Este documento es un instrumento de documentación y no compromete la responsabilidad de las instituciones

►**B**

DIRECTIVA DEL CONSEJO

de 26 de junio de 1990

relativa a las condiciones de policía sanitaria que regulan los movimientos de équidos y las importaciones de équidos procedentes de países terceros

(90/426/CEE)

(DO L 224 de 18.8.1990, p. 42)

Modificada por:

		Diario Oficial		
		n°	página	fecha
►**M1**	Directiva del Consejo 90/425/CEE, de 26 de junio de 1990	L 224	29	18.8.1990
►**M2**	Directiva del Consejo 91/496/CEE, de 15 de julio de 1991	L 268	56	24.9.1991
►**M3**	Decisión 92/130/CEE de la Comisión de 13 de febrero de 1992	L 47	26	22.2.1992
►**M4**	Directiva 92/36/CEE del Consejo de 29 de abril de 1992	L 157	28	10.6.1992
►**M5**	Decisión 2001/298/CE de la Comisión de 30 de marzo de 2001	L 102	63	12.4.2001
►**M6**	Decisión 2002/160/CE de la Comisión de 21 de febrero de 2002	L 53	37	23.2.2002
►**M7**	Reglamento (CE) nº 806/2003 del Consejo de 14 de abril de 2003	L 122	1	16.5.2003
►**M8**	Directiva 2004/68/CE del Consejo de 26.4.2004	L 226	128	25.6.2004
►**M9**	Directiva 2006/104/CE del Consejo de 20 de noviembre de 2006	L 363	352	20.12.2006

Modificada por:

►**A1**	Acta de adhesión de Austria, de Finlandia y de Suecia	C 241	21	29.8.1994
	(adaptada por Decisión 95/1/CE, Euratom, CECA del Consejo)	L 1	1	1.1.1995
►**A2**	Acta relativa a las condiciones de adhesión de la República Checa, la República de Estonia, la República de Chipre, la República de Letonia, la República de Lituania, la República de Hungría, la República de Malta, la República de Polonia, la República de Eslovenia y la República Eslovaca, y a las adaptaciones de los Tratados en los que se fundamenta la Unión	L 236	33	23.9.2003

Rectificado por:

►**C1** Rectificación, DO L 296 de 27.10.1990, p. 66 (90/426/EEC)

▼B

DIRECTIVA DEL CONSEJO

de 26 de junio de 1990

relativa a las condiciones de policía sanitaria que regulan los movimientos de équidos y las importaciones de équidos procedentes de países terceros

(90/426/CEE)

EL CONSEJO DE LAS COMUNIDADES EUROPEAS,

Visto el Tratado constitutivo de la Comunidad Económica Europea y, en particular, su artículo 43,

Vista la propuesta de la Comisión ([1]),

Visto el dictamen del Parlamento Europeo ([2]),

Visto el dictamen del Comité Económico y Social ([3]),

Considerando que los équidos, por cuanto se trata de animales vivos, están incluidos en la lista de los productos enumerados en el Anexo II del Tratado;

Considerando que, para garantizar un desarrollo racional de la producción de équidos e incrementar así la productividad de este sector, es necesario fijar a nivel comunitario normas que regulen los movimientos de los équidos en los intercambios intracomunitarios;

Considerando que la cría de équidos y, en particular, de caballos, se integra de modo general en el marco de las actividades agrarias; que constituye una fuente de ingresos para una parte de la población agraria;

Considerando que es conveniente eliminar las disparidades existentes en los Estados miembros en materia de policía sanitaria, con el fin de favorecer los intercambios intracomunitarios de équidos;

Considerando que, para permitir el desarrollo armonioso de los intercambios intracomunitarios, es necesario definir un régimen comunitario aplicable a las importaciones procedentes de países terceros;

Considerando que respecto de los équidos registrados provistos de un documento de identificación, conviene igualmente regular las condiciones de sus movimientos en el territorio nacional;

Considerando que, para participar en los intercambios, los équidos deben satisfacer determinadas exigencias de policía sanitaria, con el fin de evitar la propagación de enfermedades contagiosas; que parece oportuno, en particular, prever una posible regionalización de las medidas restrictivas;

Considerando que, con este mismo propósito, es asimismo conveniente fijar las condiciones de transporte;

Considerando que, para garantizar el cumplimiento de las exigencias previstas, resulta necesario prever que un veterinario oficial expida un certificado sanitario que acompañe a los équidos hasta su lugar de destino;

Considerando que la organización y las consecuencias de los controles que el Estado miembro de destino debe efectuar, y las medidas de protección que deben adoptarse, deben ser fijadas en el marco de la normativa que se apruebe sobre los controles veterinarios en los inter-

([1]) DO nº C 327 de 30. 12. 1989, p. 61.
([2]) DO nº C 149 de 18. 6. 1990.
([3]) DO nº C 62 de 12. 3. 1990, p. 46.

▼B

cambios intracomunitarios de animales vivos en la perspectiva de la realización del mercado interior;

Considerando que es conveniente prever que la Comisión tenga la posibilidad de realizar controles; que dichos controles deben ser efectuados en colaboración con las autoridades nacionales competentes;

Considerando que la definición de un régimen comunitario aplicable a las importaciones procedentes de terceros países implica la confección de una lista de los terceros países o partes de los terceros países desde los que pueden importarse équidos;

Considerando que la selección de dichos países debe estar basada en criterios de carácter general, tales como el estado sanitario del ganado, la organización y competencias de los servicios veterinarios y la normativa sanitaria vigente;

Considerando, por otra parte, que es preciso no autorizar la importación de équidos procedentes de países infectados o indemnes desde hace poco tiempo de enfermedades contagiosas de los animales que supongan un peligro para el ganado comunitario; que lo mismo cabe decir para las importaciones procedentes de países terceros donde se practiquen vacunaciones contra dichas enfermedades;

Considerando que será necesario completar las condiciones generales aplicables a las importaciones procedentes de países terceros con condiciones particulares establecidas en función de la situación sanitaria de cada uno de ellos; que el carácter técnico y la diversidad de criterios en los que deben basarse dichas condiciones particulares requieren, para su definición, un procedimiento comunitario flexible y rápido en el que colaboren estrechamente la Comisión y los Estados miembros;

Considerando que la presentación, en la importación de équidos, de un certificado que se ajuste a un modelo común constituye uno de los medios más eficaces para comprobar la aplicación de la normativa comunitaria; que dicha normativa podrá incluir disposiciones particulares, que podrán variar según el país tercero de que se trate, y que deberá tenerse en cuenta esta circunstancia al establecer los modelos de certificado;

Considerando que es conveniente encargar a los veterinarios de la Comunidad la tarea de comprobar si, sobre todo por lo que respecta a los países terceros se cumplen los requisitos de la presente Directiva;

Considerando que el control de la importación debe centrarse en el origen y estado sanitario de los équidos;

Considerando que las normas generales aplicables a los controles a efectuar en la importación deben ser definidos en un marco global;

Considerando que todo Estado miembro debe poder prohibir en el acto las importaciones procedentes de un país tercero cuando éstas puedan poner en peligro la salud de los animales; que en tal caso es preciso, sin perjuicio de las eventuales modificaciones de la lista de países autorizados para exportar a la Comunidad, garantizar sin demora la coordinación de la actitud de los Estados miembros respecto de dicho país tercero;

Considerando que las disposiciones de la presente Directiva deberán ser revisadas en el marco de la plena realización del mercado interior;

Considerando que hay que prever un procedimiento que establezca una cooperación estrecha y eficaz entre los Estados miembros y la Comisión en el seno del Comité veterinario permanente,

HA ADOPTADO LA PRESENTE DIRECTIVA:

▼B

CAPÍTULO I

Disposiciones generales

Artículo 1

La presente Directiva define las condiciones de policía sanitaria que regulan los movimientos de équidos entre Estados miembros y las importaciones de équidos procedentes de países terceros.

Artículo 2

A efectos de la presente Directiva se entenderá por:

a) «explotación»: el establecimiento agrario o de entrenamiento, la cuadra o, en general, cualquier local o instalación en que se tengan o se críen habitualmente équidos, independientemente del uso al que se les destine;

b) «équidos»: los animales domésticos o salvajes de las especies equinas — incluidas las cebras — y asnal y los animales resultantes del cruce de las mismas;

c) «équidos registrados»: todo équido registrado tal como se define en la Directiva 90/427/CEE ([1]), identificado mediante un documento de identificación expedido por la autoridad ganadera o cualquier otra autoridad competente del país de origen del équido encargada de la llevanza del libro genealógico o del registro de la raza de dicho équido, o por toda asociación u organización internacional encargada del control de los caballos destinados a las competiciones o a las carreras.

d) «équidos de abasto»: los équidos destinados al matadero para ser sacrificados, bien directamente o bien después de pasar por un mercado o por centro de agrupamiento autorizado;

e) «équidos de crianza y de renta»: los équidos no mencionados en las letras c) y d);

f) «Estado miembro o país tercero indemne de peste equina»: cualquier Estado miembro o país tercero en cuyo territorio ninguna evidencia clínica, serológica en los équidos no vacunados, o epidemiológica haya permitido comprobar la presencia de peste equina durante los dos últimos años y en el que, durante los doce últimos meses, no se haya efectuado vacuna alguna contra dicha enfermedad;

g) «enfermedades de declaración obligatoria»: las enfermedades enumeradas en el Anexo A;

h) «veterinario oficial»: el veterinario designado por la autoridad central competente del Estado miembro o de un país tercero;

i) «admisión temporal»: situación de un équido registrado procedente de un país tercero y admitido en el territorio de la Comunidad por un período no superior a noventa días que deberá determinar la Comisión, según el procedimiento previsto en el artículo 24 en función de la situación sanitaria del país de origen.

([1]) DO nº L 224 de 18. 8. 1990, p. 55.

▼B

CAPÍTULO II

Normas sobre los movimientos de équidos

Artículo 3

Los Estados miembros sólo podrán autorizar el movimiento de équidos registrados en su territorio y enviar a otro Estado miembro équidos que cumplan los requisitos definidos en los artículos 4 y 5.

No obstante, las autoridades competentes de los Estados miembros de destino podrán conceder dispensas generales o limitadas para los movimientos de équidos:

— que se monten o lleven con fines deportivos o recreativos por rutas situadas cerca de las fronteras interiores de la Comunidad;

— que participen en manifestaciones culturales o similares, o en actividades organizadas por organismos locales autorizados situados cerca de las fronteras interiores de la Comunidad;

— destinados exclusivamente al pasto o al trabajo, de forma temporal, cerca de las fronteras interiores de la Comunidad.

Los Estados miembros que hagan uso de esta autorización informarán a la Comisión sobre los términos de las dispensas concedidas.

Artículo 4

1. En el momento de la inspección, los équidos no deberán presentar ningún síntoma de enfermedad. La inspección deberá llevarse a cabo en el transcurso de las cuarenta y ocho horas anteriores al embarque o la carga. No obstante y sin perjuicio de lo dispuesto en el artículo 6, dicha inspección se exigirá en el caso de los équidos registrados únicamente para los intercambios intracomunitarios.

2. Sin perjuicio de los requisitos previstos en el apartado 5 para las enfermedades de declaración obligatoria, el veterinario oficial deberá asegurarse al hacer la inspección de que no existe ningún hecho — basándose incluso en las declaraciones del propietario o del criador — que permita concluir que los équidos hayan estado en contacto con équidos afectados por una infección o una enfermedad contagiosa en los últimos quince días anteriores a la inspección.

3. Los équidos no deberán estar incluidos entre los animales que haya que eliminar y destruir en cumplimiento de un programa de erradicación de enfermedad contagiosa aplicado en un Estado miembro.

4. Los équidos deberán ser sometidos a identificación, la cual se llevará a cabo:

i) para los caballos registrados, por medio de un documento de identificación establecido por la Directiva 90/427/CEE ([1]), que deberá certificar en particular que se cumple lo dispuesto en los apartados 5 y 6 del artículo 5. La validez de dicho documento deberá ser suspendida por el veterinario oficial durante el período de las prohibiciones contempladas en el apartado 5 o en el artículo 5. Deberá restituirse, una vez sacrificado el caballo registrado, a la autoridad que lo haya expedido. La Comisión aprobará las normas de desarrollo del presente apartado con arreglo al procedimiento establecido en el artículo 24;

ii) para los équidos de reproducción o en producción, según un método de identificación que deberá elaborar la Comisión, con arreglo al procedimiento establecido en el artículo 24.

([1]) DO L nº 224 de 18. 8. 1990, p. 55.

▼B

Hasta el momento en que comience a aplicarse dicho método, seguirán aplicándose los métodos de identificación nacionales reconocidos oficialmente, siempre que sean notificados a la Comisión y a los demás Estados miembros dentro de un plazo de tres meses a partir de la fecha de adopción de la presente Directiva.

5. Además del requisito establecido en el artículo 5, los équidos no deberán proceder de una explotación que haya sido objeto de una de las medidas de prohibición siguientes:

a) En caso de animales de las especies expuestas a la enfermedad que se encuentren en la explotación no hayan sido sacrificados o suprimidos en su totalidad, la duración de la prohibición que recae sobre la explotación de procedencia deberá ser de al menos:

   — seis meses en el caso de équidos que infundan la sospecha de padecer durina, a partir de la fecha del último contacto o de la posibilidad de contacto con un équido enfermo. No obstante, si se trata de un semental, la prohibición deberá aplicarse hasta su castración;

   — seis meses en el caso de muermo y encefalomielitis equina, a partir de la fecha en que los équidos enfermos hayan sido eliminados;

   — en el caso de anemia infecciosa, deberá terminar en la fecha en que, tras haber sido sacrificados los équidos afectados, los animales restantes hayan reaccionado negativamente a dos pruebas de Coggins efectuadas con un intervalo de 3 meses;

   — seis meses en el caso de estomatitis vesiculosa;

   — un mes a partir del último caso de rabia comprobada;

   — quince días a partir del último caso de enfermedad de carbunco bacteridiano comprobada.

b) En el caso de que se hayan sacrificado o suprimido todos los animales de las especies expuestas a la enfermedad que se encuentren en la explotación, y se hayan desinfectado todos los locales, la duración de la prohibición será de treinta días a partir de la fecha en que los animales hayan sido eliminados y desinfectados los locales, salvo si se trata del carbunco bacteridiano, en relación con el cual la prohibición tendrá una duración de quince días.

Las autoridades competentes podrán conceder dispensas a dichas medidas de prohibición para los hipódromos y campos de carreras y deberán informar a la Comisión, del carácter de las dispensas concedidas.

6. En el supuesto de que un Estado miembro establezca o haya establecido un programa facultativo u obligatorio de lucha contra una enfermedad a la que sean sensibles los équidos podrá presentar dicho programa a la Comisión dentro de los seis meses siguientes a la notificación de la presente Directiva, haciendo mención, en particular a:

— la situación de la enfermedad en su territorio;

— la justificación del programa, teniendo en cuenta la importancia de la enfermedad y sus ventajas desde el punto de vista de la relación coste/beneficio;

— la zona geográfica en la que se va a aplicar el programa;

— los diferentes estatutos aplicables a las granjas y las normas que deberán alcanzarse en cada categoría, así como los procedimientos de prueba;

— los procedimientos de control de dicho programa;

— las consecuencias que deben deducirse de la pérdida del estatuto de la explotación, por el motivo que fuere;

▼B

— las medidas a tomar en el caso de observarse resultados positivos durante los controles realizados con arreglo al programa;

— el carácter no discriminatorio entre los intercambios en el territorio del Estado miembro de que se trate y los intercambios intracomunitarios.

La Comisión examinará los programas comunicados por los Estados miembros. Los aprobará en su caso, respetando los criterios enunciados en el párrafo primero con arreglo al procedimiento previsto en el artículo 24. Con arreglo al mismo procedimiento, podrán precisarse las garantías complementarias generales o limitadas que podrán exigirse en los intercambios intracomunitarios. Dichas garantías deberán equivaler, como máximo, a las que el Estado miembro aplique en el ámbito nacional.

Los programas presentados por el Estado miembro podrán modificarse o completarse con arreglo al procedimiento previsto en el artículo 25. Con arreglo al mismo procedimiento, podrá aprobarse cualquier modificación o adición respecto de un programa anteriormente aprobado y respecto de las garantías definidas de conformidad con lo dispuesto en el párrafo segundo.

▼M4

Artículo 5

1. Los Estados miembros que no estén indemnes de peste equina, con arreglo a la letra f) del artículo 2, sólo podrán enviar équidos procedentes de la parte de territorio que se considere infectada con arreglo al apartado 2 del presente artículo en las condiciones fijadas en el apartado 3 del presente artículo.

2. a) Se considerará infectada de peste equina una parte del territorio de un Estado miembro siempre que:

— se haya comprobado la peste equina en los dos últimos años mediante una evidencia clínica, serológica (en los animales no vacunados) y/o epidemiológica; o

— se haya practicado la vacuna contra la peste equina en los doce últimos meses.

b) La parte del territorio que se considere infectada de peste equina deberá componerse al menos de:

— una zona de protección de un radio de 100 km como mínimo en torno a cualquier foco;

— una zona de vigilancia de al menos 50 km de fondo que empezará en los límites de la zona de protección y en la que no se haya practicado vacunación alguna en los últimos doce meses.

c) Las normas de control de las medidas de lucha relativas a los territorios y zonas contemplados en las letras a) y b) así como las excepciones a las mismas se especifican en la Directiva 92/35/CEE ([1]).

d) Todo équido vacunado que se encuentre en la zona de protección deberá quedar registrado e identificado conforme a lo dispuesto en el apartado 1 del artículo 6 de la Directiva 92/35/CEE.

La mención de dicha vacunación deberá constar de manera clara en el documento de identificación y/o en el certificado sanitario.

3. Un Estado miembro sólo podrá expedir del territorio mencionado en la letra b) del apartado 2 los équidos que cumplan los siguientes requisitos:

([1]) DO nº L 157 de 10. 6. 1992, p. 19

▼M4

a) Ser expedidos únicamente en determinados períodos del año, en función de la actividad de los insectos vectores, que deberán fijarse de conformidad con el procedimiento previsto en el artículo 25.

b) No presentar ningún síntoma clínico de peste equina el día de la inspección contemplada en el apartado 1 del artículo 4.

c) — Si no han sido vacunados contra la peste equina, que hayan sido sometidos con reacción negativa a una prueba de fijación del complemento para la peste equina tal como se describe en el Anexo D, en dos ocasiones, con un intervalo comprendido entre veintiún y treinta días, debiendo haberse efectuado la segunda prueba en los diez días anteriores al envío.

— Si han sido vacunados, no deben haberlo sido durante los últimos dos meses y deben haber sido sometidos a la prueba de fijación descrita en el Anexo D con los intervalos citados sin que se haya evidenciado un aumento de los anticuerpos. Con arreglo al procedimiento establecido en el artículo 24, la Comisión, previo dictamen del Comité científico veterinario, podrá reconocer otros métodos de control.

d) Haber sido mantenidos en un lugar de cuarentena durante un período de al menos cuarenta días antes del envío.

e) haber sido protegidos de los insectos vectores durante el período de cuarentena y durante el transporte del lugar de cuarentena al lugar de envío.

▼B

Artículo 6

Los Estados miembros que apliquen un régimen alternativo de control que ofrezca garantías equivalentes a las previstas en el apartado 5 del artículo 4 para los movimientos en su territorio de los équidos y de los équidos registrados, en particular mediante el documento de identificación, podrán concederse, en régimen de reciprocidad, una dispensa a las disposiciones de la segunda frase del apartado 1 del artículo 4 y al segundo guión del apartado 1 del artículo 8.

Informarán de ello a la Comisión.

Artículo 7

1. En el más breve plazo, los équidos deberán ser conducidos desde la explotación de procedencia hacia el lugar de destino, o bien directamente o bien a través de un mercado o centro de reagrupamiento autorizado tal como se definen en el apartado 6 del artículo 3 de la Directiva 64/432/CEE, utilizando medios de transporte y de contención periódicamente limpiados y desinfectados con un desinfectante según la frecuencia que deberá fijar el Estado miembro de expedición. Los vehículos de transporte deberán ir acondicionados de forma que las heces, la yacija o el forraje de los équidos no puedan deslizarse o caer fuera del vehículo durante el transporte. El transporte deberá efectuarse de forma que se garantice una protección sanitaria eficaz y el bienestar de los équidos.

2. El Estado miembro de destino podrá, de manera general o limitada, conceder una dispensa a determinados requisitos del apartado 5 del artículo 4, siempre que el animal lleve una marca especial que indique que está destinado al sacrificio y que la mención de dicha dispensa figure en el certificado sanitario.

Si se concede dicha dispensa los équidos de abasto deberán ser conducidos directamente al matadero designado para ser sacrificados en un plazo que no supere cinco días a partir de la llegada al matadero.

▼B

3. El veterinario oficial deberá anotar en un registro el número de identificación o el número del documento de identificación del équido sacrificado y transmitir a la autoridad competente del lugar de expedición, a petición de ésta, una declaración que certifique el sacrificio del équido.

Artículo 8

1. Los Estados miembros velarán por que:

— en caso de que salgan de su explotación, los équidos registrados deban ir acompañados del documento de identificación establecido en el apartado 4 del artículo 4, y si están destinados a intercambios intracomunitarios, completados por el certificado previsto en el Anexo B;

— durante su transporte, los équidos de reproducción, de producción y de abasto deberán ir acompañados de un certificado sanitario conforme al Anexo C.

El certificado o, cuando se trate de un documento de identificación, la hoja en que figuren los datos sanitarios, deberán, sin perjuicio de lo dispuesto en el artículo 6, expedirse dentro de las 48 horas anteriores al embarque o, a más tardar, el último día laborable previo al mismo, en la o las lenguas oficiales del Estado miembro de expedición y de destino. El certificado tendrá un período de validez de diez días y deberá constar de una sola hoja.

2. Las importaciones de équidos no registrados podrán efectuarse mediante un solo certificado sanitario por lote, en lugar de llevarse a cabo mediante el certificado individual a que se hace mención en el segundo guión del apartado 1.

▼M1

Artículo 9

Las normas de la Directiva 90/425/CEE del Consejo, de 26 de junio de 1990, relativa a los controles veterinarios y zootécnicos aplicables en los intercambios intracomunitarios de determinados animales vivos y productos, con vistas a la realización del mercado interior ([1]), se aplicarán en particular en lo relativo a los controles en origen, a la organización y a la continuación que se dará de los controles que deba realizar el Estado miembro de destino y a las medidas de salvaguardia que deban aplicarse.

▼B

Artículo 10

En la medida en que resulte necesario para la aplicación uniforme de la presente Directiva, y en colaboración con las autoridades nacionales competentes, los expertos veterinarios de la Comisión podrán efectuar controles in situ. La Comisión informará a los Estados miembros del resultado de los controles efectuados.

El Estado miembro en cuyo territorio se realice un control deberá prestar a los expertos toda la ayuda necesaria para el cumplimiento de su misión.

Las normas de desarrollo del presente artículo se adoptarán con arreglo al procedimiento establecido en el artículo 24.

([1]) DO nº L 224 de 18. 8. 1990, p. 29.

▼B

CAPÍTULO III

Normas para las importaciones procedentes de países terceros

Artículo 11

1. Los équidos importados en la Comunidad deberán cumplir las condiciones fijadas en los artículos 12 a 16.

2. Hasta la fecha de entrada en vigor de las decisiones adoptadas en aplicación de los artículos 12 a 16, los Estados miembros aplicarán a las importaciones de équidos procedentes de países terceros condiciones al menos equivalentes a las que resulten de la aplicación del capítulo II.

▼M8

Artículo 12

1. La importación de équidos en la Comunidad sólo se autorizará a partir de los terceros países que figuren en una lista o listas que se elaborarán o modificarán conforme al procedimiento contemplado en el apartado 2 del artículo 24.

Teniendo en cuenta la situación sanitaria y las garantías que ofrezca el tercer país para los équidos, podrá decidirse, conforme al procedimiento contemplado en el apartado 2 del artículo 24, que la autorización prevista en el primer párrafo del presente apartado sea aplicable a todo el territorio del tercer país o sólo a parte de su territorio.

A este efecto, y basándose en las normas internacionales correspondientes, se tendrá en cuenta la manera en que el tercer país observe y aplique dichas normas, en particular el principio de regionalización, dentro de su territorio y en lo que se refiere a sus requisitos sanitarios para la importación a partir de otros terceros países y de la Comunidad.

2. Al elaborar o modificar las listas previstas en el apartado 1, deberán tenerse especialmente en cuenta los siguientes aspectos:

a) la situación sanitaria de los équidos, de otros animales domésticos y de los animales silvestres en el tercer país, atendiendo en particular a las enfermedades animales exóticas y a cualquier aspecto de la situación sanitaria y medioambiental general del tercer país que pueda presentar un riesgo para la situación sanitaria y medioambiental de la Comunidad;

b) la legislación del tercer país en materia de salud y bienestar de los animales;

c) la organización de la autoridad veterinaria competente y sus servicios de inspección, las competencias de dichos servicios, la supervisión a la que estén sujetos y los medios con que cuenten, incluidos el personal y las capacidades de laboratorio, para aplicar la legislación nacional de forma eficaz;

d) las garantías que la autoridad veterinaria competente del tercer país pueda dar en lo que se refiere a la conformidad o equivalencia con las condiciones zoosanitarias correspondientes aplicables en la Comunidad;

e) la pertenencia del tercer país a la Oficina Internacional de Epizootias (OIE) y la regularidad y rapidez de la información que proporcione en relación con la existencia de enfermedades infecciosas o contagiosas de los équidos en su territorio, en particular las enfermedades repertoriadas por la OIE y las recogidas en el anexo A de la presente Directiva;

f) las garantías que el tercer país ofrezca de informar directamente a la Comisión y a los Estados miembros:

▼M8

i) en un plazo de 24 horas, sobre la confirmación de incidencia de enfermedad infecciosa de los équidos de las que figuran en el anexo A, así como de cualquier cambio en la política de vacunación relativa a dichas enfermedades;

ii) en un plazo adecuado, sobre cualquier cambio previsto en las normas sanitarias nacionales relativas a los équidos, en particular en lo referente a su importación;

iii) a intervalos regulares, sobre la situación zoosanitaria de su territorio en lo relativo a los équidos;

g) toda experiencia de importaciones previas de équidos vivos a partir del tercer país y los resultados de los controles de importación realizados;

h) los resultados de las inspecciones y auditorías comunitarias llevadas a cabo en el tercer país, en particular los resultados de la evaluación de las autoridades competentes o, si la Comisión lo solicitara, el informe presentado por las autoridades competentes sobre las inspecciones que hayan realizado;

i) las normas sobre la prevención y el control de las enfermedades animales infecciosas o contagiosas que estén vigentes en el tercer país y su aplicación, incluidas las normas sobre la importación de équidos a partir de otros terceros países.

3. La Comisión tomará medidas para poner a disposición del público las versiones actualizadas de todas las listas elaboradas o modificadas según lo dispuesto en el apartado 1.

Dichas listas podrán combinarse con otras elaboradas a efectos de salud pública o animal, y podrán también incluir modelos de certificados sanitarios.

4. Para cada tercer país o grupo de terceros países se establecerán condiciones especiales de importación, conforme al procedimiento contemplado en el apartado 2 del artículo 24, teniendo en cuenta la situación zoosanitaria en lo relativo a los équidos en el tercer país o los terceros países en cuestión.

5. Conforme al procedimiento contemplado en el apartado 2 del artículo 24, podrán adoptarse normas detalladas para la aplicación del presente artículo y criterios para la inclusión de terceros países o partes de terceros países en las listas previstas en el apartado 1.

▼B

Artículo 13

1. Los équidos deberán proceder de un país tercero:

a) indemne de peste equina;

b) indemne desde dos años antes de encefalomielitis equina venezolana (VEE);

c) indemne desde seis meses antes, de durina y de muermo;

2. La Comisión, con arreglo al procedimiento establecido en el artículo 24 podrá:

a) decidir que las disposiciones del apartado 1 sólo se apliquen en una parte del territorio de un país tercero.

En caso de regionalización de los requisitos para la peste equina deberán respetarse como mínimo las medidas previstas en los apartados 2 y 3 del artículo 5.

b) exigir garantías suplementarias para enfermedades exóticas en la Comunidad.

▼B

Artículo 14

Antes del día de su carga para su envío al Estado miembro de destino, los équidos deberán haber permanecido sin interrupción en el territorio o parte del territorio de un país tercero o, en caso de regionalización en la parte del territorio definida en aplicación de la letra a) del apartado 2 del artículo 13 durante un período que deberá fijarse en el momento de la adopción de las decisiones que se establezcan en aplicación del artículo 15.

Deberán proceder de una explotación colocada bajo control veterinario.

Artículo 15

La importación de équidos del territorio de un país tercero o de una parte de territorio de un país tercero definida con arreglo a la letra a) del apartado 2 del artículo 13 que figure en la lista establecida con arreglo al apartado 1 del artículo 12 sólo se autorizará si, además de los requisitos establecidos en el artículo 13:

a) cumplen las condiciones sanitarias adoptadas, con arreglo al procedimiento previsto en el artículo 24, para las importaciones de équidos de países considerados según la especie de que se trate y las categorías de équidos.

   Para determinar las condiciones de policía sanitaria de conformidad con el párrafo primero, la base de referencia utilizada será la de las normas previstas en los artículos 4 y 5; y

b) cuando se trate de países terceros no indemnes de estomatitis vesiculosa o de arteritis viral durante al menos seis meses, los équidos satisfagan los siguientes requisitos:

   i) los équidos deberán proceder de una explotación indemne de estomatitis vesiculosa desde al menos seis meses antes y haber reaccionado negativamente a un análisis serológico antes de su expedición;

   ii) en el caso de la arteritis viral, los équidos machos deberán, sin perjuicio de lo dispuesto en el punto ii) del artículo 19, haber reaccionado negativamente a un análisis serológico, a un virus de aislamiento o a cualquier otra prueba reconocida según el procedimiento del artículo 24, que garantice que el animal está indemne de esta enfermedad.

      Según el procedimiento establecido en el artículo 24, previo dictamen del Comité veterinario científico, la Comisión podrá delimitar las categorías de équidos machos a los que será aplicada el citado requisito.

Artículo 16

1. Los équidos deberán quedar identificados de conformidad con el apartado 4 del artículo 4 e ir acompañados de un certificado expedido por un veterinario oficial del país tercero exportador. El certificado deberá:

a) expedirse el día de la carga de los équidos para su envío al Estado miembro de destino o, cuando se trate de caballos registrados, el último día laborable antes del embarque;

b) estar redactado en una al menos de las lenguas oficiales del Estado miembro de destino y en una de las del Estado miembro donde se efectúe el control de importación;

c) acompañar a los équidos, en ejemplar original;

▼B

d) certificar que los équidos cumplen los requisitos establecidos por la presente Directiva, así como las que se hayan fijado en aplicación de la misma para las importaciones procedentes de países terceros;

e) constar de una sola hoja;

f) expedirse para un solo destinatario o, en el caso de équidos de abasto, para un lote debidamente marcado e identificado.

Los Estados miembros que recurran a esta posibilidad informarán de ello a la Comisión.

2. El certificado deberá ser redactado en un impreso que se ajuste al modelo fijado con arreglo al procedimiento establecido en el artículo 24.

Artículo 17

Expertos veterinarios de los Estados miembros y de la Comisión efectuarán controles sobre el terreno para verificar si las disposiciones de la presente Directiva, y en particular las recogidas en el apartado 2 del artículo 12 se cumplen efectivamente.

Si en el transcurso de una inspección efectuada en virtud del presente artículo, se detectaran hechos graves en una explotación, la Comisión informará inmediatamente de ello a los Estados miembros y adoptará inmediatamente una decisión que incluya la suspensión provisional de la autorización. La decisión final a este respecto se adoptará según el procedimiento establecido en el artículo 25.

La Comisión designará, a propuesta de los Estados miembros, a los expertos de los Estados miembros encargados de estos controles.

Se realizarán dichos controles por cuenta de la Comunidad, a cuyo cargo correrán los gastos correspondientes.

La periodicidad y las modalidades de dichos controles se determinarán según el procedimiento previsto en el artículo 24.

Artículo 18

1. Nada más llegar al Estado miembro de destino, los équidos de abasto deberán ser conducidos a un matadero, ya sea directamente o bien después de haber pasado por un mercado o por un centro de agrupación y, de acuerdo con los requisitos de policía sanitaria, ser sacrificados en un plazo que deberá ser fijado en el momento de la adopción de las decisiones que deban tomarse en aplicación del artículo 15.

2. Sin perjuicio de las condiciones particulares que puedan fijarse con arreglo al procedimiento establecido en el artículo 24, la autoridad competente del Estado miembro de destino estará facultada, siempre que lo exijan razones de policía sanitaria para desginar el matadero hacia el que deban dirigirse dichos équidos.

Artículo 19

La Comisión, con arreglo al procedimiento establecido en el artículo 24:

i) podrá limitar la importación procedente de un país tercero o de una parte de un país tercero a determinadas especies o categorías de équidos;

ii) fijará, no obstante lo dispuesto en el artículo 15, las condiciones particulares en que pueda efectuarse la admisión temporal en el territorio de la Comunidad o la reintroducción en dicho territorio previa exportación temporal de los équidos registrados o de los équidos destinados a usos particulares;

▼B

iii) determinará las condiciones que permitan convertir una admisión temporal en admisión definitiva;

▼M8

iv) podrá designar un laboratorio comunitario de referencia para una o varias de las enfermedades de los équidos mencionadas en el anexo A y establecer las funciones, tareas y procedimientos de colaboración con los laboratorios encargados del diagnóstico de las enfermedades infecciosas de los équidos en los Estados miembros.

▼M2

———————

▼B

CAPÍTULO IV

Disposiciones finales

Artículo 22

Las disposiciones de la presente Directiva, y en particular las de la segunda frase del apartado 1 del artículo 4 y de los artículos 6, 8 y 21 serán sometidas a revisión antes del 1 de enero de 1993 en el marco de las propuestas destinadas a garantizar la plena realización del mercado interior, sobre las cuales el Consejo se pronunciará por mayoría cualificada.

Artículo 23

Los Anexos del presente Reglamento serán modificados por la Comisión, de conformidad con el procedimiento previsto en el artículo 25.

▼M7

Artículo 24

1. La Comisión estará asistida por el Comité permanente de la cadena alimentaria y de sanidad animal, creado mediante el artículo 58 del Reglamento (CE) nº 178/2002 ([1]).

2. En los casos en que se haga referencia al presente artículo, serán de aplicación los artículos 5 y 7 de la Decisión 1999/468/CE ([2]).

El plazo contemplado en el apartado 6 del artículo 5 de la Decisión 1999/468/CE queda fijado en tres meses.

3. El Comité aprobará su reglamento interno.

Artículo 25

1. La Comisión estará asistida por el Comité permanente de la cadena alimentaria y de sanidad animal.

2. En los casos en que se haga referencia al presente artículo, serán de aplicación los artículos 5 y 7 de la Decisión 1999/468/CE.

El plazo contemplado en el apartado 6 del artículo 5 de la Decisión 1999/468/CE queda fijado en quince días.

([1]) DO L 31 de 1.2.2002, p. 1.
([2]) DO L 184 de 17.7.1999, p. 23.

▼B

Artículo 26

Las disposiciones del artículo 34 de la Directiva 72/462/CEE serán aplicables a los requisitos definidos en el Capítulo III de la presente Directiva.

Artículo 27

Los Estados miembros pondrán en vigor las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas necesarias para dar cumplimiento a lo dispuesto en la presente Directiva, a más tardar el 1 de enero de 1992. Informarán de ello a la Comisión.

Artículo 28

Los destinatarios de la presente Directiva son los Estados miembros.

▼B

ANEXO A

ENFERMEDADES DE DECLARACIÓN OBLIGATORIA

Estarán sometidas a declaración obligatoria las siguientes enfermedades:

— Durina

— Muermo

— Encefalomielitis equina (en todas sus variedades incluida la VEE)

— Anemia infecciosa

— Rabia

— Carbunco bacteridiano

— Peste equina

— Estomatitis vesiculosa.

▼M3

ANEXO B

DATOS SANITARIOS (a)

Pasaporte n°.....

El abajo firmante certifica (b) que los équidos arriba designados reúnen los siguientes requisitos:

a) han sido examinados en el día de hoy y no presentan ningún signo clínico de enfermedad;

b) no deben ser eliminados en el marco de un programa de erradicación de una enfermedad contagiosa aplicado en el Estado miembro;

c) — no proceden del territorio o de una parte del territorio de un Estado miembro o de un tercer país sujeto a medidas restrictivas por motivos de peste equina

o

proceden del territorio o de una parte del territorio de un Estado miembro sujeto a medidas restrictivas por motivos de peste equina y han sido sometidos con resultados satisfactorios a las pruebas establecidas en el apartado 3 del artículo 5 de la Directiva 90/426/CEE, realizadas entre el..... y el..... en el lugar de cuarentena de..... (c),

— no han sido vacunados contra la peste equina

o

han sido vacunados contra la peste equina el..... (d) (c);

d) no proceden de una explotación sobre la que haya recaído una prohibición por motivos de policía sanitaria ni han estado en contacto con équidos de una explotación de estas características:

— en el caso de équidos sospechosos de padecer durina, durante los seis meses siguientes a la fecha del último contacto o posibilidad de contacto con un équido enfermo; no obstante, si se tratase de un semental, la prohibición deberá aplicarse hasta su castración,

— en caso de muermo y encefalomielitis equina, durante los seis meses siguientes a la fecha en que hayan sido sacrificados los équidos enfermos,

— en caso de anemia infecciosa, durante el período necesario para que, a partir de la fecha en que hayan sido sacrificados los équidos enfermos, los animales restantes hayan reaccionado negativamente a dos pruebas de Coggins efectuadas con un intervalo de tres meses,

— durante los seis meses siguientes al último caso de estomatitis vesiculosa,

— durante el mes siguiente al último caso de rabia,

— durante los quince días siguientes al último caso de carbunco bacteridiano,

— en caso de que todos los animales de las especies sensibles presentes en la explotación hayan sido sacrificados y los locales desinfectados, durante treinta días a partir de la fecha en la que estas tareas hayan quedado realizadas, salvo cuando se trate de carbunco bacteridiano, en cuyo caso el período de prohibición es de quince días;

e) no han permanecido, que yo sepa, en contacto con équidos que padezcan una enfermedad o una infección contagiosa durante los últimos quince días;

►(1) f) en el momento de la inspección, estaban en condiciones de realizar el viaje previsto con arreglo a lo dispuesto en la Directiva 91/628/CEE (e).◄

Fecha	Lugar	Firma y sello del veterinario oficial (f)

(f) Nombre en mayúsculas y funciones.

(a) Estos datos no se exigirán cuando exista un acuerdo bilateral celebrado de conformidad con lo dispuesto en el artículo 6 de la Directiva 90/426/CEE.
(b) Certificado valedero diez días.
(c) Táchese lo que no proceda.
(d) La vacuna deberá mencionarse en el pasaporte.
(e) Esta declaración no exime a los transportistas de cumplir con las obligaciones que les incumben en virtud de las disposiciones comunitarias en vigor, en particular por lo que se refiere a la aptitud de los animales para ser transportados.

►(1) M5

▼M3

ANEXO C

MODELO

CERTIFICADO SANITARIO

para los intercambios entre los Estados miembros de la CEE

ÉQUIDOS

N° .....

Estado miembro expedidor : .....

Ministerio competente : .....

Servicio territorial competente : .....

I. **Número de équidos** .....

II. **Identificación de los équidos**

Número de équidos (1)	Especies : caballos, asnos, mulos, burdéganos	Raza Edad Sexo	Método de identificación e identificación (2)

(1) Para los animales de abasto, tipo de marca especial.
(2) Este certificado podrá ir acompañado de un pasaporte de identificación del équido siempre y cuando se haga mención de su número.

III. **Origen y destino de los équidos**

Los équidos se expiden :

de .....
(lugar de expedición)

a .....
(Estado miembro y lugar de destino)

Nombre y dirección del expedidor .....

.....

Nombre y dirección del destinatario .....

.....

IV. **Datos sanitarios** (a)

El abajo firmante certifica que los équidos arriba designados reúnen los siguientes requisitos :

1) han sido examinados en el día de hoy y no presentan ningún signo clínico de enfermedad ;

2) no deben ser eliminados en el marco de un programa de erradicación de una enfermedad contagiosa aplicado en el Estado miembro ;

(a) Estos datos no se exigirán cuando exista un acuerdo bilateral celebrado de conformidad con lo dispuesto en el artículo 6 de la Directiva 90/426/CEE.

▼M3

3) — no proceden del territorio o de una parte del territorio de un Estado miembro o de un tercer país sujeto a medidas restrictivas por motivos de peste equina

o

proceden del territorio o de una parte del territorio de un Estado miembro sujeto a medidas restrictivas por motivos de peste equina y han sido sometidos con resultados satisfactorios a las pruebas establecidas en el apartado 3 del artículo 5 de la Directiva 90/426/CEE, realizadas entre el ..... y el ..... en el lugar de cuarentena de ..... [b],

— no han sido vacunados contra la peste equina

o

han sido vacunados contra la peste equina el ..... [c];

4) no proceden de una explotación sobre la que haya recaído una prohibición por motivos de policía sanitaria ni han estado en contacto con équidos de una explotación de estas características:

— en el caso de équidos sospechosos de padecer durina, durante los seis meses siguientes a la fecha del último contacto o posibilidad de contacto con un équido enfermo; no obstante, si se tratase de un semental, la prohibición deberá aplicarse hasta su castración,

— en caso de muermo y encefalomielitis equina, durante los seis meses siguientes a la fecha en que hayan sido sacrificados los équidos enfermos,

— en caso de anemia infecciosa, durante el período necesario para que, a partir de la fecha en que hayan sido sacrificados los équidos enfermos, los animales restantes hayan reaccionado negativamente a dos pruebas de Coggins efectuadas con un intervalo de tres meses,

— durante los seis meses siguientes al último caso de estomatitis vesiculosa,

— durante el mes siguiente al último caso de rabia,

— durante los quince días siguientes al último caso de carbunco bacteridiano,

— en caso de que todos los animales de las especies sensibles presentes en la explotación hayan sido sacrificados y los locales desinfectados, durante treinta días a partir de la fecha en la que estas tareas hayan quedado realizadas, salvo cuando se trate de carbunco bacteridiano, en cuyo caso el período de prohibición es de quince días;

5) no han permanecido, que yo sepa, en contacto con équidos que padezcan una enfermedad o una infección contagiosa durante los últimos quince días;

►(2) 6) en el momento de la inspección, estaba(n) en condiciones de realizar el viaje previsto con arreglo a lo dispuesto en la Directiva 91/628/CEE [d].◄

V. **El presente certificado tendrá una validez de diez días.**

Hecho en ....., el .....

sello

.....

(Firma)

(nombre y apellidos en mayúsculas y funciones del veterinario) [e]

---

[b] Táchese lo que no proceda.

[c] En Alemania "Beamteter Tierarzt"; en Bélgica "Inspecteur vétérinaire" o "Inspecteur Dierenarts"; en Francia "Vétérinaire officiel"; en Italia "Veterinario ufficiale"; en Luxemburgo "Inspecteur vétérinaire"; en los Países Bajos "Officieel Dierenarts"; en Dinamarca "Embeds Dyrlæge"; en Irlanda "Veterinary Inspector"; en el Reino Unido "Veterinary Inspector"; en Grecia "Επίσημος κτηνίατρος"; en España "Inspector Veterinario"; en Portugal "Inspector Veterinario"; ►(1) en Austria "Amtstierarzt"; en Finlandia "kunnaneläinlääkäri" o "kaupungineläinlääkäri" o "lääneläinlääkäri"/"kommunalveterinär" o "stadsveterinär" o "länsveterinär"; en Suecia "länsveterinär", "distriktsveterinär" o "gränsveterinär"; ◄►(3) en la República Checa "veterinární inspektor"; en Estonia "veterinaarjärelevalve ametnik"; en Chipre "Επίσημος Κτηνίατρος"; en Letonia "veterinārais inspektors"; en Lituania "veterinarijos inspektorius"; en Hungría "hatósági állatorvos"; en Malta "veterinarju uffiċjali"; en Polonia "urzędowy lekarz weterynarii"; en Eslovenia "veterinarski inšpektor"; en Eslovaquia "veterinárny inšpektor"; ◄►(4) en Bulgaria "ветеринарен инспектор"; en Rumanía "medic veterinar autorizat".◄

[d] **Esta declaración no exime a los transportistas de cumplir con las obligaciones que les incumben en virtud de las disposiciones comunitarias en vigor, en particular por lo que se refiere a la aptitud de los animales para ser transportados.**

►(1) **A1**

►(2) **M5**

►(3) **A2**

►(4) **M9**

▼M6

ANEXO D

PESTE EQUINA

DIAGNÓSTICO

Los reactivos para las pruebas de inmunoabsorción enzimática (ELISA) descritos a continuación pueden obtenerse del Laboratorio de referencia de la Comunidad Europea o de los laboratorios de referencia de la OIE para la peste equina.

1. TÉCNICA ELISA DE COMPETICIÓN PARA LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA EL VIRUS DE LA PESTE EQUINA (VPE) (PRUEBA RECOMENDADA)

La técnica ELISA de competición se utiliza para detectar anticuerpos específicos contra el virus de la peste equina presentes en sueros de cualquier especie de équidos. El antisuero de cobaya contra el virus de la peste equina, policlonal y de amplio espectro (en lo sucesivo, denominado «antisuero de cobaya»), tiene especificidad de serogrupo y puede detectar todos los serotipos conocidos del virus de la peste equina.

El principio de la prueba es la interrupción, mediante una muestra de suero problema, de la reacción entre el antígeno del virus de la peste equina y un antisuero de cobaya. Los anticuerpos contra el virus de la peste equina contenidos en la muestra de suero problema competirán con los del antisuero de cobaya, de lo que resultará una reducción del color esperado (tras la adición de anticuerpos anti-cobaya marcados con la enzima y de sustrato). Los sueros pueden analizarse a una sola dilución al 1/5 (método para sueros a una sola dilución) o a una serie de diluciones para determinar el título (método de titulación del suero). Los valores de inhibición superiores al 50 % se consideran positivos.

El protocolo de la prueba descrito a continuación se utiliza en el Laboratorio regional de referencia para la peste equina de Pirbright (Reino Unido).

1.1. **Procedimiento de la prueba**

1.1.1. *Preparación de las placas*

1.1.1.1. Recubrir las placas ELISA con antígeno del virus de la peste equina extraído de cultivos celulares infectados y diluido en una solución amortiguadora de carbonato/bicarbonato, pH 9,6. Incubar las placas ELISA durante toda la noche a 4 °C.

1.1.1.2. Lavar las placas 3 veces llenando y vaciando los pocillos con solución salina fosfatada (PBS), pH 7,2-7,4 y secar en papel absorbente.

1.1.2. *Pocillos control*

1.1.2.1. Poner en la primera columna el suero control positivo haciendo diluciones dobles, desde la 1/5 hasta la 1/640, en solución salina de bloqueo (PBS que contenga un 0,05 % (v/v) de Tween 20, un 5 % (p/v) de leche desnatada en polvo (Cadbury's Marvel™) y un 1 % (v/v) de suero de bovino adulto, hasta llegar a un volumen final de 50 µl por pocillo.

1.1.2.2. Añadir 50 µl de suero control negativo diluido al 1/5 (10 µl de suero + 40 µl de solución de bloqueo) en los pocillos A y B de la columna 2.

1.1.2.3. Poner 100 µl/pocillo de solución salina de bloqueo en los pocillos C y D de la columna 2 (blanco).

1.1.2.4. Añadir 50 µl de solución salina de bloqueo en los pocillos E, F, G y H de la columna 2 (control cobaya).

1.1.3. *Método para sueros a una sola dilución (1/5)*

1.1.3.1. Hacer una dilución al 1/5 de cada suero problema en solución salina de bloqueo; dispensar por duplicado en los pocillos de la columna 3 a la 12 (10 µl del suero + 40 µl de solución salina de bloqueo).

o bien

▼M6

1.1.4. *Método de titulación del suero*

1.1.4.1. Preparar una serie de diluciones dobles de cada muestra problema (desde 1/5 hasta 1/640) en solución salina de bloqueo, poner en ocho pocillos de la columna 3 a la 12.

después

1.1.5. Añadir 50 µl de antisuero de cobaya, previamente diluido en solución salina de bloqueo, a todos los pocillos de la placa, excepto a los del blanco (tras esta operación, todos los pocillos contienen un volumen final de 100 µl).

1.1.5.1. Incubar durante una hora a 37 °C en un agitador orbital.

1.1.5.2. Lavar las placas tres veces y secar en papel como antes.

1.1.5.3. Añadir a cada pocillo 50 µl de suero anticobaya obtenido en conejo, conjugado con peroxidara de rábano y previamente diluido en solución salina de bloqueo.

1.1.5.4. Incubar durante una hora a 37 °C en un agitador orbital.

1.1.5.5. Lavar las placas tres veces y secar en papel como antes.

1.1.6. *Cromógeno*

Preparar la solución de cromógeno OD (OD = orto-fenildiamina) según las instrucciones del fabricante (0,4 mg/ml en agua destilada estéril) inmediatamente antes de su utilización. Añadir sustrato (peróxido de hidrógeno = H_2O_2) para llegar a una concentración final de 0,05 % (v/v) (1/2000 de una solución al 30 % de H_2O_2). Añadir 50 µl de la solución de OFD a cada pocillo y dejar las placas durante 10 minutos en la mesa y a temperatura ambiente. Detener la reacción añadiendo a cada pocillo 50 µl de ácido sulfúrico 1 M (H_2 SO_4).

1.1.7. *Lectura*

Leer con espectrofotómetro a 492 nm de longitud de onda.

1.2. **Expresión de los resultados**

1.2.1. Haciendo uso de un programa informático, imprimir los valores de densidad óptica (DO) y del porcentaje de inhibición (PI) de los sueros problema y de los sueros control basándose en el valor medio registrado en los cuatro pocillos de control de cobaya. Los datos expresados como valores de DO y de PI se emplean para determinar si la prueba funciona dentro de límites aceptables. El límite del valor superior y el límite del valor inferior del control de cobaya tiene que estar entre valores de DO de 1,4 y 0,4 respectivamente. El título del control positivo, basado en el 50 % del porcentaje de inhibición debería ser de 1/240 (dentro de una gama que varía desde 1/120 a 1/480). Deberá rechazarse toda placa que no cumpla los criterios citados. No obstante, si el título del suero del control positivo es superior a 1/480 y las muestras problema resultan negativas, se aceptarán como negativas.

Los pocillos duplicados del suero control negativo y los pocillos duplicados del blanco deberán registrar unos valores de PI comprendidos entre + 25 % y – 25 %, y entre + 95 % y + 105 %, respectivamente. Si los valores no están situados entre estos límites, la placa no queda invalidada, pero ello indica que existe un color de fondo.

1.2.2. El umbral de diagnóstico (punto de corte o «cut off») de los sueros problema es el 50 % (PI 50 %). Las muestras que registren valores de PI superiores al 50 % son positivas. Las muestras que registren valores de PI inferiores al 50 % son negativas.

Se considera que son dudosas las muestras que registren un valor de PI por encima y otro por debajo del punto de corte en cada uno de los pocillos duplicados. Dichas muestras pueden volver a analizarse otra vez en la prueba a una sola dilución y por titulación. Las muestras positivas pueden también titularse para conocer el grado de positividad.

▼**M6**

Presentación de los resultados de la prueba a una sola dilución (1/5)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	C +		Sueros problema									
A	1:5	C –	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
B	1:10	C –	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
C	1:20	Blanco										
D	1:40	Blanco										
E	1:80	CC										
F	1:160	CC										
G	1:320	CC	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
H	1:640	CC	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

C – = control negativo
C + = control positivo
CC = control de cobaya

Presentación de los resultados de la titulación del suero

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	C +		Sueros problema									
A	1:5	C –	1:5									1:5
B	1:10	C –	1:10									1:10
C	1:20	Blanco	1:20									1:20
D	1:40	Blanco	1:40									1:40
E	1:80	CC	1:80									1:80
F	1:160	CC	1:160									1:160
G	1:320	CC	1:320									1:320
H	1:640	CC	1:640									1:640

C – = control negativo
C + = control positivo
CC = control de cobaya

2. TÉCNICA ELISA INDIRECTA PARA LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA EL VIRUS DE LA PESTE EQUINA (VPE) (PRUEBA RECOMENDADA)

La prueba que se describe a continuación se ajusta a la descripción recogida en el capítulo 2.1.11 de la cuarta edición (2000) del Manual de normas para pruebas de diagnóstico y vacunas de la OIE.

Se utiliza la proteína VP7 recombinante como antígeno para determinar la presencia de anticuerpos contra el virus de la peste equina con un alto índice de sensibilidad y especificidad. Tiene además las ventajas de ser estable y no infecciosa.

2.1. **Procedimiento de la prueba**

2.1.1. *Fase sólida*

2.1.1.1. Recubrir las placas ELISA con proteína VP7 recombinante de la cepa 4 del virus (VPE-4), diluida en solución amortiguadora de carbonato/bicarbonato, pH 9,6. Incubar las placas toda la noche a 4 °C.

▼M6

2.1.1.2. Lavar las placas cinco veces con agua destilada que contenga 0,01 % (v/v) de Tween 20 (solución de lavado). Golpear suavemente las placas contra un material absorbente para eliminar los restos de solución de lavado que pudieran quedar.

2.1.1.3. Bloquear las placas poniendo en cada pocillo 200 µl de solución salina fosfatada (PBS) + 5 % (p/v) de leche desnatada (leche desnatada en polvo de Nestlé^{TM}), y dejar una hora a 37 °C.

2.1.1.4. Eliminar la solución de bloqueo y golpear suavemente las placas contra un material absorbente.

2.1.2. *Muestras problema*

2.1.2.1. Diluir los sueros problema y los sueros control positivo y negativo al 1/25 en PBS + 5 % (p/v) de leche desnatada + 0,05 % (v/v) de Tween 20, hasta alcanzar un volumen de 100 µl por pocillo. Incubar una hora a 37 °C.

Para la titulación, hacer una serie de diluciones dobles desde 1/25 (100 µl por pocillo), un suero por columna de la placa, y hacer la misma operación con los controles positivos y negativos. Incubar durante una hora a 37 °C.

2.1.2.2. Lavar las placas siguiendo las indicaciones del punto 2.1.1.2.

2.1.3. *Conjugado*

2.1.3.1. Poner en cada pocillo 100 µl de gammaglobulina anti-caballo conjugada con peroxidasa de rábano diluida en PBS + 5 % de leche + 0,05 % de Tween 20, pH 7,2. Incubar durante una hora a 37 °C.

2.1.3.2. Lavar las placas siguiendo las indicaciones del punto 2.1.1.2.

2.1.4. *Cromógeno/sustrato*

2.1.4.1. Añadir a cada pocillo 200 µl de solución de cromógeno/sustrato [10 ml de solución 80,6 mM de DMAB (dimetilaminobenzaldehído) + 10 ml de solución 1,56 mM de MBTH (clorhidrato 3-metil-2-benzotiazolina-hidrazona) + 5 µl H_2O_2].

La formación de color se detiene añadiendo 50 µl de H_2SO_4 3N tras unos cinco o diez minutos aproximadamente (antes de que el control negativo comience a tomar color).

Pueden utilizarse también otros cromógenos como ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-[3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico]), TMB (tetrametil-bencidina) u OPD (orto-fenildiamina).

2.1.4.2. Leer las placas a 600 nm (o 620 nm).

2.2. **Interpretación de los resultados**

2.2.1. Calcular el valor del punto de corte añadiendo 0,6 al valor del control negativo (0,6 es la desviación típica derivada de un grupo de 30 sueros negativos).

2.2.2. Las muestras problema que presenten valores de absorbancia inferiores al punto de corte se consideran negativas.

2.2.3. Las muestras problema que presenten valores de absorbancia superiores al punto de corte + 0,15 se consideran positivas.

2.2.4. Las muestras problema que presenten valores de absorbancia intermedios son dudosas, por lo que debe emplearse otra técnica para confirmar el resultado.

3. TÉCNICA ELISA DE BLOQUEO PARA LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA EL VIRUS DE LA PESTE EQUINA (VPE) (PRUEBA RECOMENDADA)

La técnica ELISA de bloqueo tiene como finalidad detectar anticuerpos específicos contra el virus de la peste equina en sueros procedentes de cualquier especie susceptible. La VP7 es la principal proteína antigénica del virus de la peste equina y es constante en los nueve serotipos. Teniendo en cuenta que el anticuerpo monoclonal también va dirigido contra la VP7, el ensayo presenta un alto nivel de sensibilidad y especificidad. Además, el

▼M6

antígeno VP7 recombinante es completamente inocuo, por lo que garantiza un alto nivel de seguridad.

El principio de la prueba es la interrupción de la reacción entre la proteína VP7 recombinante, como antígeno adsorbido a la placa ELISA, y el anticuerpo monoclonal conjugado específico de la VP7. Los anticuerpos del suero problema bloquean la reacción entre el antígeno y el anticuerpo monoclonal, lo que se materializa en una reducción del color.

La prueba que se describe a continuación es la que utiliza el Laboratorio de referencia de la Comunidad Europea para la peste equina de Algete (España).

3.1. **Procedimiento de la prueba**

3.1.1. *Placas ELISA*

3.1.1.1. Recubrir las placas con proteína VP7 recombinante de VPE-4 diluida en solución amortiguadora de carbonato/bicarbonato, pH 9,6. Incubar toda la noche a 4 °C.

3.1.1.2. Lavar las placas cinco veces con solución salina amortiguadora fosfatada (PBS) que contenga 0,05 % (v/v) de Tween 20 (PBST).

3.1.1.3. Estabilizar la placa mediante tratamiento con una solución estabilizadora (para prolongar el tiempo de almacenamiento a 4 °C sin pérdida de actividad). Secar sobre material absorbente.

3.1.2. *Muestras problema y controles*

3.1.2.1. Para la detección: Diluir los sueros problema y los controles al 1/10 directamente en la placa con PBST hasta alcanzar un volumen final de 100 µl por pocillo. Incubar una hora a 37 °C.

3.1.2.2. Para la titulación: Preparar una serie de diluciones dobles de los sueros problema y de los controles positivos (100 µl por pocillo) desde 1/10 hasta 1/1 280, en ocho pocillos. El control negativo se analiza a la dilución 1/10.

3.1.3. *Conjugado*

Añadir previamente diluido 50 µl por pocillo de anticuerpo monoclonal específico de VP7 conjugado con peroxidasa de rábano a cada uno de los pocillos y agitar suavemente para asegurar la homogeneidad. Incubar treinta minutos a 37 °C.

3.1.4. Lavar las placas cinco veces con PBST y secar como se indica arriba.

3.1.5. *Cromógeno/sustrato*

Añadir a cada pocillo 100 µl de solución de cromógeno/sustrato [1 ml de ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-[3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico]) 5 mg/ml + 9 ml de solución amortiguadora de sustrato (0,1 M de solución amortiguadora fosfato/citrato de pH 4 que contenga 0,03 % H_2O_2) e incubar durante diez minutos a temperatura ambiente. Detener la formación de color añadiendo 100 µl/pocillo de SDS (dodecil-sulfato sódico) al 2 % (p/v).

3.1.6. *Lectura*

Leer los resultados a 405 nm en un lector ELISA.

3.2. **Interpretación de los resultados**

3.2.1. *Validación del ensayo*

La prueba es válida cuando la densidad óptica (DO) del control negativo (CN) es superior a 1,0 y la densidad óptica del control positivo (CP) es inferior a 0,2.

▼**M6**

3.2.2. *Cálculo del punto de corte*

Valor del punto de corte positivo = $CN - ((CN - CP) \tilde{n} 0,3)$

Valor del punto de corte negativo = $CN - ((CN - CP) \tilde{n} 0,2)$

CN es la densidad óptica del control negativo y CP es la densidad óptica del control positivo.

3.2.3. *Interpretación de los resultados*

Las muestras con una densidad óptica inferior al valor del punto de corte positivo deben considerarse positivas para anticuerpos de VPE.

Las muestras con una densidad óptica superior al valor del punto de corte negativo deben considerarse negativas para anticuerpos de VPE.

Las muestras con una densidad óptica situada entre estos dos valores deben considerarse dudosas, por lo que se deben volver a tomar muestras de los animales de dos a tres semanas después.