Den här texten är endast avsedd som ett dokumentationshjälpmedel och har ingen rättslig verkan. EU-institutionerna tar inget ansvar för innehållet. De autentiska versionerna av motsvarande rättsakter, inklusive ingresserna, publiceras i Europeiska unionens officiella tidning och finns i EUR-Lex. De officiella texterna är direkt tillgängliga via länkarna i det här dokumentet

►B

RÅDETS DIREKTIV 2009/156/EG

av den 30 november 2009

om djurhälsovillkor vid förflyttning och import av hästdjur från tredjeland

(kodifierad version)

(Text av betydelse för EES)

(EUT L 192, 23.7.2010, s. 1)

Ändrad genom:

		Officiella tidningen		
		nr	sida	datum
►M1	Rådets direktiv 2013/20/EU av den 13 maj 2013	L 158	234	10.6.2013
►M2	Kommissionens genomförandebeslut (EU) 2016/1840 av den 14 oktober 2016	L 280	33	18.10.2016

▼B

RÅDETS DIREKTIV 2009/156/EG

av den 30 november 2009

om djurhälsovillkor vid förflyttning och import av hästdjur från tredjeland

(kodifierad version)

(Text av betydelse för EES)

KAPITEL I

ALLMÄNNA BESTÄMMELSER

Artikel 1

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

Artikel 2

I detta direktiv gäller följande definitioner:

a) anläggning: en jordbruks- eller träningsanläggning, ett stall eller allmänt uttryckt varje lokal eller inrättning där hästdjur brukar hållas eller födas upp, oavsett ändamålet med verksamheten.

b) hästdjur: vilda eller tama djur tillhörande häst- (däribland zebror) eller åsnearterna eller avkomma genom korsningar av dessa arter.

c) registrerade hästdjur: varje hästdjur som registrerats enligt rådets direktiv 90/427/EEG av den 26 juni 1990 om avelsmässiga och genealogiska villkor för handeln med hästdjur inom gemenskapen ([1]), identifierats genom ett identifieringsdokument som utfärdats av

   i) avelsmyndigheten eller någon annan behörig myndighet inom det land som djuret härrör ifrån och som för stambok eller register över den ifrågavarande rasen, eller

   ii) någon internationell sammanslutning eller organisation som har överinseendet över hästar avsedda för tävling eller kapplöpning.

d) hästdjur för slakt: hästdjur avsedda att föras till slakt antingen direkt eller via en godkänd uppsamlingsplats för slaktdjur som avses i artikel 7.

e) hästdjur för avel och produktion: andra hästdjur än de som nämns under c och d.

f) medlemsstat eller tredjeland som är fritt från afrikansk hästpest: varje medlemsstat eller tredjeland inom vars territorium det inte har konstaterats några kliniska, serologiska (hos ovaccinerade hästdjur) eller epidemiologiska tecken på afrikansk hästpest under de närmast föregående två åren och i vilka det inte har företagits några vaccinationer mot den sjukdomen under de närmast föregående 12 månaderna.

([1]) EGT L 224, 18.8.1990, s. 55.

▼B

g) anmälningspliktiga sjukdomar: sjukdomar som uppförts på förteckningen i bilaga I.

h) officiell veterinär: veterinär som förordnats av en medlemsstats eller ett tredjelands behöriga centrala myndighet.

i) tillfälligt tillstånd: status som tilldelats ett registrerat hästdjur som härrör från ett tredjeland och som fått föras in till gemenskapens territorium under en kortare period än 90 dagar vilken ska fastställas med hänsyn till hälsoläget i ursprungslandet enligt det förfarande som avses i artikel 21.2.

KAPITEL II

REGLER FÖR FÖRFLYTTNING AV HÄSTDJUR MELLAN MEDLEMSSTATERNA

Artikel 3

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

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

— rids eller leds i samband med sport- eller rekreationsändamål utmed vägar som är belägna nära gemenskapens inre gränser,

— deltar i kulturella eller liknande tillställningar eller i aktiviteter som organiserats av lokala organ med särskilt tillstånd och som är belägna nära gemenskapens inre gränser,

— enbart är avsedda att tillfälligt släppas ut på bete eller arbeta nära gemenskapens inre gränser.

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

Artikel 4

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

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

▼B

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

4. Hästdjuren måste identifieras

a) i fråga om registrerade hästdjur genom ett identifieringsdokument som avses i direktiv 90/427/EEG; detta måste särskilt intyga att bestämmelserna i punkterna 5 och 6 i denna artikel och artikel 5 i detta direktiv har följts.

Den officiella veterinären ska upphäva giltigheten av identifieringsdokumentet under den tid de förbud är i kraft som avses under punkt 5 i denna artikel eller i artikel 5 i detta direktiv. Dokumentet ska, efter det att den registrerade hästen slaktats, sändas tillbaka till den myndighet som utfärdat det. Vid tillämpningen av denna punkt ska det förfarande följas som avses i artikel 21.2,

b) i fråga om hästdjur som är avsedda för avel eller produktion genom en metod som fastställs i enlighet med det förfarande som avses i artikel 21.2.

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

a) Om alla djur av de slag som är mottagliga för den sjukdom som förekommer inom anläggningen inte har slaktats ska förbudstiden i fråga om ursprungsbesättningen utsträckas till minst

i) sex månader i fråga om hästdjur som misstänks ha ådragit sig beskällarsjuka (dourine), räknat från dagen för den senaste konstaterade eller möjliga kontakten med ett sjukt djur. Om det gäller en hingst ska förbudet dock gälla till dess att djuret kastrerats,

ii) sex månader i fråga om rots eller hästencefalomyelit, räknat från den dag när de berörda djuren slaktas,

iii) i fråga om infektiös anemi till den dag, sedan de infekterade djuren slaktats, de återstående djuren har uppvisat negativ reaktion på två Cogginstest som utförts med tre månaders mellanrum,

iv) sex månader räknat från det senast konstaterade fallet i fråga om vesikulär stomatit,

v) en månad räknat från det senast konstaterade fallet i fråga om rabies,

vi) 15 dagar räknat från det senast konstaterade fallet i fråga om mjältbrand.

▼B

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

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

6. ►M1 När en medlemsstat utarbetar eller har utarbetat ett frivilligt eller obligatoriskt bekämpningsprogram för en sjukdom som hästdjur är mottagliga för, får den lägga fram programmet för kommissionen, inom sex månader från och med den 4 juli 1990 för Belgien, Danmark, Tyskland, Irland, Grekland, Spanien, Frankrike, Italien, Luxemburg, Nederländerna, Portugal och Förenade kungariket, från och med den 1 januari 1995 för Österrike, Finland och Sverige, från och med den 1 maj 2004 för Tjeckien, Estland, Cypern, Lettland, Litauen, Ungern, Malta, Polen, Slovenien och Slovakien, från och med den 1 januari 2007 för Bulgarien och Rumänien och från och med den 1 juli 2013 för Kroatien, varvid särskilt ska framgå ◄

a) sjukdomens utbredning inom territoriet,

b) skälen för programmet, med hänsyn till sjukdomens betydelse och kostnaderna i relation till vad som står att vinna,

c) vilket geografiskt område som berörs av programmet,

d) vilka statuskategorier som ska tillämpas på inrättningar, vilka normer som måste uppnås för varje djurart och vilka undersökningsmetoder som avses komma till användning,

e) hur programmet övervakas,

f) vilka åtgärder som vidtas om en anläggning av någon anledning skulle förlora sin sjukdomsfria status,

g) vilka åtgärder som ska vidtas vid positivt utfall av de undersökningar som utförs inom ramen för programmet,

h) att handeln inom medlemsstatens territorium är fri från diskriminerande inslag med hänsyn till handeln inom gemenskapen.

Kommissionen ska undersöka de program som redovisas av medlemsstaterna. När så är lämpligt ska den godkänna dem i enlighet med det förfarande som avses i artikel 21.2. Alla ytterligare garantier, allmänna eller specifika, som kan krävas för handeln inom gemenskapen får fastställas i enlighet med samma förfarande. Sådana garantier får inte ges större omfattning än de som medlemsstaten kräver inom sitt eget territorium.

▼B

De program som överlämnats av medlemsstaterna får ändras eller kompletteras i enlighet med det förfarande som avses i artikel 21.3. Ändringar eller tillägg till de program som redan har godkänts eller till garantier som har fastställs i enlighet med andra stycket får godkännas i enlighet med samma förfarande.

Artikel 5

1. En medlemsstat som inte är fri från afrikansk hästpest får endast sända hästdjur från den del av sitt territorium som anses smittad enligt punkt 2 i denna artikel på de villkor som anges i punkt 5.

2. En del av en medlemsstats territorium ska anses smittad med afrikansk hästpest om

a) kliniska, serologiska (hos ovaccinerade djur) eller epidemiologiska undersökningar har påvisat förekomsten av afrikansk hästpest under de senaste två åren, eller

b) vaccination mot afrikansk hästpest har utförts under de senaste 12 månaderna.

Den del av territoriet som anses smittad med afrikansk hästpest ska minst omfatta

a) en skyddszon med en radie av minst 100 km kring varje plats där smittan finns,

b) en övervakningszon där ingen vaccinering ägt rum under de senaste 12 månaderna och som sträcker sig minst 50 km utanför skyddszonen.

3. Kontrollregler och åtgärder för bekämpning av afrikansk hästpest inom de territorier och områden som avses i punkt 2 med tillhörande undantag specificeras i rådets direktiv 92/35/EEG av den 29 april 1992 om kontrollregler och åtgärder för bekämpning av afrikansk hästpest ([1]).

4. Alla vaccinerade hästdjur som påträffas inom skyddszonen måste registreras och märkas i enlighet med artikel 6.1 d i direktiv 92/35/EEG.

Identifieringshandlingen eller hälsointyget ska tydligt hänvisa till en sådan vaccination.

5. En medlemsstat får från det område som anges i punkt 2 andra stycket endast sända hästdjur som uppfyller följande krav:

a) Med hänsyn till smittspridande insekters verksamhet får hästarna endast sändas under vissa tider på året, vilka ska fastställas i enlighet med det förfarande som avses i artikel 21.3.

b) De får inte visa några kliniska symtom på afrikansk hästpest vid tidpunkten för den undersökning som avses i artikel 4.1.

([1]) EGT L 157, 10.6.1992, s. 19.

▼B

c) De måste ha genomgått ett test för afrikansk hästpest enligt beskrivningen i bilaga IV, vilket ska ha utförts vid två tillfällen med 21–30 dagars intervall, varvid det andra testet ska ha utförts under de tio dagarna närmast före avsändningen antingen

i) med negativa resultat om de inte har vaccinerats mot afrikansk hästpest, eller

ii) utan att en ökning av antalet antikroppar har noterats och utan att ha genomgått vaccinering under de två närmast föregående månaderna om de har vaccinerats mot afrikansk hästpest.

Enligt det förfarande som avses i artikel 21.2 får efter Europeiska myndigheten för livsmedelssäkerhets yttrande andra övervakningsmetoder godtas.

d) De ska ha hållits på karantänsstation under en tid av minst 40 dagar före avsändningen.

e) De ska ha skyddats från smittspridande insekter under tiden i karantän och under transporten från karantänsstationen till avsändningsorten.

Artikel 6

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

De ska underrätta kommissionen om detta.

Artikel 7

1. Hästdjur måste transporteras så snart som möjligt från ursprungsanläggningen till destinationsstället, antingen direkt eller via en godkänd uppsamlingsplats enligt definitionen i artikel 2.2 o i rådets direktiv 64/432/EEG av den 26 juni 1964 om djurhälsoproblem som påverkar handeln med nötkreatur och svin inom gemenskapen ([1]), i fordon eller containrar som regelbundet rengörs och desinficeras med ett desinfektionsmedel med de tidsmellanrum som bestäms av den medlemsstat från vilken djuren avsänds. Transportfordonen måste vara inrättade på ett sådant sätt att hästdjurens spillning, strö eller foder inte sprids ut från fordonet under transporten. Utan att det påverkar tillämpningen av förordning (EG) nr 1/2005 måste transporten ske under sådana former att hästdjurens hälsa och välmåga kan skyddas på ett effektivt sätt.

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

([1]) EGT 121, 29.7.1964, s. 1977.

▼B

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

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

Artikel 8

1. Medlemsstaterna ska se till att

a) registrerade hästdjur som lämnar sina anläggningar åtföljs av det identitetsdokument som anges i artikel 4.4 a och, om de är avsedda för handel inom gemenskapen, även utlåtande om hälsotillstånd som avses i bilaga II,

b) hästdjur som är avsedda för avel, produktion eller slakt under transporten åtföljs av ett hälsointyg som står i överensstämmelse med bilaga III.

2. Hälsointyget, eller, i fråga om registrerade hästdjur, utlåtandet om hälsotillstånd måste, utan att det påverkar tillämpningen av artikel 6, utfärdas inom 48 timmar före inlastningen eller senast den sista arbetsdagen före inlastningen, på minst ett av de officiella språken i den medlemsstat från vilken de avsänts och den medlemsstat till vilken de är destinerade. Hälsointyget eller utlåtandet om hälsotillstånd ska gälla i 10 dagar. Det får inte uppta mer än ett ark.

3. Vid förflyttning mellan medlemsstaterna av andra hästdjur än sådana som är registrerade får de individuella hälsointyg som avses i punkt 1 b ersättas av ett enda hälsointyg per sändning.

Artikel 9

De regler som fastställs i direktiv 90/425/EEG ska särskilt gälla för kontroller vid ursprungsorten, för organisering och uppföljning av de kontroller som ska utföras av den mottagande medlemsstaten och för de skyddsåtgärder som ska verkställas.

Artikel 10

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

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

▼B

Allmänna åtgärder för att tillämpa denna artikel ska antas i enlighet med det förfarande som avses i artikel 21.2.

KAPITEL III

REGLER FÖR IMPORT AV HÄSTDJUR FRÅN TREDJELAND

Artikel 11

Hästdjur som importeras till gemenskapen måste uppfylla de villkor som fastställs i artiklarna 12–16.

Artikel 12

1. Import till gemenskapen av hästdjur ska endast tillåtas från de tredjeländer som upptas i en förteckning som ska upprättas eller ändras i enlighet med det förfarande som avses i artikel 21.2.

Med beaktande av hälsosituationen i tredjelandet och de garantier som lämnas av detta land beträffande hästdjur får det i enlighet med det förfarande som avses i artikel 21.2 beslutas att det tillstånd som föreskrivs i första stycket i denna punkt ska tillämpas på hela eller delar av det tredjelandet.

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

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

a) Hälsostatus för hästdjur samt för andra tamdjur och vilda djur i tredjelandet, med särskilt beaktande av exotiska djursjukdomar och alla sådana aspekter av den allmänna hälso- och miljösituationen i tredjelandet som skulle kunna innebära en risk för folkhälsan och miljön i gemenskapen.

b) Tredjelandets lagstiftning på området för djurs hälsa och välbefinnande.

c) Organisationen av den behöriga veterinärmyndigheten och dess inspektörer, deras befogenheter, övervakningen av dem samt de medel som står till deras förfogande, inklusive personal och laboratorier, för att de ska kunna tillämpa den nationella lagstiftningen på ett effektivt sätt.

d) De garantier som den behöriga veterinärmyndigheten i tredjelandet kan ge för att gemenskapens djurhälsovillkor eller likvärdiga villkor tillämpas.

▼B

e) Huruvida tredjelandet är medlem i Världsorganisationen för djurens hälsa (OIE) samt om informationen från landet om infektiösa eller smittsamma hästdjurssjukdomar på dess territorium, särskilt sjukdomar som återfinns på OIE:s förteckning och i bilaga I till detta direktiv, tillhandahålls regelbundet och snabbt.

f) De garantier som tredjelandet ger för att direkt information ska kunna ges till kommissionen och medlemsstaterna

i) inom 24 timmar dels om förekomst av infektiösa hästdjurssjukdomar som förtecknas i bilaga I har bekräftats, dels om förändringar i vaccinationsprogrammet för sådana sjukdomar,

ii) inom en rimlig tidsperiod om varje förslag till förändring av de nationella hygienbestämmelserna rörande hästdjur, särskilt avseende import av hästdjur,

iii) regelbundet om djurhälsostatus på dess territorium beträffande hästdjur.

g) Erfarenheter från tidigare import av levande hästdjur från tredjelandet och resultaten av de införselkontroller som genomförts.

h) Resultat av gemenskapens inspektioner och/eller revisioner i tredjelandet, särskilt resultaten från bedömningen av de behöriga myndigheterna eller, när kommissionen så fordrar, av de behöriga myndigheternas rapport om de inspektioner som dessa har utfört.

i) Det berörda tredjelandets regler om förebyggande och bekämpning av infektiösa eller smittsamma djursjukdomar, bland annat reglerna för import av hästdjur från andra tredjeländer, samt tillämpningen av dessa regler.

3. Kommissionen ska ombesörja att uppdaterade versioner av förteckningen som upprättats eller ändrats i enlighet med punkt 1 görs tillgängliga för allmänheten.

Förteckningen kan kombineras med andra förteckningar för djur- och folkhälsoändamål och kan även omfatta förlagor för hälsointyg.

4. Särskilda importbestämmelser för varje tredjeland eller grupp av tredjeländer, med beaktande av djurhälsosituationen beträffande hästdjur i det tredjeland eller de tredjeländer som berörs, ska fastställas i enlighet med förfarandet i artikel 21.2.

5. Närmare bestämmelser för tillämpningen av punkterna 1–4 och kriterier för vilka tredjeländer eller delar av tredjeländer som ska införas i förteckningen enligt punkt 1 får antas i enlighet med det förfarande som avses i artikel 21.2.

Artikel 13

1. Hästdjuren måste härröra från tredjeland som

a) är fritt från afrikansk hästpest,

b) i minst två år har varit fritt från venezuelansk hästencefalomyelit (VEE),

c) i sex månader har varit fritt från beskällarsjuka (dourine) och rots.

▼B

2. I enlighet med det förfarande som avses i artikel 21.2 får det beslutas

a) att bestämmelserna i punkt 1 i denna artikel ska gälla för endast en del av det tredjelandets territorium.

När de krav som uppställts för afrikansk hästpest är begränsade till en region måste minst de villkor uppfyllas som anges i artiklarna 5.2 och 5.5.

b) att kräva ytterligare garantier i fråga om sjukdomar som är främmande för gemenskapen.

Artikel 14

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

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

Artikel 15

Import av hästdjur från ett tredjelands territorium eller någon del därav som definierats enligt artikel 13.2 a och som är uppförd på den förteckning som upprättats i enlighet med artikel 12.1 ska inte medges annat än om hästdjuren utöver kraven i artikel 13 uppfyller

a) de djurhälsovillkor som antagits med hänsyn till de berörda arterna, kategorierna av hästdjur, i enlighet med det förfarande som avses i 21.2 för import av hästdjur från det landet.

Till grund för fastställandet av dessa djurhälsovillkor krav ska ligga de normer som anges i artiklarna 4 och 5, och

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

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

ii) I fråga om virusarterit måste hästdjur av hankön, oavsett vad som sägs i artikel 19 b, ha uppvisat negativ reaktion vid ett serologiskt prov eller vid ett virusisoleringsprov eller vid något annat prov som är erkänt i enlighet med det förfarande som avses i artikel 21.2 och som skulle garantera frihet från viruset.

▼B

I enlighet med det förfarande som avses i artikel 21.2 och efter yttrande från Europeiska myndigheten för livsmedelssäkerhet får de kategorier hästdjur av hankön som ska omfattas av detta krav definieras.

Artikel 16

1. Hästdjuren måste identifieras i enlighet med artikel 4.4 och åtföljas av ett hälsointyg som utfärdats av en officiell veterinär från det exporterande tredjelandet. Detta intyg måste

a) ha utfärdats samma dag som djuren lastats för export till den medlemsstat till vilken de är destinerade eller, i fråga om registrerade hästar, sista vardagen före inlastningen,

b) ha avfattats på minst ett av de officiella språken i de medlemsstater till vilka djuren är destinerade och på ett av de officiella språken i den medlemsstat där importbesiktningen företas,

c) åtfölja djuren i original,

d) styrka att djuren uppfyller kraven i detta direktiv liksom de krav som fastställs genom detta direktiv vad gäller införsel från tredjeland,

e) bestå av ett enda ark,

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

Medlemsstaterna ska underrätta kommissionen om de använder sig av denna valmöjlighet.

2. Hälsointyget måste utfärdas på ett formulär som överensstämmer med en förlaga som utarbetats i enlighet med det förfarande som avses i artikel 21.2.

Artikel 17

1. Omedelbart efter ankomsten till den medlemsstat till vilken djuren är destinerade ska hästdjur som är avsedda för slakt föras till ett slakteri, antingen direkt eller via en godkänd uppsamlingsplats som avses i artikel 7 och i överensstämmelse med djurhälsokrav slaktas inom en tidsfrist som specificerats i de beslut som ska antas enligt artikel 15.

2. Utan att det påverkar tillämpningen av de eventuella särskilda villkor som kan ha uppställts enligt det förfarande som avses i artikel 21.2 får den behöriga myndigheten i den medlemsstat till vilken djuren är destinerade, av hänsyn till djurhälsan, anvisa det slakteri till vilket hästdjuren ska föras.

Artikel 18

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

▼B

Om de kontroller som utförts i enlighet med de villkor som anges i denna artikel föranleder allvarliga anmärkningar mot en godkänd anläggning ska kommissionen omedelbart underrätta medlemsstaterna och genast besluta om tillfällig indragning av tillståndet. Det definitiva beslutet ska tas i enlighet med det förfarande som avses i artikel 21.3.

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

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

Hur ofta dessa kontroller ska utföras och enligt vilket förfarande ska bestämmas i enlighet med det förfarande som avses i artikel 21.2.

Artikel 19

I enlighet med det förfarande som avses i artikel 21.2

a) får det beslutas att import från tredjeland eller del av tredjeland ska begränsas till vissa arter eller kategorier av hästdjur,

b) ska, utan hinder av vad som sägs i artikel 15, föreskrivas särskilda villkor för att utfärda tillstånd till införsel av registrerade hästdjur eller hästdjur som är avsedda för speciella ändamål under en begränsad tidsperiod eller för att de ska få återinföras till gemenskapens territorium efter att tillfälligt ha förts ut,

c) ska villkoren för att omvandla ett tillfälligt införseltillstånd till ett permanent sådant fastställas,

d) får ett referenslaboratorium för gemenskapen för en eller flera av de hästdjurssjukdomar som anges i bilaga I utses och funktionerna, uppgifterna och förfarandena för samarbetet med de laboratorier som ansvarar för diagnostiken av hästdjurs infektionssjukdomar i medlemsstaterna ska föreskrivas.

KAPITEL IV

SLUTBESTÄMMELSER

Artikel 20

Bilagorna I–IV ska revideras i enlighet med det förfarande som anges i artikel 21.3.

Artikel 21

1. Kommissionen ska biträdas av ständiga kommittén för livsmedelskedjan och djurhälsa, som inrättats genom artikel 58 i Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 178/2002 av den 28 januari 2002 om allmänna principer och krav för livsmedelslagstiftning, om inrättande av Europeiska myndigheten för livsmedelssäkerhet och om förfaranden i frågor som gäller livsmedelssäkerhet ([1]).

([1]) EGT L 31, 1.2.2002, s. 1.

▼B

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

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

3. När det hänvisas till denna punkt ska artiklarna 5 och 7 i beslut 1999/468/EG tillämpas.

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

Artikel 22

Direktiv 90/426/EEG i dess lydelse enligt rättsakterna som anges i bilaga V, del A, ska upphöra att gälla, utan att det påverkar medlemsstaternas skyldigheter vad gäller tidsfristerna för införlivande med nationell lagstiftning av de direktiv som anges i bilaga V, del B.

Hänvisningar till det upphävda direktivet ska anses som hänvisningar till detta direktiv och ska läsas enligt jämförelsetabellen i bilaga VI.

Artikel 23

Detta direktiv träder i kraft den tjugonde dagen efter det att det har offentliggjorts i *Europeiska unionens officiella tidning*.

Artikel 24

Detta direktiv riktar sig till medlemsstaterna.

▼B

BILAGA I

ANMÄLNINGSPLIKTIGA SJUKDOMAR

Följande sjukdomar omfattas av anmälningsplikt:

— Beskällarsjuka (dourine).

— Rots.

— Hästencefalomyelit (av alla typer, inklusive VEE).

— Infektiös anemi.

— Rabies.

— Mjältbrand.

— Afrikansk hästpest.

— Vesikulär stomatit.

▼B

BILAGA II

FÖRLAGA

UTLÅTANDE OM HÄLSOTILLSTÅND [a]

Pass nr .....

Undertecknad försäkrar [b] att det hästdjur som identifieras ovan uppfyller följande krav:

a) Det har besiktigats denna dag och visar inget kliniskt tecken på sjukdom.

b) Det är inte avsett för slakt inom ramen för något nationellt program för bekämpning av smittsamma eller infektiösa sjukdomar.

c) — Det kommer inte från ett territorium eller en del av ett territorium inom en medlemsstat som omfattas av restriktioner på grund av afrikansk hästpest eller

det kommer från ett territorium eller en del av ett territorium inom en medlemsstat som omfattas av restriktioner av djurhälsoskäl och har vid karantänsstationen ..... mellan ..... och ..... med tillfredsställande resultat genomgått de undersökningar som fastställts i artikel 5.5 i direktiv 2009/156/EG [c].

— det har inte vaccinerats mot afrikansk hästpest, eller

det har vaccinerats mot afrikansk hästpest den ..... [c] [d].

d) Det kommer inte från en anläggning som omfattats av förbud av djurhälsoskäl och har inte heller varit i kontakt med hästdjur från någon anläggning som omfattats av förbud av djurhälsoskäl

— i fråga om hästdjur som misstänks ha angripits av beskällarsjuka (dourine), under sex månader räknat från dagen för den senaste faktiska eller möjliga kontakten med ett sjukt djur varvid dock, om det är fråga om en hingst, förbudet ska gälla till dess att djuret kastrerats,

— i fråga om rots eller hästencefalomyelit, under sex månader räknat från den dag när de hästdjur som led av den ifrågavarande sjukdomen slaktats,

— i fråga om smittsam anemi, fram till den dag då de djur som återstår efter slakten av de smittade djuren har visat negativ reaktion på två Cogginstest utförda med tre månaders mellanrum,

— i fråga om vesikulär stomatit, under sex månader räknat från det senast inträffade fallet,

— i fråga om rabies, under en månad räknat från det senast inträffade fallet,

— i fråga om mjältbrand, under 15 dagar räknat från det senast inträffade fallet,

— om samtliga djur tillhörande en art som är mottaglig för sjukdomen och befinner sig inom anläggningen har slaktats och lokalerna har desinficerats, under 30 dagar, räknat från den dag när djuren destruerades och lokalerna desinficerades, med undantag för mjältbrand, där förbudsperioden är 15 dagar.

---

[a] Detta utlåtande krävs inte när det finns ett bilateralt avtal i enlighet med artikel 6 i direktiv 2009/156/EG.

[b] Gäller i 10 dagar.

[c] Stryk det som inte gäller.

[d] Vaccinationsdatum måste anges i passet.

▼B

e) Under de senaste 15 dagarna före denna försäkran har det såvitt jag vet inte varit i kontakt med hästdjur som lider av någon infektiös eller smittsam sjukdom.

f) Det befann sig vid besiktningen i ett hälsotillstånd som tillät den planerade transporten i enlighet med bestämmelserna i förordning (EG) nr 1/2005 ([a]).

Datum	Ort	Den officiella veterinärens stämpel och namnteckning ([1])

([1]) Namnförtydligande och befattning.

([a]) Detta utlåtande fritar inte transportörerna från deras skyldigheter enligt gemenskapens bestämmelser beträffande i synnerhet hälsotillståndet för djur som ska transporteras.

▼B

BILAGA III

FÖRLAGA

HÄLSOINTYG

för handel mellan medlemsstater

HÄSTDJUR

EUROPEISKA GEMENSKAPEN — **Djurhälsointyg för handel inom gemenskapen**

Del I: Uppgifter om sändningen

I.1. Avsändare Namn Adress Postnr		I.2. Intygets referensnummer	I.2.a. Lokalt referensnummer
		I.3. Central behörig myndighet	
		I.4. Lokal behörig myndighet	
I.5. Mottagare Namn Adress Postnr		I.6. Nr på tillhörande originalintyg Nr på tillhörande dokument	
		I.7.	
I.8. Ursprungsland ISO-kod	I.9. Ursprungsregion Kod	I.10. Bestämmelseland ISO-kod	I.11. Bestämmelseregion Kod
I.12. Ursprungsort Företag ☐ Uppsamlingsplats ☐ Övriga ☐ Namn Godkännande nr Adress Postnr		I.13. Bestämmelseort Företag ☐ Uppsamlingsplats ☐ Anläggning ☐ Övriga ☐ Namn Godkännande nr Adress Postnr	
I.14. Lastningsort Postnr		I.15. Datum och klockslag för avresa	
I.16. Transportmedel Flyg ☐ Fartyg ☐ Järnvägsvagn ☐ Vägtransport ☐ Övriga ☐ Identifikation:		I.17. Transportör Namn Godkännande nr Adress Postnr Medlemsstat	
I.18. Beskrivning av varan		I.19. Varukod (KN)	
		I.20. Antal/Kvantitet	
I.21.		I.22. Antal förpackningar	
I.23. Containernummer/förseglingens nummer		I.24. Typ av förpackning	
I.25. Varorna intygas vara avsedda som/för Avel ☐ Registrerade hästar ☐ Slakt ☐ Övriga ☐			
I.26. Transitering genom tredje land ☐ Tredje land ISO-kod Utförselställe Kod Införselställe Gränskontrollstationens nr		I.27. Transitering genom medlemsstaterna ☐ Medlemsstat ISO-kod Medlemsstat ISO-kod Medlemsstat ISO-kod	
I.28. Export ☐ Tredje land ISO-kod Utförselställe Kod		I.29. Beräknad transporttid	
I.30. Färdplan Ja ☐ Nej ☐			
I.31. Identifiering av varorna Arter (Vetenskapligt namn) System för identitetsmärkning			

▼B

EUROPEISKA GEMENSKAPEN **Registrerade hästdjur, hästdjur för avel och bruksändamål, hästdjur för slakt**

Del II: Intyg

II.a. Intygets referens-nummer	II.b. Lokalt referens-nummer

II. **Hälsoinformation** (1)

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

II.1 Det/de har undersökts denna dag och visar inga kliniska tecken på sjukdom.

II.2 Det/de är inte avsedda för slakt inom ramen för ett nationellt program för bekämpning av någon smittsam eller infektiös sjukdom.

antingen (2) [II.3 Det/de kommer inte från ett territorium eller en del av ett territorium inom en medlemsstat som omfattas av restriktioner på grund av afrikansk hästpest.]

eller (2) [II.3 Det/de kommer från ett territorium eller en del av ett territorium inom en medlemsstat som har ålagts restriktioner på grund av afrikansk hästpest, har i minst 40 dagar före avsändningen vistats på karantänstationen ..... som skyddats från smittspridande insekter och har genomgått ett test för påvisande av antikroppar mot afrikansk hästpestvirus enligt beskrivningen i bilaga IV till direktiv 2009/156/EG som utfördes samtidigt på två blodprover som togs med 21–30 dagars mellanrum den ..... *(datum)* och under de tio dagarna före avsändningen den ..... *(datum)*

antingen (3) [med negativt resultat i varje fall om det/de inte har vaccinerats mot afrikansk hästpest.]

eller (2) [utan ökning av antalet antikroppar om det/de har vaccinerats mot afrikansk hästpest.]

antingen (3) [II.4 Det/de har inte vaccinerats mot afrikansk hästpest.]

eller (2) [II.4 Det/de vaccinerades mot afrikansk hästpest den ..... *(datum)*,

antingen (3) [minst två månader före utfärdandet av intyget.]

eller (2) [minst två månader före införandet i karantänstationen.]

II.5 Det/de kommer inte från en anläggning/anläggningar som var föremål för några förbud av djurhälsoskäl som omfattade minst ett av följande villkor:

antingen (3) [Inte alla djur på anläggningen av de arter som är mottagliga för sjukdomarna i a–g nedan har slaktats och förbudet varade

a) i fråga om hästdjur som misstänks ha ådragit sig beskällarsjuka (dourine)

antingen (2) [i minst sex månader räknat från dagen för den senaste konstaterade eller möjliga kontakten med ett djur som var sjukt i eller smittat med *Trypanosoma equiperdum*,]

eller (2) [i fråga om hingstar till dess att djuret kastrerats,]

b) i fråga om rots i minst sex månader räknat från den dag då de hästdjur som led av sjukdomen eller som uppvisade positivt resultat på ett test för påvisande av den orsakande patogenen *Burkholderia mallei* eller av antikroppar mot patogenen avlivades och destruerades,

c) i fråga om alla typer av hästencefalomyelit i minst sex månader räknat från den dag då de hästdjur som led av sjukdomen slaktades (utom vid infektion med West Nile virus då sex månadersperioden räknas från dagen då de smittade hästdjuren dog) flyttades från anläggningen eller var fullt friska,

▼B

EUROPEISKA GEMENSKAPEN **Registrerade hästdjur, hästdjur för avel och bruksändamål, hästdjur för slakt**

II. **Hälsoinformation** (1)	II.a. Intygets referensnummer	II.b. Lokalt referensnummer

d) i fråga om infektiös anemi till den dag då, efter det att de smittade djuren slaktats, de återstående djuren uppvisade negativ reaktion på Coggins' test som utfördes på två blodprover som togs med tre månaders mellanrum,

e) i fråga om vesikulär stomatit i minst sex månader räknat från det senast inträffade fallet,

f) i fråga om rabies i minst en månad räknat från det senast inträffade fallet,

g) i fråga om mjältbrand i minst 15 dagar räknat från det senast inträffade fallet.]

eller (2) [Efter fall av beskällarsjuka (dourine), rots, alla typer av hästencefalomyelit, infektiös anemi, vesikulär stomatit, mjältbrand eller rabies har samtliga djur av de arter på anläggningen som är mottagliga för sjukdomen i fråga slaktats eller avlivats och förbudstiden varade i 30 dagar, eller i 15 dagar vid mjältbrand, räknat från den dag då desinfektionen av lokalerna efter destruering av djuren avslutades med tillfredsställande resultat.]

II.6 Under de senaste 15 dagarna före denna försäkran har det/de såvitt jag vet inte varit i kontakt med hästdjur som lider av någon infektiös eller smittsam sjukdom.

II.7 Det/de befann sig vid besiktningen i ett hälsotillstånd som tillät den planerade transporten i enlighet med bestämmelserna i förordning (EG) nr 1/2005 (3).

Anmärkningar

Del I

Fält I.6: Ska för hästdjur som förtecknas i Washingtonkonventionen om skyddade arter och produkter av dessa överensstämma med numret på Cites-tillståndet.

Fält I.16: Registreringsnummer (järnvägsvagn, container eller lastbil), flightnummer (flyg) eller namn (fartyg).

Fält I.19: Ange lämplig kod enligt Harmoniserade systemets nomenklatur (Världstullorganisationen): 01.01.01 eller 01.01.06.19.

Fält I.31: Art: Häst, åsna, mula, mulåsna, zebra (inklusive korsningar av dessa).

Identifieringssystem: Ska till och med den 31 december 2009 vara det identifieringsnummer som beskrivs i artikel 2 i kommissionens beslut 2000/68/EG och från och med den 1 januari 2010 det unika livslånga nummer som beskrivs i artikel 2 d i avsnitt 1 A 4 i bilaga I till kommissionens förordning (EG) nr 504/2008.

Del II

(1) Uppgifterna i II.1–II.6 krävs inte när det finns ett bilateralt avtal i enlighet med artikel 6 i direktiv 2009/156/EG.

(2) Stryk det som inte är tillämpligt.

(3) Detta intyg fritar inte transportörerna från deras skyldigheter enligt gemenskapens bestämmelser beträffande i synnerhet hälsotillståndet för djur som ska transporteras.

— Detta intyg gäller i tio dagar.

— Stämpeln och namnteckningen ska vara i en annan färg än övriga uppgifter i intyget.

Officiell veterinär eller officiell inspektör

Namn (med versaler): Titel och befattning:

Lokal veterinärenhet: Lokal veterinärenhets nr:

Datum: Underskrift:

Stämpel

▼M2

BILAGA IV

AFRIKANSK HÄSTPEST

DIAGNOSTISERING

DEL A

Serologiska tester

Den serologiska metoden är ett Elisa-test (*enzyme-linked immunosorbent assays*) baserat på kapitel 2.5.1 avsnitt B punkt 2 i *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals* (upplaga 2016) som antogs av OIE:s World Assembly of Delegates i maj 2012.

Virusproteinet VP7 är ett betydande immunodominant antigen i afrikansk hästpest-virus (AHSV) och är konserverat i de nio AHSV-serotyperna. Rekombinanta AHSV-VP7-proteiner har visat sig vara stabila, ofarliga och lämpliga att använda som antigener i Elisa-metoder för bestämning av AHSV-antikroppar med en hög sensitivitet och specificitet (Laviada et al. (1992b) [1], Maree och Paweska (2005)). Indirekt Elisa och blockerande Elisa är de två AHS-VP7 Elisa-tester som är lämpliga för serologisk diagnostisering av afrikansk hästpest (AHS).

1. **Indirekt Elisa för påvisande av antikroppar mot afrikansk hästpest-virus (AHSV)**

Konjugatet som används i denna metod är ett antihästgammaglobulin konjugerat med pepparrotsperoxidas (HPR) som reagerar med serum från hästar, mulor och åsnor. Den metod som beskrivs av Maree och Paweska (2005) [2] använder protein G som konjugat som också reagerar med zebraserum.

Antigenet tillhandahålls på begäran av Centro de Investigación en Sanidad Animal (CISA) i Spanien inom 4–6 månader.

1.1 *Testförfarande*

1.1.1 Fast fas

1.1.1.1 *Coata* Elisa-plattorna med rekombinant AHSV-4 VP7 som spätts i en karbonat-bikarbonatbuffert med pH 9,6. Inkubera plattorna över natten vid 4 °C.

1.1.1.2 Skölj plattorna fem gånger med destillerat vatten innehållande 0,01 % (v/v) Tween 20 (tvättlösning). Slå försiktigt plattorna mot ett absorberande material för att få bort eventuella tvättrester.

1.1.1.3 Blockera plattorna med fosfatbuffrad koksaltlösning (PBS) (pH 7,2) innehållande 5 % (w/v) skummjölk (Nestlé Dry Skim Milk™), 200 µl/brunn, i en timme vid 37 °C.

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

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

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

▼M2

1.1.2 Prover

1.1.2.1 De serumprover som ska testas samt positiva och negativa kontrollserum späds 1:25 i PBS innehållande 5 % (w/v) skummjölk och 0,05 % (v/v) Tween 20, 100 µl/brunn. Inkubera i en timme vid 37 °C.

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

1.1.2.2 Skölj plattorna fem gånger med destillerat vatten innehållande 0,01 % (v/v) Tween 20 (tvättlösning). Slå försiktigt plattorna mot ett absorberande material för att få bort eventuella tvättrester.

1.1.3 Konjugat

1.1.3.1 Tillsätt 100 µl/brunn av HRP-konjugerat antihästgammaglobulin som spätts i PBS innehållande 5 % mjölk och 0,05 % Tween 20 (pH 7,2). Inkubera i en timme vid 37 °C.

1.1.3.2 Skölj plattorna fem gånger med destillerat vatten innehållande 0,01 % (v/v) Tween 20 (tvättlösning). Slå försiktigt plattorna mot ett absorberande material för att få bort eventuella tvättrester.

1.1.4 Kromogen/substrat

1.1.4.1 Tillsätt 200 µl/brunn av kromogen-/substratlösning (10 ml 80,6 mM DMAB [dimetylaminobensaldehyd] och 10 ml 1,56 mM MBTH [3-metyl-2-bensotiazolinhydrazonhydroklorid] och 5 µl H_2O_2).

Färgutvecklingen stoppas genom tillsats av 50 µl 3N H_2SO_4 efter cirka 5–10 minuter (innan det negativa kontrollprovet börjar färgas).

Andra kromogener såsom ABTS (2,2′-azino-bis-[3-etylbensotiazolin-6-sulfonsyra]), TMB (tetrametylbensidin) eller OPD (orto-fenyldiamin) kan också användas.

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

1.2 *Tolkning av resultaten*

1.2.1 Beräkna cut-off-värdet genom att lägga till 0,06 till det negativa kontrollvärdet (0,06 är standardavvikelsen för en grupp med 30 negativa serum).

1.2.2 Prover som ger absorbansvärden som är lägre än cut-off-värdet ska betraktas som negativa.

1.2.3 Prover som ger absorbansvärden som är högre än cut-off-värdet (+ 0,15) ska betraktas som positiva.

1.2.4 Prover som ger absorbansvärden som ligger mellan negativt och positivt ska betraktas som osäkra och en annan metod måste användas för att bekräfta resultatet.

▼M2

2. **Blockerande Elisa för påvisande av antikroppar mot afrikansk hästpest-virus (AHSV)**

Det kompetitiva blockerande Elisa-testet är utformat för att påvisa specifika AHSV-antikroppar i serum från alla arter av hästdjur (dvs. hästar, åsnor, zebror och korsningar av dessa), och därmed undviks problemet med specificitet som ibland har uppkommit vid indirekt Elisa.

Principen för testet är en blockering av reaktionen mellan det rekombinanta VP7-proteinet som är absorberat till Elisa-plattan och en konjugerad AHS-VP7-specifik monoklonal antikropp. Om antikroppar finns i testserumet blockeras reaktionen mellan antigenet och den monoklonala antikroppen, vilket minskar färgutvecklingen. Eftersom den monoklonala antikroppen riktas mot VP7 har testet en hög sensitivitet och specificitet.

Det kompetitiva blockerande Elisa-testet är kommersiellt tillgängligt.

2.1 *Testförfarande*

2.1.1 Fast fas

2.1.1.1 *Coata* Elisa-plattorna med 50–100 ng rekombinant AHSV-4 VP7 som spätts i en karbonat-bikarbonatbuffert med pH 9,6. Inkubera över natten vid 4 °C.

2.1.1.2 Skölj plattorna tre gånger med PBS 0,1× innehållande 0,135 M NaCl och 0,05 % (v/v) Tween 20 (PBST). Slå försiktigt plattorna mot ett absorberande material för att få bort eventuella tvättrester.

2.1.2 Prover och kontroller

2.1.2.1 De serumprover som ska testas samt positiva och negativa kontrollserum späds 1:5 i ett spädningsmedel innehållande 0,35 M NaCl, 0,05 % (v/v) Tween 20 och 0,1 % Kathon, 100 µl/brunn. Inkubera i en timme vid 37 °C.

Vid titreringen görs en tvåfaldig spädningsserie av testserumet från 1:10 till 1:280 över åtta brunnar (100 µl/brunn), ett serum per kolumn på plattan, och detsamma görs med de positiva och negativa kontrollerna. Inkubera i en timme vid 37 °C.

2.1.2.2 Skölj plattorna fem gånger med PBS 0,1× innehållande 0,135 M NaCl och 0,05 % (v/v) Tween 20 (PBST). Slå försiktigt plattorna mot ett absorberande material för att få bort eventuella tvättrester.

2.1.3 Konjugat

2.1.3.1 Tillsätt 100 µl/brunn av HPR-konjugerade monoklonala antikroppar mot VP7. Denna monoklonala antikropp har i förväg spätts 1:5 000–1:15 000 i en 1:1 lösning av StabiliZyme Select® Stabilizer (SurModics, referens: SZ03) och destillerat vatten. Inkubera i 30 minuter vid 37 °C.

2.1.3.2 Skölj plattorna fem gånger med PBS 0,1× innehållande 0,135 M NaCl och 0,05 % (v/v) Tween 20 (PBST). Slå försiktigt plattorna mot ett absorberande material för att få bort eventuella tvättrester.

▼M2

2.1.4 Kromogen/substrat

Tillsätt 100 µl/brunn av kromogen-/substratlösning, dvs. 1 ml 5 mg/ml ABTS (2,2′-azino-bis-[3-etylbensotiazolin-6-sulfonsyra]) och 9 ml substratbuffert (0,1 M fosfatcitratbuffert med pH 4 innehållande 0,03 % H_2O_2) och inkubera i tio minuter vid rumstemperatur. Färgutvecklingen stoppas genom tillsats av 100 µl/brunn av 2 % (w/v) SDS (natriumdodecylsulfat).

2.1.5 Avläsning

Avläs vid 405 nm i Elisa-läsare.

2.2 *Tolkning av resultaten*

2.2.1 Fastställ hur många procent av varje prov som blockerats (BP) med hjälp av följande formel, där ”Abs” betecknar antikroppar:

$$BP = \frac{Abs(kontroll^{-}) - Abs(prov)}{Abs(kontroll^{-}) - Abs(kontroll^{+})} \times 100$$

2.2.2 Prover som visar ett BP-värde som är högre än 50 % bör betraktas som positiva för AHSV-antikroppar.

2.2.3 Prover som visar ett BP-värde som är lägre än 45 % bör betraktas som negativa för AHSV-antikroppar.

2.2.4 Prover som visar ett BP-värde på 45–50 % bör betraktas som osäkra och måste testas på nytt. Om resultatet återigen är osäkert bör djuren testas på nytt på prover som tas tidigast två veckor efter det att det prov som betraktades som osäkert togs.

DEL B

Identifiering av agens

Realtids PCR med omvänd transkription (rRT-PCR)

Tester för identifiering av agens som baseras på nukleinsyremetoder ska påvisa referensstammar av de nio AHSV-serotyperna.

Metoden som beskrivs i punkt 2.1 är baserad på kapitel 2.5.1 avsnitt B punkt 1.2 i *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals* (upplaga 2016) som antogs av OIE:s World Assembly of Delegates i maj 2012.

De RT-PCR detektionsmetoder som används för testning av prover (antingen blod eller mjälte) inom ramen för direktiv 2009/156/EG måste ha en sensitivitet som motsvarar eller överstiger den hos de metoder som beskrivs i punkt 2.

Inaktiverade virus av referensstammar av serotyperna 1–9 kan erhållas från EU:s referenslaboratorium eller från OIE:s referenslaboratorium för afrikansk hästpest i Algete, Spanien.

1. **Extraktion av virus-RNA**

Det AHSV-RNA som extraheras från provet måste vara av hög kvalitet för att garantera en bra reaktion. Nukleinsyror kan extraheras från kliniska prover med flera olika egenutvecklade eller kommersiella metoder.

▼M2

Kommersiella kit använder olika metoder för att isolera RNA. De flesta är baserade på någon av följande metoder:

— Fenol-kloroformextraktion av nukleinsyror.

— Adsorption av nukleinsyror med filtersystem.

— Adsorption av nukleinsyror med magnetisk partikelteknik.

Följande metod är ett exempel på en egenutvecklad metod för RNA-extraktion:

1.1 1 g vävnadsprov homogeniseras i 1 ml denatureringsmedel (4 M guanidiumtiocyanat, 25 mM natriumcitrat, 0,1 M 2-merkaptoetanol, 0,5 % sarkosyl).

1.2 Efter centrifugering tillsätts 1 µg jäst-RNA, 0,1 ml 2 M natriumacetat (pH 4), 1 ml fenol och 0,2 ml av en kloroform-isoamylalkoholblandning (49:1) till supernatanten.

1.3 Suspensionen skakas kraftigt och kyls på is i 15 minuter.

1.4 Efter centrifugering extraheras det RNA som finns i vattenfasen med fenol, fälls ut med etanol och återsuspenderas i sterilt vatten.

2. **Realtids RT-PCR-metod**

2.1 *Gruppspecifik realtids RT-PCR enligt Agüero et al. (2008)* ([1])

Detta gruppspecifika realtids RT-PCR riktar in sig på VP7 i AHSV och kan påvisa alla kända AHSV-serotyper och AHSV-stammar som för närvarande cirkulerar. Metoden har använts med väldigt goda resultat av de nationella referenslaboratorier i EU:s medlemsstater som deltog i de årliga provningsjämförelser som anordnades av EU:s referenslaboratorium under perioden 2009–2015. I ett internationellt ringtest som anordnades 2015 inom ramen för OIE:s nätverk av referenslaboratorier rankades denna metod mycket högt i jämförelse med andra metoder.

Primer- och probsekvenser för påvisande av AHSV:

— Framåtriktad primer: 5′-CCA-GTA-GGC-CAG-ATC-AAC-AG-3′

— Bakåtriktad primer: 5′-CTA-ATG-AAA-GCG-GTG-ACC-GT-3′

— MGB-TaqMan-prob: 5′-FAM-GCT-AGC-AGC-CTA-CCA-CTA-MGB-3′

2.1.1 Stamlösningarna för primrarna späds till arbetslösningar på 8 µM, medan proben späds till en arbetslösning på 50 µM. En mall för testplattan bör utformas och läggas in i programvaran för realtids PCR-instrumentet. 2,5 µl av arbetslösningen för varje primer (på 8 µM) tillsätts varje brunn som enligt mallen ska innehålla RNA-prover, positiva och/eller negativa kontroller (primerns slutkoncentration kommer att vara 1 µM i 20 µl RT-PCR-mix). Plattan förvaras på is.

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

▼M2

2.1.2 2 µl isolerat RNA (prover och positiv kontroll) eller 2 µl RNas-fritt vatten (negativ kontroll) blandas med framåtriktade och bakåtriktade primrar. Blandningen denatureras genom upphettning i 5 minuter vid 95 °C, följt av en snabb kylning på is i minst 5 minuter.

2.1.3 Bered enligt tillverkarens anvisningar den volym av mastermix för ettstegs realtids RT-PCR som är lämplig för det antal prover som ska testas. 0,1 µl av arbetslösningen för proben (på 50 µM) tillsätts varje brunn med RNA-prover (probens slutkoncentration kommer att vara 0,25 µM i varje brunn med RNA-prover). 13 µl mastermix för ettstegs realtids RT-PCR tillsätts varje brunn i PCR-plattan innehållande denaturerade primrar och denaturerat RNA.

2.1.4 Plattan placeras i en realtids termocykler programmerad för omvänd transkription och cDNA amplifiering/fluorescensdetektion. Amplifieringsförhållandena består av ett första steg med omvänd transkription i 25 minuter vid 48 °C, följt av 10 minuter vid 95 °C (*hot start*) och 40 cykler på 15 sekunder vid 95 °C, 35 sekunder vid 55 °C och 30 sekunder vid 72 °C (eller 40 cykler på 2 sekunder vid 97 °C och 30 sekunder vid 55 °C om termocykler och reagenser för snabba reaktioner används). Fluorescensdata samlas in vid slutet av steget vid 55 °C.

2.1.5 Testet betraktas som ogiltigt om atypiska amplifieringskurvor erhålls och ska i så fall upprepas.

Prover betraktas som positiva om Ct-värdet (cykelnummer då fluorescensen i en reaktion passerar tröskelvärdet för fluorescens) är lägre än eller lika med det fastställda Ct-värdet (35) inom 40 PCR-cykler (Ct ≤ 35).

Prover betraktas som osäkra om Ct-värdet är högre än det fastställda Ct-värdet (35) inom 40 PCR-cykler (Ct ≥ 35).

Prover betraktas som negativa om en horisontell amplifieringskurva erhålls som inte passerar tröskelvärdet inom 40 PCR-cykler.

2.2 *Gruppspecifik realtids RT-PCR enligt Guthrie et al. (2013)* ([1])

Realtids RT-PCR med FRET-prober (*Fluorescence Resonance Energy Transfer*) för att påvisa AHSV:s nukleinsyror.

I denna RT-PCR-metod för AHSV används sekvenser från flera olika fältstammar av AHSV som för närvarande cirkulerar (Quan et al. (2010) ([2])). I metoden ingår också ett patentskyddat syntetiskt externt kontrolltest för att kontrollera att testet fungerar som det ska.

Kit för ettstegs realtids PCR är kommersiellt tillgängliga. Nedan följer några grundläggande steg enligt Guthrie et al. (2013) som kan modifieras beroende på lokala/specifika krav, vilka kit som används och vilken utrustning som finns tillgänglig.

([1]) Guthrie A.J., MacLachlan N.J., Joone C., Lourens C.W., Weyer C.T., Quan M., Monyai M.S. och Gardner I.A., ”Diagnostic accuracy of a duplex real-time reverse transcription quantitative PCR assay for detection of African horse sickness virus”, *Journal of Virological Methods*, 2013, 189(1), s. 30–35.

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

▼M2

Primer- och probsekvenser för påvisande av AHSV:

— Framåtriktad primer: 5′-AGA-GCT-CTT-GTG-CTA-GCA-GCC-T-3′

— Bakåtriktad primer: 5′-GAA-CCG-ACG-CGA-CAC-TAA-TGA-3′

— MGB-TaqMan-prob: 5′-FAM-TGC-ACG-GTC-ACC-GCT-MGB-3′

2.2.1 Stamlösningen för primer-probblandningen är koncentrerad 25× och innehåller 5 µM framåtriktade och bakåtriktade primrar och 3 µM prob. En mall för testplattan bör utformas och läggas in i programvaran för realtids PCR-instrumentet. 5 µl RNA-prover (inklusive testprover samt positiva och negativa kontroller) tillsätts de lämpliga brunnarna enligt mallen.

2.2.2 RNA:t denatureras genom upphettning i 5 minuter vid 95 °C, följt av en snabb kylning på is i minst 3 minuter.

2.2.3 Bered enligt tillverkarens anvisningar den volym av mastermix för ettstegs realtids RT-PCR som är lämplig för det antal prover som ska testas. 1 µl av 25× stamlösningen för primer-probblandningen (se punkt 2.2.1) tillsätts mastermixen, vilket ger en slutkoncentration på 200 nM/brunn för varje primer och 120 nM/brunn för proben. 20 µl mastermix tillsätts varje brunn i PCR-plattan innehållande denaturerat RNA.

2.2.4 Plattan placeras i en realtids termocykler programmerad för omvänd transkription och cDNA amplifiering/fluorescensdetektion enligt tillverkarens anvisningar. Amplifieringsförhållandena består exempelvis av ett första steg med omvänd transkription i 10 minuter vid 48 °C, följt av 10 minuter vid 95 °C och 40 cykler på 15 sekunder vid 95 °C och 45 sekunder vid 60 °C.

2.2.5 Prover betraktas som positiva om den normaliserade fluorescensen för AHSV RT-PCR-testet överstiger ett tröskelvärde på 0,1 inom 36 PCR-cykler i alla replikat av ett prov.

Prover betraktas som osäkra om den normaliserade fluorescensen för AHSV RT-PCR-testet överstiger ett tröskelvärde på 0,1 mellan PCR-cyklarna 36 och 40 i minst ett replikat av ett prov.

Prover betraktas som negativa om den normaliserade fluorescensen för AHSV RT-PCR-testet inte överstiger ett tröskelvärde på 0,1 inom 40 PCR-cykler i alla replikat av ett prov och om den normaliserade fluorescensen för det patentskyddade syntetiska externa kontrolltestet överstiger ett tröskelvärde på 0,1 inom 33 PCR-cykler.

▼B

BILAGA V

DEL A

Upphävt direktiv och en förteckning över dess efterföljande ändringar

(som avses i artikel 22)

Rådets direktiv 90/426/EEG (EGT L 224, 18.8.1990, s. 42)	
Rådets direktiv 90/425/EEG (EGT L 224, 18.8.1990, s. 29)	Endast artikel 15.3
Rådets direktiv 91/496/EEG (EGT L 268, 24.9.1991, s. 56)	Endast angående hänvisningen till direktiv 90/426/EEG i artikel 26.2
Kommissionens beslut 92/130/EEG (EGT L 47, 22.2.1992, s. 26)	
Rådets direktiv 92/36/EEG (EGT L 157, 10.6.1992, s. 28)	Endast artikel 1
1994 års anslutningsakt, punkt V.E.I.A.3 i bilaga I (EGT C 241, 29.8.1994, s. 132)	
Kommissionens beslut 2001/298/EG (EGT L 102, 12.4.2001, s. 63)	Endast angående hänvisningen till direktiv 90/426/EEG i artikel 1.1, och bilaga I, punkt 2
Kommissionens beslut 2002/160/EG (EGT L 53, 23.2.2002, s. 37)	
Rådets förordning (EG) nr 806/2003 (EUT L 122, 16.5.2003, s. 1)	Endast bilaga III, punkt 10
2003 års anslutningsakt, punkt 6.B.I.16 i bilaga II (EUT L 236, 23.9.2003, s. 381)	
Rådets direktiv 2004/68/EG (EUT L 139, 30.4.2004, s. 321)	Endast artikel 15
Rådets direktiv 2006/104/EG (EUT L 363, 20.12.2006, s. 352)	Endast bilagan, punkt I.2
Rådets direktiv 2008/73/EG (EUT L 219, 14.8.2008, s. 40)	Endast artikel 7

DEL B

Tidsfrister för införlivande i nationell lagstiftning

(som avses i artikel 22)

Direktiv	Tidsfrist för införlivande
90/426/EEG	1 januari 1992
90/425/EEG	1 juli 1992
91/496/EEG	1 juli 1992
92/36/EEG	31 december 1992
2004/68/EG	19 november 2005
2006/104/EG	1 januari 2007
2008/73/EG	1 januari 2010

▼B

BILAGA VI

Jämförelsetabell

Direktiv 90/426/EEG	Detta direktiv
Artikel 1	Artikel 1
Artikel 2 a och b	Artikel 2 a och b
Artikel 2 c	Artikel 2 c i och ii
Artikel 2 d-i	Artikel 2 d–i
Artikel 3	Artikel 3
Artikel 4.1, 4.2 och 4.3	Artikel 4.1, 4.2 och 4.3
Artikel 4.4 i och ii	Artikel 4.4 a och b
Artikel 4.5 a första-sjätte strecksatsen	Artikel 4.5 a i–vi
Artikel 4.5 b	Artikel 4.5 b
Artikel 4.6 första stycket första-åttonde strecksatsen	Artikel 4.6 första stycket a–h
Artikel 4.6 andra och tredje stycket	Artikel 4.6 andra och tredje stycket
Artikel 5.1	Artikel 5.1
Artikel 5.2 a	Artikel 5.2 första stycket a och b
Artikel 5.2 b	Artikel 5.2 andra stycket a och b
Artikel 5.2 c	Artikel 5.3
Artikel 5.2 d	Artikel 5.4
Artikel 5.3 a och b	Artikel 5.5 a och b
Artikel 5.3 c första och andra strecksatsen	Artikel 5.5 c första stycket i och ii
Artikel 5.3 c andra strecksatsen sista meningen	Artikel 5.5 c andra stycket
Artikel 5.3 d och e	Artikel 5.5 d och e
Artikel 6	Artikel 6
Artikel 7	Artikel 7
Artikel 8.1 första stycket första och andra strecksatsen	Artikel 8.1 a och b
Artikel 8.1 andra stycket	Artikel 8.2
Artikel 8.2	Artikel 8.3
Artikel 9	Artikel 9
Artikel 10	Artikel 10

▼B

Direktiv 90/426/EEG	Detta direktiv
Artikel 11.1	Artikel 11
Artikel 11.2	—
Artikel 12	Artikel 12
Artikel 13	Artikel 13
Artikel 14	Artikel 14
Artikel 15	Artikel 15
Artikel 16.1 a–f	Artikel 16.1 a–f
Artikel 16.1 sista meningen	—
Artikel 16.2	Artikel 16.2
Artikel 17	Artikel 18
Artikel 18	Artikel 17
Artikel 19 i–iv	Artikel 19 a–d
Artikel 22	—
Artikel 23	Artikel 20
Artikel 24.1 och 24.2	Artikel 21.1 och 21.2
Artikel 24.3	—
Artikel 25.1 och 2	Artikel 21.1 och 21.3
Artikel 26	—
Artikel 27	—
—	Artikel 22
—	Artikel 23
Artikel 28	Artikel 24
Bilaga A	Bilaga I
Bilaga B	Bilaga II
Bilaga C	Bilaga III
Bilaga D	Bilaga IV
—	Bilaga V
—	Bilaga VI