

Detta dokument är endast avsett som dokumentationshjälpmedel och institutionerna ansvarar inte för innehållet

► **B**

RÅDETS DIREKTIV

av den 26 juni 1990

om djurhälsovillkor vid förflyttning och import av hästdjur från tredje land

(90/426/EEG)

(EGT L 224, 18.8.1990, s. 42)

Ändrad genom:

Officiella tidningen

		nr	sida	datum
► <u>M1</u>	Rådets direktiv 90/425/EEG, av den 26 juni 1990	L 224	29	18.8.1990
► <u>M2</u>	Rådets direktiv 91/496/EEG, av den 15 juli 1991	L 268	56	24.9.1991
► <u>M3</u>	Kommissionens 92/130/EEG beslut av den 13 februari 1992	L 47	26	22.2.1992
► <u>M4</u>	Rådets direktiv 92/36/EEG av den 29 april 1992	L 157	28	10.6.1992
► <u>M5</u>	Kommissionens 2001/298/EG beslut av den 30 mars 2001	L 102	63	12.4.2001
► <u>M6</u>	Kommissionens 2002/160/EG beslut av den 21 februari 2002	L 53	37	23.2.2002
► <u>M7</u>	Rådets förordning (EG) nr 806/2003 av den 14 april 2003	L 122	1	16.5.2003
► <u>M8</u>	Rådets direktiv 2004/68/EG av den 26 april 2004	L 226	128	25.6.2004
► <u>M9</u>	Rådets direktiv 2006/104/EG av den 20 november 2006	L 363	352	20.12.2006

Ändrad genom:

► <u>A1</u>	Anslutningsakten för Österrike, Finland och Sverige (anpassad genom rådets beslut 95/1/EG, Euratom, EKSG)	C 241 L 1	21 1	29.8.1994 1.1.1995
► <u>A2</u>	Akt om villkoren för Republiken Tjeckiens, Republiken Estlands, Republiken Cyperns, Republiken Lettlands, Republiken Litauens, Republiken Ungerns, Republiken Maltas, Republiken Polens, Republiken Sloveniens och Republiken Slovakien anslutning till de fördrag som ligger till grund för Europeiska Unionen och om anpassning av fördragen	L 236	33	23.9.2003

▼B**RÅDETS DIREKTIV****av den 26 juni 1990****om djurhälsovillkor vid förflyttning och import av hästdjur från tredje land**

(90/426/EEG)

EUROPEISKA GEMENSKAPERNAS RÅD HAR ANTAGIT DETTA DIREKTIV

med beaktande av Fördraget om upprättandet av Europeiska ekonomiska gemenskapen, särskilt artikel 43 i detta,

med beaktande av kommissionens förslag ⁽¹⁾,

med beaktande av Europaparlamentets yttrande ⁽²⁾,

med beaktande av Ekonomiska och sociala kommitténs yttrande ⁽³⁾, och

med beaktande av följande:

Hästdjur (Equidae) som levande djur, är upptagna i produktförteckningen i bilaga II till fördraget.

För att säkerställa en rationell utveckling av produktionen av hästdjur och därigenom öka produktiviteten inom denna sektor måste bestämmelser som reglerar förflyttning av hästdjur mellan medlemsstaterna fastställas på gemenskapsnivå.

Avel och uppfödning av hästdjur och i synnerhet hästar hänförs i allmänhet till jordbrukssektorn och utgör en inkomstkälla för en del av dem som är sysselsatta inom jordbruksnäringen.

Olikheter mellan medlemsstaterna i fråga om djurhälsovillkor bör undanröjas för att befärma handeln med hästdjur inom gemenskapen.

För att befärma en harmonisk utveckling av handeln inom gemenskapen bör ett gemenskapssystem fastställas för att reglera importen från tredje land.

Villkoren för förflyttning inom nationellt territorium av hästdjur som åtföljs av identifieringsdokument bör också regleras.

För att undvika spridning av smittsamma sjukdomar måste hästdjur för att få bli föremål för handel uppfylla vissa djurhälsokrav. En möjlig regionalisering av skyddsåtgärder förefaller vara särskilt lämplig.

Av samma skäl bör villkoren för transporter fastställas.

För att säkerställa att dessa krav uppfylls måste det införas en ordning som innebär att en officiell veterinär utfärdar ett hälsointyg som skall åtfölja hästdjuren till deras destination.

Organiserandet och uppföljningen av de kontroller som skall utföras av den medlemsstat till vilken djuren är destinerade och de säkerhetsåtgärder som skall tillämpas bör fastställas inom det regelsystem som skall upprättas för veterinärkontroller vid handel inom gemenskapen med levande djur med sikte på förverkligandet av den inre marknaden.

Kommissionen bör ges möjlighet att genomföra kontroller. Dessa kontroller bör verkställas i samarbete med de behöriga nationella myndigheterna.

⁽¹⁾ EGT nr C 327, 30.12.1989, s. 61.

⁽²⁾ EGT nr C 149, 18.6.1990.

⁽³⁾ EGT nr C 62, 12.3.1990, s. 46.

▼B

För att skapa gemenskapsbestämmelser som är tillämpliga på import från tredje land krävs att en förteckning upprättas över de tredje länder eller delar av dessa från vilka hästdjur får importeras.

Valet av dessa länder måste baseras på allmänna kriterier, såsom hälsoläget inom husdjursstammen, veterinärväsendets organisation och befogenheter och gällande djurhälsobestämmelser.

Dessutom bör import av hästdjur inte tillåtas från länder där det förekommer infektiösa eller smittsamma djursjukdomar som kan utgöra ett hot mot husdjursbeståndet inom gemenskapen eller länder som har varit befriade från sådana sjukdomar under en alltför kort tid. Sådana hänsyn bör också beaktas i fråga om införsel från tredje land i vilket vaccination mot sådana sjukdomar tillämpas.

De allmänna villkor som skall gälla vid import från tredje land måste kompletteras med särskilda villkor som är anpassade till hälsoläget i vart och ett av dessa länder. Den tekniska karaktären och mångfalden av de kriterier som påverkar utformningen av dessa villkor gör att det krävs tillgång till ett flexibelt och snabbt gemenskapsförfarande i nära samarbete mellan kommissionen och medlemsstaterna.

Ett effektivt sätt att bekräfta att gemenskapsreglerna verkligen tillämpas är att presentera ett gemensamt standardformulär för intyg vid import av hästdjur. Sådana regler kan innefatta särskilda bestämmelser som kan variera alltefter vilket tredje land som det gäller och till detta måste tas hänsyn vid utformningen av intygsförebilden.

Gemenskapens officiella veterinärer bör ansvara för kontrollen av att de krav som uppställs i detta direktiv uppfylls, särskilt vad gäller tredje land.

De kontroller som görs vid import måste innefatta hästdjurens ursprung och hälsotillstånd.

De allmänna reglerna för de kontroller som skall utföras vid import måste vara en del av en större helhet.

Varje medlemsstat måste ha rätt att omedelbart förbjuda införsel från tredje land när sådan införsel kan innebära risk för djurhälsan. I ett sådant fall måste en samordning av medlemsstaternas inställning gentemot det berörda tredje landet säkerställas utan dröjsmål, varvid ändringar i förteckningen över länder som har tillstånd att exportera till gemenskapen kan komma i fråga.

Bestämmelserna i detta direktiv bör ses över i samband med förverkligandet av den inre marknaden.

Ett förfarande bör utarbetas för att upprätta ett nära och effektivt samarbete mellan kommissionen och medlemsstaterna inom den Ständiga veterinärkommittén.

HÄRIGENOM FÖRESKRIVS FÖLJANDE.

KAPITEL I

Allmänna bestämmelser

Artikel 1

Detta direktiv fastställer djurhälsovillkoren vid förflyttningar mellan medlemsstaterna och import från tredje land av levande hästdjur.

Artikel 2

I detta direktiv avses med

▼B

- a) *anläggning*: en jordbruks- eller träningsanläggning, ett stall eller allmänt uttryckt varje lokal eller inrättning där hästdjur brukar hållas eller födas upp, oavsett ändamålet med verksamheten,
- b) *hästdjur*: vilda eller tama djur tillhörande häst- (däribland zebror) eller åsnearterna eller avkomma genom korsningar av dessa arter,
- c) *registrerade hästdjur*: varje hästdjur som registrerats enligt direktiv 90/427/EEG ⁽¹⁾, identifierats genom ett identifieringsdokument som utfärdats av avelsmyndigheten eller någon annan behörig myndighet inom det land som djuret härrör ifrån och som för stambok ellerregister över den ifrågavarande rasen, eller av någon internationell sammanslutning eller organisation som har överinseendet över hästar avsedda för tävling eller kapplöpning,
- d) *hästdjur för slakt*: hästdjur avsedda att föras till slakt antingen direkt eller via en marknad eller ett godkänt uppsamlingsställe för slaktdjur,
- e) *hästdjur för avel och produktion*: andra hästdjur än de som nämns under c och d,
- f) *medlemsstat eller tredje land som är fritt från afrikansk hästpest*: varje medlemsstat eller tredje land inom vars territorium det inte har konstaterats några kliniska, serologiska (hos ovaccinerade hästdjur) eller epidemiologiska tecken på afrikansk hästpest under de närmast föregående två åren och i vilka det inte har företagits några vaccinationer mot den sjukdomen under de närmast föregående 12 månaderna,
- g) *anmälningspliktiga sjukdomar*: sjukdomar som uppförts på förteckningen i bilaga A,
- h) *officiell veterinär*: veterinär som förordnats av en medlemsstats eller ett tredje lands behöriga centrala myndighet,
- i) *tillfälligt tillstånd*: status som tilldelats ett registrerat djur som härrör från ett tredje land och som fått föras in till gemenskapens territorium under en kortare period än 90 dagar vilken skall fastställas av kommissionen med hänsyn till hälsoläget i ursprungslandet enligt förfarandet i artikel 24.

KAPITEL II

Regler för förflyttning av hästdjur*Artikel 3*

Medlemsstaterna får meddela tillstånd för förflyttning av hästdjur som registrerats inom deras territorium eller sända hästdjur till en annan medlemsstat endast om de uppfyller de villkor som fastställs i artiklarna 4 och 5.

De behöriga myndigheterna i den medlemsstat till vilken djuren är destinerade får medge allmän eller begränsad dispens för att flytta hästdjur som

- rids eller leds i samband med sport- eller rekreationsändamål utmed vägar som är belägna nära gemenskapens inre gränser,
- deltar i kulturella eller liknande tillställningar eller i aktiviteter som organiserats av lokala organ med särskilt tillstånd och som är belägna nära gemenskapens inre gränser,
- enbart är avsedda att tillfälligt släppas ut på bete eller arbeta nära gemenskapens inre gränser.

Medlemsstater som begagnar sig av sådana tillstånd skall underrätta kommissionen om innehållet i de dispenser som utfärdats.

⁽¹⁾ EGT nr L 224, 18.8.1990, s. 55.



Artikel 4

1. Hästdjur får inte visa några kliniska tecken på sjukdom vid besiktning. Besiktningen måste utföras inom 48 timmar före embarkering eller lastning. I fråga om registrerade hästdjur skall denna besiktning, utan att det påverkar tillämpningen av artikel 6, dock endast krävas vid handel inom gemenskapen.

2. Utan att det påverkar tillämpningen av de krav som uppräknas under punkt 5 i fråga om anmälningspliktiga sjukdomar måste den officiella veterinären vid besiktningen övertyga sig om att det inte finns några skäl — mot bakgrund särskilt av vad ägaren eller uppfödaren uppger — till att komma till slutsatsen att hästjuren under de 15 dagarna närmast före besiktningen har varit i kontakt med hästdjur som lider av någon infektiös eller smittsam sjukdom.

3. Hästjuren får inte vara avsedda för slakt i samband med något nationellt program i syfte att utrota smittsamma eller infektiösa sjukdomar.

4. Hästjuren måste identifieras

- i) i fråga om registrerade hästar genom ett identifieringsdokument som avses i direktiv 90/427/EEG (¹). Detta måste särskilt intyga att bestämmelserna i artikel 5.5 och 5.6 har följts. Den officiella veterinären skall upphäva giltigheten av detta dokument under den tid de förbud är i kraft som avses under punkt 5 eller i artikel 5. Dokumentet bör efter att den registrerade hästen slaktats, sändas tillbaka till den myndighet som utfärdat det. Vid tillämpningen av denna punkt skall det förfarande följas som fastställts av kommissionen i enlighet med artikel 24,
- ii) i fråga om hästdjur som är avsedda för avel eller produktion genom en metod som skall fastställas av kommissionen i enlighet med förfarandet i artikel 24.

Intill dess att denna metod införts får de officiellt erkända nationella identifieringssätten fortsätta att tillämpas, förutsatt att de anmälts till kommissionen och de övriga medlemsstaterna inom tre månader från den dag då detta direktiv antagits.

5. Utöver de krav som fastställs i artikel 5 får hästjuren inte härröra från en anläggning som har varit föremål för något av följande förbud:

- a) Om alla djur av de slag som är mottagliga för den sjukdom som förekommer inom anläggningen inte har slaktats skall förbudstiden i fråga om ursprungsbesättningen utsträckas till minst
 - sex månader i fråga om hästdjur som misstänks ha ådragit sig beskällarsjuka (dourine), räknat från dagen för den senaste konstaterade eller möjliga kontakten med ett sjukt djur. Om det gäller en hingst skall förbudet dock gälla till dess att djuret kastrerats,
 - sex månader i fråga om rots eller hästencefalomyelit, räknat från den dag när de berörda djuren slaktas,
 - i fråga om infektiös anemi till den dag de infekterade djuren slaktats om de återstående djuren har uppvisat negativ reaktion på två Coggins' test som utförts med tre månaders mellanrum,
 - sex månader i fråga om vesikulär stomatit,
 - en månad räknat från det senast konstaterade fallet i fråga om rabies,
 - 15 dagar räknat från det senast konstaterade fallet i fråga om mjältbrand.

(¹) EGT nr L 224, 18.8.1990, s. 55.

▼B

- b) Om alla djur av de slag som är mottagliga för sjukdomen vid en anläggning har slaktats och lokalerna har desinficerats skall förbuden gälla i 30 dagar med början den dag då djuren destruerades och lokalerna desinficerades, med undantag för mjältbrand, då förbudsperioden omfattar 15 dagar.

De behöriga myndigheterna får göra undantag från dessa förbud för trav- och kapploppningsbanor och skall meddela kommissionen innehållet i de undantag som medgivits.

6. När en medlemsstat utarbetar eller har utarbetat ett frivilligt eller obligatoriskt bekämpningsprogram för en sjukdom som hästdjur är mottagliga för, får den lägga fram programmet för kommissionen inom sex månader efter kungörandet av detta direktiv, varvid särskilt skall framgå

- sjukdomens utbredning inom territoriet,
- skälen för programmet, med hänsyn till sjukdomens betydelse och kostnaderna i relation till vad som står att vinna,
- vilket geografiskt område som berörs av programmet,
- vilka statuskategorier som skall tillämpas på inrättningar, vilka normer som måste uppnås för varje djurart och vilka undersökningsmetoder som avses komma till användning,
- hur programmet övervakas,
- vilka åtgärder som vidtas om en anläggning av någon anledning skulle förlora sin sjukdomsfria status,
- vilka åtgärder som skall vidtas vid positivt utfall av de undersökningar som utförs inom ramen för programmet,
- att handeln inom medlemsstatens territorium är fri från diskriminerande inslag med hänsyn till handeln inom gemenskapen.

Kommissionen skall undersöka de program som redovisas av medlemsstaterna. När så är lämpligt skall den godkänna dem i enlighet med det förfarande som fastställs i artikel 24. Alla ytterligare garantier, allmänna eller specifika, som kan krävas för handeln inom gemenskapen får fastställas i enlighet med samma förfarande. Sådana garantier får inte ges större omfattning än de som medlemsstaten kräver inom sitt eget territorium.

De program som överlämnats av medlemsstaterna får ändras eller kompletteras i enlighet med det förfarande som anges i artikel 25. Ändringar eller tillägg till de program som redan har godkänts eller till garantier som har fastställs i enlighet med andra stycket får godkännas i enlighet med samma förfarande.

▼M4*Artikel 5*

1. En medlemsstat som inte är fri från afrikansk hästpest enligt innebörden i artikel 2 f får endast sända hästdjur från den del av sitt territorium som anses smittad enligt innebörden i punkt 2 nedan på de villkor som anges i punkt 3 nedan.
2. a) En del av en medlemsstats territorium skall anses smittad med afrikansk hästpest om
 - kliniska, serologiska (hos ovaccinerade djur) eller epidemiologiska undersökningar har påvisat förekomsten av afrikansk hästpest under de senaste två åren,
 - eller
 - vaccination mot afrikansk hästpest har utförts under de senaste 12 månaderna.

▼M4

- b) Den del av territoriet som anses smittad med afrikansk hästpest skall minst omfatta
- en skyddszon med en radie av minst 100 km kring varje plats där smittan finns,
 - en övervakningszon där ingen vaccinering ägt rum under de senaste 12 månaderna och som sträcker sig minst 50 km utanför skyddszonen.
- c) Reglerna för de bekämpningsåtgärder som gäller inom de territorier och områden som avses i punkt a och b med tillhörande undantag specificeras i direktiv 92/35/EEG ⁽¹⁾.
- d) Alla vaccinerade hästdjur som påträffas inom skyddszonen måste registreras och identifieras i enlighet med artikel 6.1 i direktiv 92/35/EEG.

Identifieringshandlingen eller hälsointyget skall tydligt hänvisa till en sådan vaccination.

3. En medlemsstat får från det område som anges i punkt 2 b endast sända hästdjur som uppfyller följande krav:

- a) Med hänsyn till smittspridande insekters verksamhet får hästarna endast sändas under vissa tider på året, vilka skall fastställas i enlighet med förfarandet i artikel 25.
- b) De får inte visa några kliniska symtom på afrikansk hästpest vid tidpunkten för den undersökning som avses i artikel 4.1.
- c) — Om de inte har vaccinerats mot afrikansk hästpest måste de ha reagerat negativt på ett komplementbindningstest för afrikansk hästpest enligt beskrivningen i bilaga D, vilket skall ha utförts vid två tillfällen med 21-30 dagars intervall, varvid det andra testet skall ha utförts under de tio dagarna närmast före avsändningen.
- Om de har vaccinerats, får detta inte ha skett under de två närmast föregående månaderna och de måste ha genomgått det komplementbindningstest som beskrivs i bilaga D med det ovan angivna tidsintervallet utan att en ökning av antalet antikroppar har noterats. Enligt förfarandet i artikel 24 får kommissionen efter Vetenskapliga veterinärkommitténs yttrande godta andra övervakningsmetoder.
- d) De skall ha hållits på karantänstation under en tid av minst 40 dagar före avsändningen.
- e) De skall ha skyddats från smittspridande insekter under tiden i karantän och under transporten från karantänstationen till avsändningsorten.

▼B*Artikel 6*

Medlemsstater som tillämpar ett alternativt kontrollsystem innebärande garantier som är likvärdiga med dem som anges i artikel 4.5 i fråga om förflyttning inom dessa staters territorium av hästdjur och registrerade hästdjur, särskilt med hjälp av identitetsdokument, får lämna ömsesidig dispens från bestämmelserna i andra meningen i artikel 4.1 och andra strecksatsen i artikel 8.1.

De skall underrätta kommissionen om detta.

⁽¹⁾ EGT nr L 157, 10.6.1992, s. 19.

▼B*Artikel 7*

1. Hästdjuren måste transporteras så snart som möjligt från ursprungsanläggningen till destinationsstället, antingen direkt eller via en godkänd marknad eller ett uppsamlingsställe som avses i artikel 3.6 i direktiv 64/432/EEG, i fordon eller containrar som regelbundet rengörs och desinficeras med ett desinfektionsmedel med de tidsmellanrum som bestäms av den medlemsstat från vilken djuren avsänds. Transportfordonen måste vara inrättade på ett sådant sätt att hästjurens spillning, strö eller foder inte sprids ut från fordonet under transporten. Transporten måste ske under sådana former att hästjurens hälsa och välmåga kan skyddas på ett effektivt sätt.

2. Den medlemsstat till vilken transporten är destinerad får medge generell eller begränsad dispens från vissa av kraven i artikel 4.5 för alla djur som försetts med en speciell märkning som utvisar att det är avsett för slakt, förutsatt att det framgår av hälsointyget att sådan dispens lämnats.

Om sådan dispens lämnats måste hästdjur avsedda för slakt transporteras direkt till vederbörande slakteri och slaktas inom fem dagar efter ankomsten dit.

3. Den officiella veterinären skall notera identitetsnumret eller identitetsdokumentets nummer för det slaktade djuret och till den behöriga myndigheten på avsändningsorten, på begäran av denna, översända ett bevis om att djuret har slaktats.

Artikel 8

1. Medlemsstaterna skall se till att

- registrerade hästdjur som lämnar sina anläggningar åtföljs av det identitetsdokument som fastställs i artikel 4.4 och, om de är avsedda för handel inom gemenskapen, även intyg som avses i bilaga B,
- hästdjur som är avsedda för avel, produktion eller slakt under transporten åtföljs av ett hälsointyg som står i överensstämmelse med bilaga C till detta direktiv.

Intyget, eller i fråga om ett identitetsdokumentet, det formulär som upptar hälsouppgifter måste, utan att det påverkar tillämpningen av artikel 6, utfärdas inom 48 timmar före inlastningen eller senast den sista arbetsdagen före inlastningen, på minst ett av de officiella språken i den medlemsstat från vilken de avsänts och den medlemsstat till vilken de är destinerade. Intyget gäller i 10 dagar. Det får inte uppta mer än ett ark.

2. Vid import av andra hästdjur än sådana som är registrerade får de individuella hälsointyg som avses i andra strecksatsen i punkt 1 ersättas av ett enda hälsointyg per sändning.

▼M1*Artikel 9*

De regler som fastställs i rådets direktiv 90/425/EEG av den 26 juni 1990 om veterinära och avelstekniska kontroller i handeln med vissa levande djur och varor med sikte på att förverkliga den inre marknaden ⁽¹⁾ skall särskilt gälla för kontroller vid ursprungsorten, för organisering och uppföljning av de kontroller som skall utföras av den mottagande medlemsstaten och för de skyddsåtgärder som skall verkställas.

⁽¹⁾ EGT nr L 224, 18.8.1990, s. 29.

▼B*Artikel 10*

Veterinära experter från kommissionen får i den utsträckning som krävs säkerställa en enhetlig tillämpning av detta direktiv och i samarbete med de behöriga nationella myndigheterna utföra inspektioner på platsen. Kommissionen skall delge medlemsstaterna resultatet av dessa inspektioner.

De medlemsstater inom vars territorium en inspektion utförs skall lämna experterna allt det bistånd som de behöver för att fullgöra sin uppgift.

Allmänna åtgärder för att tillämpa denna artikel skall vidtas i enlighet med det förfarande som anvisats i artikel 24.

KAPITEL III

Regler för import från tredje land*Artikel 11*

1. Hästdjur som importeras till gemenskapen måste uppfylla de villkor som fastställs i artiklarna 12-16.
2. Intill dess att de beslut som antagits i enlighet med artiklarna 12 till 16 träder i kraft skall medlemsstaterna vid import av hästdjur från tredje land tillämpa villkor som är minst lika strikta som de som svarar mot kapitel II.

▼M8*Artikel 12*

1. Import till gemenskapen av hästdjur skall endast tillåtas från de tredjeländer som upptas i en förteckning eller i förteckningar som skall upprättas eller ändras i enlighet med förfarandet i artikel 24.2.

Med beaktande av hälsosituationen i tredjelandet och de garantier som lämnas av detta land beträffande hästdjur får det i enlighet med förfarandet i artikel 24.2 beslutas att det tillstånd som föreskrivs i första stycket i denna punkt skall tillämpas på hela eller delar av det tredjelandet.

För detta ändamål och på grundval av relevanta internationella standarder skall hänsyn tas till hur det godkända tredjelandet tillämpar och genomför dessa standarder, särskilt principen om indelning i regioner inom sitt eget territorium samt hygienkrav vid import från övriga tredjeländer och från gemenskapen.

2. Vid upprättande eller ändring av förteckningar i enlighet med punkt 1 skall särskilt följande beaktas:

- a) Hälsostatus för hästdjur samt för andra tamdjur och vilda djur i tredjelandet, med särskilt beaktande av exotiska djursjukdomar och alla sådana aspekter av den allmänna hälso- och miljösituationen i tredjelandet som skulle kunna innebära en risk för folkhälsan och miljön i gemenskapen.
- b) Tredjelandets lagstiftning på området för djurs hälsa och välbefinnande.
- c) Organisationen av den behöriga veterinärmyndigheten och dess inspektörer, deras befogenheter, övervakningen av dem samt de medel som står till deras förfogande, inklusive personal och laboratorier, för att de skall kunna tillämpa den nationella lagstiftningen på ett effektivt sätt.
- d) De garantier som den behöriga veterinärmyndigheten i tredjelandet kan ge för att gemenskapens djurhälsovillkor eller likvärdiga villkor tillämpas.

▼M8

- e) Huruvida tredjelandet är medlem i Internationella byrån för epizootiska sjukdomar (OIE) samt om informationen från landet om infektiösa eller smittsamma hästdjurssjukdomar på dess territorium, särskilt sjukdomar som återfinns på OIE:s förteckning och i bilaga A till detta direktiv, tillhandahålls regelbundet och snabbt.
- f) De garantier som tredjelandet ger för att direkt information skall kunna ges till kommissionen och medlemsstaterna
 - i) inom 24 timmar dels om förekomst av infektiösa hästdjurssjukdomar som förtecknas i bilaga A har bekräftats, dels om förändringar i vaccinationsprogrammet för sådana sjukdomar,
 - ii) inom en rimlig tidsperiod om varje förslag till förändring av de nationella hygienbestämmelserna rörande hästdjur, särskilt avseende import av hästdjur,
 - iii) regelbundet om djurhälsostatus på dess territorium beträffande hästdjur.
- g) Erfarenheter från tidigare import av levande hästdjur från tredjelandet och resultaten av de införselkontroller som genomförts.
- h) Resultat av gemenskapens inspektioner och/eller revisioner i tredjelandet, särskilt resultatet från bedömningen av de behöriga myndigheterna eller, när kommissionen så fordrar, av de behöriga myndigheternas rapport om de inspektioner som dessa har utfört.
- i) Det berörda tredjelandets regler om förebyggande och bekämpning av infektiösa eller smittsamma djursjukdomar, bland annat reglerna för import av hästdjur från andra tredjeländer, samt tillämpningen av dessa regler.

3. Kommissionen skall ombesörja att uppdaterade versioner av alla de förteckningar som upprättats eller ändrats i enlighet med punkt 1 görs tillgängliga för allmänheten.

Dessa förteckningar kan kombineras med andra förteckningar för djur- och folkhälsoändamål och kan även omfatta modeller på hälsointyg.

4. Särskilda importbestämmelser för varje tredjeland eller grupp av tredjeländer, med beaktande av djurhälsosituationen beträffande hästdjur i det tredjeland eller de tredjeländer som berörs, skall fastställas i enlighet med förfarandet i artikel 24.2.

5. Närmare bestämmelser för tillämpningen av denna artikel och av kriterierna för vilka tredjeländer eller delar av tredjeländer som skall införas i den i första stycket avsedda förteckningen får antas i enlighet med förfarandet i artikel 24.2.

▼B*Artikel 13*

1. Hästjurens måste härröra från tredje land som
 - a) är fritt från afrikansk hästpest,
 - b) i minst två år har varit fritt från venezueliansk hästencefalomyelit (VEE),
 - c) i sex månader har varit fritt från beskällarsjuka (dourine) och rots.
2. Kommissionen får i enlighet med det förfarande som fastställs i artikel 24 besluta
 - a) att bestämmelserna i punkt 1 skall gälla för endast en del av det tredje landets territorium.

När de krav som uppställts för afrikansk hästpest är begränsade till en region måste minst de villkor uppfyllas som anges i artiklarna 5.2 och 5.3.

▼B

- b) att kräva ytterligare garantier ifråga om sjukdomar som är främmande för gemenskapen.

Artikel 14

Innan de lastas för transport till den medlemsstat till vilken de är destinerade måste hästjuren, under en tidsperiod som skall fastställas genom de beslut som skall antas i enlighet med artikel 15, ha vistats kontinuerligt inom det tredje landets territorium eller den berörda delen av detta eller, i händelse av regionalisering, inom den del av territoriet som definierats i enlighet med artikel 13.2 a.

De måste härröra från en anläggning som står under veterinär tillsyn.

Artikel 15

Import av hästdjur från ett tredje lands territorium eller någon del därav som definierats enligt artikel 13.2 a och som är uppfört på den förteckning som upprättats i enlighet med artikel 12.1 skall inte medges annat än om hästjuren utöver kraven i artikel 13 uppfyller

- a) de djurhälsovillkor som antagits med hänsyn till de berörda arterna och kategorierna av hästdjur, i enlighet med de förfaranden som anvisas i artikel 24 för import av hästdjur från det landet.

Till grund för fastställandet av djurhälsovillkoren i enlighet med punkt 1 skall ligga de normer som anges i artiklarna 4 och 5, och

- b) följande krav i fråga om ett tredje land som inte varit fritt från vesikulär stomatit eller virusarterit under de senaste sex månaderna:

i) De måste härröra från en anläggning som har varit fri från vesikulär stomatit under minst sex månader och de måste ha uppvisat negativ reaktion vid ett serologiskt prov före avsändandet.

ii) I fråga om virusarterit måste hästdjur av hankön - oavsett vad som sägs i artikel 19 ii — ha uppvisat negativ reaktion vid ett serologiskt prov eller vid ett virusisoleringsprov eller vid något annat prov som är erkänt i enlighet med det förfarande som anvisas i artikel 24 och som skulle kunna garantera frihet från viruset.

I enlighet med det förfarande som anvisas i artikel 24 och efter yttrande från Vetenskapliga veterinärmedicinska kommittén får kommissionen definiera de kategorier hästdjur av hankön som skall omfattas av detta krav.

Artikel 16

1. Hästjuren måste identifieras i enlighet med artikel 4.4 och åtföljas av ett intyg som utfärdats av en officiell veterinär från det exporterande tredje landet. Detta intyg måste

- a) ha utfärdats samma dag som djuren lastats för export till den medlemsstat till vilken de är destinerade eller, i fråga om registrerade hästar, sista vardagen före inlastningen,
- b) ha avfattats på minst ett av de officiella språken i de medlemsstater till vilka djuren är destinerade och på ett av de officiella språken i den medlemsstat där importbesiktningen företas,
- c) åtfölja djuren i original,
- d) styrka att djuren uppfyller kraven i detta direktiv liksom de krav som fastställs genom detta direktiv vad gäller införsel från tredje land,
- e) bestå av ett enda ark,

▼B

f) utfärdas för en enda mottagare eller, i fråga om djur för slakt, för en sändning, förutsatt att djuren är ordentligt märkta och identifierade.

Medlemsstaterna skall meddela kommissionen om de begagnar sig av denna möjlighet.

2. Intyget måste utfärdas på ett formulär som överensstämmer med en förebild som utarbetats i enlighet med det förfarande som fastställs i artikel 24.

Artikel 17

Inspektionerna skall utföras på stället av veterinära experter från medlemsstaterna och kommissionen för att kontrollera om bestämmelserna i detta direktiv och särskilt föreskrifterna i artikel 12.2 tillämpas i praktiken.

Om de kontroller som utförts i enlighet med de villkor som anges i denna artikel föranleder allvarliga anmärkningar mot en godkänd anläggning skall kommissionen omedelbart underrätta medlemsstaterna och genast besluta om tillfällig indragning av tillståndet. Det definitiva beslutet skall tas i enlighet med det förfarande som anvisas i artikel 25.

De experter från medlemsstaterna som har att utföra dessa kontroller skall utses av kommissionen på förslag av medlemsstaterna.

Dessa kontroller skall göras på gemenskapens vägnar och gemenskapen skall stå för alla därmed förenade kostnader.

Hur ofta dessa kontroller skall utföras och enligt vilket förfarande skall bestämmas i enlighet med artikel 24.

Artikel 18

1. Omedelbart efter ankomsten till den medlemsstat till vilken djuren är destinerade skall hästdjur som är avsedda för slakt föras till ett slakteri, antingen direkt eller via en marknad eller ett uppsamlingsställe och i överensstämmelse med djurhälsokrav slaktas inom en tidsfrist som specificerats i de beslut som skall antas enligt artikel 15.

2. Utan att det påverkar tillämpningen av de eventuella särskilda villkor som kan ha uppställts enligt förfarandet i artikel 24 får den behöriga myndigheten i den medlemsstat till vilken djuren är destinerade, av hänsyn till djurhälsan, anvisa det slakteri till vilket hästdjuren skall föras.

Artikel 19

I enlighet med det förfarande som anvisas i artikel 24

- i) får kommissionen besluta att import från tredje land eller del av tredje land skall begänsas till vissa arter eller kategorier,
- ii) skall kommissionen, utan hinder av vad som sägs i artikel 15, föreskriva särskilda villkor för att utfärda tillstånd till införsel av registrerade hästdjur eller hästdjur som är avsedda för speciella ändamål under en begränsad tidsperiod eller för att de skall få återinföras till gemenskapens territorium efter att tillfälligt ha förts ut,
- iii) skall kommissionen fastställa villkoren för att omvandla ett tillfälligt införseltillstånd till ett permanent sådant,

▼M8

- iv) får kommissionen utse ett referenslaboratorium för gemenskapen för en eller flera av de hästdjursjukdomar som anges i bilaga A och skall dessutom fastställa funktionerna, uppgifterna och förfarandena

▼M8

för samarbetet med de laboratorier som ansvarar för diagnostiken av hästdjurs infektionssjukdomar i medlemsstaterna.

▼M2**▼B**

KAPITEL IV

Slutbestämmelser

Artikel 22

Bestämmelserna i detta direktiv och särskilt de som återfinns i andra meningen i artikel 4.1 tillsammans med artiklarna 6, 8 och 21, skall ses över före den 1 januari 1993, inom ramen för de förslag som rör förverkligandet av den inre marknaden, om vilka rådet skall fatta beslut med kvalificerad majoritet.

Artikel 23

Bilagorna till detta direktiv skall revideras av kommissionen i enlighet med det förfarande som anvisas i artikel 25.

▼M7*Artikel 24*

1. Kommissionen skall biträdas av Ständiga kommittén för livsmedelskedjan och djurhälsa, som inrättats genom artikel 58 i förordning (EG) nr 178/2002 ⁽¹⁾.

2. När det hänvisas till denna artikel skall artiklarna 5 och 7 i beslut 1999/468/EG ⁽²⁾ tillämpas.

Den tid som avses i artikel 5.6 i beslut 1999/468/EG skall vara tre månader.

3. Kommittén skall själv anta sin arbetsordning.

Artikel 25

1. Kommissionen skall biträdas av Ständiga kommittén för livsmedelskedjan och djurhälsa.

2. När det hänvisas till denna artikel skall artiklarna 5 och 7 i beslut 1999/468/EG tillämpas.

Den tid som avses i artikel 5.6 i beslut 1999/468/EG skall vara 15 dagar.

▼B*Artikel 26*

Artikel 34 i direktiv 72/462/EEG skall tillämpas på de krav som anges i kapitel III i detta direktiv.

⁽¹⁾ EGT L 31, 1.2.2002, s. 1.

⁽²⁾ EGT L 184, 17.7.1999, s. 23.

▼B

Artikel 27

Medlemsstaterna skall sätta i kraft de lagar och andra författningar som är nödvändiga för att följa detta direktiv senast den 1 januari 1992. De skall omedelbart underrätta kommissionen om detta.

Artikel 28

Detta direktiv riktar sig till medlemsstaterna.

▼B

BILAGA A

ANMÄLNINGSPLIKTIGA SJUKDOMAR

Följande sjukdomar omfattas av anmälningsplikt:

- beskällarsjuka (dourine)
- rots
- hästencefalomyelit (av alla typer, inklusive VEE)
- infektiös anemi
- rabies
- mjältbrand
- afrikansk hästpest
- vesikulär stomatit

▼ M3

BILAGA B

HÄLSOINFORMATION(*)

Pass nr

Undertecknad försäkrar^(b) att det hästdjur som beskrivs ovan uppfyller följande krav:

- a) Det har besiktigats denna dag och visar inget kliniskt tecken på sjukdom.
- b) Det är inte avsett för slakt inom ramen för något nationellt program för bekämpning av smittsamma eller infektiösa sjukdomar.
- c) — Det kommer inte från ett territorium eller en del av ett territorium inom en medlemsstat eller ett tredje land som omfattas av restriktioner på grund av afrikansk hästpest eller
 det kommer från ett territorium eller en del av ett territorium inom en medlemsstat som omfattas av restriktioner av djurhälsoskäl och har vid karantänstationen mellan och^(c) med tillfredsställande resultat genomgått de undersökningar som fastställts i artikel 5.3 i direktiv 90/426/EEG.
 — det har inte vaccinerats mot afrikansk hästpest eller
 det har vaccinerats mot afrikansk hästpest den^(c) ^(d).
- d) Det kommer inte från en anläggning som omfattats av förbud av djurhälsoskäl och har inte heller varit i kontakt med hästdjur från någon anläggning som omfattats av förbud av djurhälsoskäl
 — i fråga om hästdjur som misstänks ha angripits av beskällarsjuka (dourine), under sex månader räknat från dagen för den senaste faktiska eller möjliga kontakten med ett sjukt djur varvid dock, om det är fråga om en hingst, förbudet skall gälla till dess att djuret kastrerats,
 — i fråga om rots eller hästencefalomyelit, under sex månader räknat från den dag när de hästdjur som led av den ifrågakvarande sjukdomen slaktats,
 — i fråga om smittsam anemi, fram till den dag då de djur som återstår efter slakten av de smittade djuren har visat negativ reaktion på två Coggins-tester utförda med tre månaders mellanrum,
 — i fråga om vesikulär stomatit, under sex månader räknat från det senast inträffade fallet,
 — i fråga om rabies, under en månad räknat från det senast inträffade fallet,
 — i fråga om mjältbrand, under 15 dagar räknat från det senast inträffade fallet,
 — om samtliga djur tillhörande en art som är mottaglig för sjukdomen och befinner sig inom anläggningen har slaktats och lokalerna har desinficerats, under 30 dagar, räknat från den dag när djuren destruerades och lokalerna desinficerades, med undantag för mjältbrand, där förbudsperioden är 15 dagar.
- e) Under de senaste 15 dagarna före denna försäkran har det såvitt jag vet inte varit i kontakt med hästdjur som lider av någon infektiös eller smittsam sjukdom.
- ^(f) Det befann sig vid besiktningen i ett hälsotillstånd som tillät den planerade transporten i enlighet med bestämmelserna i direktiv 91/628/EEG^(g). ◀

Datum	Ort	Den officiella veterinärens stämpel och namnteckning ⁽¹⁾

⁽¹⁾ Namnförtydligande och befattning.

(*) Dessa upplysningar krävs inte när det finns ett bilateralt avtal i enlighet med artikel 6 i direktiv 90/426/EEG.

^(b) Gäller i 10 dagar.^(c) Stryk det som inte gäller.^(d) Vaccinationsdatum måste anges i passet.^(f) Detta utlåtande fritar inte transportörerna från deras skyldigheter enligt gemenskapens bestämmelser beträffande i synnerhet hälsotillståndet för djur som skall transporteras.

▼ M3

BILAGA C

MODELL FÖR

HÄLSOINTYG

för handel mellan medlemsstater inom EEG

HÄSTDJUR

Nr:

Avsändande medlemsstat:

Ansvarigt departement:

Ansvarig regional avdelning:

I. Antal hästdjur:

II. Identifiering av hästdjuren:

Antal hästdjur ⁽¹⁾	Arter häst, åsna, mula, mulåsna	Ras Ålder Kön	Identifieringsmetod och identifiering ⁽²⁾

⁽¹⁾ I fråga om djur för slakt, vilken särskild märkning som tillämpats.⁽²⁾ Ett pass för identifiering av hästdjuret får fogas till detta intyg, förutsatt att djurets nummer angivits.

III. Djurets/djurens ursprung och destination:

Djuret/djuren kommer att sändas

från:
(utförelsorten)till:
(den medlemsstat och ort till vilken djuren är destinerade)

Avsändarens namn och adress:

.....

Mottagarens namn och adress:

.....

IV. Uppgifter om hälsotillståndet^(*)

Undertecknad intygar att det djur/de djur som beskrivits ovan uppfyller följande krav:

1. Det/de har undersökts denna dag och visar inget kliniskt tecken på sjukdom.
2. Det/de är inte avsedda för slakt inom ramen för ett nationellt program för bekämpning av någon smittsam eller infektiös sjukdom.

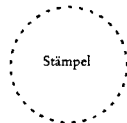
^(*) Dessa upplysningar krävs inte när det finns ett bilateralt avtal i enlighet med artikel 6 i direktiv 90/426/EEG.

▼ **M3**

3. — Det/de kommer inte från ett territorium eller en del av ett territorium inom en medlemsstat eller ett tredje land som omfattas av restriktioner på grund av afrikansk hästpest
 eller
 det/de kommer från ett territorium eller en del av ett territorium inom en medlemsstat som har ålagts restriktioner på grund av afrikansk hästpest och har med tillfredsställande resultat underkastats de undersökningar som fastställs i artikel 5.3 i direktiv 90/426/EEG vid karantänstationen mellan och^(b).
- Det/de har inte vaccinerats mot afrikansk hästpest
 eller
 det/de vaccinerades mot afrikansk hästpest den^(b).
4. Det/de kommer inte från en anläggning som omfattas av förbud av djurhälsoskäl och har heller inte varit i kontakt med hästdjur från någon anläggning som omfattas av förbud av djurhälsoskäl
- i fråga om hästdjur som misstänks ha angripits av beskällarsjuka (dourine), under sex månader räknat från dagen för den senaste faktiska eller möjliga kontakten med ett sjukt djur varvid dock, om det är fråga om en hingst, förbudet skall gälla till dess att djuret kastrerats,
 - i fråga om rots eller hästencefalomyelit, under sex månader räknat från den dag när de hästdjur som led av den ifrågakvarande sjukdomen slaktats,
 - i fråga om smittsam anemi, fram till den dag då de djur som återstår efter slakten av de smittade djuren har visat negativ reaktion på två Coggins-tester utförda med tre månaders mellanrum,
 - i fråga om vesikulär stomatit, under sex månader räknat från det senast inträffade fallet,
 - i fråga om rabies, under en månad räknat från det senast inträffade fallet,
 - i fråga om mjältbrand, under 15 dagar räknat från det senast inträffade fallet,
 - om samtliga djur tillhörande en art som är mottaglig för sjukdomen och befinner sig inom anläggningen har slaktats och lokalerna har desinficerats, under 30 dagar, räknat från den dag när djuren destruerades och lokalerna desinficerades, med undantag för mjältbrand, där förbudsperioden är 15 dagar.
5. Under de senaste 15 dagarna före denna försäkran har det/de såvitt jag vet inte varit i kontakt med hästdjur som lider av någon infektiös eller smittsam sjukdom.
- ^(c) 6. Det/de befann sig vid besiktningen i ett hälsotillstånd som tillåter den planerade transporten i enlighet med bestämmelserna i direktiv 91/628/EEG^(c). ◀

V. Detta intyg gäller i 10 dagar.

(Ort), (datum)

.....
(namnteckning)(undertecknande veterinärens namn-
förtydligande och befattning)^(c)^(b) Stryk det som inte gäller.^(c) I Tyskland "Beamteter Tierarzt", i Belgien "Inspecteur vétérinaire", eller "Inspecteur Dierenarts", i Frankrike "Vétérinaire officiel", i Italien "Veterinario ufficiale", i Luxemburg "Inspecteur vétérinaire", i Nederländerna "Officieel Dierenarts", i Danmark "Embedsdyrlæge", i Irland "Veterinary Inspector", i Förenade kungariket "Veterinary Inspector", i Grekland "Επίσημος κτηνίατρος", i Spanien "Inspector Veterinario", och i Portugal "Inspector Veterinário", ►^(d) i Österrike "Amtstierarzt", i Finland "kunnaneläinlääkäri" eller "kaupungineläinlääkäri" eller "lääänineläinlääkäri"/"kommunalveterinär" eller "stadsveterinär" eller "länsveterinär" i Sverige "länsveterinär", "distriktsveterinär" eller "gränsveterinär", ►^(d) i Tjeckien "veterinární inspektor", i Estland "veterinaarjärelevalve ametnik", i Cypern "Επίσημος Κτηνίατρος", i Lettland "veterinārais inspektors", i Litauen "veterinarijos inspektorius", i Ungern "hatóságai állatorvos", på Malta "veterinarju ufficiali", i Polen "urzędowy lekarz weterynarii", i Slovenien "veterinarski inspektor", i Slovakien "veterinárny inspektor" ◀.^(d) i Bulgarien "ветеринарен инспектор", i Rumänien "medic veterinar autorizat". ◀
^(e) Detta utlåtande fritar inte transportörerna från deras skyldigheter enligt gemenskapens bestämmelser beträffande i synnerhet hälsotillståndet för djur som skall transporteras.► (1) **A1**► (2) **M5**► (3) **A2**► (4) **M9**

▼ **M6***BILAGA D***AFRIKANSK HÄSTPEST***DIAGNOSTISERING*

Reagens till de ELISA-tester (enzyme-linked immunosorbent assays) som beskrivs nedan kan erhållas från Europeiska gemenskapens referenslaboratorium eller från OIE:s referenslaboratorium för afrikansk hästpest.

1. **KOMPETITIV ELISA FÖR PÅVISANDE AV ANTIKROPPAR MOT AFRIKANSK HÄSTPESTVIRUS (AHSV) (FÖRESKRIVEN TEST)**

Kompetitiv ELISA används för att påvisa specifika AHSV-antikroppar i serum från alla arter av hästdjur. Det bredspektriga polyklonala immuna anti-AHSV marsvinsserum (härefter benämnt marsvinsantiserum) är serogruppspecifikt och kan påvisa alla kända serotyper av afrikansk hästpestvirus.

Testprincipen är att avbryta reaktionen mellan AHSV-antigen och ett marsvinsantiserum med ett testserumprov. AHSV-antikropparna i testserumprovet kommer att konkurrera med antikropparna i marsvinsantiserum vilket orsakar en färgreduktion (efter det att enzymmärkta antimarsvinsantikroppar och substrat har tillsatts). Serum kan testas i en enkel spädning på 1:5 (spot test-metod) eller kan titreras (serumtitreringsmetod) så att en sluttiter erhålls. Inhibition på mer än 50 % skall ses som positiva.

Nedan beskrivna testprotokoll används vid Regional Reference Laboratory for African horse sickness i Pirbright, Förenade kungariket.

1.1 **Testförfarande**

1.1.1 *Beredning av plattorna*

1.1.1.1 Ladda ELISA-plattorna med AHSV-antigen från infekterade cellkulturer i en karbonat/natriumvätekarbonat buffert, pH 9,6. Inkubera ELISA-plattorna vid 4 °C över natten.

1.1.1.2 Tvätta plattorna tre gånger med fosfatbuffrad koksaltlösning (PBS), pH 7,2–7,4, töm och avlägsna överskottsbuffert med läskapper.

1.1.2 *Kontrollbrunnar*

1.1.2.1 Titrera positivt kontrollserum i en tvåfaldig spädningsserie, från 1:5 till 1:640, i kolumn 1 i en blockerande buffert (PBS innehållande 0,05 % (v/v) Tween 20, 5,0 % (w/v) skummjölkspulver (Cadburys Marvel™) och 1 % (v/v) serum från vuxet nötkreatur) så att en slutlig volym på 50 µl/brunn erhålls.

1.1.2.2 Tillsätt 50 µl av negativt kontrollserum i en spädning på 1:5 (10 µl serum + 40 µl blockerande buffert) i brunnarna A och B i kolumn 2.

1.1.2.3 Tillsätt 100 µl blockerande buffert per brunn i brunnarna C och D i kolumn 2 (BLANK).

1.1.2.4 Tillsätt 50 µl blockerande buffert i brunnarna E, F, G och H i kolumn 2 (marsvinskontroll).

1.1.3 *Spot test-metod*

1.1.3.1 Sätt en spädning på 1:5 av varje testserum i blockerande buffert till två brunnar i kolumnerna 3–12 (10 µl serum + 40 µl blockerande buffert).

eller

1.1.4 *Serumtitreringsmetod*

1.1.4.1 Preparera en tvåfaldig spädningsserie av varje prov (från 1:5 till 1:640) i blockerande buffert, en brunn per spädning i åtta brunnar i kolumnerna 3–12.

och

1.1.5 Sätt 50 µl marsvinsantiserum, som späts i blockerande buffert, till alla brunnar på ELISA-plattorna utom brunnarna som

▼M6

är BLANK (varje brunn skall nu innehålla sammanlagt 100 µl).

- 1.1.5.1 Inkubera på skak vid 37 °C under en timme.
- 1.1.5.2 Tvätta plattorna tre gånger och avlägsna överskottsbuffert med läskapper.
- 1.1.5.3 Tillsätt 50 µl HRP-konjugerat kanin-antimarsvin som späts med blockerande buffert i varje brunn.
- 1.1.5.4 Inkubera på skak vid 37 °C under en timme.
- 1.1.5.5 Tvätta plattorna tre gånger och avlägsna överskottsbuffert med läskapper.

1.1.6 *Kromogen*

Preparera kromogen/substrat-lösningen OPD (ortho-phenyldiamine) i enlighet med tillverkarens instruktioner (0,4 mg/ml i sterilt destillerat vatten) strax innan den ska användas. Tillsätt en sådan mängd substrat (väteperoxid = H₂O₂) att den slutliga koncentrationen blir 0,05 % (v/v) (1:2 000 av en 30 %-ig lösning av H₂O₂). Sätt 50 µl OPD-lösning till varje brunn och låt plattorna stå i 10 minuter i rumstemperatur. Stoppa reaktionen genom att tillsätta 50 µl 1M svavelsyra (H₂SO₄) per brunn.

1.1.7 *Avläsning*

Avläs spektrofotometriskt vid 492 nm.

1.2 **Redovisning av resultaten**

- 1.2.1 Använd ett dataprogram för att skriva ut värden för optisk täthet (optical density, OD) och den procentuella inhibitionen (PI) för test- och kontrollsera på grundval av det medelvärde som erhållits för de fyra marsvinskontrollerna. OD- och PI-värden används för att bedöma testens tillförlitlighet. De övre (UCL) och de undre kontrollgränserna (LCL) för marsvinskontrollen ligger mellan OD-värdena 1,4 respektive 0,4. Titern för den positiva kontrollen som baseras på 50 % PI skall vara 1:240 (mellan 1:120 och 1:480). Plattor som inte uppfyller dessa kriterier skall inte godkännas. Om titern för positivt kontrollserum är högre än 1:480 och proverna fortfarande är negativa kan negativa prover emellertid godtas.

De negativa kontrollerna och blank skall ge PI-värden på mellan + 25 % och - 25 % respektive mellan + 95 och + 105 %. Om resultaten ligger utanför dessa värden betyder detta inte att plattan inte kan godkännas, men att bakgrundsfärg håller på att utvecklas.

- 1.2.2 Det diagnostiska tröskelvärdet (cut-off-värdet) för testserum är 50 % (PI 50 %). Prov som ger PI-värden på mer än 50 % skall registreras som positiva. Prov som ger PI-värden på mindre än 50 % skall registreras som negativa.

Prov som ger resultat som ligger över eller under tröskelvärderna för kontrollerna skall betraktas som tveksamma. Sådana prov bör testas om med spot test-metoden eller genom titrering. Positiva prover kan också titreras för att bestämma sluttitern.

▼M6

Spot test-schema

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

– ve. Cont. = negativ kontroll
+ ve. Cont. = positiv kontroll
GP Cont. = marsvinskontroll

Serumtitreringschema

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

– ve. Cont. = negativ kontroll
+ ve. Cont. = positiv kontroll
GP Cont. = marsvinskontroll

2. INDIREKT ELISA FÖR PÅVISANDE AV ANTIKROPPAR MOT AFRIKANSK HÄSTPESTVIRUS (AHSV) (FÖRESKRIVEN TEST)

Denna test följer testbeskrivningen i kapitel 2.1.11 i OIE:s *Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines*, fjärde utgåvan, 2000.

Rekombinant VP7-protein har använts som antigen för påvisande av antikroppar mot AHSV och ger hög sensitivitet och specificitet. Andra fördelar är att det är stabilt och inte infektiöst.

2.1 Testförfarande:

2.1.1 Fast fas:

2.1.1.1 ELISA-plattorna laddas med rekombinant AHSV-4 VP7 i en karbonat/natriumvätekarbonat buffert, pH 9,6. Inkubera plattorna vid 4 °C över natten.

2.1.1.2 Skölj plattorna fem gånger med destillerat vatten innehållande 0,01 % (v/v) Tween 20 (tvättlösning). Tryck försiktigt plattorna mot ett absorberande material så att eventuella tvättrester tas bort.

▼ **M6**

2.1.1.3 Blockera plattorna med fosfatbuffrad koksaltlösning (PBS) och 5 % (w/v) skummjök (tormjök från Nestlé™), 200 µl/brunn, under en timme vid 37 °C.

2.1.1.4 Avlägsna den blockerande lösningen och slå försiktigt plattorna mot ett absorberande material.

2.1.2 *Prov:*

2.1.2.1 De serumprov som skall testas och positiva och negativa kontrollsera späds 1:25 i PBS + 5 % (w/v) skummjök + 0,05 % (v/v) Tween 20, 100 µl per brunn. Inkubera under en timme vid 37 °C.

Vid titreringen, gör en tvåfaldig spädningsserie från 1:25 (100 µl/brunn), ett serum per kolumn på plattan, och gör detsamma med de positiva och negativa kontrollsera. Inkubera under en timme vid 37 °C.

2.1.2.2 Tvätta plattorna i enlighet med steg 2.1.1.2.

2.1.3 *Konjugat:*

2.1.3.1 Fördela 100 µl per brunn av HRP-konjugerat antihästglobulin som späts i PBS + 5 % mjök + 0,05 % Tween 20, pH 7,2. Inkubera under en timme vid 37 °C.

2.1.3.2 Tvätta plattorna i enlighet med steg 2.1.1.2.

2.1.4 *Kromogen/substrat:*

2.1.4.1 Tillsätt 200 µl/brunn av kromogen/substratlösning [10 ml 80,6 mM DMAB (dimethylaminobenzaldehyd) + 10 ml 1,56 mM MBTH (3-metyl-2-benzothiazoline hydrazone hydrochlorid) + 5 µl H₂O₂].

Färgutvecklingen stoppas genom tillsats av 50 µl 3N H₂SO₄ efter cirka 5–10 minuter (innan det negativa kontrollprovet börjar färgas).

Andra kromogener såsom ABTS (2,2'-Azino-bis-[3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid]), TMB (tetrametyl benzidin), eller OPD (ortho-phenyldiamin) kan också användas.

2.1.4.2 Avläs plattorna vid 600 nm (eller 620 nm).

2.2 **Tolkning av resultaten:**

2.2.1 Beräkna cut-off-värdet genom att lägga till 0,6 till det negativa kontrollvärdet. (0,6 är standardavvikelsen för en grupp med 30 negativa serum).

2.2.2 Prov som ger absorbansvärden som är lägre än cut-off-värdet skall betraktas som negativa.

2.2.3 Prov som ger absorbansvärden som är högre än cut-off-värdet + 0,15 skall betraktas som positiva.

2.2.4 Prov som ger absorbansvärden som ligger mellan negativt och positivt skall betraktas som tveksamma och en annan metod måste tillämpas för att bekräfta resultatet.

3. **BLOCKERANDE ELISA FÖR PÅVISANDE AV ANTIKROPPAR MOT AFRIKANSK HÄSTPEST-VIRUS (AHSV) (FÖRESKRIVEN TEST)**

Den blockerande ELISA används för att påvisa specifika AHSV-antikroppar i serum från alla arter av djur som kan drabbas av AHS. VP7 är det dominerande antigenet hos AHSV och är konserverat hos alla nio serotyperna. Eftersom den monoklonala antikroppen (Mab) riktas mot VP7 har testen en hög sensitivitet och specificitet. Det rekombinanta VP7-antigenet är helt oskadligt vilket garanterar en hög grad av säkerhet.

Principen för testen är att avbryta reaktionen mellan det rekombinanta VP7, som är de antigen som är bundet till ELISA-plattan och den för VP7 specifika konjugerade Mab. Om antikroppar finns i serum kommer reaktionen mellan antikroppen och Mab att avbrytas, vilket ger en färgreduktion.

Nedan beskrivna test utförs av Europeiska gemenskapens referenslaboratorium för afrikansk hästpest i Algete i Spanien.

▼M6**3.1 Testförfarande:****3.1.1 ELISA-plattor**

3.1.1.1 Ladda plattorna med rekombinant AHSV-4 VP7 som späts i en karbonat/natriumvätekarbonat buffert, pH 9,6. Inkubera över natten vid 4 °C.

3.1.1.2 Tvätta plattorna fem gånger med fosfatbuffrad koksaltlösning (PBS) innehållande 0,05 % (v/v) Tween 20 (PBST).

3.1.1.3 Stabilisera plattorna med en stabiliseringslösning (så att de kan förvaras under längre tid vid + 4 °C utan att förlora aktivitet) och torka dem mot ett absorberande material.

3.1.2 Prov och kontroller

3.1.2.1 Vid screening: Späd provsera och kontrollera med PBST 1:10 direkt i plattorna så att en slutlig volym på 100 µl/brunn erhålles. Inkubera under en timme vid 37 °C.

3.1.2.2 Vid titrering: Bered en tvåfaldig spädningsserie med provserum och positiva kontroller (100 µl/brunn) från 1:10 till 1:1 280 i åtta brunnar. Negativa kontrollen testas i spädning 1:10.

3.1.3 Konjugat:

Sätt 50 µl/brunn av förspädd HRP-konjugerad Mab (monoklonala antikroppar specifika för VP7) i varje brunn och blanda försiktigt så att lösningen blir homogen. Inkubera under 30 minuter vid 37 °C.

3.1.4 Tvätta plattorna fem gånger med PBST, och torka enligt ovan.

3.1.5 Kromogen/substrat:

Sätt 100 µl/brunn av kromogen/substratlösning (1 ml ABTS (2,2'-Azino-bis-[3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid]) 5 mg/ml + 9 ml substratbuffert [0,1 M fosfatcitratbuffert, pH 4, innehållande 0,03 % H₂O₂]) och inkubera under tio minuter vid rumstemperatur. Färgutvecklingen stoppas genom tillsats av 100 µl/brunn av 2 % (w/v) SDS (natriumdodecylsulfat).

3.1.6 Avläsning

Avläs i ELISA-läsare vid 405 nm.

3.2 Tolkning av resultaten:**3.2.1 Validering av metoden**

Testen är giltig när de negativa kontrollprovens (NC) OD-värden är högre än 1,0 och den positiva kontrollens (PC) är lägre än 0,2.

3.2.2 Beräkning av cut-off-värdet

$$\text{Positivt cut-off-värde} = \text{NC} - ([\text{NC} - \text{PC}] \cdot 0,3)$$

$$\text{Negativt cut-off-värde} = \text{NC} - ([\text{NC} - \text{PC}] \cdot 0,2)$$

där NC är OD av den negativa kontrollen, och PC är OD av den positiva kontrollen.

3.2.3 Tolkning av resultaten

Prov vars OD-värde är lägre än det positiva cut-off-värdet skall anses vara positiva.

▼ **M6**

Prov vars OD-värde är högre än det negativa cut-off-värdet skall anses vara negativa.

Prov vars OD-värde ligger mellan dessa båda värden skall anses tveksamma och nya prov skall tas från djuren efter två till tre veckor.