**Ce document constitue un outil de documentation et n'engage pas la responsabilité des institutions**

►**B**

# DIRECTIVE DU CONSEIL

## du 26 juin 1990

## relative aux conditions de police sanitaire régissant les mouvements d'équidés et les importations d'équidés en provenance des pays tiers

(90/426/CEE)

(JO L 224 du 18.8.1990, p. 42)

Modifiée par:

| | | Journal officiel | | |
|---|---|---|---|---|
| | | n° | page | date |
| ►**M1** | Directive du Conseil 90/425/CEE, du 26 juin 1990 | L 224 | 29 | 18.8.1990 |
| ►**M2** | Directive du Conseil 91/496/CEE, du 15 juillet 1991 | L 268 | 56 | 24.9.1991 |
| ►**M3** | Décision 92/130/CEE de la Commission du 13 février 1992 | L 47 | 26 | 22.2.1992 |
| ►**M4** | Directive 92/36/CEE du Conseil du 29 avril 1992 | L 157 | 28 | 10.6.1992 |
| ►**M5** | Décision 2001/298/CE de la Commission du 30 mars 2001 | L 102 | 63 | 12.4.2001 |
| ►**M6** | Décision 2002/160/CE de la Commission du 21 février 2002 | L 53 | 37 | 23.2.2002 |
| ►**M7** | Règlement (CE) nº 806/2003 du Conseil du 14 avril 2003 | L 122 | 1 | 16.5.2003 |
| ►**M8** | Directive 2004/68/CE du Conseil du 26 avril 2004 | L 226 | 128 | 25.6.2004 |
| ►**M9** | Directive 2006/104/CE du Conseil du 20 novembre 2006 | L 363 | 352 | 20.12.2006 |

Modifiée par:

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| ►**A1** | Acte d'adhésion de l'Autriche, de la Finlande et de la Suède | C 241 | 21 | 29.8.1994 |
| | (adapté par la décision 95/1/CE, Euratom, CECA du Conseil) | L 1 | 1 | 1.1.1995 |
| ►**A2** | Acte relatif aux conditions d'adhésion à l'Union européenne de la République tchèque, de la République d'Estonie, de la République de Chypre, de la République de Lettonie, de la République de Lituanie, de la République de Hongrie, de la République de Malte, de la République de Pologne, de la République de Slovénie et de la République slovaque, et aux adaptations des traités sur lesquels est fondée l'Union européenne | L 236 | 33 | 23.9.2003 |

Rectifié par:

►**C1** Rectificatif, JO L 296 du 27.10.1990, p. 66 (90/426/EEC)

▼B

# DIRECTIVE DU CONSEIL

## du 26 juin 1990

## relative aux conditions de police sanitaire régissant les mouvements d'équidés et les importations d'équidés en provenance des pays tiers

(90/426/CEE)

LE CONSEIL DES COMMUNAUTÉS EUROPÉENNES,

vu le traité instituant la Communauté économique européenne, et notamment son article 43,

vu la proposition de la Commission ([1]),

vu l'avis du Parlement européen ([2]),

vu l'avis du Comité économique et social ([3]),

considérant que les équidés, en tant qu'animaux vivants, sont compris dans la liste des produits énumérés à l'annexe II du traité;

considérant qu'il importe, afin d'assurer un développement rationnel de la production d'équidés et d'accroître ainsi la productivité de ce secteur, de fixer au niveau communautaire des règles régissant les mouvements des équidés entre États membres;

considérant que l'élevage des équidés, en particulier des chevaux, s'intègre généralement dans le cadre des activités agricoles; qu'il constitue une source de revenus pour une partie de la population agricole;

considérant qu'il convient d'éliminer les disparités existant entre les États membres en matière de police sanitaire, afin de favoriser les échanges intracommunautaires d'équidés;

considérant que, pour permettre un développement harmonieux des échanges intracommunautaires, il importe de définir un régime communautaire applicable aux importations en provenance des pays tiers;

considérant qu'il convient, en ce qui concerne les équidés enregistrés munis d'un document d'identification, de régler également les conditions de leurs mouvements sur le territoire national;

considérant que, pour participer aux échanges, les équidés doivent répondre à certaines exigences de police sanitaire visant à éviter la propagation de maladies contagieuses; qu'il apparaît en particulier opportun de prévoir une possible régionalisation des mesures restrictives;

considérant que, dans le même but, il convient également de fixer les conditions relatives au transport;

considérant que, pour garantir le respect des exigences prévues, il apparaît nécessaire de prévoir la délivrance par un vétérinaire officiel d'un certificat sanitaire destiné à accompagner les équidés jusqu'au lieu de destination;

considérant que l'organisation et les suites à donner aux contrôles à effectuer par l'État membre de destination et les mesures de sauvegarde à mettre en œuvre doivent être fixées dans le cadre de la réglementation à arrêter pour les contrôles vétérinaires dans les échanges intracommunautaires d'animaux vivants dans la perspective de la réalisation du marché intérieur;

---

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

▼B

considérant qu'il convient de prévoir la possibilité de contrôles de la Commission; que ces contrôles doivent être effectués en collaboration avec les autorités nationales compétentes;

considérant que la définition d'un régime communautaire applicable aux importations en provenance des pays tiers suppose l'établissement d'une liste de pays tiers ou de parties de pays tiers à partir desquels des équidés peuvent être importés;

considérant que le choix de ces pays doit être fondé sur des critères d'ordre général, tels que l'état sanitaire du bétail, l'organisation et les pouvoirs des services vétérinaires et la réglementation sanitaire en vigueur;

considérant, par ailleurs, qu'il importe de ne pas autoriser les importations d'équidés en provenance de pays infectés ou indemnes, depuis un laps de temps trop court, de maladies contagieuses des animaux qui présentent un danger pour le cheptel de la Communauté; qu'il en est de même pour les importations en provenance de pays tiers où il est procédé à des vaccinations contre de telles maladies;

considérant que les conditions générales applicables aux importations en provenance de pays tiers doivent être complétées par des conditions particulières établies en fonction de la situation sanitaire de chacun d'eux; que le caractère technique et la diversité des critères sur lesquels doivent reposer ces conditions particulières nécessitent pour leur définition le recours à une procédure communautaire souple et rapide au cours de laquelle collaborent étroitement la Commission et les États membres;

considérant que la présentation, lors de l'importation d'équidés, d'un certificat conforme à un modèle commun constitue l'un des moyens efficaces pour vérifier l'application de la réglementation communautaire; que cette réglementation peut comporter des dispositions particulières pouvant varier selon les pays tiers et que les modèles du certificat doivent être établis en conséquence;

considérant qu'il convient de charger les experts vétérinaires de la Communauté de vérifier, notamment dans les pays tiers, si les exigences de la présente directive sont respectées;

considérant que le contrôle à l'importation doit porter sur l'origine et l'état sanitaire des équidés;

considérant que les règles générales applicables aux contrôles à effectuer lors de l'importation doivent être définies dans un cadre global;

considérant que tout État membre doit avoir la possibilité d'interdire immédiatement les importations en provenance d'un pays tiers lorsque celles-ci peuvent présenter un danger pour la santé des animaux; qu'il importe, dans un tel cas, sans préjudice des modifications éventuelles de la liste des pays autorisés à exporter vers la Communauté, d'assurer sans délai la coordination de l'attitude des États membres à l'égard de ce pays tiers;

considérant que les dispositions de la présente directive doivent être revues dans le cadre de l'achèvement du marché intérieur;

considérant qu'il y a lieu de prévoir une procédure instaurant une coopération étroite et efficace entre les États membres et la Commission au sein du comité vétérinaire permanent,

A ARRÊTÉ LA PRÉSENTE DIRECTIVE

▼B

CHAPITRE PREMIER

**Dispositions générales**

*Article 1*

La présente directive définit les conditions de police sanitaire régissant les mouvements d'équidés entre États membres et les importations d'équidés en provenance des pays tiers.

*Article 2*

Aux fins de la présente directive, on entend par:

a) exploitation: l'établissement agricole ou d'entraînement, l'écurie ou, d'une manière générale, tout local ou toute installation dans lesquels des équidés sont détenus ou élevés de façon habituelle, quelle que soit leur utilisation;

b) équidés: les animaux domestiques ou sauvages des espèces équine — y compris les zèbres —, asine ou les animaux issus de leurs croisements;

c) équidé enregistré: tout équidé enregistré, tel que défini par la directive 90/427/CEE ([1]), identifié au moyen d'un document d'identification qui est délivré par l'autorité d'élevage ou toute autre autorité compétente du pays d'origine de l'équidé qui gère le livre généalogique ou le registre de la race de cet équidé ou toute association ou organisation internationale gérant des chevaux en vue de la compétition ou des courses;

d) équidés de boucherie: les équidés destinés à être menés à l'abattoir, soit directement, soit après passage dans un marché ou un centre de rassemblement agréé, pour y être abattus;

e) équidés d'élevage et de rente: les équidés autres que ceux mentionnés aux points c) et d);

f) État membre ou pays tiers indemne de peste équine: tout État membre ou pays tiers sur le territoire duquel aucune évidence clinique, sérologique (chez les équidés non vaccinés) ou épidémiologique n'a permis de constater la présence de peste équine au cours des deux dernières années et dans lequel la vaccination contre cette maladie n'a pas été pratiquée au cours des douze derniers mois;

g) maladies à déclaration obligatoire: les maladies énumérées à l'annexe A;

h) vétérinaire officiel: le vétérinaire désigné par l'autorité centrale compétente de l'État membre ou d'un pays tiers;

i) admission temporaire: le statut d'un équidé enregistré provenant d'un pays tiers et admis sur le territoire de la Communauté pour un délai inférieur à quatre-vingt-dix jours, à fixer par la Commission selon la procédure prévue à l'article 24 en fonction de la situation sanitaire du pays d'origine.

([1]) JO n° L 224 du 18. 8. 1990, p. 55

▼B

CHAPITRE II

**Règles pour les mouvements d'équidés**

*Article 3*

Un État membre n'autorise le mouvement d'équidés enregistrés sur son territoire et n'expédie vers le territoire d'un autre État membre des équidés que s'ils remplissent les conditions prévues aux articles 4 et 5.

Toutefois, les autorités compétentes des États membres de destination peuvent accorder des dérogations générales ou limitées pour les mouvements d'équidés:

— qui sont montés ou menés à des fins sportives ou récréatives sur des routes se trouvant à proximité des frontières internes de la Communauté,

— qui participent à des manifestations culturelles ou similaires ou à des activités organisées par des organismes locaux habilités, situés à proximité des frontières internes de la Communauté,

— destinés exclusivement au pacage ou au travail, à titre temporaire, à proximité des frontières internes de la Communauté.

Les États membres faisant usage de cette autorisation informent la Commission du contenu des dérogations octroyées.

*Article 4*

1. Les équidés ne doivent présenter aucun signe clinique de maladie lors de l'inspection. L'inspection doit avoir lieu au cours des quarante-huit heures précédant l'embarquement ou le chargement pour les équidés. Toutefois, pour les équidés enregistrés, cette inspection est, sans préjudice de l'article 6, exigée seulement pour les échanges intracommunautaires.

2. Sans préjudice des exigences prévues au paragraphe 5 pour les maladies à déclaration obligatoire, le vétérinaire officiel doit, lors de l'inspection, s'assurer qu'aucun fait — y compris sur la base des déclarations du propriétaire ou de l'éleveur — ne permet de conclure que les équidés ont été en contact avec des équidés souffrant d'une infection ou d'une maladie contagieuse au cours des quinze derniers jours précédant l'inspection.

3. Les équidés ne doivent pas être à éliminer dans le cadre d'un programme d'éradication d'une maladie contagieuse appliqué dans un État membre.

4. Les équidés doivent faire l'objet d'une identification qui devra intervenir:

i) pour les chevaux enregistrés, au moyen d'un document d'identification prévu par la directive 90/427/CEE ([1]), ce document devant attester notamment le respect des paragraphes 5 et 6 et de l'article 5. La validité de ce document devra être suspendu par le vétérinaire officiel pendant la durée des interdictions prévues au paragraphe 5 ou à l'article 5. Il devra être restitué après abattage du cheval enregistré à l'autorité qui l'a délivré. Les modalités d'application du présent point seront arrêtées par la Commission selon la procédure prévue à l'article 24;

ii) pour les équidés d'élevage et de rente selon une méthode d'identification à déterminer par la Commission selon la procédure prévue à l'article 24.

([1]) JO n° L 224 du 18. 8. 1990, p. 55.

▼B

Jusqu'à la mise en œuvre de cette méthode, les méthodes d'identification nationales officiellement agréées restent applicables, pour autant qu'elles soient notifiées à la Commission et aux autres États membres dans un délai de trois mois à compter de la date d'adoption de la présente directive.

5. Outre l'exigence prévue à l'article 5, les équidés ne doivent pas provenir d'une exploitation faisant l'objet de l'une des mesures d'interdiction suivantes:

a) si tous les animaux des espèces sensibles à la maladie présents sur l'exploitation n'ont pas été abattus ou tués, la durée de l'interdiction frappant l'exploitation de provenance doit être au moins égale:

   — dans le cas d'équidés suspects d'être atteints de dourine, à six mois à compter de la date du dernier contact ou de la possibilité de contact avec un équidé malade. Toutefois, s'il s'agit d'un étalon, l'interdiction doit s'appliquer jusqu'à sa castration,

   — en cas de morve et d'encéphalomyélite équine, à six mois à compter de la date à laquelle les équidés atteints ont été éliminés,

   — dans le cas d'anémie infectieuse, à la période nécessaire pour que, à partir de la date à laquelle les équidés atteints ont été éliminés, les animaux restants aient réagi négativement à deux tests de Coggins effectués à un intervalle de 3 mois,

   — à six mois à compter du dernier cas de stomatite vésiculeuse,

   — à un mois à compter du dernier cas de rage constatée,

   — à quinze jours à compter du dernier cas de charbon bactéridien constaté;

b) si tous les animaux des espèces sensibles présents sur l'exploitation ont été abattus ou tués et les locaux désinfectés, la durée de l'interdiction est de trente jours à compter de la date à laquelle les animaux ont été éliminés et les locaux désinfectés, sauf dans le cas du charbon bactéridien pour lequel la durée d'interdiction est de quinze jours.

Les autorités compétentes peuvent déroger à ces mesures d'interdiction pour les hippodromes et les champs de courses et informent la Commission de la nature des dérogations accordées.

6. Dans le cas où un État membre établit ou a établi un programme facultatif ou obligatoire de lutte contre une maladie à laquelle les équidés sont sensibles, il peut soumettre ce programme à la Commission dans les six mois à compter de la notification de la présente directive, en indiquant notamment:

— la situation de la maladie sur son territoire,

— la justification du programme en prenant en compte l'importance de la maladie et ses avantages coût/bénéfice,

— la zone géographique dans laquelle le programme va être appliqué,

— les différents status applicables aux établissements, les normes qui doivent être atteintes pour chaque espèce et les procédures de test,

— les procédures de contrôle du programme,

— la conséquence à tirer lors de la perte du statut de l'exploitation pour quelque raison que ce soit,

— le mesures à prendre en cas de résultats positifs constatés lors de contrôles effectués conformément au programme,

— le caractère non discriminatoire entre les échanges sur le territoire de l'État membre concerné et les échanges intracommunautaires.

La Commission examine les programmes communiqués par les États membres. Le cas échéant, elle les approuve en respectant les critères

▼B

énoncés au premier alinéa selon la procédure prévue à l'article 24. Selon la même procédure, des garanties complémentaires générales ou limitées pouvant être exigées dans les échanges intracommunautaires peuvent être précisées. Ces garanties doivent être au maximum équivalentes à celles que l'État membre met en œuvre dans le cadre national.

Les programmes soumis par les États membres peuvent être modifiés ou complétés selon la procédure prévue par l'article 25. Selon la même procédure, une modification ou un complément à un programme antérieurement approuvé et aux garanties définies conformément au second alinéa peut être approuvé.

▼M4

*Article 5*

1. Les États membres non indemnes de peste équine, au sens de l'article 2 point f), ne peuvent expédier d'équidés en provenance de la partie de territoire considérée comme infectée, au sens du paragraphe 2 du présent article, qu'aux conditions fixées au paragraphe 3 du présent article.

2. a) Une partie du territoire d'un État membre est considérée comme infectée de peste équine si:

— au cours des deux dernières années, une évidence clinique, sérologique (chez les animaux non vaccinés) et/ou épidémiologique a permis de constater la peste équine

ou

— au cours des douze derniers mois, la vaccination contre la peste équine a été pratiquée.

b) La partie du territoire considérée comme infectée de peste équine doit se composer au minimum:

— d'une zone de protection d'un rayon d'au moins 100 kilomètres autour de tout foyer,

— d'une zone de surveillance d'une profondeur d'au moins 50 kilomètres qui s'étend au-delà des limites de la zone de protection et dans laquelle aucune vaccination n'a été pratiquée au cours des douze derniers mois.

c) Les règles de contrôle des mesures de lutte relatives aux territoires et zones visés aux points a) et b) ainsi que les dérogations y afférentes sont précisées par la directive 92/35/CEE ([1]).

d) Tout équidé vacciné se trouvant dans la zone de protection doit être enregistré et identifié conformément à l'article 6 paragraphe 1 de la directive 92/35/CEE.

La mention de cette vaccination doit être clairement portée dans le document d'identification et/ou sur le certificat sanitaire.

3. Un État membre ne peut expédier du territoire visé au paragraphe 2 point b) que des équidés satisfaisant aux exigences suivantes:

a) n'être expédiés que durant certaines périodes de l'année, en fonction de l'activité des insectes vecteurs, à fixer selon la procédure prévue à l'article 25;

b) ne présenter aucun signe clinique de peste équine le jour de l'inspection visée à l'article 4 paragraphe 1;

c) — s'ils n'ont pas été vaccinés contre la peste équine, avoir été soumis avec une réaction négative à un test de fixation du complément pour la peste équine tel que décrit à l'annexe D, à deux reprises, avec un intervalle compris entre vingt et un et

([1]) JO n° L 157 du 10. 6. 1992, p. 19

▼M4

trente jours, le second test devant être effectué dans les dix jours avant l'expédition,

— s'ils ont été vaccinés, ne pas l'avoir été au cours des deux derniers mois et avoir été soumis au test de fixation décrit à l'annexe D, aux intervalles précités, sans qu'il ait été constaté d'accroissement des anticorps. Selon la procédure prévue à l'article 24, la Commission peut, après avis du comité scientifique vétérinaire, reconnaître d'autres méthodes de contrôle;

d) avoir été maintenus dans une station de quarantaine pendant une période minimale de quarante jours avant l'expédition;

e) avoir été protégés des insectes vecteurs pendant la période de quarantaine et au cours du transport de la station de quarantaine au lieu d'expédition.

▼B

*Article 6*

Les États membres qui mettent en œuvre un régime alternatif de contrôle offrant des garanties équivalentes à celles prévues à l'article 4 paragraphe 5 pour les mouvements, sur leur territoire, des équidés et des équidés enregistrés, notamment par le biais du document d'identification, peuvent s'accorder, sur une base de réciprocité, une dérogation à l'article 4 paragraphe 1 deuxième phrase et à l'article 8 paragraphe 1 deuxième tiret.

Ils en informent la Commission.

*Article 7*

1. Les équidés doivent être acheminés, dans les délais les plus brefs, de l'exploitation de provenance, soit directement, soit après passage dans un marché, ou un centre de rassemblement agréés, tels que définis à l'article 3 paragraphe 6 de la directive 64/432/CEE, vers le lieu de destination, à l'aide de moyens de transport et de contention régulièrement nettoyés et désinfectés avec un désinfectant et selon une fréquence à fixer par l'État membre d'expédition. Les véhicules de transport doivent être aménagés de telle sorte que les fèces, la litière ou le fourrage des équidés ne puissent pas couler ou tomber hors du véhicule pendant le transport. Le transport doit être effectué d'une manière permettant d'assurer une protection sanitaire efficace et le bien-être des équidés.

2. L'État membre de destination peut, de manière générale ou limitée, accorder une dérogation à certaines des exigences de l'article 4 pargraphe 5, pour autant que l'animal soit pourvu d'une marque particulière précisant qu'il est destiné à la boucherie et que mention de cette dérogation soit portée sur le certificat sanitaire.

En cas d'octroi d'une telle dérogation, les équidés de boucherie doivent être directement acheminés vers l'abattoir désigné pour y être abattus dans un délai n'excédant pas cinq jours après l'arrivée à l'abattoir.

3. Le vétérinaire officiel doit relever dans un registre le numéro d'identification ou le numéro du document d'identification de l'équidé abattu et transmettre à l'autorité compétente du lieu d'expédition, à sa demande, une attestation certifiant l'abattage des équidés.

*Article 8*

1. Les États membres veillent à ce que:

— les équidés enregistrés soient accompagnés, s'ils quittent leur exploitation, du document d'identification prévu à l'article 4 paragraphe 4

▼B

et, s'ils sont destinés aux échanges intracommunautaires, de ce passeport, complété par l'attestation prévue à l'annexe B,

— les équidés d'élevage, de rente et de boucherie soient accompagnés, au cours de leur transport, d'un certificat sanitaire conforme à l'annexe C.

Le certificat ou, dans le cas d'un document d'identification, le feuillet contenant les renseignements sanitaires, doivent, sans préjudice de l'article 6, être établis au cours des quarante-huit heures ou au plus tard le dernier jour ouvrable précédant l'embarquement, dans la ou les langues officielles de l'État membre d'expédition et de destination. La durée de validité du certificat est de dix jours. Le certificat doit comporter un seul feuillet.

2. Les importations d'équidés, autres que les équidés enregistrés, peuvent se faire sous le couvert d'un seul certificat sanitaire par lot, au lieu du certificat individuel visé au paragraphe 1 deuxième tiret.

▼M1

*Article 9*

Les règles prévues par la directive 90/425/CEE du Conseil, du 26 juin 1990, relative aux contrôles vétérinaires et zootechniques applicables dans les échanges intracommunautaires de certains animaux vivants et produits dans la perspective de la réalisation du marche intérieur ([1]), sont applicables notamment en ce qui concerne les contrôles à l'origine, l'organisation et les suites à donner aux contrôles à effectuer par l'État membre de destination et les mesures de sauvegarde à mettre en œuvre.

▼B

*Article 10*

Des experts vétérinaires de la Commission peuvent, dans la mesure où cela est nécessaire à l'application uniforme de la présente directive et en collaboration avec les autorités nationales compétentes, effectuer des contrôles sur place. La Commission informe les États membres du résultat des contrôles effectués.

L'État membre sur le territoire duquel est effectué un tel contrôle apporte toute l'aide nécessaire aux experts pour l'accomplissement de leur mission.

Les modalités d'application du présent article sont fixes selon la procédure prévue à l'article 24.

## CHAPITRE III

**Règles pour les importations en provenance des pays tiers**

*Article 11*

1. Les équidés importés dans la Communauté doivent remplir les conditions énoncées aux articles 12 à 16.

2. Jusqu'à la date d'entrée en vigueur des décisions y afférentes arrêtées en application des articles 12 à 16, les États membres appliquent aux importations d'équidés en provenance des pays tiers des conditions au moins équivalentes à celles qui résultent de l'application du chapitre II.

([1]) JO n° L 224 du 18. 8. 1990, p. 29.

▼M8

*Article 12*

1. L'importation d'équidés dans la Communauté n'est autorisée qu'en provenance des pays tiers figurant sur une liste ou des listes à établir ou à modifier conformément à la procédure visée à l'article 24, paragraphe 2.

Au vu de la situation sanitaire du pays tiers et des garanties qu'il fournit en ce qui concerne les équidés, il peut être décidé, conformément à la procédure visée à l'article 24, paragraphe 2, que l'autorisation prévue au premier alinéa du présent paragraphe s'applique à l'ensemble du territoire du pays tiers ou à une partie de celui-ci uniquement.

À cet effet, il est tenu compte de la manière dont le pays tiers applique et met en œuvre, sur son propre territoire, les normes internationales correspondantes, notamment le principe de régionalisation, eu égard aux exigences sanitaires relatives aux importations en provenance d'autres pays tiers et de la Communauté.

2. Lors de l'établissement ou de la modification des listes prévues au paragraphe 1, sont notamment pris en considération:

a) l'état sanitaire des équidés, des autres animaux domestiques et de la faune sauvage du pays tiers, une attention particulière étant accordée aux maladies animales exotiques et à tous les aspects de la situation sanitaire et environnementale générale du pays, dans la mesure où elle pourrait représenter un risque pour la situation sanitaire et environnementale de la Communauté;

b) la législation du pays tiers en matière de santé et de bien-être des animaux;

c) l'organisation de l'autorité vétérinaire compétente et de ses services d'inspection, les prérogatives de ces derniers, la supervision dont ils font l'objet, ainsi que les moyens dont ils disposent, y compris sur le plan des effectifs et des capacités de laboratoire, pour appliquer dûment la législation nationale;

d) les assurances que peut donner l'autorité vétérinaire compétente du pays tiers quant au respect des conditions de police sanitaire correspondantes en vigueur dans la Communauté ou à l'application de conditions équivalentes;

e) l'appartenance du pays tiers à l'Office international des épizooties (OIE) ainsi que la régularité et la rapidité avec lesquelles ce pays fournit des informations en ce qui concerne l'existence de maladies équines infectieuses ou contagieuses sur son territoire, notamment les maladies répertoriées par l'OIE et à l'annexe A de la présente directive;

f) les garanties données par le pays tiers en ce qui concerne la fourniture directe d'informations à la Commission et aux États membres:

   i) dans les vingt-quatre heures, sur la confirmation de la présence de maladies équines infectieuses énumérées à l'annexe A et sur tout changement dans la politique de vaccination relative à ces maladies;

   ii) dans un délai approprié, sur toute modification proposée des règles sanitaires nationales concernant les équidés, notamment pour ce qui est des importations;

   iii) à intervalles réguliers, sur le statut zoosanitaire de son territoire en ce qui concerne les équidés;

g) toute expérience acquise en matière d'importation d'équidés vivants en provenance du pays tiers et les résultats des contrôles éventuellement effectués à l'importation;

h) les résultats des inspections et/ou audits communautaires réalisés dans le pays tiers, notamment les résultats de l'évaluation des auto-

▼M8

rités compétentes ou, à la demande de la Commission, le rapport présenté par les autorités compétentes sur les inspections auxquelles elles ont procédé;

i) la teneur des règles en vigueur dans le pays tiers en ce qui concerne la lutte contre les maladies animales infectieuses ou contagieuses et leur prévention, y compris les règles relatives aux importations d'équidés en provenance d'autres pays tiers, ainsi que la mise en œuvre de ces règles.

3. La Commission prend les dispositions nécessaires pour que des versions actualisées de toutes les listes établies ou modifiées conformément au paragraphe 1 soient accessibles au public.

Ces listes peuvent être combinées à d'autres listes dressées aux fins de la protection de la santé animale et de la santé publique et peuvent aussi inclure des modèles de certificats sanitaires.

4. Pour chaque pays tiers ou groupe de pays tiers, des conditions particulières d'importation sont établies conformément à la procédure visée à l'article 24, paragraphe 2, au vu de la situation zoosanitaire du ou des pays tiers considérés en ce qui concerne les équidés.

5. Les modalités d'application du présent article ainsi que les critères d'inscription des pays tiers ou parties de pays tiers sur les listes prévues au paragraphe 1 peuvent être adoptés conformément à la procédure visée à l'article 24, paragraphe 2.

▼B

*Article 13*

1. Les équidés doivent provenir d'un pays tiers:

a) indemne de peste équine;

b) indemne depuis deux ans d'encéphalomyélite équine vénézuélienne (VEE);

c) indemne depuis six mois de dourine et de morve.

2. La Commission, agissant selon la procédure prévue à l'article 24, peut:

a) décider que le paragraphe 1 ne s'applique qu'à une partie du territoire d'un pays tiers.

En cas de régionalisation des exigences pour la peste équine, les mesures prévues à l'article 5, paragraphe 2 et 3, doivent être au minimum respectées;

b) exiger des garanties additionnelles pour des maladies exotiques à la Communauté.

*Article 14*

Les équidés doivent, avant le jour de leur chargement en vue de leur expédition vers l'État membre de destination, avoir séjourné sans interruption sur le territoire ou sur une partie du territoire d'un pays tiers ou, en cas de régionalisation, sur la partie du territoire définie en application de l'article 13 paragraphe 2 point a) depuis une période à fixer lors de l'adoption des décisions à arrêter en application de l'article 15.

Ils doivent provenir d'une exploitation placée sous contrôle vétérinaire.

*Article 15*

L'importation d'équidés du territoire d'un pays tiers ou d'une partie du territoire d'un pays tiers définie en application de l'article 13 paragraphe

▼B

2 point a) figurant sur la liste établie conformément à l'article 12 paragraphe 1 n'est autorisée que si, outre les exigences prévues à l'article 13:

a) ils répondent aux conditions sanitaires arrêtées, selon la procédure prévue à l'article 24, pour les importations d'équidés du pays considéré en fonction de l'espèce concernée et des catégories d'équidés.

Pour fixer les conditions de police sanitaire conformément au premier alinéa, la base de référence à utiliser est celle des normes prévues aux articles 4 et 5; et

b) lorsqu'il s'agit des pays tiers non indemnes de vésiculeuse stomatite ou d'artérite virale pendant au moins six mois, les équidés satisfont aux exigences suivantes:

i) les équidés doivent provenir d'une exploitation indemne de vésiculeuse stomatite depuis au moins six mois et avoir réagi négativement à un test sérologique avant leur expédition;

ii) pour l'artérite virale, les équidés mâles doivent, sans préjudice de l'article 19 point ii), avoir réagi négativement à un test sérologique ou à un virus d'isolation ou à tout autre test reconnu selon la procédure de l'article 24 et garantissant que l'animal est indemne de cette maladie.

La Commission agissant selon la procédure prévue à l'article 24 et après avis du comité vétérinaire scientifique, peut délimiter les catégories d'équidés mâles auxquels cette exigence sera applicable.

*Article 16*

1. Les équidés doivent être identifiés conformément à l'article 4 paragraphe 4 et être accompagnés d'un certificat établi par un vétérinaire officiel du pays tier exportateur. Le certificat doit:

a) être délivré le jour du chargement des équidés en vue de l'expédition vers l'État membre de destination ou, lorsqu'il s'agit de chevaux enregistrés, le dernier jour ouvrable avant l'embarquement;

b) être rédigé au moins dans l'une des langues officielles de l'État membre de destination et dans l'une de celles de l'État membre où s'effectue le contrôle à l'importation;

c) accompagner les équidés dans son exemplaire original;

d) attester que les équidés répondent aux conditions prévues par la présente directive et à celles fixées en application de celle-ci pour l'importation en provenance du pays tiers;

e) comporter un seul feuillet;

f) être prévu pour un seul destinataire ou, dans le cas d'équidés de boucherie, pour un lot dûment marqué et identifié.

Les États membres informent la Commission s'ils font usage de cette possibilité.

2. Ce certificat doit être rédigé sur un formulaire conforme à un modèle établi selon la procedure prévue à l'article 24.

*Article 17*

Des contrôles sont effectués sur place par des experts vétérinaires des États membres et de la Commission pour vérifier si les dispositions de la présente directive, et notamment celles de l'article 12 paragraphe 2, sont effectivement appliquées.

Si, pendant le déroulement d'une inspection effectuée en application du présent article, des faits graves sont relevés à l'encontre d'une exploita-

▼B

tion, la Commission en informe immédiatement les États membres et arrête aussitôt une décision comportant la suspension provisoire de l'agrément. Une décision finale est prise à cet égard selon la procédure prévue à l'article 25.

Les experts des États membres chargés des contrôles sont désignés par la Commission sur proposition des États membres.

Les contrôles sont effectués pour le compte de la Communauté, qui prend en charge les frais correspondants.

La périodicité et les modalités des contrôles sont déterminées selon la procédure prévue à l'article 24.

*Article 18*

1. De leur arrivée dans l'État membre de destination, les équidés de boucherie doivent être conduits dans un abattoir soit directement, soit après passage dans un marché ou un centre de rassemblement, et, conformément aux exigences de police sanitaire, être abattus dans un délai à fixer lors de l'adoption des décisions à arrêter en application de l'article 15.

2. Sans préjudice des conditions particulières éventuellement fixées selon la procédure prévue à l'article 24, l'autorité compétente de l'État membre de destination peut, en raison d'exigences de police sanitaire, désigner l'abattoir vers lequel ces équidés doivent être acheminés.

*Article 19*

La Commission, agissant selon la procédure prévue à l'article 24:

i) peut limiter l'importation en provenance d'un pays tiers ou d'une partie d'un pays tiers à des espèces ou catégories particulières d'équidés;

ii) établit, par dérogation à l'article 15, les conditions particulières auxquelles peut s'effectuer l'admission temporaire sur le territoire de la Communauté ou la réintroduction sur ledit territoire après exportation temporaire d'équidés enregistrés ou d'équidés destinés à des utilisations particulières;

iii) détermine les conditions permettant de convertir une admission temporaire en admission définitive;

▼M8

iv) peut désigner un laboratoire communautaire de référence pour l'une ou plusieurs des maladies des équidés mentionnée(s) à l'annexe A et établir les fonctions, tâches et les procédures pour la collaboration avec les laboratoires en charge du diagnostic des maladies infectieuses des équidés dans les États membres.

▼M2

———————

▼B

CHAPITRE IV

**Dispositions finales**

*Article 22*

Les dispositions de la présente directive, et notamment celles de l'article 4 paragraphe 1 deuxième phrase et des articles 6, 8 et 21, feront l'objet d'un réexamen avant le 1er janvier 1993 dans le cadre des propositions

▼B

visant à assurer l'achèvement du marché intérieur, sur lesquelles le Conseil se prononcera à la majorité qualifiée.

*Article 23*

Les annexes de la présente directive sont modifiées par la Commission, selon la procédure prévue à l'article 25.

▼M7

*Article 24*

1. La Commission est assistée par le comité permanent de la chaîne alimentaire et de la santé animale institué par l'article 58 du règlement (CE) nº 178/2002 ([1]).

2. Dans le cas où il est fait référence au présent article, les articles 5 et 7 de la décision 1999/468/CE ([2]) s'appliquent.

La période prévue à l'article 5, paragraphe 6, de la décision 1999/468/CE est fixée à trois mois.

3. Le comité adopte son règlement intérieur.

*Article 25*

1. La Commission est assistée par le comité permanent de la chaîne alimentaire et de la santé animale.

2. Dans le cas où il est fait référence au présent article, les articles 5 et 7 de la décision 1999/468/CE s'appliquent.

La période prévue à l'article 5, paragraphe 6, de la décision 1999/468/CE est fixée à quinze jours.

▼B

*Article 26*

L'article 34 de la directive 72/462/CEE est applicable aux exigences prévues par le chapitre III de la présente directive.

*Article 27*

Les États membres mettent en vigueur les dispositions législatives, réglementaires et administratives nécessaires pour se conformer à la présente directive au plus tard le 1er janvier 1992. Ils en informent la Commission.

*Article 28*

Les États membres sont destinataires de la présente directive.

([1]) JO L 31 du 1.2.2002, p. 1.
([2]) JO L 184 du 17.7.1999, p. 23.

▼B

*ANNEXE A*

**MALADIES À DÉCLARATION OBLIGATOIRE**

Sont soumises à déclaration obligatoire, les maladies suivantes:

— dourine,

— morve,

— encéphalomyélite équine (sous toutes ses formes, y compris la VEE),

— anémie infectieuse,

— rage,

— charbon bactéridien,

— peste équine,

— stomatite vésiculeuse.

▼M3

*ANNEXE B*

**RENSEIGNEMENTS SANITAIRES** (a)

Passeport n° .....

Je, soussigné, certifie (b) que l'équidé désigné ci-dessus répond aux conditions suivantes :

a) il a été examiné à ce jour et ne présente aucun signe clinique de maladie ;

b) il n'est pas à éliminer dans le cadre d'un programme d'éradication d'une maladie contagieuse appliqué dans l'État membre ;

c) — il ne provient pas du territoire ou d'une partie du territoire d'un État membre/pays tiers faisant l'objet de mesures de restriction en raison de la peste équine

ou

il provient du territoire ou d'une partie du territoire d'un État membre faisant l'objet de mesures de restriction en raison de la peste équine et a été soumis dans la station de quarantaine de ..... entre le ..... et le ..... aux tests avec résultats satisfaisants prévus à l'article 5 paragraphe 3 de la directive 90/426/CEE (c),

— il n'est pas vacciné contre la peste équine

ou

il a été vacciné contre la peste équine le ..... (c) (d) ;

d) il ne provient pas d'une exploitation faisant l'objet de mesures d'interdiction pour des motifs de police sanitaire et n'a pas été en contact avec les équidés d'une exploitation faisant l'objet d'une interdiction pour des motifs de police sanitaire :

— dans le cas d'équidés suspects d'être atteints de dourine, durant six mois à compter de la date du dernier contact ou de la possibilité de contact avec un équidé malade. Toutefois, s'il s'agit d'un étalon, l'interdiction doit s'appliquer jusqu'à sa castration,

— en cas de morve et d'encéphalomyélite équine, durant six mois à compter de la date à laquelle les équidés atteints ont été éliminés,

— dans le cas d'anémie infectieuse, durant la période nécessaire pour que, à partir de la date à laquelle les équidés atteints ont été éliminés, les animaux restants aient réagi négativement à deux tests de Coggins effectués à un intervalle de trois mois,

— dans le cas de stomatite vésiculeuse, durant six mois à compter du dernier cas,

— dans le cas de rage, durant un mois à compter du dernier cas,

— dans le cas du charbon bactéridien durant quinze jours à compter du dernier cas,

— dans le cas où tous les animaux des espèces sensibles présents sur l'exploitation ont été abattus ou tués et les locaux désinfectés, durant trente jours à compter de la date à laquelle les animaux ont été éliminés et les locaux désinfectés sauf dans le cas du charbon bactéridien pour lequel la durée d'interdiction est de quinze jours ;

e) il n'a pas été, à ma connaissance, en contact avec des équidés atteints de maladie ou d'infection contagieuse au cours des quinze derniers jours;

►(1) f) au moment de l'inspection, ils étaient aptes à être transportés sur le trajet prévu, conformément aux dispositions de la directive 91/628/CEE (e).◄

| Date | Lieu | Cachet et signature du vétérinaire officiel (f) |
|---|---|---|
| | | |

(f) Nom en lettres capitales et qualité.

(a) Ces renseignements ne sont pas exigés en cas d'accord bilatéral conclu conformément à l'article 6 de la directive 90/426/CEE.

(b) Valable dix jours.

(c) Biffer la mention inutile.

(d) Mention de la vaccination doit figurer dans le passeport.

(e) Cette déclaration ne dispense pas les transporteurs des obligations qui leur incombent en vertu des dispositions communautaires en vigueur, notamment pour ce qui est de l'aptitude des animaux à être transportés.

►(1) M5

▼M3

*ANNEXE C*

MODÈLE

**CERTIFICAT SANITAIRE**

**pour les échanges entre les États membres de la CEE**

# ÉQUIDÉS

N° .....

État membre d'expédition .....

Ministère compétent .....

Service territorial compétent .....

I. **Nombre d'équidés** .....

II. **Identification des équidés**

| Nombre d'équidés (1) | Espèces chevaux, ânes, mulets, bardots | Race Âge Sexe | Méthode d'identification et identification (2) |
|---|---|---|---|
| | | | |

(1) Lorsqu'il s'agit d'animaux de boucherie, on indiquera la nature de la marque spéciale.
(2) Un document d'identification de l'équidé peut être joint à ce certificat sous réserve que son numéro y soit indiqué.

III. **Origine et destination de l'équidé/des équidés**

L'équidé/les équidés est/sont expédié(s) :

de .....
(lieu d'expédition)

à .....
(État membre et lieu de destination)

Nom et adresse de l'expéditeur .....

.....

Nom et adresse du destinataire .....

.....

IV. **Renseignements sanitaires** (a)

Je, soussigné, certifie que l'équidé/les équidés désigné(s) ci-dessus répond(ent) aux conditions suivantes :

1) il/ils a/ont été examiné(s) à ce jour et ne présente(nt) aucun signe clinique de maladie ;

2) il/ils n'est/ne sont pas à éliminer dans le cadre d'un programme d'éradication d'une maladie contagieuse appliqué dans l'État membre ;

(a) Ces renseignements ne sont pas exigés en cas d'accord bilatéral conclu conformément à l'article 6 de la directive 90/426/CEE.

▼M3

3) — il/ils ne provien(nen)t pas du territoire ou d'une partie du territoire d'un État membre/pays tiers faisant l'objet de mesures de restriction en raison de la peste équine

ou

il/ils provien(nen)t du territoire ou d'une partie du territoire d'un État membre faisant l'objet de mesures de restriction en raison de la peste équine et a/ont été soumis dans la station de quarantaine de ..... entre le ..... et le ..... aux tests avec résultats satisfaisants prévus à l'article 5 paragraphe 3 de la directive 90/426/CEE (b),

— il/ils n'est/ne sont pas vacciné(s) contre la peste équine

ou

il/ils a été/ont été vacciné(s) contre la peste équine le .....(b) ;

4) il/ils ne provien(nen)t pas d'une exploitation faisant l'objet de mesures d'interdiction pour des motifs de police sanitaire et n'a/n'ont pas été en contact avec les équidés d'une exploitation faisant l'objet d'une interdiction pour des motifs de police sanitaire :

— dans le cas d'équidés suspects d'être atteints de dourine, durant six mois à compter de la date du dernier contact ou de la possibilité de contact avec un équidé malade. Toutefois, s'il s'agit d'un étalon, l'interdiction doit s'appliquer jusqu'à sa castration,

— en cas de morve et d'encéphalomyélite équine, durant six mois à compter de la date à laquelle les équidés atteints ont été éliminés,

— dans le cas d'anémie infectieuse, durant la période nécessaire pour que, à partir de la date à laquelle les équidés atteints ont été éliminés, les animaux restants aient réagi négativement à deux tests de Coggins effectués à un intervalle de trois mois,

— dans le cas de stomatite vésiculeuse, durant six mois à compter du dernier cas,

— dans le cas de rage, durant un mois à compter du dernier cas,

— dans le cas du charbon bactéridien, durant quinze jours à compter du dernier cas,

— dans le cas où tous les animaux des espèces sensibles présents sur l'exploitation ont été abattus ou tués et les locaux désinfectés, durant trente jours à compter de la date à laquelle les animaux ont été éliminés et les locaux désinfectés sauf dans le cas du charbon bactéridien pour lequel la durée d'interdiction est de quinze jours ;

5) il/ils n'a/n'ont pas été, à ma connaissance, en contact avec des équidés atteints de maladie ou d'infection contagieuse au cours des quinze derniers jours ;

►(2) 6) au moment de l'inspection, il(s) étai(en)t apte(s) à être transporté(s) sur le trajet prévu, conformément aux dispositions de la directive 91/628/CEE (d).◄

V. **Ce certificat est valable dix jours.**

Fait à ....., le .....

Cachet

.....

(Signature)

(Nom en lettres capitales
et qualité du vétérinaire) (c)

(b) Biffer la mention inutile.

(c) En Allemagne "Beamteter Tierarzt" ; en Belgique "Inspecteur vétérinaire" ou "Inspecteur Dierenarts" ; en France "Vétérinaire officiel" ; en Italie "Veterinario ufficiale" ; au Luxembourg "Inspecteur vétérinaire" ; aux Pays-Bas "Officieel Dierenarts" ; au Danemark "Embedsdyrlæge" ; en Irlande "Veterinary Inspector" ; au Royaume-Uni "Veterinary Inspector" ; en Grèce "Επίσημος κτηνίατρος" ; en Espagne "Inspector Veterinário" ; au Portugal "Inspector Veterinário" ; ►(1) en Autriche "Amtstierartz" ; en Finlande "kunnaneläinlääkäri" ou "kaupungineläinlääkäri" ou "lääninеläinlääkäri" / "kommunalveterinär" ou "stadsveterinär" ou "länsveterinär" ; en Suède "länsveterinär", "distriktsveterinär" ou "gränsveterinär"◄, ►(3) en République tchèque "veterinární inspektor" ; en Estonie "veterinaarjärelevalve ametnik" ; à Chypre "Επίσημος Κτηνίατρος" ; en Lettonie "veterinārais inspektors" ; en Lituanie "veterinarijos inspektorius" ; en Hongrie "hatósági állatorvos" ; à Malte "veterinarju uffiċjali" ; en Pologne "urzędowy lekarz weterynarii" ; en Slovénie "veterinarski inšpektor" ; en Slovaquie "veterinárny inšpektor" ;◄ ►(3) en Bulgarie "ветеринарен инспектор" ; en Roumanie "medic veterinar autorizat". ◄

(d) Cette déclaration ne dispense pas les transporteurs des obligations qui leur incombent en vertu des dispositions communautaires en vigueur, notamment pour ce qui est de l'aptitude des animaux à être transportés.

►(1) A1

►(2) M5

►(3) A2

►(4) M9

▼M6

*ANNEXE D*

**PESTE ÉQUINE**

*DIAGNOSTIC*

Les réactifs pour les techniques immuno-enzymatiques (ELISA) décrites ci-dessous peuvent être obtenus auprès du laboratoire communautaire de référence ou des laboratoires de référence de l'OIE pour la peste équine.

1. TEST ELISA DE COMPÉTITION POUR DÉTECTER LA PRÉSENCE LA PRÉSENCE D'ANTICORPS VIRUS DE LA PESTE ÉQUINE (VPE) (TEST OBLIGATOIRE)

Le test ELISA de compétition est utilisé pour détecter la présence d'anticorps spécifiques contre le virus de la peste équine dans les sérums de toute espèce d'équidés. L'antisérum de cobaye contre le VPE, ci-après dénommé «antisérum de cobaye», est un antisérum à large spectre, polyclonal et immun; il est spécifique du sérogroupe PE et permet de détecter tous les sérotypes connus du virus de cette maladie.

Le principe du test est une diminution de la réaction entre l'antigène du VPE et un antisérum de cobaye par un échantillon de sérum à tester. Les anticorps du VPE dans l'échantillon de sérum à tester seront en compétition avec ceux de l'antisérum de cobaye, ce qui entraînera une réduction de la couleur attendue (après ajout d'un anticorps anticobaye marqué par un enzyme et du substrat). Les sérums peuvent être testés à une seule dilution de 1/5 (méthode du test ponctuel) ou être titrés (méthode de titrage du sérum), pour donner les points terminaux de dilution. Des valeurs d'inhibition supérieures à 50 % peuvent être considérées comme positives.

Le protocole du test décrit ci-dessous est utilisé par le laboratoire régional de référence pour la peste équine de Pirbright, Royaume-Uni.

1.1. **Description du test**

1.1.1. *Préparation des plaques*

1.1.1.1. Déposer sur des plaques ELISA de l'antigène du VPE extrait de cultures de cellules infectées, dilué dans un tampon carbonate-bicarbonate de pH 9,6. Incuber les plaques ELISA pendant une nuit à 4 °C.

1.1.1.2. Laver les plaques trois fois par rinçage et vider les puits avec une solution saline tamponnée au phosphate (SSTP) de pH 7,2-7,4, puis sécher au buvard.

1.1.2. *Puits de contrôle*

1.1.2.1. Titrer les sérums de contrôle positifs dans une série de dilutions de 2 en 2, de 1/5 à 1/640, dans la colonne 1, dans un tampon de blocage SSTP contenant 0,05 % (v/v) de Tween-20, 5,0 % (m/v) de lait écrémé en poudre (Cadbury's Marvel™) et 1 % (v/v) de sérum bovin adulte, afin d'obtenir un volume final de 50 µl par puits.

1.1.2.2. Ajouter 50 µl de sérum de contrôle négatif à une dilution de 1/5 (10 µl de sérum + 40 µl de tampon de blocage) aux puits A et B de la colonne 2.

1.1.2.3. Ajouter 100 µl par puits de tampon de blocage aux puits C et D de la colonne 2 (CONTRÔLE À BLANC).

1.1.2.4. Ajouter 50 µl de tampon de blocage aux puits E, F, G et H de la colonne 2 (contrôle sérum de cobaye).

1.1.3. *Méthode du test ponctuel*

1.1.3.1. Ajouter au tampon de blocage une dilution à 1/5 de chaque sérum à tester afin de doubler les puits des colonnes 3 à 12 (sérums de 10 µl + 40 µl de tampon de blocage).

ou

1.1.4. *Méthode de titrage du sérum*

1.1.4.1. Préparer une série de dilutions de 2 en 2 de chaque échantillon à tester (de 1/5 à 1/640) dans un tampon de blocage dans huit puits de chacune des colonnes 3 à 12.

▼M6

ensuite

1.1.5. Ajouter 50 µl d'antisérum de cobaye, préalablement dilué dans le tampon de blocage, à l'ensemble des puits, excepté les puits DE CONTRÔLE À BLANC de la plaque ELISA (tous les puits contiennent à présent un volume final de 100 µl).

1.1.5.1. Incuber pendant 1 heure à 37 °C dans un agitateur rotatif.

1.1.5.2. Laver les plaques trois fois et sécher comme précédemment.

1.1.5.3. Ajouter à chaque puits 50 µl de sérum de lapin anticobaye conjugué à de la peroxydase de raifort, préalablement dilué dans un tampon de blocage.

1.1.5.4. Incuber pendant 1 heure à 37 °C dans un agitateur rotatif.

1.1.5.5. Laver les plaques trois fois et sécher comme précédemment.

1.1.6. *Chromogène*

Préparer la solution chromogène (OPD = orthophényldiamine) selon les instructions du fabricant (0,4 mg/ml dans de l'eau distillée stérile) juste avant de l'utiliser. Ajouter un substrat (peroxyde d'hydrogène = $H_2O_2$), afin d'obtenir une concentration finale de 0,05 % (v/v) (1/2000 d'une solution à 30 % de $H_2O_2$). Ajouter 50 µl de la solution OPD à chaque puits et laisser les plaques sur la paillasse pendant 10 minutes à température ambiante. Stopper la réaction en ajoutant 50 µl par puits d'acide sulfurique 1M ($H_2SO_4$).

1.1.7. *Lecture*

Lecture par spectrophotométrie à 492 nm.

1.2. **Expression des résultats**

1.2.1. À l'aide éventuelle d'un logiciel, déterminer les valeurs de densité optique (DO) et le pourcentage d'inhibition (PI) des sérums à tester et des sérums de contrôle, sur la base de la valeur moyenne enregistrée dans les quatre puits contenant les sérums-contrôles de cobaye. Les valeurs DO et PI sont utilisées pour déterminer si le test a été exécuté dans les limites acceptables. Les limites supérieures et inférieures des sérums-contrôles de cobaye se situent respectivement entre les valeurs 1,4 et 0,4 de DO. Le titre du point terminal du contrôle positif sur la base d'un PI de 50 % devrait être de 1/240 (entre 1/120 à 1/480). Toute plaque non conforme aux critères précités doit être rejetée. Toutefois, si le titre du sérum de contrôle positif est supérieur à 1/480 et que les échantillons testés sont toujours négatifs, les échantillons réputés négatifs peuvent être acceptés.

Les puits de sérum de contrôle négatif dédoublés et les puits de contrôle à blanc dédoublés devraient présenter des valeurs PI comprises respectivement entre + 25 % et – 25 % et entre + 95 % et + 105 %. Le non-respect de ces limites n'a pas pour effet d'invalider les résultats de la plaque, mais il laisse supposer la formation d'une couleur de bruit de fond.

1.2.2. Le seuil de diagnostic (valeur limite) pour les sérums testés est de 50 % (PI 50 %). Les échantillons donnant des valeurs PI supérieures à 50 % sont considérés comme positifs. Les échantillons donnant des valeurs PI inférieures à 50 % sont considérés comme négatifs.

Les échantillons qui présentent des valeurs PI supérieures ou inférieures au seuil pour les puits dédoublés sont considérés comme douteux. Ces échantillons peuvent être retestés par test ponctuel ou par titrage. Les échantillons positifs peuvent également être titrés afin de fournir une indication du degré de positivité.

▼**M6**

Analyse ponctuelle

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | C + | | Sérums testés | | | | | | | | | |
| 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 | à blanc | | | | | | | | | | |
| D | 1:40 | à blanc | | | | | | | | | | |
| 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 – = contrôle négatif.
C + = contrôle positif.
CC = contrôle de cobaye.

Titrage du sérum

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | C + | | Sérums testés | | | | | | | | | |
| A | 1:5 | C – | 1:5 | | | | | | | | | 1:5 |
| B | 1:10 | C – | 1:10 | | | | | | | | | 1:10 |
| C | 1:20 | à blanc | 1:20 | | | | | | | | | 1:20 |
| D | 1:40 | à blanc | 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 – = contrôle négatif.
C + = contrôle positif.
CC = contrôle de cobaye.

2. TEST ELISA INDIRECT POUR DÉTECTER LA PRÉSENCE D'ANTICORPS DIRIGÉS CONTRE LE VIRUS DE LA PESTE ÉQUINE (VPE) (TEST OBLIGATOIRE)

Le test décrit ci-après est conforme à la description du chapitre 2.1.11 du manuel des normes pour les tests de diagnostic et les vaccins de l'OIE, quatrième édition, 2000.

La protéine recombinante VP7 a été utilisée comme antigène pour détecter la présence d'anticorps dirigés contre le virus de la peste équine; la méthode est très sensible et très spécifique. Cette protéine présente également l'avantage d'être stable et non infectieuse.

2.1. **Description du test**

2.1.1. *Phase solide*

2.1.1.1. Des plaques ELISA sont sensibilisées avec la protéine recombinante VP7 du VPE de sérotype 4, diluée dans du tampon carbonate/bicarbonate de pH 9,6. Incuber les plaques pendant une nuit à 4 °C.

2.1.1.2. Rincer les plaques 5 fois avec de l'eau distillée contenant 0,01 % (v/v) de Tween-20 (solution de lavage). Secouer

▼M6

doucement les plaques sur un matériel absorbant pour enlever toute trace de rinçage.

2.1.1.3. Saturer les plaques avec une SSTP + 5 % (m/v) de lait écrémé en poudre (lait Nestlé$^{TM}$), à raison de 200 µl par puits pendant 1 heure à 37 °C.

2.1.1.4. Enlever la solution de saturation et secouer doucement les plaques sur un matériel absorbant.

2.1.2. *Échantillons*

2.1.2.1. Les sérums à tester et les sérums positif et négatif de contrôle sont dilués au 1/25 dans une SSTP + 5 % (m/v) de lait écrémé + 0,05 % (v/v) de Tween-20; ils sont ensuite déposés à raison de 100 µl par puits. Incuber pendant 1 heure à 37 °C.

Pour le titrage, réaliser des séries de dilution de 2 en 2 à partir du 1/25$^{e}$ (100 µl/puits), en utilisant une colonne de la plaque par sérum; réaliser la même chose avec les contrôles positif et négatif. Incuber pendant 1 heure à 37 °C.

2.1.2.2. Rincer les plaques comme décrit à l'étape 2.1.1.2.

2.1.3. *Conjugué*

2.1.3.1. Déposer 100 µl/puits des anticorps anti-cheval conjugués à la peroxydase de raifort; ces anticorps sont dilués dans une SSTP + 5 % de lait écrémé + 0,05 % de Tween-20 de pH 7,2. Incuber pendant 1 heure à 37 °C.

2.1.3.2. Rincer les plaques comme décrit à l'étape 2.1.1.2.

2.1.4. *Chromogène/substrat*

2.1.4.1. Ajouter 200 µl/puits de la solution de chromogène/substrat [10 ml de 80,6 mM de DMAB (diméthylaminobenzaldéhyde) + 10 ml de 1,56 mM de MBTH (3-méthyl-2-benzothiazoline d'hydrochlorure d'hydrazone) + 5 µl de $H_2O_2$].

Bloquer après environ 5 à 10 minutes (avant que le contrôle négatif ne commence à se colorer) la réaction colorimétrique en ajoutant 50 µl de $H_2SO_4$ 3N.

D'autres chromogènes tels que le ABTS (2,2′-azino-bis-[3-éthylbenzothiazoline-6-acide sulphonique), le TMB (tétraméthyle de benzidine) ou l'OPD (ortho-phényldiamine) peuvent aussi être utilisés.

2.1.4.2. Lire la plaque à 600 nm (ou 620 nm).

2.2. **Interprétation des résultats**

2.2.1. Calculer la valeur du seuil par addition de 0,6 à la valeur du contrôle négatif (0,6 est l'écart type calculé à partir d'un groupe de 30 sérums négatifs).

2.2.2. Les échantillons testés donnant une valeur d'absorbance inférieure au seuil sont considérés comme négatifs.

2.2.3. Les échantillons testés donnant une valeur d'absorbance plus grande que le seuil + 0,15 sont considérés comme positifs.

2.2.4. Les échantillons testés donnant une valeur d'absorbance intermédiaire sont douteux et une deuxième technique doit être employée pour confirmer le résultat.

3. TEST ELISA BLOQUANT VISANT À DÉTECTER LA PRÉSENCE D'ANTICORPS DIRIGÉS CONTRE LE VIRUS DE LA PESTE ÉQUINE (VPE) (TEST OBLIGATOIRE)

Le test ELISA bloquant est destiné à déceler la présence d'anticorps spécifiques contre le virus de la peste équine dans les sérums de toute espèce sensible. La VP7 constitue la protéine antigénique principale du VPE; elle est présente dans les 9 sérotypes. Du fait que l'anticorps monoclonal est également dirigé contre la protéine VP7, le test sera très sensible et très spécifique. En outre, l'antigène recombinant VP7 est totalement inoffensif et très sûr.

Le principe du test est la diminution de la réaction entre la protéine recombinante VP7, en tant qu'antigène lié à la plaque ELISA, et l'anticorps mono-

▼M6

clonal conjugué, spécifique de la protéine VP7. Les anticorps dans les sérums à tester bloqueront la réaction entre l'antigène et l'anticorps monoclonal, ce qui entraînera une réduction de la couleur.

Le test décrit ci-dessous est utilisé par le laboratoire communautaire de référence pour la peste équine de Algete, Espagne.

3.1. **Description du test**

3.1.1. *Plaques ELISA*

3.1.1.1. Déposer sur des plaques ELISA de l'antigène du VPE de sérotype 4 avec la protéine recombinante VP7, diluée dans un tampon carbonate/bicarbonate de pH 9,6, et incuber pendant une nuit à 4 °C.

3.1.1.2. Laver les plaques 5 fois avec une solution saline tamponnée au phosphate (SSTP) contenant 0,05 % (v/v) de Tween-20.

3.1.1.3. Stabiliser la plaque par traitement à l'aide d'une solution de stabilisation (pour permettre un stockage à long terme à 4 °C sans perte d'activité) et sécher au buvard.

3.1.2. *Échantillons et contrôles*

3.1.2.1. Criblage: Diluer les sérums à tester et les contrôles dans la proportion de 1 à 10 directement sur la plaque dans la SSTP afin d'obtenir un volume final de 100 µl par puits. Incuber pendant 1 heure à 37 °C.

3.1.2.2. Titrage: Préparer une série de dilutions de 2 en 2 de sérums à tester et de contrôles positifs (100 µl par puits) de 1/10 à 1/1280 à déposer dans huit puits. Le contrôle négatif est testé à une dilution de 1/10.

3.1.3. *Conjugué*

Ajouter 50 µl d'anticorps monoclonal préalablement dilué (anticorps monoclonal conjugué avec la peroxydase du raifort) dans chaque puits et mélanger doucement afin de garantir l'homogénéité. Incuber pendant 30 minutes à 37 °C.

3.1.4. Laver les plaques 5 fois à l'aide de SSTP et sécher au buvard comme décrit ci-dessus.

3.1.5. *Chromogène/substrat*

Ajouter 100 µl par puits de la solution suivante de chromogène/substrat: 1 ml de ABTS (2,2-azino-bis-[3-éthylbenzothiazoline-6-acide sulphonique]) à 5 mg/ml + 9 ml de tampon de substrat (0,1M de tampon de phosphate-citrate de pH 4 contenant 0,03 % de $H_2O_2$), puis incuber pendant 10 minutes à température ambiante. Le développement de la couleur est arrêté par l'addition de 100 µl par puits de SDS (sulfate de sodium dodécyl) à 2 % (m/v).

3.1.6. *Lecture*

Lire à 405 nm dans un lecteur ELISA.

3.2. **Interprétation des résultats**

3.2.1. *Validité du test*

Le test est valable lorsque la densité optique (DO) du contrôle négatif (CN) est supérieure à 1,0 et que la DO du contrôle positif (CP) est inférieure à 0,2.

3.2.2. *Calcul des limites*

$$\text{Limite positive} = CN - ((CN - CP) \tilde{n} 0,3)$$

$$\text{Limite négative} = CN - ((CN - CP) \tilde{n} 0,2)$$

CN est la DO du contrôle négatif et CP est la DO du contrôle positif.

▼**M6**

3.2.3. *Interprétation des résultats*

Dans la recherche d'anticorps contre le VPE, les échantillons présentant des DO inférieures à la limite positive doivent être considérés comme positifs.

Dans la recherche d'anticorps contre le VPE, les échantillons présentant des DO supérieures à la limite positive doivent être considérés comme négatifs.

Les échantillons présentant des DO comprises entre ces deux valeurs doivent être considérés comme douteux et des échantillons doivent être prélevés de nouveau sur les animaux après 2 à 3 semaines.