCA-GTA-GGC-CAG-ATC-AAC-AG-3'      |
| — Taka-alue         | 5'-CTA-ATG-AAA-GCG-GTG-ACC-GT-3'      |
| — MGB-TaqMan-koetin | 5'-FAM-GCT-AGC-AGC-CTA-CCA-CTA-MGB-3' |

- 2.1.1 Alukeliuos laimennetaan työskentelykonsentraatioon 8 µM ("8 µM:n alukelyliuos") ja koetin työskentelykonsentraatioon 50 µM ("50 µM:n koetintyöliuos"). Suunnitellaan testilevyn malli ja ladataan se reaaliaikaisen PCR-testauksen laiteohjelmistoon. Tätä mallia oppaana käyttäen lisätään 2,5 µl kutakin 8 µM:n alukelyliuosta kuhunkin kuoppaan, joissa on RNA-näytteitä ja positiivisia ja/tai negatiivisia kontrolleja (alukkeen lopullinen konsentraatio on 1 µM 20 µl:ssa RT-PCR-seosta). Levy säilytetään jäissä.

<sup>(1)</sup> Agüero M., Gomez-Tejedor C., Angeles Cubillo M., Rubio C., Romero E. and Jimenez-Clavero A. (2008). Real-time fluorogenic reverse transcription polymerase chain reaction assay for detection of African horse sickness virus. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 20, 325–328.

▼ **M2**

- 2.1.2 Etu- ja taka-alkukkeisiin sekoitetaan 2 µl eristettyä RNA:ta (testinäytteet ja positiivinen kontrolli) tai 2 µl RNase-vapaata vettä (negatiivinen kontrolli). Seos denaturoidaan kuumentamalla se lämpötilaan 95 °C viiden minuutin ajaksi, minkä jälkeen sitä jäädytetään nopeasti jäissä vähintään viiden minuutin ajan.
- 2.1.3 Valmistajan ohjeiden mukaisesti valmistetaan testattavaa näytemäärää vastaava soveltuva määrä reaaliaikaisessa yksivaiheisessa RT-PCR-menetelyssä tarvittavaa mastermix-seosta. Lisätään 0,1 µl 50 µM:n koetintyöliuosta kuhunkin kuoppaan, joissa on RNA-näytteitä (koettimen lopullinen konsentraatio on 0,25 µM kussakin RNA-näytteitä sisältävässä kuopassa). Lisätään 13 µl reaaliaikaisen yksivaiheisen RT-PCR-menetelmän mastermix-seosta PCR-levyn kuhunkin kuoppaan, joissa on denaturoituja alukkeita ja RNA:ta.
- 2.1.4 Levy asetetaan reaaliaikalämpöblokkiin, joka on ohjelmoitu käänteiskopiointia ja cDNA-amplifikaatio/fluoresenssidetektiota varten. Amplifikaatio-olosuhteet ovat seuraavat: ensimmäinen käänteiskopiointivaihe lämpötilassa 48 °C 25 minuutin ajan, sitten 10 minuuttia lämpötilassa 95 °C ("kuumakäynnistys") ja 40 kappaletta 15 sekunnin syklejä lämpötilassa 95 °C, 35 sekuntia lämpötilassa 55 °C ja 30 sekuntia lämpötilassa 72 °C (tai 40 sykliä 2 sekunnin ajan lämpötilassa 97 °C ja 30 sekunnin ajan lämpötilassa 55 °C, jos käytetään nopeat reaktiot sallivia reagentteja ja lämpöblokkia). Fluoresenssitetiedot saadaan 55 °C:n vaiheen lopussa.
- 2.1.5 Jos saadaan epätyypilliset amplifikaatiokäyrät, määrittäminen katsotaan pätevämmäksi, ja se on uusittava.

Näyte katsotaan positiiviseksi, jos Ct-arvo (syklimäärä, jolla reaktiossa tuotettu fluoresenssi ylittää fluoresenssikynnyksen) on pienempi tai yhtä suuri kuin määritelty Ct-kynnys (35) 40 PCR-syklin aikana ( $Ct \leq 35$ ).

Näyte katsotaan epävarmaksi, jos Ct-arvo on suurempi kuin määritelty Ct-kynnys (35) 40 PCR-syklin aikana ( $Ct \geq 35$ ).

Näyte katsotaan negatiiviseksi, jos saadaan horisontaalinen amplifikaatiokäyrä, joka ei ylitä kynnyksinjaa 40 PCR-syklin aikana.

## 2.2 *Ryhmäspesifinen reaaliaikainen RT-PCR (Guthrie et al., 2013) <sup>(1)</sup>*

Reaaliaikainen RT-PCR-menetelmä, jossa käytetään fluoresenssi-resonanssienergiansiirtoon (FRET) perustuvia koettimia AHRV:n nukleinihappojen havaitsemiseen.

Kyseinen AHRV:n RT-PCR-määrittäminen on suunniteltu käyttäen useista nykyisin liikkeessä olevista AHRV:n luonnonkannoista saatuja jaksoja (Quan et al., 2010 <sup>(2)</sup>). Siinä käytetään myös omaa synteettistä ulkoista kontrollimäärittäystä määrityskomponenttien asianmukaisen toiminnan varmistamiseksi.

Diagnostiikkasarjoja yksivaiheista reaaliaikaista PCR-menetelmää varten on kaupallisesti saatavilla. Jäljempänä esitetään joitakin julkaisussa Guthrie et al. (2013) kuvailtuja perusvaiheita, joita voidaan mukauttaa paikallisten tai tapauskohtaisten vaatimusten sekä käytettävien diagnostiikkasarjojen ja välineiden mukaisesti.

<sup>(1)</sup> Guthrie AJ, MacLachlan NJ, Joone C, Lourens CW, Weyer CT, Quan M, Monyai MS, Gardner IA. Diagnostic accuracy of a duplex real-time reverse transcription quantitative PCR assay for detection of African horse sickness virus. *Journal of Virological Methods*. 2013;189(1):30–5.

<sup>(2)</sup> Quan, M., Lourens, C.W., MacLachlan, N.J., Gardner, I.A., Guthrie, A.J., 2010. Development and optimisation of a duplex real-time reverse transcription quantitative PCR assay targeting the VP7 and NS2 genes of African horse sickness virus. *J. Virol. Methods* 167, 45–52.

▼ **M2**

Aluke- ja koetinjakso AHRV-lajien virusten havaitsemista varten:

— Etualuke	5'-AGA-GCT-CTT-GTG-CTA-GCA-GCC-T-3'
— Taka-aluke	5'-GAA-CCG-ACG-CGA-CAC-TAA-TGA-3'
— MGB-TaqMan-koetin	5'-FAM-TGC-ACG-GTC-ACC-GCT-MGB-3'

- 2.2.1 Valmistetaan aluke- ja koetinseosten perusliuokset 25 × -konsentraatiolla (etu- ja taka-alukkeet 5 μM ja koetin 3 μM). Suunnitellaan testilevyn malli ja ladataan se reaaliaikaisen PCR-testauksen laiteohjelmistoon. Tätä mallia oppaana käyttäen lisätään levyn asianmukaisiin kuoppiin mallin mukaisesti 5 μl RNA-näytteitä, mukaan luettuina testinäytteet sekä positiiviset ja negatiiviset kontrollit.
- 2.2.2 RNA denaturoidaan kuumentamalla se lämpötilaan 95 °C viiden minuutin ajaksi, minkä jälkeen sitä jäähdytetään nopeasti jäissä vähintään kolmen minuutin ajan.
- 2.2.3 Valmistajan ohjeiden mukaisesti valmistetaan testattavaa näytemäärää vastaava soveltuva määrä reaaliaikaisessa yksivaiheisessa RT-PCR-menetellessä tarvittavaa mastermix-seosta. Mastermix-seokseen lisätään 1 μl aluke-koetinseoksen 25 ×-perusliuosta (2.2.1 kohdasta), jolloin kunkin kuopan lopulliseksi konsentraatioksi saadaan kunkin alukkeen osalta 200 nM ja koettimen osalta 120 nM. Lisätään 20 μl mastermix-seosta PCR-levyn kuhunkin kuoppaan, joissa on denaturoitua RNA:ta.
- 2.2.4 Levy asetetaan reaaliaikalämpöblokkiin, joka on ohjelmoitu käänteiskopiointia ja cDNA-amplifikaatio/fluoresenssideteksiota varten valmistajan ohjeiden mukaisesti. Amplifikaatio-olosuhteet voivat olla esimerkiksi seuraavat: ensimmäinen käänteiskopiointivaihe lämpötilassa 48 °C 10 minuutin ajan, sitten 10 minuuttia lämpötilassa 95 °C ja 40 15 sekunnin sykliä lämpötilassa 95 °C ja 45 sekuntia lämpötilassa 60 °C.
- 2.2.5 Näytteiden katsotaan olevan positiivisia, jos AHRV:n RT-PCR-määrityksen normalisoitu fluoresenssi ylittää kynnyksen 0,1 kaikissa rinnakkaisnäytteissä 36 PCR-syklin aikana.

Näytteiden katsotaan olevan epävarmoja, jos AHRV:n RT-PCR-määrityksen normalisoitu fluoresenssi ylittää kynnyksen 0,1 jossakin rinnakkaisnäytteessä PCR-sykliden 36 ja 40 välillä.

Näytteiden katsotaan olevan negatiivisia, jos AHRV:n RT-PCR-määrityksen normalisoitu fluoresenssi ei ylittänyt kynnystä 0,1 missään rinnakkaisnäytteessä 40 PCR-syklin aikana ja jos synteettisen ulkoisen kontrollimäärityksen normalisoitu fluoresenssi ylitti kynnyksen 0,1 33 PCR-syklin aikana.



## LIITE V

## A OSA

**Kumottu direktiivi ja luettelo sen muutoksista**

(22 artiklassa tarkoitettut)

Neuvoston direktiivi 90/426/ETY  
(EYVL L 224, 18.8.1990, s. 42)

Neuvoston direktiivi 90/425/ ETY  
(EYVL L 224, 18.8.1990, s. 29)

Ainoastaan 15 artiklan 3 kohta

Neuvoston direktiivi 91/496/ ETY  
(EYVL L 268, 24.9.1991, s. 56)

Ainoastaan 26 artiklan 2 kohdassa direktiiviin 90/426/EY tehdyn viittauksen osalta

Komission päätös 92/130/ ETY  
(EYVL L 47, 22.2.1992, s. 26)

Neuvoston direktiivi 92/36/ ETY  
(EYVL L 157, 10.6.1992, s. 28)

Ainoastaan 1 artikla

Vuoden 1994 liittymissopimuksen liitteessä I oleva V.E.I.A.3 kohta  
(EYVL C 241, 29.8.1994, s. 132)

Komission päätös 2001/298/EY  
(EYVL L 102, 12.4.2001, s. 63)

Ainoastaan 1 artiklan 1 kohdassa ja liitteessä I olevassa 2 kohdassa direktiiviin 90/426/EY tehdyn viittauksen osalta

Komission päätös 2002/160/EY  
(EYVL L 53, 23.2.2002, s. 37)

Neuvoston asetus (EY) N:o 806/2003  
(EUVL L 122, 16.5.2003, s. 1)

Ainoastaan liitteessä III oleva 10 kohta

Vuoden 2003 liittymissopimuksen liitteessä II oleva 6.B.I.16 kohta  
(EUVL L 236, 23.9.2003, s. 381)

Neuvoston direktiivi 2004/68/EY  
(EUVL L 139, 30.4.2004, s. 321)

Ainoastaan 15 artikla

Neuvoston direktiivi 2006/104/EY  
(EUVL L 363, 20.12.2006, s. 352)

Ainoastaan liitteessä oleva I.2 kohta

Neuvoston direktiivi 2008/73/EY  
(EUVL L 219, 14.8.2008, s. 40)

Ainoastaan 7 artikla

## B OSA

**Määräajat kansallisen lainsäädännön osaksi saattamiselle**

(22 artiklassa tarkoitettut)

Direktiivi	Määräaika kansallisen lainsäädännön osaksi saattamiselle
90/426/ETY	1 päivä tammikuuta 1992
90/425/ETY	1 päivä heinäkuuta 1992
91/496/ETY	1 päivä heinäkuuta 1992
92/36/ETY	31 päivä joulukuuta 1992
2004/68/EY	19 päivä marraskuuta 2005
2006/104/EY	1 päivä tammikuuta 2007
2008/73/EY	1 päivä tammikuuta 2010



*LIITE VI*  
**Vastaavuustaulukko**

Direktiivi 90/426/ETY	Tämä direktiivi
1 artikla	1 artikla
2 artiklan a ja b alakohta	2 artiklan a ja b alakohta
2 artiklan c alakohta	2 artiklan c alakohdan i ja ii alakohta
2 artiklan d–i alakohta	2 artiklan d–i alakohta
3 artikla	3 artikla
4 artiklan 1, 2 ja 3 kohta	4 artiklan 1, 2 ja 3 kohta
4 artiklan 4 kohdan i ja ii alakohta	4 artiklan 4 kohdan a ja b alakohta
4 artiklan 5 kohdan a alakohdan ensimmäinen–kuudes luetelmakohta	4 artiklan 5 kohdan a alakohdan i–vi alakohta
4 artiklan 5 kohdan b alakohta	4 artiklan 5 kohdan b alakohta
4 artiklan 6 kohdan ensimmäisen alakohdan ensimmäinen–kahdeksas luetelmakohta	4 artiklan 6 kohdan ensimmäisen alakohdan a–h alakohta
4 artiklan 6 kohdan toinen ja kolmas alakohta	4 artiklan 6 kohdan toinen ja kolmas alakohta
5 artiklan 1 kohta	5 artiklan 1 kohta
5 artiklan 2 kohdan a alakohta	5 artiklan 2 kohdan ensimmäisen alakohdan a ja b alakohta
5 artiklan 2 kohdan b alakohta	5 artiklan 2 kohdan toisen alakohdan a ja b alakohta
5 artiklan 2 kohdan c alakohta	5 artiklan 3 kohta
5 artiklan 2 kohdan d alakohta	5 artiklan 4 kohta
5 artiklan 3 kohdan a ja b alakohta	5 artiklan 5 kohdan a ja b alakohta
5 artiklan 3 kohdan c alakohdan ensimmäinen ja toinen luetelmakohta	5 artiklan 5 kohdan c alakohdan ensimmäisen alakohdan i ja ii alakohta
5 artiklan 3 kohdan c alakohdan toisen luetelmakohdan viimeinen virke	5 artiklan 5 kohdan c alakohdan toinen alakohta
5 artiklan 3 kohdan d ja e alakohta	5 artiklan 5 kohdan d ja e alakohta
6 artikla	6 artikla
7 artikla	7 artikla
8 artiklan 1 kohdan ensimmäisen alakohdan ensimmäinen ja toinen luetelmakohta	8 artiklan 1 kohdan a ja b alakohta
8 artiklan 1 kohdan toinen alakohta	8 artiklan 2 kohta
8 artiklan 2 kohta	8 artiklan 3 kohta
9 artikla	9 artikla
10 artikla	10 artikla

▼**B**

Direktiivi 90/426/ETY	Tämä direktiivi
11 artiklan 1 kohta	11 artikla
11 artiklan 2 kohta	—
12 artikla	12 artikla
13 artikla	13 artikla
14 artikla	14 artikla
15 artikla	15 artikla
16 artiklan 1 kohdan a–f alakohta	16 artiklan 1 kohdan a–f alakohta
16 artiklan 1 kohdan viimeinen virke	—
16 artiklan 2 kohta	16 artiklan 2 kohta
17 artikla	18 artikla
18 artikla	17 artikla
19 artiklan i–iv alakohta	19 artiklan a–d alakohta
22 artikla	—
23 artikla	20 artikla
24 artiklan 1 ja 2 kohta	21 artiklan 1 ja 2 kohta
24 artiklan 3 kohta	—
25 artiklan 1 ja 2 kohta	21 artiklan 1 ja 3 kohta
26 artikla	—
27 artikla	—
—	22 artikla
—	23 artikla
28 artikla	24 artikla
Liite A	Liite I
Liite B	Liite II
Liite C	Liite III
Liite D	Liite IV
—	Liite V
—	Liite VI