

Il presente testo è un semplice strumento di documentazione e non produce alcun effetto giuridico. Le istituzioni dell'Unione non assumono alcuna responsabilità per i suoi contenuti. Le versioni facenti fede degli atti pertinenti, compresi i loro preamboli, sono quelle pubblicate nella Gazzetta ufficiale dell'Unione europea e disponibili in EUR-Lex. Tali testi ufficiali sono direttamente accessibili attraverso i link inseriti nel presente documento

► **B**

DIRETTIVA 2009/156/CE DEL CONSIGLIO

del 30 novembre 2009

relativa alle condizioni di polizia sanitaria che disciplinano i movimenti di equidi e le importazioni di equidi in provenienza dai paesi terzi

(versione codificata)

(Testo rilevante ai fini del SEE)

(GU L 192 del 23.7.2010, pag. 1)

Modificata da:

Gazzetta ufficiale

		n.	pag.	data
► <u>M1</u>	Direttiva 2013/20/UE del Consiglio del 13 maggio 2013	L 158	234	10.6.2013
► <u>M2</u>	Decisione di esecuzione (UE) 2016/1840 della Commissione del 14 ottobre 2016	L 280	33	18.10.2016

**DIRETTIVA 2009/156/CE DEL CONSIGLIO****del 30 novembre 2009****relativa alle condizioni di polizia sanitaria che disciplinano i movimenti di equidi e le importazioni di equidi in provenienza dai paesi terzi****(versione codificata)****(Testo rilevante ai fini del SEE)**

CAPO I

DISPOSIZIONI GENERALI*Articolo 1*

La presente direttiva definisce le condizioni di polizia sanitaria che disciplinano i movimenti di equidi tra Stati membri e le importazioni di equidi in provenienza dai paesi terzi.

Articolo 2

Ai fini della presente direttiva, si intende per:

- a) «azienda», l'azienda agricola o di addestramento, la stalla o, in generale, qualsiasi locale o impianto in cui siano tenuti o allevati abitualmente equidi, indipendentemente dal loro impiego;
- b) «equidi», gli animali domestici o selvatici della specie equina — comprese le zebre — o asinina o gli animali derivati dall'incrocio di tali specie;
- c) «equide registrato», qualsiasi equide registrato in conformità della definizione di cui alla direttiva 90/427/CEE del Consiglio, del 26 giugno 1990, relativa alle norme zootecniche e genealogiche che disciplinano gli scambi intracomunitari di equidi⁽¹⁾, identificato per mezzo di un documento di identificazione rilasciato:
 - i) dall'autorità di allevamento o da qualsiasi altra competente autorità del paese di origine dell'equide, la quale tenga il libro genealogico o il registro della razza dell'equide; o
 - ii) da qualsiasi associazione o organismo internazionale che gestisca cavalli per competizioni o corse;
- d) «equidi da macello», gli equidi destinati a essere condotti al macello per esservi macellati o direttamente o dopo essere transitati per un centro di raccolta riconosciuto di cui all'articolo 7;
- e) «equidi di allevamento e da reddito», gli equidi diversi da quelli menzionati alle lettere c) e d);
- f) «Stato membro o paese terzo indenne da peste equina», qualsiasi Stato membro o paese terzo sul cui territorio nessuna prova clinica, sierologica (se gli equini non sono vaccinati) o epidemiologica abbia permesso di accertare la presenza di peste equina nel corso degli ultimi due anni e in cui la vaccinazione contro questa malattia non sia stata effettuata nel corso degli ultimi dodici mesi;

⁽¹⁾ GU L 224 del 18.8.1990, pag. 55.

▼B

- g) «malattie soggette all'obbligo di denuncia», le malattie elencate all'allegato I;
- h) «veterinario ufficiale», il veterinario designato dalla competente autorità centrale dello Stato membro o di un paese terzo;
- i) «ammissione temporanea», la condizione giuridica di un equide registrato proveniente da un paese terzo e ammesso nel territorio della Comunità per un periodo, non superiore a 90 giorni, che dovrà essere fissato secondo la procedura di cui all'articolo 21, paragrafo 2, in funzione della situazione sanitaria del paese d'origine.

CAPO II

REGOLE PER I MOVIMENTI DI EQUIDI TRA STATI MEMBRI*Articolo 3*

Uno Stato membro autorizza il movimento nel proprio territorio di equidi registrati e spedisce equidi verso il territorio di un altro Stato membro soltanto se detti equidi soddisfano le condizioni di cui agli articoli 4 e 5.

Tuttavia, le autorità competenti degli Stati membri di destinazione possono accordare deroghe generali o limitate per i movimenti di equidi:

- che siano montati o trasportati a scopo sportivo o ricreativo su strade che si trovano in prossimità delle frontiere interne della Comunità,
- che partecipino a manifestazioni culturali o di tipo analogo o ad attività organizzate da organismi locali abilitati, situati in prossimità delle frontiere interne della Comunità,
- che siano destinati esclusivamente al pascolo o al lavoro temporaneo in prossimità delle frontiere interne della Comunità.

Gli Stati membri che utilizzano questa autorizzazione informano la Commissione del contenuto delle deroghe accordate.

Articolo 4

1. Gli equidi non devono presentare alcun segno clinico di malattia al momento dell'ispezione. L'ispezione deve essere effettuata nelle 48 ore che precedono l'imbarco o il carico. Tuttavia, per gli equidi registrati, questa ispezione è richiesta solo per gli scambi intracomunitari, fatto salvo l'articolo 6.

2. Fatti salvi i requisiti di cui al paragrafo 5 per quanto riguarda le malattie soggette all'obbligo di denuncia, il veterinario ufficiale deve assicurarsi — al momento dell'ispezione — in base alle dichiarazioni del proprietario e dell'allevatore, che nulla permetta di concludere che gli equidi siano stati in contatto con equidi infetti o affetti da malattia contagiosa nei quindici giorni precedenti l'ispezione.

▼B

3. Gli equidi non devono essere animali da eliminare nel quadro di un programma di eradicazione di una malattia infettiva o contagiosa, posto in atto in uno Stato membro.

4. Gli equidi devono essere soggetti a identificazione cui si dovrà procedere:

a) per gli equidi registrati, mediante un documento di identificazione previsto nella direttiva 90/427/CEE; detto documento deve attestare in particolare il rispetto dei paragrafi 5 e 6 del presente articolo e dell'articolo 5 della presente direttiva.

La validità del documento di identificazione deve essere sospesa dal veterinario ufficiale per tutta la durata dei divieti di cui al paragrafo 5 del presente articolo o all'articolo 5 della presente direttiva. Il documento di identificazione deve essere restituito all'autorità che l'ha rilasciato dopo l'abbattimento del cavallo registrato. Le modalità di applicazione del presente punto sono adottate secondo la procedura di cui all'articolo 21, paragrafo 2;

b) per gli equidi da allevamento e da reddito, secondo il metodo determinato secondo la procedura di cui all'articolo 21, paragrafo 2.

5. Oltre a quanto stabilito all'articolo 5, gli equidi non devono provenire da un'azienda oggetto di una delle seguenti misure di divieto:

a) Qualora non siano stati abbattuti o ammazzati tutti gli animali che si trovano nell'azienda, delle specie sensibili alla malattia, la durata del divieto per l'azienda di provenienza deve essere pari ad almeno:

i) nel caso in cui si sospetti che gli equidi siano colpiti da durina, sei mesi a decorrere dalla data dell'ultimo contatto o del possibile contatto con un equide malato. Ove si tratti di uno stallone, il divieto vige fino alla sua castrazione;

ii) in caso di morva e di encefalomyelitis equina, sei mesi a decorrere dalla data in cui gli equidi infetti sono stati eliminati;

iii) in caso di anemia infettiva, il periodo necessario perché, a decorrere dalla data in cui gli equidi infetti sono stati eliminati, gli animali restanti abbiano reagito negativamente a due test di Coggins effettuati ad un intervallo di tre mesi;

iv) sei mesi a decorrere dall'ultimo caso di stomatite vescicolosa accertata;

v) un mese a decorrere dall'ultimo caso di rabbia accertata;

vi) quindici giorni a decorrere dall'ultimo caso di carbonchio ematico accertato.

▼B

- b) Qualora tutti gli animali delle specie sensibili che si trovano nell'azienda siano stati abbattuti o ammazzati e i locali siano stati disinfettati, la durata del divieto è di trenta giorni a decorrere dalla data in cui gli animali sono stati eliminati e i locali disinfettati, tranne quando si tratta del carbonchio ematico, nel qual caso la durata del divieto è di quindici giorni.

Le autorità competenti possono derogare a queste misure di divieto per gli ippodromi e i campi di corse ed esse informano la Commissione della natura delle deroghe accordate.

6. ►**M1** Nel caso in cui uno Stato membro stabilisca o abbia stabilito un programma facoltativo o obbligatorio di lotta contro una malattia cui gli equidi siano sensibili, esso può sottoporre detto programma alla Commissione, entro sei mesi a decorrere dal 4 luglio 1990 per Belgio, Danimarca, Germania, Irlanda, Grecia, Spagna, Francia, Italia, Lussemburgo, Paesi Bassi, Portogallo e Regno Unito, a decorrere dal 1° gennaio 1995 per Austria, Finlandia e Svezia, a decorrere dal 1° maggio 2004 per Repubblica ceca, Estonia, Cipro, Lettonia, Lituania, Ungheria, Malta, Polonia, Slovenia e Slovacchia, a decorrere dal 1° gennaio 2007 per Bulgaria e Romania e a decorrere dal 1° luglio 2013 per la Croazia, precisando in particolare: ◀

- a) la situazione della malattia nel proprio territorio;
- b) la giustificazione del programma, tenuto conto dell'importanza della malattia e dei vantaggi costo/beneficio;
- c) la zona geografica in cui il programma deve essere applicato;
- d) i vari statuti da applicare alle aziende e le norme che devono essere osservate per ciascuna specie, nonché le procedure per le prove;
- e) le procedure di controllo del programma;
- f) la conseguenza da trarre in caso di perdita dello statuto di azienda per una qualsiasi ragione;
- g) le misure da prendere in caso di risultati positivi constatati al momento dei controlli effettuati conformemente alle disposizioni del programma;
- h) la non discriminazione tra gli scambi sul territorio dello Stato membro interessato e gli scambi intracomunitari.

La Commissione esamina i programmi comunicati dagli Stati membri. Se necessario, essa li approva, rispettando i criteri di cui al primo comma secondo la procedura di cui all'articolo 21, paragrafo 2. Secondo la stessa procedura, possono essere precisate garanzie complementari generali o limitate esigibili negli scambi intracomunitari. Dette garanzie devono essere al massimo equivalenti a quelle che lo Stato membro applica nell'ambito nazionale.

▼B

I programmi presentati dagli Stati membri possono essere modificati o completati secondo la procedura di cui all'articolo 21, paragrafo 3. Secondo la stessa procedura, può essere approvata una modifica o un'aggiunta a un programma precedentemente approvato e alle garanzie definite conformemente al secondo comma.

Articolo 5

1. Gli Stati membri non indenni da peste equina possono spedire equidi in provenienza dalla parte di territorio considerata infetta ai sensi del paragrafo 2 del presente articolo soltanto alle condizioni stabilite nel paragrafo 5.

2. Una parte del territorio di uno Stato membro è considerata infetta da peste equina qualora:

- a) nei due anni precedenti, prove cliniche, sierologiche (negli animali non vaccinati) e/o epidemiologiche abbiano permesso di accertare la presenza di peste equina; o
- b) nei dodici mesi precedenti sia stata praticata la vaccinazione contro la peste equina.

La parte del territorio considerata infetta da peste equina è composta almeno:

- a) da una zona di protezione con un raggio minimo di 100 km intorno a ogni focolaio;
- b) da una zona di sorveglianza profonda almeno 50 km, che si estenda oltre i limiti della zona di protezione e in cui nei dodici mesi precedenti non sia stata praticata alcuna vaccinazione.

3. Le regole per il controllo e le misure per la lotta contro la peste equina per i territori e le zone previsti al paragrafo 2, nonché le relative deroghe sono precisate nella direttiva 92/35/CEE del Consiglio, del 29 aprile 1992, che fissa le norme di controllo e le misure di lotta contro la peste equina ⁽¹⁾.

4. Tutti gli equidi vaccinati presenti nella zona di protezione devono essere registrati e marchiati conformemente all'articolo 6, paragrafo 1, lettera d), della direttiva 92/35/CEE.

Nel documento di identificazione e/o sul certificato sanitario deve figurare chiaramente l'indicazione di tale vaccinazione.

5. Uno Stato membro può spedire dal territorio di cui al paragrafo 2, secondo comma soltanto equidi che soddisfino i requisiti seguenti:

- a) essere spediti unicamente in certi periodi dell'anno, in funzione dell'attività degli insetti vettori, da fissare secondo la procedura di cui all'articolo 21, paragrafo 3;
- b) non presentare alcun segno clinico di peste equina il giorno dell'ispezione di cui all'articolo 4, paragrafo 1;

⁽¹⁾ GU L 157 del 10.6.1992, pag. 19.

▼B

- c) aver subito, per due volte, la prova per la peste equina descritta all'allegato IV, ad un intervallo compreso tra ventuno e trenta giorni; la seconda prova deve essere effettuata entro i dieci giorni che precedono la spedizione:
- i) con un risultato negativo, se non sono stati vaccinati contro la peste equina; o
 - ii) senza che sia stato constatato un rialzo di anticorpi e senza aver effettuato la vaccinazione nei due mesi precedenti, se sono stati vaccinati contro la peste equina.
- In conformità alla procedura di cui all'articolo 21, paragrafo 2, e previo parere dell'Autorità europea per la sicurezza alimentare, altri metodi di controllo possono essere riconosciuti;
- d) essere stati tenuti in un centro di quarantena per un periodo minimo di quaranta giorni prima della spedizione;
- e) essere stati protetti dagli insetti vettori durante il periodo di quarantena e nel corso del trasporto dal centro di quarantena al luogo di spedizione.

Articolo 6

Gli Stati membri che applicano un regime alternativo di controllo che offra garanzie alternative equivalenti a quelle previste all'articolo 4, paragrafo 5 per i movimenti degli equidi sul proprio territorio, possono accordare — su base reciproca — una deroga all'articolo 4, paragrafo 1, seconda frase e all'articolo 8, paragrafo 1, lettera b).

Essi ne informano la Commissione.

Articolo 7

1. Gli equidi debbono essere trasportati, entro il più breve tempo possibile, dall'azienda di provenienza al luogo di destinazione, direttamente o tramite un centro di raccolta autorizzati, quali definiti all'articolo 2, paragrafo 2, lettera o), della direttiva 64/432/CEE del Consiglio, del 26 giugno 1964, relativa a problemi di polizia sanitaria in materia di scambi intracomunitari di animali delle specie bovina e suina ⁽¹⁾, mediante mezzi di trasporto e di contenzione regolarmente puliti e disinfettati con un disinfettante, secondo una frequenza che deve essere stabilita dallo Stato membro di spedizione. I veicoli adibiti al trasporto devono essere concepiti in modo che le feci, lo strame o il foraggio degli equidi non possano colare o cascare dal veicolo durante il trasporto. Fatto salvo il regolamento (CE) n. 1/2005, le modalità del trasporto debbono assicurare una protezione sanitaria efficace e il benessere degli equidi.

2. Lo Stato membro di destinazione può, in modo generale o limitato, accordare una deroga per quanto riguarda taluni requisiti di cui all'articolo 4, paragrafo 5, purché l'animale sia munito di un marchio particolare indicante che esso è destinato al macello e purché la menzione della deroga figuri sul certificato sanitario in conformità dell'allegato III.

⁽¹⁾ GU L21 del 29.7.1964, pag. 1977.

▼B

Se è accordata una deroga, gli equidi da macello devono essere trasportati direttamente nel mattatoio designato affinché siano macellati entro un termine non superiore a 5 giorni dopo l'arrivo al mattatoio.

3. Il veterinario ufficiale deve annotare in un registro il numero di identificazione o il numero del documento di identificazione dell'equide abbattuto e trasmettere all'autorità competente del luogo di spedizione, a sua richiesta, un attestato che certifichi l'avvenuto abbattimento dell'equide.

Articolo 8

1. Gli Stati membri provvedono affinché:

a) se lasciano l'azienda, gli equidi registrati siano accompagnati dal documento di identificazione di cui all'articolo 4, paragrafo 4, lettera a), corredato dell'attestato sanitario di cui all'allegato II nel caso in cui detti equidi siano destinati agli scambi intracomunitari;

b) durante il trasporto, gli equidi da allevamento, da produzione e da macello siano accompagnati da un certificato sanitario conforme all'allegato III.

2. Il certificato sanitario o, nel caso di equidi registrati, l'attestato sanitario, devono — fatto salvo l'articolo 6 — essere compilati rispettivamente 48 ore prima dell'imbarco o al più tardi l'ultimo giorno lavorativo che precede l'imbarco, nella lingua ufficiale o nelle lingue ufficiali dello Stato membro di spedizione e di destinazione. La validità del certificato o dell'attestato sanitario è di dieci giorni. Il certificato o l'attestato sanitario devono constare di un solo foglio.

3. Per i movimenti tra gli Stati membri, gli equidi che non siano equidi registrati, possono essere coperti da un unico certificato sanitario per tutta la fornitura anziché dal certificato sanitario individuale di cui al paragrafo 1, lettera b).

Articolo 9

Le norme previste dalla direttiva 90/425/CEE si applicano segnatamente per quanto riguarda i controlli all'origine, l'organizzazione e gli esiti dei controlli da effettuare da parte dello Stato membro destinatario e le misure di salvaguardia da attuare.

Articolo 10

Gli esperti veterinari della Commissione possono procedere a controlli in loco, nella misura in cui sia necessario per l'applicazione uniforme della presente direttiva e in collaborazione con le autorità nazionali competenti. La Commissione informa gli Stati membri del risultato dei controlli effettuati.

Lo Stato membro sul cui territorio viene effettuato un simile controllo fornisce agli esperti tutta l'assistenza necessaria per l'espletamento dei compiti loro assegnati.

▼B

Le modalità di applicazione del presente articolo sono stabilite secondo la procedura di cui all'articolo 21, paragrafo 2.

CAPO III

NORME PER LE IMPORTAZIONI DI EQUIDI IN PROVENIENZA DA PAESI TERZI*Articolo 11*

Gli equidi importati nella Comunità devono soddisfare le condizioni stabilite negli articoli da 12 a 16.

Articolo 12

1. L'importazione nella Comunità di equidi è autorizzata unicamente in provenienza da paesi terzi autorizzati che figurano in un elenco da stilare o modificare secondo la procedura di cui all'articolo 21, paragrafo 2.

Alla luce della situazione sanitaria nel paese terzo interessato e delle garanzie fornite da quest'ultimo per quanto riguarda gli equidi, si può decidere, secondo la procedura di cui all'articolo 21, paragrafo 2, che l'autorizzazione prevista dal primo comma del presente paragrafo si applichi all'intero territorio del paese terzo o solo a una parte di questo.

A tale scopo e sulla base delle norme internazionali pertinenti, si terrà conto delle modalità di applicazione di tali norme da parte del paese terzo, in particolare del principio della regionalizzazione all'interno del suo territorio, tenuto conto delle norme sanitarie relative alle importazioni provenienti da altri paesi terzi e della Comunità.

2. Nell'elaborare o modificare l'elenco di cui al paragrafo 1, si tiene conto in particolare:

- a) dello stato di salute degli equidi, di altri animali domestici e della fauna selvatica del paese terzo, prestando particolare attenzione alle malattie animali esotiche e a tutti gli aspetti della situazione sanitaria e ambientale generale del paese, nella misura in cui essa possa rappresentare un rischio per la situazione sanitaria e ambientale della Comunità;
- b) della legislazione del paese terzo in materia di salute e benessere degli animali;
- c) dell'organizzazione dell'autorità veterinaria competente e dei suoi servizi ispettivi, dei poteri di questi ultimi, della sorveglianza cui essi sono soggetti, nonché dei mezzi di cui essi dispongono, anche sul piano del personale e delle capacità di laboratorio, ai fini della corretta applicazione della legislazione nazionale;
- d) delle garanzie che l'autorità veterinaria competente del paese terzo può dare per quanto riguarda la conformità con le condizioni di polizia sanitaria in vigore nella Comunità o l'applicazione di condizioni equivalenti;

▼B

- e) dell'appartenenza del paese terzo all'Organizzazione mondiale per la salute animale (OIE), nonché della regolarità e della rapidità delle informazioni fornite da tale paese circa l'esistenza di malattie equine infettive o contagiose sul suo territorio, in particolare di malattie registrate dall'OIE ed elencate nell'allegato I alla presente direttiva;
- f) delle garanzie fornite dal paese terzo circa l'informazione diretta della Commissione e degli Stati membri:
 - i) entro 24 ore, della conferma della presenza di una malattia equina infettiva di cui all'allegato I e di ogni cambiamento nella politica di vaccinazione contro tali malattie;
 - ii) entro un termine adeguato, di ogni modifica proposta delle norme sanitarie nazionali relative agli equidi, in particolare per quanto concerne le importazioni;
 - iii) a intervalli regolari, della situazione zoosanitaria del suo territorio per quanto riguarda gli equidi;
- g) di ogni esperienza in materia di importazioni di equidi vivi provenienti dal paese terzo e dei risultati di eventuali controlli effettuati all'importazione;
- h) dei risultati delle ispezioni e/o dei controlli comunitari realizzati nel paese terzo, in particolare dei risultati della valutazione effettuata dalle autorità competenti o, su richiesta della Commissione, della relazione presentata dalle autorità competenti sulle ispezioni condotte;
- i) delle norme in vigore nel paese terzo in materia di prevenzione e di lotta contro le malattie animali infettive o contagiose e della loro applicazione, comprese le disposizioni relative alle importazioni di equidi provenienti da altri paesi terzi.

3. La Commissione adotta le disposizioni necessarie affinché le versioni aggiornate dell'elenco redatto o modificato a norma del paragrafo 1 siano accessibili al pubblico.

Tale elenco può essere combinato con altri elenchi redatti per proteggere la salute degli animali e la salute pubblica e può includere anche modelli di certificati sanitari.

4. Le condizioni particolari di importazione per ciascun paese terzo o gruppo di paesi terzi, alla luce della situazione zoosanitaria, per quanto riguarda gli equidi, del paese terzo o dei paesi terzi interessati, sono stabilite secondo la procedura di cui all'articolo 21, paragrafo 2.

5. Le modalità d'applicazione dei paragrafi da 1 a 4, nonché i criteri di iscrizione dei paesi terzi o di parti dei paesi terzi nell'elenco previsto al paragrafo 1 possono essere adottate secondo la procedura di cui all'articolo 21, paragrafo 2.

Articolo 13

1. Gli equidi devono provenire da un paese terzo:
 - a) indenne da peste equina;
 - b) indenne da due anni da encefalomielite equina venezuelana (VEE);
 - c) indenne da sei mesi da durina e da morva.

▼B

2. Secondo la procedura di cui all'articolo 21, paragrafo 2, può essere deciso:

a) che il paragrafo 1 del presente articolo è applicabile soltanto a una parte del territorio di un paese terzo.

In caso di regionalizzazione dei requisiti per la peste equina, devono essere almeno rispettate le misure di cui all'articolo 5, paragrafi 2 e 5;

b) che si possono esigere ulteriori garanzie per malattie esotiche per la Comunità.

Articolo 14

Prima del giorno in cui sono caricati per essere spediti nello Stato membro destinatario, gli equidi devono essere stati ininterrottamente nel territorio o in parte del territorio del paese terzo o, in caso di regionalizzazione, nella parte del territorio definita in applicazione dell'articolo 13, paragrafo 2, lettera a), per un periodo che verrà fissato al momento dell'adozione delle decisioni da prendere a norma dell'articolo 15.

Essi devono provenire da un'azienda posta sotto controllo veterinario.

Articolo 15

Le importazioni di equidi dal territorio di un paese terzo o da una parte di territorio di un paese terzo definita conformemente all'articolo 13, paragrafo 2, lettera a), figurante nell'elenco di cui all'articolo 12, paragrafo 1, possono aver luogo unicamente se, oltre ai requisiti di cui all'articolo 13:

a) essi rispondono alle norme di polizia sanitaria adottate, secondo la procedura di cui all'articolo 21, paragrafo 2, per le importazioni di equidi in provenienza da tale paese in funzione della specie in questione e delle categorie di equidi.

Per stabilire tali requisiti di polizia sanitaria, si applicano, come base di riferimento, le norme previste agli articoli 4 e 5; e

b) qualora si tratti di paesi terzi non indenni da stomatite vescicolosa o da arterite virale da almeno sei mesi, gli equidi devono soddisfare le seguenti condizioni:

i) gli equidi devono provenire da un'azienda indenne da stomatite vescicolosa da almeno sei mesi e avere reagito negativamente a una prova sierologica prima della loro spedizione;

ii) per l'arterite virale, gli equidi maschi devono — fatto salvo il disposto dell'articolo 19, lettera b) — aver reagito negativamente a una prova sierologica o a un virus d'isolamento o a qualsiasi altra prova che sia riconosciuta secondo la procedura di cui all'articolo 21, paragrafo 2, e che garantisca che l'animale è indenne da tale malattia.

▼B

Secondo la procedura di cui all'articolo 21, paragrafo 2, e previo parere dell'Autorità europea per la sicurezza alimentare, si possono delimitare le categorie di equidi maschi cui si applica questa condizione.

Articolo 16

1. Gli equidi devono essere identificati conformemente all'articolo 4, paragrafo 4, ed essere scortati da un certificato sanitario compilato da un veterinario ufficiale del paese terzo esportatore. Il certificato sanitario deve:

- a) essere rilasciato il giorno del carico degli equidi per la spedizione verso lo Stato membro destinatario ovvero, qualora si tratti di cavalli registrati, l'ultimo giorno lavorativo precedente l'imbarco;
- b) essere redatto almeno in una delle lingue ufficiali dello Stato membro destinatario e in una di quelle dello Stato membro in cui viene effettuato il controllo all'importazione;
- c) accompagnare gli animali nell'esemplare originale;
- d) attestare che gli equidi rispondono alle norme previste nella presente direttiva e a quelle stabilite in applicazione della stessa per le importazioni dal paese terzo;
- e) constare di un solo foglio;
- f) essere rilasciato per un solo destinatario o, nel caso di equidi da macello, per una fornitura debitamente marchiata e identificata.

Gli Stati membri informano la Commissione se fanno uso di tale possibilità.

2. Il certificato sanitario deve essere redatto su un formulario conforme a un modello stabilito secondo la procedura di cui all'articolo 21, paragrafo 2.

Articolo 17

1. Al loro arrivo nello Stato membro destinatario, gli equidi da macello devono essere condotti direttamente o dopo essere transitati per un centro di raccolta di cui all'articolo 7, in un macello ed essere abbattuti conformemente ai requisiti di polizia sanitaria entro un termine che deve essere fissato al momento dell'adozione delle decisioni da prendere in applicazione dell'articolo 15.

2. Fatte salve le norme particolari eventualmente stabilite secondo la procedura di cui all'articolo 21, paragrafo 2, l'autorità competente dello Stato membro destinatario può, per motivi di polizia sanitaria, designare il macello verso cui gli equidi devono essere avviati.

Articolo 18

Esperti veterinari degli Stati membri e della Commissione effettuano controlli in loco per verificare se le disposizioni della presente direttiva, e in particolare quelle dell'articolo 12, paragrafo 2, sono effettivamente applicate.

▼B

Se, nel corso di un'ispezione effettuata in applicazione del presente articolo si riscontrano fatti gravi riguardo a un'azienda, la Commissione ne informa immediatamente gli Stati membri e adotta senza indugio una decisione di sospensione provvisoria dell'autorizzazione. La decisione finale al riguardo viene adottata secondo la procedura di cui all'articolo 21, paragrafo 3.

Gli esperti degli Stati membri incaricati di tali controlli sono designati dalla Commissione su proposta degli Stati membri.

Tali controlli sono svolti per conto della Comunità che si sobbarca le spese relative.

La periodicità e la modalità di detti controlli sono determinate secondo la procedura di cui all'articolo 21, paragrafo 2.

Articolo 19

Secondo la procedura di cui all'articolo 21, paragrafo 2:

- a) si possono limitare le importazioni in provenienza da un paese terzo o da una parte di paese terzo, a specie o categorie particolari di equidi;
- b) sono stabilite, in deroga all'articolo 15, le condizioni particolari secondo cui può essere effettuata l'ammissione temporanea nel territorio della Comunità, ovvero la reintroduzione in detto territorio dopo che è stata effettuata l'esportazione temporanea di equidi registrati o di equidi destinati a fini particolari;
- c) sono determinate le condizioni che consentono di trasformare un'ammissione temporanea in ammissione definitiva;
- d) si può designare un laboratorio comunitario di riferimento per una o più malattie degli equidi di cui all'allegato I e sono definite le funzioni, i compiti e le procedure per la collaborazione con i laboratori incaricati della diagnosi delle malattie infettive degli equidi negli Stati membri.

CAPO IV

DISPOSIZIONI FINALI*Articolo 20*

Gli allegati da I a IV sono modificati secondo la procedura di cui all'articolo 21, paragrafo 3.

Articolo 21

1. La Commissione è assistita dal comitato permanente per la catena alimentare e la salute degli animali, istituito dall'articolo 58 del regolamento (CE) n. 178/2002 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 28 gennaio 2002, che stabilisce i principi e i requisiti generali della legislazione alimentare, istituisce l'Autorità europea per la sicurezza alimentare e fissa procedure nel campo della sicurezza alimentare⁽¹⁾.

⁽¹⁾ GU L 31 dell'1.2.2002, pag. 1.

▼B

2. Nei casi in cui è fatto riferimento al presente paragrafo, si applicano gli articoli 5 e 7 della decisione 1999/468/CE.

Il termine di cui all'articolo 5, paragrafo 6, della decisione 1999/468/CE è fissato a tre mesi.

3. Nei casi in cui è fatto riferimento al presente paragrafo, si applicano gli articoli 5 e 7 della decisione 1999/468/CE.

Il termine di cui all'articolo 5, paragrafo 6, della decisione 1999/468/CE è fissato a quindici giorni.

Articolo 22

La direttiva 90/426/CEE, modificata dagli atti elencati nell'allegato V, parte A, è abrogata, fatti salvi gli obblighi degli Stati membri relativi ai termini di recepimento nel diritto nazionale delle direttive di cui all'allegato V, parte B.

I riferimenti alla direttiva abrogata si intendono fatti alla presente direttiva e si leggono secondo la tavola di concordanza di cui all'allegato VI.

Articolo 23

La presente direttiva entra in vigore il ventesimo giorno successivo alla pubblicazione nella *Gazzetta ufficiale dell'Unione europea*.

Articolo 24

Gli Stati membri sono destinatari della presente direttiva.

▼B

ALLEGATO I

MALATTIE SOGGETTE A OBBLIGO DI DENUNCIA

Sono soggette a obbligo di denuncia le seguenti malattie:

- Durina
- Morva
- Encefalomyelitis equina (tutte le forme, compresa la VEE)
- Anemia infettiva
- Rabbia
- Carbonchio ematico
- Peste equina
- Stomatite vescicolare



ALLEGATO II

MODELLO

ATTESTATO SANITARIO ^(a)

Passaporto n.

Il sottoscritto certifica ^(b) che l'animale sopra indicato risponde alle condizioni seguenti:

a) è stato esaminato in data odierna e non presenta alcun segno clinico di malattia;

b) non deve essere eliminato nel quadro di un programma di eradicazione di una malattia infettiva o contagiosa in applicazione nello Stato membro;

c) — non proviene dal territorio o da una parte del territorio di uno Stato membro oggetto di misure restrittive a causa della peste equina, oppure

proviene dal territorio o da una parte del territorio di uno Stato membro oggetto di misure restrittive per motivi di polizia sanitaria ed è stato sottoposto con risultati soddisfacenti, nel centro di quarantena di fra il e il .. alle prove contemplate all'articolo 5, paragrafo 5, della direttiva 2009/156/CE ^(c),

— non è stato vaccinato contro la peste equina, oppure

è stato vaccinato contro la peste equina in data ^(c) ^(d);

d) non proviene da un allevamento cui si applicano misure di divieto per motivi di polizia sanitaria e non ha avuto contatti con gli equidi di un'azienda cui si applica un divieto per motivi di polizia sanitaria:

— per gli equidi sospetti di essere colpiti da durina, per la durata di sei mesi a decorrere dalla data dell'ultimo contatto o del possibile contatto con un equide malato. Tuttavia, ove si tratti di uno stallone, il divieto vige fino alla sua castrazione,

— in caso di morva e di encefalomyelite equina, per la durata di sei mesi a decorrere dalla data in cui gli equidi infetti sono stati eliminati,

— in caso di anemia infettiva, per il periodo necessario affinché, a decorrere dalla data in cui gli equidi infetti sono stati eliminati, gli animali restanti abbiano reagito negativamente a due test di Coggins effettuati a un intervallo di tre mesi,

— per la durata di sei mesi a decorrere dall'ultimo caso di stomatite vescicolosa,

— per la durata di un mese a decorrere dall'ultimo caso di rabbia,

— per la durata di quindici giorni a decorrere dall'ultimo caso di carbonchio ematico,

— se tutti gli animali dell'azienda appartenenti a specie sensibili sono stati macellati o abbattuti e se i locali sono stati disinfettati, per la durata di trenta giorni a decorrere dalla data di eliminazione degli animali e di disinfezione dei locali, tranne in caso di carbonchio ematico, per il quale la durata del divieto è di quindici giorni;

^(a) Il presente attestato non è richiesto in caso di accordo bilaterale concluso conformemente all'articolo 6 della direttiva 2009/156/CE.

^(b) Valido dieci giorni.

^(c) Cancellare la menzione inutile.

^(d) L'indicazione della vaccinazione deve figurare nel passaporto.

▼B

- e) non ha, a quanto mi consta, avuto contatti con equidi colpiti da malattia o da infezione contagiosa nel corso degli ultimi quindici giorni;
- f) al momento dell'ispezione era idoneo a essere trasportato lungo il tragitto previsto, conformemente alle disposizioni del regolamento (CE) n. 1/2005 ⁽⁴⁾.

Data	Luogo	Timbro e firma del veterinario ufficiale ⁽¹⁾

⁽¹⁾ Nome in stampatello e qualifica.

⁽⁴⁾ La presente dichiarazione non esenta i trasportatori dagli obblighi che incombono loro in virtù delle disposizioni comunitarie vigenti, in particolare per quanto riguarda l'idoneità degli animali al trasporto.



ALLEGATO III

MODELLO
CERTIFICATO SANITARIO
 Per gli scambi tra gli Stati membri
EQUIDI

COMUNITÀ EUROPEA		Certificato per gli scambi intracomunitari		
Parte I: Informazioni relative alla partita presentata	I.1. Speditore Nome Indirizzo Codice postale		I.2. Numero di riferimento del certificato	
			I.2.a. Numero di riferimento locale	
			I.3. Autorità centrale competente	
			I.4. Autorità locale competente	
	I.5. Destinatario Nome Indirizzo Codice postale		I.6. Numero di certificati originali annessi N° Documenti di accompagnamento	
			I.7.	
	I.8. Paese di origine	Codice ISO	I.9. Regione di origine	Codice
	I.10. Paese di destinazione	Codice ISO	I.11. Regione di destinazione	Codice
	I.12. Luogo di origine Azienda <input type="checkbox"/> Centro di raccolta degli animali <input type="checkbox"/> Altro <input type="checkbox"/> Nome Indirizzo Codice postale		I.13. Luogo di destinazione Azienda <input type="checkbox"/> Centro di raccolta degli animali <input type="checkbox"/> Stabilimento <input type="checkbox"/> Altro <input type="checkbox"/> Nome Indirizzo Codice postale	
	I.14. Luogo di carico Codice postale		I.15. Data e ora della partenza	
I.16. Mezzo di trasporto Aereo <input type="checkbox"/> Nave <input type="checkbox"/> Vagone <input type="checkbox"/> Autocarro <input type="checkbox"/> Altro <input type="checkbox"/> Identificazione		I.17. Trasportatore Nome Indirizzo Codice postale		
		Numero di riconoscimento		
		Stato membro		
I.18. Descrizione della merce		I.19. Codice del prodotto (codice NC)		
		I.20. Numero di animali/Peso lordo		
I.21.		I.22. Numero di colli		
I.23. Numero del sigillo e numero del container		I.24. Tipo di imballaggio		
I.25. Merce certificata per Allevamento <input type="checkbox"/> Equidi registrati <input type="checkbox"/> Macellazione <input type="checkbox"/> Altro <input type="checkbox"/>				
I.26. Transito in un paese terzo <input type="checkbox"/> Paese terzo Punto di uscita Punto di entrata		I.27. Transito negli Stati membri <input type="checkbox"/> Stato membro Stato membro Stato membro		
		Codice ISO Codice ISO Codice ISO		
I.28. Esportazione <input type="checkbox"/> Paese terzo Punto di uscita		I.29. Tempo previsto per il trasporto		
		Codice ISO Codice		
I.30. Ruolino di marcia Sì <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>				
I.31. Identificazione della merce Specie (Nome scientifico) Sistema di identificazione				



COMUNITÀ EUROPEA

Equidi registrati, equidi da allevamento e da reddito equidi da macello

		II.a. Numero di riferimento del certificato	II.b. Numero di riferimento locale
Parte II: Certificazione	II. Informazioni sanitarie ⁽¹⁾		
	Il sottoscritto certifica che l'equide (gli equidi) sopra indicato(i) risponde (rispondono) alle condizioni seguenti:		
	II.1.	è (sono) stato(i) esaminato(i) in data odierna e non presenta (presentano) alcun segno clinico di malattia;	
	II.2.	non deve/devono essere eliminato(i) nel quadro di un programma di eradicazione di una malattia contagiosa in applicazione nello Stato membro;	
	<i>a seconda dei casi</i> ⁽²⁾ II.3.	non proviene/provengono dal territorio o da una parte del territorio di uno Stato membro oggetto di misure restrittive a causa della peste equina;]	
	<i>oppure</i> ⁽²⁾ II.3.	proviene/provengono dal territorio o da una parte del territorio di uno Stato membro oggetto di misure restrittive a causa della peste equina, è/sono rimasto(i) per almeno 40 giorni prima della spedizione nella stazione di quarantena a prova di insetti vettore di e ha/hanno subito un test per la rilevazione di anticorpi contro il virus della peste equina di cui all'allegato IV della direttiva 2009/156/CE effettuato simultaneamente su campioni ematici prelevati in due fasi intervallate da un periodo di 21-30 giorni in data (<i>inserire data</i>) e durante i 10 giorni precedenti la spedizione in data (<i>inserire data</i>);	
	<i>a seconda dei casi</i> ⁽³⁾	[con esito negativo in ogni caso qualora non sia/fossero stato/stati vaccinato/vaccinati contro la peste equina;]	
	<i>oppure</i> ⁽²⁾	[senza aumento del numero di anticorpi qualora sia/fossero stato(i) vaccinato(i) contro la peste equina;]	
	<i>a seconda dei casi</i> ⁽³⁾ II.4.	non è/sono stato(i) vaccinato(i) contro la peste equina;]	
	<i>oppure</i> ⁽²⁾ II.4.	è/sono stato(i) vaccinato(i) contro la peste equina in data (<i>inserire data</i>),	
<i>a seconda dei casi</i> ⁽³⁾	[almeno due mesi prima della certificazione;]		
<i>oppure</i> ⁽²⁾	[almeno due mesi prima dell'ingresso nella stazione di quarantena;]		
II.5.	non proviene/provengono da aziende cui si applicano misure di divieto per motivi di polizia sanitaria che contemplano almeno una delle condizioni seguenti:		
<i>a seconda dei casi</i> ⁽³⁾	[non tutti gli animali dell'azienda appartenenti a specie sensibili di cui alle lettere da a) a g) qui di seguito sono stati macellati e il divieto era valido per:		
a)	nel caso degli equidi di cui si sospetti siano colpiti da durina,		
<i>a seconda dei casi</i> ⁽²⁾	[sei mesi a decorrere dalla data dell'ultimo contatto effettivo o possibile con un animale ammalato o infetto dal <i>Trypanosoma equiperdum</i> ;		
<i>oppure</i> ⁽²⁾	[nel caso degli stalloni, fino alla loro castrazione;]		
b)	in caso di morva, sei mesi a decorrere dalla data in cui l'equide affetto dalla malattia o sottoposto con esito positivo al test per il rilevamento del patogeno <i>Burkholderia mallei</i> o degli anticorpi contro tale patogeno, sono stati soppressi ed eliminati;		
c)	in caso di encefalomielite equina di qualsiasi tipo, sei mesi a decorrere dalla data in cui l'equide affetto dalla malattia è stato macellato, ad eccezione dell'infezione da virus della febbre del Nilo occidentale, per la quale il periodo di sei mesi inizia il giorno in cui l'animale infetto decede, è stato eliminato dall'azienda o è perfettamente guarito;		



COMUNITÀ EUROPEA

Equidi registrati, equidi da allevamento e da reddito equidi da macello

II. Informazioni sanitarie ⁽¹⁾	II.a. Numero di riferimento del certificato	II.b. Numero di riferimento locale
<p>d) in caso di anemia infettiva, il periodo necessario perché, a decorrere dalla data in cui gli equidi infetti sono stati eliminati, gli animali restanti abbiano reagito negativamente a due test di Coggins effettuati su campioni ematici prelevati in due fasi con un intervallo di tre mesi;</p> <p>e) in caso di stomatite vescicolosa, sei mesi a decorrere dall'ultimo caso;</p> <p>f) in caso di rabbia, un mese a decorrere dall'ultimo caso;</p> <p>g) in caso di carbonchio ematico, 15 giorni a decorrere dall'ultimo caso;]</p> <p><i>oppure</i> ⁽²⁾ [in seguito a casi di durina, morva, encefalomielite equina di qualsiasi tipo, anemia infettiva, stomatite vescicolosa, carbonchio ematico o rabbia tutti gli animali dell'azienda delle specie sensibili alle malattie in questione sono stati macellati o soppressi e il divieto era valido almeno 30 giorni, oppure 15 giorni in caso di carbonchio ematico, a decorrere dalla data in cui, dopo la distruzione degli animali, la disinfezione dei locali è stata ultimata in modo soddisfacente;]</p> <p>II.6. non ha/hanno, a quanto mi consta, avuto contatti con equidi colpiti da malattia o da infezione contagiosa nel corso degli ultimi quindici giorni;</p> <p>II.7. al momento dell'ispezione era/erano idoneo/i a essere trasportato/i lungo il tragitto previsto, conformemente alle disposizioni del regolamento (CE) n. 1/2005 ⁽³⁾.</p>		
Note		
Parte I		
Riquadro I.6: corrisponde al numero di autorizzazione CITES per gli equidi elencati dalla convenzione di Washington sulle specie protette e relativi prodotti.		
Riquadro I.16: numero di immatricolazione (carrì ferroviari o container e autocarri), numero del volo (aeromobili) o nome (nave).		
Riquadro I.19: utilizzare il codice appropriato del sistema armonizzato (SA) dell'Organizzazione mondiale delle dogane: 01.01.01 oppure 01.01.06.19		
Riquadro I.31: specie: Cavalli, asini, muli, bardotti, zebre (compresi gli incroci).		
Sistema di identificazione: fino al 31 dicembre 2009 corrisponde al numero di identificazione di cui all'articolo 2 della decisione 2000/68/CE della Commissione e a decorrere dal 1° gennaio 2010 al numero unico di identificazione a vita di cui all'articolo 2, lettera d), e all'allegato I, sezione 1, parte A, del regolamento (CE) n. 504/2008 della Commissione.		
Parte II		
⁽¹⁾ Le informazioni dei punti da II.1 a II.6 non sono richieste in caso di accordo bilaterale concluso conformemente all'articolo 6 della direttiva 2009/156/CE.		
⁽²⁾ Depennare le diciture non appropriate.		
⁽³⁾ La presente dichiarazione non esenta i trasportatori dagli obblighi che incombono loro in virtù delle disposizioni comunitarie vigenti, in particolare per quanto riguarda l'idoneità degli animali da trasportare.		
— Il presente certificato è valido 10 giorni.		
— Il timbro e la firma devono essere di colore diverso da quello delle altre diciture contenute nel certificato.		
Veterinario ufficiale o ispettore ufficiale		
Nome (in lettere maiuscole):	Qualifica e titolo:	
Unità veterinaria locale:	Numero dell'UVL corrispondente	
Data:	Firma:	
Timbro:		

▼ M2

ALLEGATO IV

PESTE EQUINA

DIAGNOSI

PARTE A

Prove sierologiche

Il metodo sierologico descritto qui di seguito consiste in saggi immunoassorbenti legati a enzima (*enzyme-linked immunosorbent assays* — ELISA) basati sul capitolo 2.5.1, sezione B, punto 2, del manuale dei test diagnostici e dei vaccini per gli animali terrestri, edizione 2016 adottata dall'Assemblea generale dei delegati dell'OIE nel maggio 2012.

La proteina virale VP7 è un importante antigene immunodominante del virus della peste equina (*African horse sickness virus* — AHSV) ed è conservata nei nove sierotipi dell'AHSV. Le proteine VP7 ricombinanti dell'AHSV si sono dimostrate stabili, innocue e idonee ad essere utilizzate come antigeni nelle procedure ELISA per la determinazione degli anticorpi dell'AHSV con un elevato grado di sensibilità e specificità [Laviada et al., 1992b ⁽¹⁾; Maree e Paweska, 2005]. Il test ELISA indiretto e il test ELISA bloccante sono i due test ELISA sull'AHS-VP7 idonei per la diagnosi sierologica della peste equina (*African horse sickness* — AHS).

1. **Test ELISA indiretto per l'individuazione di anticorpi contro il virus della peste equina (AHSV)**

Il coniugato utilizzato in questo metodo è la gammaglobulina anti-cavallo con perossidasi di rafano che reagisce con il siero di cavalli, muli e asini. Il metodo descritto da Maree & Paweska (2005) ⁽²⁾ utilizza la proteina G come coniugato che reagisce anche con il siero di zebra.

L'antigene può essere fornito dal Centro de Investigación en Sanidad Animal (CISA), Spagna, entro 4-6 mesi dalla richiesta.

1.1. *Procedura della prova*

1.1.1. Fase solida

1.1.1.1. Ricoprire le piastre ELISA con la proteina VP7 ricombinante dell'AHSV-4 diluita in un tampone di carbonato/bicarbonato a pH 9,6. Incubare le piastre per una notte a una temperatura di 4 °C.

1.1.1.2. Lavare le piastre cinque volte con acqua distillata contenente 0,01 % (v/v) di Tween 20 (soluzione di lavaggio). Tamponare leggermente le piastre su un materiale assorbente per rimuovere i residui della soluzione di lavaggio.

1.1.1.3. Bloccare le piastre con un tampone fosfato salino (*phosphate buffered saline*- PBS) a pH 7,2 + 5 % (p/v) di latte scremato (latte scremato in polvere NestléTM), 200 µl per pozzetto, per 1 ora a 37 °C.

1.1.1.4. Rimuovere la soluzione bloccante e tamponare leggermente le piastre su un materiale assorbente.

⁽¹⁾ 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*. In: *Bluetongue, African Horse Sickness and Related Orbiviruses: Proceedings of the Second International Symposium*. Walton T.E. & Osburn B.L., Eds. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 646–650.

⁽²⁾ Maree S. e 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. Campioni di prova

- 1.1.2.1. I campioni di siero da esaminare e i sieri di controllo positivo e negativo sono diluiti 1:25 in PBS + 5 % (p/v) di latte scremato + 0,05 % (v/v) di Tween 20, 100 µl per pozzetto. Incubare per 1 ora a una temperatura di 37 °C.

Per la titolazione, eseguire diluizioni seriali duplici da 1:25 (100 µl per pozzetto) con un unico siero per ogni striscia della piastra e ripetere l'operazione con i controlli positivi e negativi. Incubare per 1 ora a una temperatura di 37 °C.

- 1.1.2.2. Lavare le piastre cinque volte con acqua distillata contenente 0,01 % (v/v) di Tween 20 (soluzione di lavaggio). Tamponare leggermente le piastre su un materiale assorbente per rimuovere i residui del lavaggio.

1.1.3. Coniugato

- 1.1.3.1. Distribuire in ogni pozzetto 100 µl di gammaglobulina anti-cavallo coniugata con perossidasi di rafano (*horseradish-peroxidase* — HRP), diluita in PBS + 5 % di latte + 0,05 % di Tween 20, a pH 7,2. Incubare per 1 ora a una temperatura di 37 °C.

- 1.1.3.2. Lavare le piastre cinque volte con acqua distillata contenente 0,01 % (v/v) di Tween 20 (soluzione di lavaggio). Tamponare leggermente le piastre su un materiale assorbente per rimuovere i residui del lavaggio.

1.1.4. Cromogeno/substrato

- 1.1.4.1. Aggiungere in ogni pozzetto 200 µl di soluzione di cromogeno/substrato [10 ml di 80,6 mM DMAB (dimetilamminobenzaldeide) + 10 ml di 1,56 mM MBTH (3-metil-2-benzotiazolina idrazone idrocloruro) + 5 µl di H₂O₂].

La colorazione viene arrestata aggiungendo 50 µl di 3N H₂SO₄ dopo circa 5-10 minuti (prima che il controllo negativo inizi a colorarsi).

Possono essere utilizzati anche altri cromogeni, ad esempio ABTS [2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-acido sulfonico)], TMB (tetrametilbenzidina) oppure OPD (ortofenildiammina).

- 1.1.4.2. Leggere le piastre a 600 nm (o 620 nm).

1.2. Interpretazione dei risultati

- 1.2.1. Calcolare il valore soglia (cut-off) aggiungendo 0,06 al valore del controllo negativo (0,06 è la deviazione standard ottenuta con un gruppo di 30 sieri negativi).

- 1.2.2. I campioni di prova che presentano valori di assorbanza inferiori al cut-off sono considerati negativi.

- 1.2.3. I campioni di prova che presentano valori di assorbanza superiori al cut-off + 0,15 sono considerati positivi.

- 1.2.4. I campioni di prova che presentano valori di assorbanza intermedi sono considerati non conclusivi e per confermare il risultato deve essere utilizzata un'altra tecnica.

▼ **M2****2. Test ELISA bloccante per l'individuazione di anticorpi contro il virus della peste equina (AHSV)**

Il test ELISA bloccante competitivo serve a individuare specifici anticorpi del virus della peste equina nei sieri di animali di tutte le specie equine, cioè cavalli, asini, zebre e loro ibridi, ed evita il problema della specificità riscontrato occasionalmente utilizzando il test ELISA indiretto.

Il principio del test è il blocco della reazione tra la proteina ricombinante VP7 adsorbita alla piastra ELISA e uno specifico anticorpo monoclonale (Mab) coniugato AHS-VP7. L'anticorpo nei sieri del test bloccherà la reazione tra l'antigene e l'anticorpo monoclonale provocando una riduzione del colore. Dato che l'anticorpo monoclonale è diretto contro la proteina VP7, il saggio presenterà un elevato livello di sensibilità e specificità.

Il test ELISA bloccante competitivo è disponibile sul mercato.

2.1. Procedura della prova**2.1.1. Fase solida**

2.1.1.1. Ricoprire le piastre ELISA con 50-100 ng di proteina VP7 ricombinante dell'AHSV-4 diluita in un tampone di carbonato/bicarbonato a pH 9,6. Incubare le piastre per una notte a una temperatura di 4 °C.

2.1.1.2. Lavare le piastre tre volte con un tampone fosfato salino (PBS) 0,1× contenente 0,135 M di NaCl e lo 0,05 % (v/v) di Tween 20 (PBST). Tamponare leggermente le piastre su un materiale assorbente per rimuovere i residui del lavaggio.

2.1.2. Campioni di prova e controlli

2.1.2.1. I campioni di siero da esaminare e i sieri di controllo positivo e negativo sono diluiti 1:25 in un diluente contenente 0,35 M di NaCl, 0,05 % (v/v) di Tween 20 e 0,1 % di Kathon, 100 µl per pozzetto. Incubare per 1 ora a una temperatura di 37 °C.

Per la titolazione, eseguire diluizioni seriali duplici dei sieri del test da 1:10 a 1:280 in 8 pozzetti (100 µl per pozzetto) con un unico siero per ogni striscia della piastra e ripetere l'operazione con i controlli positivo e negativo. Incubare per 1 ora a una temperatura di 37 °C.

2.1.2.2. Lavare le piastre cinque volte con un tampone fosfato salino (PBS) 0,1× contenente 0,135 M di NaCl e 0,05 % (v/v) di Tween 20 (PBST). Tamponare leggermente le piastre su un materiale assorbente per rimuovere i residui del lavaggio.

2.1.3. Coniugato

2.1.3.1. Distribuire in ciascun pozzetto 100 µl di anticorpo monoclonale anti-VP7 coniugato con perossidasi di rafano. Questo anticorpo monoclonale è stato precedentemente diluito da 1/5 000 a 1/15 000 in una soluzione di StabiliZyme Select® Stabilizer (SurModics, riferimento: SZ03) in acqua distillata. Incubare per 30 minuti a una temperatura di 37 °C.

2.1.3.2. Lavare le piastre cinque volte con un tampone fosfato salino (PBS) 0,1× contenente 0,135 M di NaCl e 0,05 % (v/v) di Tween 20 (PBST). Tamponare leggermente le piastre su un materiale assorbente per rimuovere i residui del lavaggio.

▼ **M2**

2.1.4. Cromogeno/substrato

Aggiungere in ciascun pozzetto 100 µl di soluzione di cromogeno/substrato, cioè 1 ml di ABTS [2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-acido sulfonico)], 5 mg/ml + 9 ml di tampone substrato (0,1 M di tampone fosfato-citrato a pH 4 contenente 0,03 % di H₂O₂) e incubare per 10 minuti a temperatura ambiente. La colorazione viene arrestata aggiungendo 100 µl per ogni pozzetto di 2 % (p/v) di SDS (sodio dodecil-solfato).

2.1.5. Lettura

Leggere i risultati a 405 nm con un lettore ELISA.

2.2. Interpretazione dei risultati

- 2.2.1. Determinare la percentuale di blocco (BP) di ciascun campione applicando la seguente formula, in cui «Abs» sta per anticorpi:

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

- 2.2.2. I campioni che presentano un valore BP superiore al 50 % dovranno essere considerati positivi per quanto riguarda gli anticorpi contro l'AHSV.

- 2.2.3. I campioni che presentano un valore BP inferiore al 45 % dovranno essere considerati negativi per quanto riguarda gli anticorpi contro l'AHSV.

- 2.2.4. I campioni che presentano un valore BP compreso tra 45 % e 50 % dovranno essere considerati non conclusivi e vanno sottoposti a un'altra prova. Se il risultato è nuovamente inconclusivo, gli animali dovranno essere sottoposti a un'altra prova su campioni prelevati almeno due settimane dopo il prelievo del campione considerato non conclusivo.

PARTE B

Identificazione dell'agente

Reazione a catena della polimerasi retro-trascrizionale in tempo reale (*Real-time Reverse-Transcription Polymerase Chain Reaction* — rRT-PCR)

I test di identificazione dell'agente con metodi basati sull'acido nucleico devono individuare i ceppi di riferimento dei nove sierotipi dell'AHSV.

Il metodo descritto al punto 2.1 è basato sul capitolo 2.5.1, sezione B, punto 1.2, del manuale dei test diagnostici e dei vaccini per gli animali terrestri, edizione 2016 adottata dall'Assemblea generale dei delegati dell'OIE nel maggio 2012.

Qualsiasi metodo di individuazione RT-PCR utilizzato per esaminare i campioni di sangue o milza nel contesto della direttiva 2009/156/CE deve avere una sensibilità pari o superiore a quella delle metodologie descritte al punto 2.

Virus inattivati dei sierotipi dei ceppi di riferimento da 1 a 9 possono essere ottenuti presso il laboratorio di riferimento dell'Unione europea o il laboratorio di riferimento dell'OIE per la peste equina di Algete, in Spagna.

1. Estrazione dell'RNA virale

Per garantire una buona reazione è necessario estrarre dal campione un RNA (acido ribonucleico) dell'AHSV di alta qualità. L'estrazione di acidi nucleici da campioni clinici può essere effettuata mediante vari metodi in-house e disponibili in commercio.

▼ **M2**

I kit commerciali usano diversi approcci per l'isolamento dell'RNA, la maggior parte dei quali si basa su una delle seguenti procedure:

- l'estrazione del fenolo-cloroformio degli acidi nucleici,
- l'adsorbimento degli acidi nucleici con il sistema di filtro,
- l'adsorbimento degli acidi nucleici con il sistema delle biglie magnetiche.

Un esempio di un'estrazione in-house dell'RNA è riportato qui di seguito:

- 1.1. 1 g di un campione di tessuto è omogeneizzato in 1 ml di soluzione denaturante (4 M guanidina tiocianato, 25 mM citrato di sodio, 0,1 M 2-mercaptoetanol, 0,5 % sarcosyl).
- 1.2. Dopo la centrifugazione si aggiungono al supernatante 1 µg di RNA di lievito, 0,1 ml di 2 M acetato di sodio a pH 4, una miscela di 1 ml di fenolo e 0,2 ml di cloroformio/alcool isoamilico (49:1).
- 1.3. Si scuote vigorosamente la sospensione, raffreddandola sul ghiaccio per 15 minuti.
- 1.4. Dopo centrifugazione l'RNA presente nella fase acquosa è fenolo estratto, etanolo precipitato e risospeso in acqua sterile.

2. Procedura della RT-PCR in tempo reale

- 2.1. *RT-PCR in tempo reale gruppo-specifica di Agüero et al., 2008* ⁽¹⁾

Questa procedura della RT-PCR in tempo reale gruppo-specifica riguarda le VP7 dell'AHSV ed è in grado di individuare tutti i sierotipi e i ceppi dell'AHSV noti e attualmente in circolazione. È stata utilizzata con ottimi risultati dai laboratori di riferimento nazionali degli Stati membri dell'Unione europea partecipanti alle prove valutative organizzate ogni anno dal laboratorio di riferimento dell'Unione europea per il periodo 2009-2015. Inoltre, in una prova interlaboratorio internazionale organizzata nel 2015 nel quadro della rete di laboratori di riferimento dell'OIE, questo protocollo è stato classificato a un livello molto elevato rispetto agli altri.

Sequenze di primer e sonde per l'identificazione dei virus della specie AHSV:

- primer forward 5'-CCA-GTA-GGC-CAG-ATC-AAC-AG-3'
- primer reverse 5'-CTA-ATG-AAA-GCG-GTG-ACC-GT-3'
- sonda MGB-TaqMan 5'-FAM-GCT-AGC-AGC-CTA-CCA-CTA-MGB-3'

- 2.1.1. La concentrazione dello stock del primer è diluita fino a una concentrazione d'uso di 8 µM («stock d'uso del primer di 8 µM») mentre la sonda è diluita fino a una concentrazione d'uso di 50 µM («stock d'uso della sonda di 50 µM»). Si dovrebbe preparare uno schema della piastra sperimentale e caricarlo nella software sul dispositivo di PCR in tempo reale. Utilizzando lo schema come guida, si aggiungono 2,5 µl di ciascuno stock d'uso del primer di 8 µM a ciascun pozzetto che conterrà campioni di RNA, un controllo positivo e/o un controllo negativo (la concentrazione finale del primer sarà di 1 µM nella miscela RT-PCR di 20 µl). La piastra viene raffreddata sul ghiaccio.

⁽¹⁾ Agüero M., Gomez-Tejedor C., Angeles Cubillo M., Rubio C., Romero E. e 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. 2 µl di RNA isolato (campioni di prova e controllo positivo) o 2 µl di acqua senza RNA nei controlli con reazione negativa sono mescolati con i primer forward e reverse. Questa miscela viene denaturata mediante riscaldamento a 95 °C per 5 minuti, seguito da un rapido raffreddamento su ghiaccio per almeno 5 minuti.
- 2.1.3. Si prepara un appropriato volume di miscela master RT-PCR a fase unica in tempo reale per il numero di campioni da esaminare seguendo le istruzioni del fabbricante. Aggiungere 0,1 µl dello stock d'uso della sonda di 50 µM a ciascun pozzetto contenente campioni di RNA (la concentrazione finale della sonda sarà di 0,25 µM in ogni pozzetto contenente campioni di RNA). Distribuire 13 µl della miscela master RT-PCR a fase unica in tempo reale in ciascun pozzetto sulla piastra di PCR contenente l'RNA e i primer denaturati.
- 2.1.4. La piastra è collocata in un termociclatore a tempo reale programmato per la retro-trascrizione e per l'amplificazione del cDNA/l'individuazione della fluorescenza. Le condizioni di amplificazione consistono in una prima fase di retro-trascrizione a 48 °C per 25 minuti, seguita da 10 minuti a 95 °C («hot start») e 40 cicli di 15 secondi a 95 °C, 35 secondi a 55 °C e 30 secondi a 72 °C (oppure 40 cicli a 97 °C per 2 secondi e 55 °C per 30 secondi, se si utilizzano reagenti e un termociclatore che consentono reazioni rapide). I dati sulla fluorescenza sono rilevati alla fine della fase a 55 °C.
- 2.1.5. Se si ottengono curve di amplificazione atipiche, il saggio non è considerato valido e deve essere ripetuto.

I campioni sono considerati positivi se il valore Ct (numero del ciclo in cui la fluorescenza emessa in una reazione attraversa la soglia di fluorescenza) è inferiore o uguale alla soglia Ct definita (35) nei 40 cicli della PCR (Ct ≤ 35).

I campioni sono considerati non conclusivi se il valore Ct è superiore alla soglia Ct definita (35) nei 40 cicli della PCR (Ct > 35).

I campioni sono considerati negativi se si ottiene una curva di amplificazione orizzontale che non taglia la linea soglia nei 40 cicli della PCR.

2.2. *RT-PCR in tempo reale gruppo-specifica di Agüero et al., 2013* ⁽¹⁾

RT-PCR in tempo reale che utilizza sonde FRET (*fluorescence resonance energy transfer*) per individuare l'acido nucleico dell'AHSV.

Il saggio PCR-RT dell'AHSV descritto è stato ideato usando sequenze di un'ampia varietà di ceppi di campo dell'AHSV attualmente in circolazione [Quan et al., 2010 ⁽²⁾]. Esso comprende anche un saggio di controllo esterno sintetico brevettato per verificare il corretto funzionamento dei componenti del saggio.

I kit per la PCR in tempo reale a fase unica sono disponibili sul mercato. Qui di seguito sono indicate alcune fasi di base descritte da Guthrie et al. (2013), che possono essere modificate a seconda delle esigenze locali/specifiche del caso, dei kit utilizzati e delle attrezzature disponibili.

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

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

▼ M2

Sequenze di primer e sonde per l'individuazione dei virus della specie AHSV:

- primer forward: 5'-AGA-GCT-CTT-GTG-CTA-GCA-GCC-T-3'
- primer reverse 5'-GAA-CCG-ACG-CGA-CAC-TAA-TGA-3'
- sonda MGB-TaqMan 5'-FAM-TGC-ACG-GTC-ACC-GCT-MGB-3'

- 2.2.1. Le soluzioni stock della miscela di primer e sonda sono preparate in una concentrazione $25\times$ di $5\ \mu\text{M}$ per i primer forward e reverse e $3\ \mu\text{M}$ per la sonda. Si dovrà preparare uno schema della piastra sperimentale e caricarlo nella software sul dispositivo della PCR in tempo reale. Utilizzando lo schema come guida, aggiungere $5\ \mu\text{l}$ di campioni di RNA, comprendenti campioni di prova e controlli positivi e negativi, ai pozzetti appropriati della piastra seguendo lo schema.
- 2.2.2. L'RNA viene denaturato mediante riscaldamento a $95\ ^\circ\text{C}$ per 5 minuti, seguito da un rapido raffreddamento sul ghiaccio per almeno 3 minuti.
- 2.2.3. Si prepara un volume appropriato di miscela master RT-PCR a fase unica in tempo reale per il numero di campioni da esaminare, seguendo le istruzioni del fabbricante. Includere $1\ \mu\text{l}$ della soluzione stock $25\times$ della miscela di primer e sonda (di cui al punto 2.2.1) nella miscela master per ottenere una concentrazione finale in ciascun pozzetto di $200\ \text{nM}$ per ogni primer e $120\ \text{nM}$ della sonda. Distribuire $20\ \mu\text{l}$ della miscela master in ciascun pozzetto sulla piastra PCR contenente l'RNA denaturato.
- 2.2.4. La piastra è collocata in un termociclatore a tempo reale programmato per la retro-trascrizione e l'amplificazione del cDNA/l'individuazione della fluorescenza, come indicato dai fabbricanti. Le condizioni di amplificazione consistono, ad esempio, in una prima fase di retro-trascrizione a $48\ ^\circ\text{C}$ per 10 minuti, seguita da 10 minuti a $95\ ^\circ\text{C}$ («hot start») e 40 cicli di 15 secondi a $95\ ^\circ\text{C}$ e di 45 secondi a $60\ ^\circ\text{C}$.
- 2.2.5. I campioni sono considerati positivi se la fluorescenza normalizzata per il saggio RT-PCR dell'AHSV supera una soglia di 0,1 nei 36 cicli della PCR in tutte le repliche di un campione.

I campioni sono considerati non conclusivi se la fluorescenza normalizzata per il saggio RT-PCR dell'AHSV supera una soglia di 0,1 tra i cicli 36 e 40 della PCR in tutte le repliche di un campione.

I campioni sono considerati negativi se la fluorescenza normalizzata per il saggio di RT-PCR dell'AHSV non ha superato una soglia di 0,1 nei 40 cicli della PCR in tutte le repliche di un campione e se la fluorescenza normalizzata per il saggio di controllo esterno sintetico brevettato ha superato una soglia di 0,1 in 33 cicli della PCR.



ALLEGATO V

PARTE A

Direttiva abrogata ed elenco delle sue modificazioni successive

(di cui all'articolo 22)

Direttiva 90/426/CEE del Consiglio (GU L 224 del 18.8.1990, pag. 42)	
Direttiva 90/425/CEE del Consiglio (GU L 224 del 18.8.1990, pag. 29)	unicamente l'articolo 15, paragrafo 3
Direttiva 91/496/CEE del Consiglio (GU L 268 del 24.9.1991, pag. 56)	unicamente per quanto riguarda i riferimenti all'articolo 26, paragrafo 2, della direttiva 90/426/CEE
Decisione 92/130/CEE della Commissione (GU L 47 del 22.2.1992, pag. 26)	
Direttiva 92/36/CEE del Consiglio (GU L 157 del 10.6.1992, pag. 28)	unicamente l'articolo 1
Atto di adesione del 1994, allegato I, punto V.E.I.A.3 (GU C 241 del 29.8.1994, pag. 132)	
Decisione 2001/298/CE della Commissione (GU L 102 del 12.4.2001, pag. 63)	unicamente per quanto riguarda i riferimenti all'articolo 1, paragrafo 1 e all'allegato I, punto 2, della direttiva 90/426/CEE
Decisione 2002/160/CE della Commissione (GU L 53 del 23.2.2002, pag. 37)	
Regolamento (CE) n. 806/2003 del Consiglio (GU L 122 del 16.5.2003, pag. 1)	unicamente l'allegato III, punto 10
Atto di adesione del 2003, allegato II, punto 6.B.I.16 (GU L 236 del 23.9.2003, pag. 381)	
Direttiva 2004/68/CEE del Consiglio (GU L 139 del 30.4.2004, pag. 321)	unicamente l'articolo 15
Direttiva 2006/104/CE del Consiglio (GU L 363 del 20.12.2006, pag. 352)	unicamente l'allegato, punto I.2
Direttiva 2008/73/CE del Consiglio (GU L 219 del 14.8.2008, pag. 40)	unicamente l'articolo 7

PARTE B

Elenco dei termini di recepimento nel diritto nazionale

(di cui all'articolo 22)

Direttiva	Termine di recepimento
90/426/CEE	1° gennaio 1992
90/425/CEE	1° luglio 1992
91/496/CEE	1° luglio 1992
92/36/CEE	31 dicembre 1992
2004/68/CE	19 novembre 2005
2006/104/CE	1° gennaio 2007
2008/73/CE	1° gennaio 2010



ALLEGATO VI
Tavola di concordanza

Direttiva 90/426/CEE	Presente direttiva
Articolo 1	Articolo 1
Articolo 2, lettere a) e b)	Articolo 2, lettere a) e b)
Articolo 2, lettera c)	Articolo 2, lettera c), punti i) e ii)
Articolo 2, lettere da d) a i)	Articolo 2, lettere da d) a i)
Articolo 3	Articolo 3
Articolo 4, paragrafi 1, 2 e 3	Articolo 4, paragrafi 1, 2 e 3
Articolo 4, paragrafo 4, punti i) e ii)	Articolo 4, paragrafo 4, lettere a) e b)
Articolo 4, paragrafo 5, lettera a), trattini dal primo al sesto	Articolo 4, paragrafo 5, lettera a), punti da i) a vi)
Articolo 4, paragrafo 5, lettera b)	Articolo 4, paragrafo 5, lettera b)
Articolo 4, paragrafo 6, primo comma, trattini dal primo all'ottavo	Articolo 4, paragrafo 6, primo comma, lettere da a) a h)
Articolo 4, paragrafo 6, commi secondo e terzo	Articolo 4, paragrafo 6, commi secondo e terzo
Articolo 5, paragrafo 1	Articolo 5, paragrafo 1
Articolo 5, paragrafo 2, lettera a)	Articolo 5, paragrafo 2, primo comma, lettere a) e b)
Articolo 5, paragrafo 2, lettera b)	Articolo 5, paragrafo 2, secondo comma, lettere a) e b)
Articolo 5, paragrafo 2, lettera c)	Articolo 5, paragrafo 3
Articolo 5, paragrafo 2, lettera d)	Articolo 5, paragrafo 4
Articolo 5, paragrafo 3, lettere a) e b)	Articolo 5, paragrafo 5, lettere a) e b)
Articolo 5, paragrafo 3, lettera c), trattini primo e secondo	Articolo 5, paragrafo 5, lettera c), primo comma, punti i) e ii)
Articolo 5, paragrafo 3, lettera c), secondo trattino, ultima frase	Articolo 5, paragrafo 5, lettera c), secondo comma
Articolo 5, paragrafo 3, lettere d) ed e)	Articolo 5, paragrafo 5, lettere d) e e)
Articolo 6	Articolo 6
Articolo 7	Articolo 7
Articolo 8, paragrafo 1, primo comma, trattini primo e secondo	Articolo 8, paragrafo 1, lettere a) e b)
Articolo 8, paragrafo 1, secondo comma	Articolo 8, paragrafo 2
Articolo 8, paragrafo 2	Articolo 8, paragrafo 3
Articolo 9	Articolo 9
Articolo 10	Articolo 10

▼B

Direttiva 90/426/CEE	Presente direttiva
Articolo 11, paragrafo 1	Articolo 11
Articolo 11, paragrafo 2	—
Articolo 12	Articolo 12
Articolo 13	Articolo 13
Articolo 14	Articolo 14
Articolo 15	Articolo 15
Articolo 16, paragrafo 1, lettere da a) a f)	Articolo 16, paragrafo 1, lettere da a) a f)
Articolo 16, paragrafo 1, ultima frase	—
Articolo 16, paragrafo 2	Articolo 16, paragrafo 2
Articolo 17	Articolo 18
Articolo 18	Articolo 17
Articolo 19, punti da i) a iv)	Articolo 19, lettere da a) a d)
Articolo 22	—
Articolo 23	Articolo 20
Articolo 24, paragrafi 1 e 2	Articolo 21, paragrafi 1 e 2
Articolo 24, paragrafo 3	—
Articolo 25, paragrafi 1 e 2	Articolo 21, paragrafi 1 e 3
Articolo 26	—
Articolo 27	—
—	Articolo 22
—	Articolo 23
Articolo 28	Articolo 24
Allegato A	Allegato I
Allegato B	Allegato II
Allegato C	Allegato III
Allegato D	Allegato IV
—	Allegato V
—	Allegato VI