

Art. 2. L'article 95 du même arrêté est abrogé.

Art. 3. Le présent arrêté entre en vigueur le 1er mars 1993.

Toutefois, les chômeurs qui bénéficieraient déjà au 28 février 1993 de la dispense prévue à l'article 95 de l'arrêté royal du 25 novembre 1991 portant la réglementation du chômage, en vigueur à cette date, peuvent continuer à bénéficier de celle-ci jusqu'à la fin de la période accordée.

Art. 4. Notre Ministre de l'Emploi et du Travail est chargé de l'exécution du présent arrêté.

Donné à Bruxelles, le 29 janvier 1993.

**BAUDOUIN**

Par le Roi :

Le Ministre de l'Emploi et du Travail,  
Mme M. SMET

Art. 2. Artikel 95 van hetzelfde besluit wordt opgeheven.

Art. 3. Dit besluit treedt in werking op 1 maart 1993.

Nochtans kunnen de werklozen die op 28 februari 1993 reeds genoten van de vrijstelling voorzien bij artikel 95 van het koninklijk besluit van 25 november 1991 houdende de werkloosheidsreglementering, van kracht op deze datum, verder blijven genieten van de vrijstelling tot het einde van de toegekende periode.

Art. 4. Onze Minister van Tewerkstelling en Arbeid is belast met de uitvoering van dit besluit.

Gegeven te Brussel, 29 januari 1993.

**BOUDEWIJN**

Van Koningswege :

De Minister van Tewerkstelling en Arbeid,  
Mevr. M. SMET

## MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE

F. 93 — 312

26 JANVIER 1993

Arrêté royal relatif à la lutte contre la peste équine

BAUDOUIN, Roi des Belges,

A tous, présents et à venir, Salut.

Vu la loi du 24 mars 1987 relative à la santé des animaux, modifiée par les lois des 29 décembre 1990 et 20 juillet 1991;

Vu la directive 92/35/CEE du Conseil des Communautés européennes établissant les règles de contrôle et les mesures de lutte contre la peste équine;

Vu la directive 90/426/CEE relative aux conditions de police sanitaire régissant les mouvements d'équidés et les importations d'équidés en provenance des pays tiers modifiée par les directives 91/496/CEE et 92/36/CEE;

Vu les lois sur le Conseil d'Etat, coordonnées le 12 janvier 1973, notamment l'article 3, § 1<sup>er</sup>, modifié par les lois des 9 août 1980, 16 juin 1989 et 4 juillet 1989;

Vu l'urgence,

Considérant qu'il convient de transposer sans retard dans notre législation la directive 92/35/CEE afin d'établir les mesures nécessaires à l'éradication de la peste équine;

Sur la proposition de Notre Ministre de l'Agriculture,

Nous avons arrêté et arrêtons :

**Article 1<sup>er</sup>.** La peste équine est une maladie des animaux qui tombe sous l'application du chapitre III de la loi du 24 mars 1987 relative à la santé des animaux.

Sans préjudice des dispositions prises en application de l'article 18, tout traitement thérapeutique ou préventif contre la peste équine, notamment la vaccination, est interdit.

### CHAPITRE 1<sup>er</sup>. — Définitions

**Art. 2.** Pour l'application du présent arrêté, il faut entendre par :

1. exploitation : toute construction ou ensemble de constructions, y compris les terrains annexes qui, pris globalement, constituent une entité au point de vue sanitaire, où sont détenus des équidés ou qui y sont destinés;

2. équidés : les animaux domestiques ou sauvages des espèces équine — y compris les zèbres —, asine ou les animaux issus de leur croisement;

3. responsable : la personne qui exerce une gestion et une surveillance habituelles et directes sur les animaux;

4. vecteur : l'insecte de l'espèce « *Culicoides imicola* » ou tout autre insecte du genre *Culicoides* susceptible de transmettre la peste équine;

5. équidé atteint de peste équine : tout équidé sur lequel la maladie a été officiellement constatée par un examen de laboratoire effectué conformément à l'annexe de cet arrêté par l'Institut National de Recherches Vétérinaires, désigné ci-après sous le sigle I.N.R.V.;

6. équidé suspect d'être atteint de peste équine : tout équidé qui présente des symptômes cliniques ou oedèmes permettant de suspecter valablement la peste équine;

## MINISTERIE VAN LANDBOUW

N. 93 — 312

26 JANUARI 1993

Koninklijk besluit betreffende de bestrijding van paardepest

BOUDEWIJN, Koning der Belgen,

Aan allen die nu zijn en hierna wezen zullen, Onze Groot.

Gelet op de diergezondheidswet van 24 maart 1987 gewijzigd bij de wetten van 29 december 1990 en 20 juli 1991;

Gelet op de richtlijn 92/35/EEG van de Raad der Europese Gemeenschappen tot vaststelling van controlevoorschriften en van maatregelen ter bestrijding van paardepest;

Gelet op de richtlijn 90/426/EEG tot vaststelling van veterinaire-rechterlijke voorschriften voor het verkeer van paardachtigen en de invoer van paardachtigen uit derde landen, gewijzigd bij de richtlijnen 91/496/EEG en 92/36/EEG;

Gelet op de wetten op de Raad van State, gecoördineerd op 12 januari 1973, inzonderheid op artikel 3, § 1, gewijzigd bij de wetten van 9 augustus 1980, 16 juni 1989 en 4 juli 1989;

Gelet op de dringende noodzakelijkheid;

Overwegende dat het noodzakelijk is om richtlijn 92/35/EEG onverwijld in een nationale wettekst om te zetten ten einde de maatregelen vast te stellen die nodig zijn ter uitroeiing van de paardepest;

Op de voordracht van Onze Minister van Landbouw,

Hebben Wij besloten en besluiten Wij :

**Artikel 1.** Paardepest is een dierenziekte die onder de toepassing valt van hoofdstuk III van de diergezondheidswet van 24 maart 1987.

Onverminderd de in uitvoering van artikel 18 genomen beschikkingen, zijn alle therapeutische of preventieve behandelingen van paardepest, met name vaccinatie verboden.

### HOOFDSTUK I. — Definities

**Art. 2.** Voor de toepassing van dit besluit wordt verstaan onder :

1. bedrijf : elk gebouw of complex van gebouwen, erin begrepen de erbij horende terreinen, die op sanitair gebied een geheel vormen, waar paardachtigen worden gehouden of dat daartoe bestemd is;

2. paardachtigen : als huisdier gehouden of in het wild levende paarden — met inbegrip van zebra's —, en ezels of kruisingen daarvan;

3. verantwoordelijke : de persoon die gewoonlijk over de dieren een onmiddellijk beheer en toezicht uitoefent;

4. vector : insecten van de soort « *Culicoides imicola* » of elk ander insect behorend tot de *Culicoides*-achtigen, die paardepest kunnen overdragen;

5. door paardepest aangetaste paardachtige : elke paardachtige waarbij de ziekte officieel werd vastgesteld aan de hand van een laboratoriumonderzoek, dat overeenkomstig de bijlage bij dit besluit werd uitgevoerd door het Nationaal Instituut voor Diergeneeskundig Onderzoek, hierna aangeduid door de afkorting N.I.D.O.;

6. door paardepest verdacht aangetaste paardachtige : elke paardachtige die klinische symptomen of oedemen vertoont die tot een gegronde verdenking van paardepest aanleiding kunnen geven;

7. équidé suspect d'être contaminé de peste équine : tout équidé appartenant à un foyer de peste équine ou ayant quitté depuis moins de 15 jours un foyer de peste équine;

8. foyer de peste équine : l'exploitation dans laquelle se trouve un équidé atteint de peste équine;

9. exploitation suspecte de peste équine : l'exploitation dans laquelle se trouve un équidé suspect d'être atteint ou d'être contaminé de peste équine;

10. Ministre : le Ministre qui a l'Agriculture dans ses attributions;

11. Service : le Service Vétérinaire du Ministère de l'Agriculture;

12. bourgmestre : le bourgmestre de la commune dans laquelle est située l'exploitation.

## CHAPITRE II. — Suspicion

Art. 3. Quiconque suspecte ou constate l'existence de peste équine chez un équidé est tenu d'en informer immédiatement l'inspecteur vétérinaire.

Art. 4. Dès qu'il a connaissance d'une suspicion, l'inspecteur vétérinaire :

— se rend immédiatement sur place et procède à l'examen clinique de tous les équidés de l'exploitation;

— effectue ou fait effectuer les prélèvements nécessaires aux examens de laboratoire;

— procède ou fait procéder au recensement officiel des équidés, avec indication, pour chaque espèce, du nombre d'équidés déjà morts, atteints ou suspects d'être atteints et à la mise à jour dudit recensement afin de tenir compte des équidés nés ou morts pendant la période de suspicion; les données de ce recensement devant être produites sur demande et pouvant être contrôlées à chaque visite;

— procède ou fait procéder au recensement des lieux susceptibles de favoriser la survie du vecteur ou de l'héberger, en vérifiant que les moyens appropriés de désinsectisation y sont utilisés;

— procède ou fait procéder à une enquête épidémiologique, conformément à l'article 12;

— notifie au responsable que son exploitation est suspecte de peste équine.

Art. 5. § 1<sup>er</sup>. L'exploitation suspecte est placée sous surveillance officielle de l'inspecteur vétérinaire et soumise notamment aux mesures suivantes :

— tous les équidés de l'exploitation sont maintenus dans leurs locaux d'hébergement ou dans d'autres lieux protégés contre le vecteur;

— tout mouvement d'équidés en provenance ou à destination de l'exploitation est interdit;

— les moyens appropriés de désinsectisation sont utilisés dans les bâtiments hébergeant les équidés et aux abords de ces bâtiments;

— la sortie de l'exploitation de cadavres d'équidés est interdite, sauf autorisation de l'inspecteur vétérinaire.

§ 2. L'inspecteur vétérinaire peut appliquer les mesures visées au § 1<sup>er</sup> à d'autres exploitations dans le cas où leur implantation, leur situation géographique ou les contacts avec l'exploitation où la maladie est suspectée permettent de soupçonner une possibilité de contamination.

Art. 6. Dès qu'il résulte des examens que la suspicion de peste équine est infirmée, les mesures en vigueur en vertu de l'article 5 sont levées par l'inspecteur vétérinaire qui en informe le responsable.

Art. 7. L'inspecteur vétérinaire notifie au bourgmestre :

- les exploitations suspectes;
- les mesures applicables à ces exploitations;
- la levée des mesures dans les exploitations suspectes.

## CHAPITRE III. — Foyer

Art. 8. Dès que l'existence de peste équine est confirmée, l'exploitation est considérée comme foyer de peste équine.

L'inspecteur vétérinaire en informe le responsable, le médecin vétérinaire agréé de l'exploitation et le bourgmestre.

7. met paardepest verdacht besmette paardachtige : elke paardachtige die deel uitmaakt van een haard van paardepest of die sinds minder dan 15 dagen een haard van paardepest heeft verlaten;

8. haard van paardepest : een bedrijf waarin zich een door paardepest aangetaste paardachtige bevindt;

9. van paardepest verdacht bedrijf : het bedrijf waarin zich een verdacht aangetaste of verdacht besmette paardachtige bevindt;

10. Minister : de Minister tot wiens bevoegdheid de Landbouw behoort;

11. Dienst : de Diergeneeskundige Dienst van het Ministerie van Landbouw;

12. burgemeester : de burgemeester van de gemeente waarin het bedrijf gevestigd is.

## HOOFDSTUK II. — Verdenking

Art. 3. Al wie de aanwezigheid van paardepest bij een paardachtige vermoedt of vaststelt moet de inspecteur-dierenarts hiervan onmiddellijk op de hoogte brengen.

Art. 4. Zodra hij kennis heeft genomen van een verdenking :

— begeeft de inspecteur-dierenarts zich onmiddellijk ter plaatse en onderwerpt alle paardachtigen van het bedrijf aan een klinisch onderzoek;

— neemt hij of laat hij de monsters nemen die nodig zijn voor de laboratoriumonderzoeken;

— verricht hij of laat hij een officiële telling uitvoeren van de paardachtigen, waarbij voor elke soort wordt gepreciseerd hoeveel dieren reeds gestorven, aangetast of verdacht aangetast zijn, en zorgt hij voor de bijwerking van deze telling ten einde rekening te kunnen houden met het aantal paardachtigen dat in de periode waarop de verdenking betrekking heeft, is geboren of gestorven; de resultaten van de telling moeten desgevraagd worden voorgelegd en kunnen bij elk bezoek worden gecontroleerd;

— maakt hij of laat hij een lijst opmaken van de plaatsen waar de vector gemakkelijk kan overleven of verblijven, en ziet hij er op toe dat daar passende insectenverdelgingsmiddelen worden gebruikt;

— verricht hij zelf of laat hij een epidemiologisch onderzoek uitvoeren overeenkomstig artikel 12;

— brengt hij de verantwoordelijke ter kennis dat zijn bedrijf van paardepest wordt verdacht.

Art. 5. § 1. Het verdacht bedrijf wordt onder officieel toezicht van de inspecteur-dierenarts geplaatst en met name de volgende maatregelen zijn er van kracht :

— alle paardachtigen van het bedrijf worden op stal gehouden of ondergebracht op andere plaatsen die tegen de vector zijn beschermd;

— alle bewegingen van paardachtigen van of naar het bedrijf wordt verboden;

— de geschikte insectenverdelgingsmiddelen worden gebruikt in en rond de gebouwen waarin de paardachtigen zijn ondergebracht;

— krenge van paardachtigen mogen niet van het bedrijf worden afgevoerd, tenzij met de toestemming van de inspecteur-dierenarts.

§ 2. De inspecteur-dierenarts kan de in § 1 genoemde maatregelen ook toepassen in andere bedrijven, wanneer in verband met hun ligging, hun geografische situatie of contacten met het verdachte bedrijf kan worden verondersteld dat zij mogelijk zijn besmet.

Art. 6. Zodra uit de onderzoeken blijkt dat de verdenking van paardepest weerlegd is, worden de krachtens artikel 5 genomen maatregelen door de inspecteur-dierenarts opgeheven, die dit ter kennis brengt van de verantwoordelijke.

Art. 7. De inspecteur-dierenarts stelt de burgemeester in kennis van :

- de verdachte bedrijven;
- de maatregelen die voor die bedrijven gelden;
- de opheffing van de maatregelen in verdachte bedrijven.

## HOOFDSTUK III. — Haard

Art. 8. Zodra de aanwezigheid van paardepest is bevestigd, wordt het bedrijf beschouwd als een haard van paardepest.

De inspecteur-dierenarts brengt dit ter kennis van de verantwoordelijke, van de aangenomen dierenarts van het bedrijf en van de burgemeester.

**Art. 9.** L'inspecteur vétérinaire effectue ou fait effectuer une enquête épidémiologique conformément à l'article 12.

**Art. 10.** Outre les mesures visées à l'article 5, § 1<sup>er</sup>, les mesures suivantes sont prises sans délai dans le foyer :

1. tous les équidés atteints ou suspects d'être atteints de peste équine sont mis à mort et détruits par ordre et sous contrôle de l'inspecteur vétérinaire. L'ordre d'abattage est signifié au responsable et une copie est adressée au bourgmestre;

2. l'inspecteur vétérinaire visite ou fait visiter régulièrement l'exploitation; à cette occasion, chaque équidé sera examiné, on procédera à un examen clinique approfondi ou à l'autopsie des animaux suspects ou morts et on effectuera les prélèvements nécessaires aux examens de laboratoire.

**Art. 11.** Les mesures dans le foyer sont levées au plus tôt 30 jours après la mise à mort et la destruction du dernier équidé atteint ou suspect d'être atteint de peste équine, et pour autant que les équidés de l'exploitation aient été soumis avec une réaction négative à deux tests de fixation du complément pour la peste équine tel que décrit en annexe du présent arrêté, avec un intervalle compris entre vingt et un et trente jours.

#### CHAPITRE IV. — Enquête épidémiologique

**Art. 12.** L'enquête épidémiologique porte sur :

- la durée de la période pendant laquelle la peste équine peut avoir existé dans l'exploitation;
- l'origine possible de la peste équine dans l'exploitation et l'identification d'autres exploitations dans lesquelles se trouvent des équidés ayant pu être contaminés à partir de cette même source;
- la présence et la distribution des vecteurs de la maladie;
- les mouvements des équidés à partir ou en direction des exploitations en cause ou la sortie éventuelle des cadavres d'équidés desdites exploitations.

#### CHAPITRE V. — Zone de protection

**Art. 13.** Le Service délimite une zone de protection autour du foyer. La délimitation de la zone doit tenir compte des barrières naturelles, des facilités de contrôle, des facteurs géographiques et des facteurs d'ordre écologiques et épidémiologiques liés à la peste équine.

**Art. 14.** La zone de protection est soumise aux mesures suivantes :

1. le recensement de toutes les exploitations comportant des équidés est effectué;
2. ces exploitations sont soumises à la visite d'un vétérinaire agréé selon les instructions du Service;
3. le maintien des équidés dans l'exploitation dans laquelle ils se trouvent, sauf pour être transportés directement, sous couvert d'un sauf-conduit délivré par le Service, en vue d'un abattage d'urgence dans un abattoir situé dans cette zone ou, si cette zone ne comporte pas d'abattoir, dans un abattoir désigné par le Service.

#### CHAPITRE VI. — Dispositions générales

**Art. 15.** Lorsque le responsable refuse d'exécuter les mesures ou injonctions, l'inspecteur vétérinaire les fait exécuter d'office.

**Art. 16.** Tout cas urgent non prévu par le présent arrêté est réglé par l'inspecteur vétérinaire.

**Art. 17.** Tout médecin vétérinaire agréé doit en matière de peste équine, observer les instructions données par l'inspecteur vétérinaire et lui donner à tout moment les renseignements demandés.

**Art. 18.** En cas de danger imminent de contamination ou d'extension de peste équine, le Ministre peut prendre toutes mesures de lutte, notamment la vaccination d'urgence, jusqu'à la disparition du danger.

**Art. 19.** Les infractions aux dispositions du présent arrêté sont recherchées, constatées et punies conformément aux chapitres V et VI de la loi du 24 mars 1987 relative à la santé des animaux.

**Art. 20.** Le présent arrêté entre en vigueur le jour de sa publication au *Moniteur belge*.

**Art. 9.** De inspecteur-dierenarts verricht of laat een epidemiologisch onderzoek uitvoeren overeenkomstig artikel 12.

**Art. 10.** Naast de in artikel 5, § 1, bedoelde maatregelen worden in de haard onverwijld de volgende maatregelen getroffen :

1. alle aangetaste of door paardepest verdacht aangetaste paardachtigen worden op bevel en onder toezicht van de inspecteur-dierenarts afgemaakt en vernietigd. Het afmakingsbevel wordt aan de verantwoordelijke betekend en een afschrift ervan wordt aan de burgemeester toegezonden;

2. de inspecteur-dierenarts bezoekt geregeld het bedrijf of laat het bezoeken; bij die gelegenheid wordt elke paardachtige onderzocht, wordt een grondig klinisch onderzoek of een autopsie van de verdachte of gestorven dieren verricht, en worden de benodigde monsters genomen voor het laboratoriumonderzoek.

**Art. 11.** De in de haard geldende maatregelen worden niet eerder ingetrokken dan 30 dagen nadat de laatste door paardepest aangetaste of verdacht aangetaste paardachtige werd afgemaakt en vernietigd en voor zover alle paardachtigen negatief hebben gereageerd op twee complementbindingstesten voor paardepest zoals beschreven in de bijlage bij dit besluit, die zijn uitgevoerd met een tussentijd van eenentwintig tot dertig dagen.

#### HOOFDSTUK IV. — Epidemiologisch onderzoek

**Art. 12.** Het epidemiologisch onderzoek heeft betrekking op :

- de omschrijving van de periode waarin paardepest op het bedrijf aanwezig kan zijn geweest;
- de mogelijke oorsprong van de paardepest in het bedrijf en het identificeren van andere bedrijven waar zich paardachtigen bevinden die via dezelfde oorsprong kunnen zijn besmet;
- de aanwezigheid en de verspreiding van de vectoren van de ziekte;
- de bewegingen van paardachtigen van en naar de betrokken bedrijven of het eventueel afvoeren van krenge van paardachtigen van deze bedrijven.

#### HOOFDSTUK V. — Beschermingsgebied

**Art. 13.** De Dienst bakent rond de haard een beschermingsgebied af. Bij de afbakening van dit gebied dient rekening te worden gehouden met de natuurlijke grenzen, met de mogelijkheden tot controle, met de factoren geografische aard en met de factoren van ecologische en epidemiologische aard die met paardepest verband houden.

**Art. 14.** In het beschermingsgebied worden de volgende maatregelen getroffen :

1. alle bedrijven worden geteld waar paardachtigen zijn gehuisvest;
2. deze bedrijven worden overeenkomstig de richtlijnen van de Dienst bezocht door een aangenomen dierenarts;
3. de paardachtigen mogen uit het bedrijf waarin zij zich bevinden niet worden afgevoerd, behalve om met het oog op noodslachting met een vrijgeleide afgeleverd door de Dienst rechtstreeks te worden vervoerd naar een in het gebied gelegen slachthuis of, indien er in dat gebied geen slachthuis gelegen is, naar een door de Dienst aangewezen slachthuis.

#### HOOFDSTUK VI. — Algemene bepalingen

**Art. 15.** Wanneer de verantwoordelijke weigert de maatregelen of gebodsbepalingen uit te voeren laat de inspecteur-dierenarts deze van ambtswege uitvoeren.

**Art. 16.** Alle dringende gevallen niet voorzien in dit besluit, worden beslecht door de inspecteur-dierenarts.

**Art. 17.** Alle aangenomen dierenartsen dienen de door de inspecteur-dierenarts gegeven instructies inzake paardepest op te volgen en hem te allen tijde de gevraagde inlichtingen te bezorgen.

**Art. 18.** Bij dreigend gevaar van besmetting met of uitbreiding van paardepest kan de Minister alle vereiste bestrijdingsmaatregelen treffen, inzonderheid noodvaccinatie, tot wanneer het gevaar geweken is.

**Art. 19.** Inbreuken op de bepalingen van dit besluit worden opgespoord, vastgesteld en bestraft overeenkomstig de hoofdstukken V en VI van de dierengezondheidswet van 24 maart 1987.

**Art. 20.** Dit besluit wordt van kracht de dag dat het in het *Belgisch Staatsblad* wordt bekendgemaakt.

Art. 21. Notre Ministre de l'Agriculture est chargé de l'exécution du présent arrêté.

Donné à Bruxelles, le 26 janvier 1993.

**BAUDOUIN**

Par le Roi :

Le Ministre de l'Agriculture,  
A. BOURGEOIS

Annexe de l'arrêté royal du 26 janvier 1993

**Peste équine**

*Diagnostic*

Fixation du complément

L'antigène est préparé à partir de cerveaux de souris d'un mois ayant reçu l'inoculation intracérébrale d'une souche neurotrope du virus. Cela peut être effectué par la méthode suivante de Bourdin. Les cerveaux sont congelés puis broyés dans un tampon véronal à raison de 10 cerveaux pour 12 ml de tampon. La suspension qui en résulte est centrifugée opendant une heure à 10 000 t/min à 4 °C. Le surnageant constitue l'antigène. Il est utilisé de préférence sans autre modification mais peut être inactivé par la B-propionolactone. L'inactivation peut être effectuée en ajoutant 0,1 ml d'une solution à 3 % de B-propionolactone dans l'eau distillée à chaque fraction de 0,9 ml d'antigène et en agitant le mélange pendant 3 heures à la température du laboratoire sous une hotte ventilée, puis pendant 18 heures à 4 °C. On peut également utiliser la méthode de Casals (Casals J. (1949).

En l'absence de sérum standard international, l'antigène sera titré vis-à-vis d'un sérum témoin positif préparé localement.

Les sérums seront chauffés pendant 30 minutes à 60 °C. Pour éviter les effets anticomplémentaires, les sérums doivent être, dès que possible, séparés du sang, en particulier les sérums d'ânes. Des sérums témoins positifs et négatifs seront utilisés dans le test.

On peut employer soit une macrotechnique, soit une microtechnique. Dans les deux cas, le point final est représenté par 50 % d'hémolyse.

A chaque volume de dilutions de deux en deux du sérum dans le tampon, ajouter un volume d'une suspension de l'antigène comme indiqué par le titrage de manière qu'il y ait deux unités. Mélanger et laisser reposer 15 minutes à la température du laboratoire. Ajouter deux volumes de complément 5 unités, mélanger, couvrir les plaques et laisser pendant 18 heures à 4 °C. Le complément sera titré en présence d'antigène pour tenir compte de tous effets anticomplémentaires. Après avoir laissé reposer les plaques pendant 15 minutes de plus à la température du laboratoire, ajouter un volume de dilution à 3 % d'érythrocytes de mouton sensibilisés. Mélanger et laisser incuber à 37 °C pendant 30 minutes, en mélangeant à nouveau après 15 minutes d'incubation. Si on utilise des plaques, centrifuger les plaques pendant 5 minutes à 1 500 t/min. à 4 °C.

Vu pour être annexé à Notre arrêté du 26 janvier 1993.

**BAUDOUIN**

Par le Roi :

Le Ministre de l'Agriculture,  
A. BOURGEOIS

Art. 21. Onze Minister van Landbouw is belast met de uitvoering van dit besluit.

Gegeven te Brussel, 26 januari 1993.

**BOUDEWIJN**

Van Koningswege :

De Minister van Landbouw,  
A. BOURGEOIS

Bijlage bij het koninklijk besluit van 26 januari 1993

**Paardepest**

*Diagnose*

Complementbinding

Het antigeen wordt bereid op basis van de hersenen van één maand oude muizen, die intracerebraal werden geïnoculeerd met een neurotrope stam van het virus. Dit kan gebeuren door middel van de hierna beschreven methode van Bourdin. De hersenen worden bevroren en vervolgens vermalen in een Veronal buffer in een verhouding van tien hersenen in 12 ml buffer. De hieruit resulterende suspensie wordt gedurende één uur gecentrifugeerd met een snelheid van 10 000 t/min. bij 4 °C. De supernatant vormt het antigeen. Het wordt bij voorkeur zonder verdere wijzigingen gebruikt, doch kan geïnactiveerd worden door middel van B-propionolacton. De inactivering kan doorgevoerd worden door 0,1 ml van een 3 %-oplossing van B-propionolacton in gedistilleerd water toe te voegen aan elke portie van 0,9 ml antigeen, en door het mengsel gedurende drie uur bij kamertemperatuur te schudden onder een afzuigkap en vervolgens gedurende 18 uur bij een temperatuur van 4 °C. Men kan eveneens gebruik maken van de methode van Casals (Casals J. (1949).

Bij ontstentenis van een internationaal standaardserum, wordt het antigeen getitreerd tegen een ter plaatse bereid positief controleserum.

De sera worden gedurende 30 minuten verwarmd bij 60 °C. Ter vermijding van anti-complementaire effecten dienen de sera, en met name die van ezels, zo snel mogelijk van het bloed gescheiden te worden. Bij de test worden positieve en negatieve controlesera gebruikt.

Men kan zowel een macrotechniek als een microtechniek gebruiken. In beide gevallen bestaat het eindpunt uit een hemolyse van 50 %.

Aan elk volume van tweevoudige verdunningen van het serum in buffer, dient telkens één volume antigeen te worden toegevoegd aan een concentratie bepaald door de titratie, zodat steeds twee eenheden antigeen aanwezig zijn. Mengen en 15 minuten laten staan bij kamertemperatuur. Twee volumes complement aan een concentratie van vijf eenheden toevoegen, mengen, de platen toedekken en gedurende 18 uur laten staan bij 4 °C. Het complement wordt getitreerd in aanwezigheid van het antigeen, om rekening te kunnen houden met anticomplementaire effecten. Nadat de platen nog 15 minuten blijven staan bij kamertemperatuur, dient één volume gesensibiliseerde schape-erythrocyten te worden toegevoegd bij een verdunning van 3 %. Mengen en gedurende 30 minuten laten incuberen bij 37 °C gedurende 30 minuten, en na 15 minuten incubatie opnieuw mengen. Bij gebruik van platen dienen deze gedurende 5 minuten te worden gecentrifugeerd bij 1 500 t/min., en bij een temperatuur van 4 °C.

Gezien om te worden gevoegd bij Ons besluit van 26 januari 1993.

**BOUDEWIJN**

Van Koningswege :

De Minister van Landbouw,  
A. BOURGEOIS