Този текст служи само за информационни цели и няма правно действие. Институциите на Съюза не носят отговорност за неговото съдържание. Автентичните версии на съответните актове, включително техните преамбюли, са версиите, публикувани в Официален вестник на Европейския съюз и налични в EUR-Lex. Тези официални текстове са пряко достъпни чрез връзките, публикувани в настоящия документ

►**B**

ДИРЕКТИВА 92/66/ЕИО НА СЪВЕТА

от 14 юли 1992 година

за въвеждането на мерки на Общността за борба с нюкасълската болест

(ОВ L 260, 5.9.1992 г., стр. 1)

Изменена със:

		Официален вестник		
		№	страница	дата
►**M1**	Регламент (ЕО) № 806/2003 на Съвета от 14 април 2003 година	L 122	1	16.5.2003 г.
►**M2**	Директива 2006/104/ЕО на Съвета от 20 ноември 2006 година	L 363	352	20.12.2006 г.
►**M3**	Директива 2008/73/ЕО на Съвета от 15 юли 2008 година	L 219	40	14.8.2008 г.
►**M4**	Директива (ЕС) 2018/597 на Европейския парламент и на Съвета от 18 април 2018 година	L 103	4	23.4.2018 г.

Изменена със:

►**A1**	Акт относно условията за присъединяване на Република Австрия, Република Финландия и Кралство Швеция и промените в договорите, на които се основава Европейският съюз (94/C 241/08)	C 241	21	29.8.1994 г.
►**A2**	Акт относно условията за присъединяване към Европейския съюз на Чешката република, Република Естония, Република Кипър, Република Латвия, Република Литва, Република Унгария, Република Малта, Република Полша, Република Словения и Словашката република и промените в учредителните договори на Европейския съюз	L 236	33	23.9.2003 г.

▼B

ДИРЕКТИВА 92/66/ЕИО НА СЪВЕТА

от 14 юли 1992 година

за въвеждането на мерки на Общността за борба с нюкасълската болест

Член 1

Без да се засягат разпоредбите на Общността, регулиращи търговията в рамките на Общността, настоящата директива определя мерките за борба на Общността, които трябва да се прилагат в случай на възникване на нюкасълска болест при:

а) домашните птици;

б) състезателни гълъби и други птици, отглеждани в затворени помещения.

Настоящата директива не се прилага, когато нюкасълска болест е открита при диви птици, живеещи на свобода; въпреки това в този случай съответната държава-членка информира Комисията за всички мерки, които взема.

Член 2

За целите на настоящата директива определенията в член 2 от Директива 90/539/ЕИО на Съвета от 15 октомври 1990 г. относно ветеринарно-санитарните изисквания за търговията в Общността и вноса от трети страни на домашни птици и яйца за люпене ([1]) се прилагат при необходимост.

Следните определения също се прилагат:

а) „заразени домашни птици“ са всички домашни птици:

— при които официално е потвърдено наличието на нюкасълска болест след проверка от одобрена лаборатория, или

— в случай на вторично или последващо възникване на заболяването са установени клинични признаци или патологоанатомични изменения, присъщи на нюкасълската болест;

б) „домашни птици, съмнителни за заболяване“ са всички домашни птици, показващи клинични признаци или патологоанатомични изменения от такова естество, че съществува основателно съмнение за наличието на нюкасълска болест;

в) „домашни птици, съмнителни за заразяване“ са всички домашни птици, за които има данни за пряк или непряк контакт с вируса на нюкасълската болест;

г) „кухненски отпадъци“ са отпадъци от кухни, столове, ресторанти или където е приложимо — от предприятия, преработващи месо;

д) „компетентен орган“ е компетентният орган по смисъла на член 2, параграф 6 от Директива 90/425/ЕИО ([2]);

е) „официален ветеринарен лекар“ е ветеринарният лекар, определен от компетентния орган;

([1]) ОВ L 303, 31.10.1990 г., стр. 6. Директива, последно изменена с Директива 91/496/ЕИО (ОВ L 268, 24.9.1991 г., стр. 56).

([2]) Директива 90/425/ЕИО на Съвета от 26 юни 1990 г. относно ветеринарните и зоотехническите проверки, приложими при търговията в Общността с определени видове живи животни и продукти с оглед завършване изграждането на вътрешния пазар (ОВ L 224, 18.8.1990 г., стр. 29). Директива, последно изменена с Директива 91/496/ЕИО (ОВ L 268, 24.9.1991 г., стр. 56).

▼B

ж) „състезателни гълъби“ са гълъби, транспортирани или предназначени да бъдат транспортирани от мястото им за отглеждане, за да бъдат пуснати, така че да долетят обратно до мястото им за отглеждане или до всяко друго определено място;

з) „място за отглеждане на гълъби“ е съоръжение за отглеждане и развъждане на състезателни гълъби.

Член 3

Държавите-членки гарантират задължителното и незабавно обявяване пред компетентния орган на съмнение за наличие на нюкасълска болест.

Член 4

1. Когато в дадено стопанство се намират домашни птици, съмнителни за заболяване или заразяване с нюкасълска болест, държавите-членки гарантират, че официалните ветеринарни лекари ще предприемат официални разследвания, целящи да потвърдят или изключат наличието на болестта, и в частност че ще вземат необходимите проби за лабораторни изследвания.

2. От момента на обявяването на съмнението, компетентният орган поставя стопанството под официален надзор и изисква по-специално:

а) списък на всички категории домашни птици в стопанството, от който да е видно колко птици от всяка категория са умрели, колко показват клинични признаци на заболяване и колко не показват такива признаци; този списък се актуализира, като в него се включват птиците, които са излюпени, или тези от тях, които са умрели през въпросния период; информацията в този списък трябва винаги да бъде актуална, да бъде предоставяна при поискване, като тя може да бъде проверявана при всяко посещение;

б) всички домашни птици от това стопанство да бъдат държани там, където те се отглеждат, или на друго ограничено място, където те могат да бъдат държани изолирани и без досег с други домашни птици;

в) домашните птици да не влизат или да излизат от стопанството;

г) всяко движение:

— на лица, други животни и превозни средства от и за стопанството,

— на месо от домашни птици или на трупове на умрели птици, на храна за животни, на материали, отпадъците, фуражите и торовата постеля или на всичко, което може да пренася зараза от нюкасълска болест, да може да бъде извършвано само с разрешение на компетентния орган;

д) яйцата да не могат да бъдат изнасяни от стопанството, с изключение на яйцата, изпращани направо в предприятие за производство и/или преработка на яйца по член 6, параграф 1 от Директива 89/437/ЕИО ([1]), и които са транспортирани с разрешение, предоставено от компетентния орган; това разрешение трябва да отговаря на изискванията, определени в приложение I;

([1]) Директива 89/437/ЕИО на Съвета от 20 юни 1989 г. относно хигиенните и санитарните проблеми, свързани с производството и предлагането на пазара на яйчни продукти (ОВ L 272, 22.7.1989 г., стр. 87). Директива, последно изменена с Директива 89/662/ЕИО (ОВ L 395, 30.12.1989 г., стр. 13).

▼B

е) използването на подходящи средства за дезинфекция на входовете и изходите на сградите, където се помещават птиците, както и на самото стопанство;

ж) извършването на епизоотично проучване съгласно член 7.

3. Докато официалните мерки, предвидени в параграф 2, бъдат приложени, собственикът или отговарящият за домашните птици, за които съществува съмнение, че са болни, предприема всички разумни действия, за да гарантира спазването на параграф 2, с изключение на буква ж) от него.

4. Компетентният орган може да приложи която и да е от мерките по параграф 2 и за други стопанства в случаите, когато местоположението, конфигурацията или контактите им със стопанството, за което съществува съмнение за наличието на болест, дават основания да се подозира възможно заразяване.

5. Мерките по параграфи 1 и 2 не се прекратяват до момента, в който официалният ветеринарен лекар не оттегли съмненията си за наличие на нюкасълска болест.

Член 5

1. Когато наличието на нюкасълска болест за едно стопанство е официално потвърдено, държавите-членки гарантират, че компетентният орган ще изиска в допълнение на мерките по член 4, параграф 2, взимането и на следните мерки:

а) незабавното унищожаване в стопанството на всички домашни птици; яйцата на умрелите или унищожените домашни птици също трябва да бъдат унищожени; всички тези действия трябва да бъдат извършени по начин, който намалява риска от разпространение на болестта;

б) всяко вещество или отпадък, като храна за животни, торова постеля и друго, което може да бъде заразено, трябва да бъде унищожено или съответно обработено; тази обработка, извършвана съгласно инструкциите на официалния ветеринарен лекар, трябва да гарантира унищожението на всички налични вируси на нюкасълската болест;

в) когато домашните птици са били заклани по време на предполагаемия инкубационен период на болестта, месото от тези домашни птици трябва да бъде, доколкото е възможно, проследено и унищожено;

г) яйцата за люпене, снесени по време на предполагаемия инкубационен период, трябва да бъдат проследени и унищожени, но птиците, които са се излюпили от такива яйца, трябва да бъдат поставени под официален надзор; яйцата за консумация, снесени по време на предполагаемия инкубационен период, трябва да бъдат отстранени от стопанството и да бъдат проследени и унищожени освен в случаите, когато са били предварително надлежно дезинфекцирани;

д) след извършването на действията, предвидени в букви а) и б), сградите, използвани за отглеждане на домашни птици, околните площи, превозните средства и оборудването, които вероятно може да са заразени, трябва да бъдат почистени и дезинфекцирани съгласно разпоредбите на член 11;

е) в рамките на 21 дни след приключване на действията по буква д) в това стопанство не трябва да бъдат въвеждани отново домашни птици;

ж) епизоотичното проучване се извършва в съответствие с член 7.

▼B

2. Компетентният орган може да разпростре мерките, предвидени в параграф 1, и върху други съседни стопанства, в случаите когато местоположението, конфигурацията или контактите им със стопанството, в което е потвърдено наличието на болест, дават основания за съмнение за възможно заразяване.

3. Когато щам от вирус на нюкасълска болест с ICPI (интрацеребрален патогенен индекс), по-голям от 0,7 и по-малък от 1,2, се изолира в стадо домашни птици, което не проявява клинични признаци на нюкасълска болест, и е било установено от референтната лаборатория на Общността, посочена в член 15, че въпросният изолиран вирус произлиза от отслабена жива ваксина за нюкасълска болест, компетентният орган може да предостави дерогация от изискванията съгласно параграф 1, букви а) — е), при условие че съответното стопанство е поставено под официален надзор за 30 дни и трябва да изисква по-специално:

— прилагането на разпоредбите на член 4, параграф 2, букви а), б), г), д) и е),

— домашни птици да не могат да напускат стопанството, освен за да бъдат отведени директно в кланицата, определена от компетентния орган.

Компетентният орган, отговорен за тази кланица, трябва да бъде информиран за намерението там да се изпращат домашни птици за клане и веднага след пристигането в кланицата те трябва да бъдат държани и клани отделно от другите домашни птици.

4. Прясното месо от домашните птици, посочени в параграф 3 от настоящия член, трябва да носи здравната маркировка, предвидена в член 5, параграф 1 от Директива 91/494/ЕИО.

5. Разпоредбите, предвидени в параграф 3, подлежат на преразглеждане, като се вземе предвид развитието в научните изследвания с оглед приемане на хармонизирани правила за използването на ваксини за нюкасълската болест в Общността.

Член 6

В случаите на стопанства, в които има две или повече отделни стада птици, съгласно критериите, определени от Комисията, и съгласно процедурата, предвидена в член 25, компетентният орган може да разреши дерогиране от изискването на член 5, параграф 1 да не се прилага по отношение на здравото стадо, намиращо се в заразено стопанство, при условие че официалният ветеринарен лекар е потвърдил, че проведените там дейности са така извършени, че стадата са напълно отделни, що се отнася до подслона, гледането и храненето им, така че вирусът не може да се пренесе от едното стадо на другото.

Член 7

1. Епизоотичното проучване се отнася до:

— периода, през който нюкасълската болест е съществувала в стопанството или в мястото за отглеждане на гълъби;

— вероятния произход на нюкасълската болест в стопанството или в мястото за отглеждане на гълъби и определянето на други стопанства или места за отглеждане на гълъби, в които има домашни птици, гълъби или други птици, отглеждани в затворени помещения, които може да са били заразени от същия източник;

▼B

— движението на лица, домашни птици, гълъби или други птици, отглеждани в затворени помещения, или други животни, превозни средства, яйца, месо или трупове и всички инструменти или други вещества, които може да са пренесли вируса на нюкасълска болест до или от въпросното стопанство или мястото за отглеждане на гълъби.

2. С оглед пълна координация на всички мерки, необходими за ликвидирането на нюкасълската болест възможно най-бързо, и с цел извършване на епизоотичното проучване се създава кризисна група.

Общите правила за националните кризисни групи и за кризисните групи на Общността се определят с квалифицирано мнозинство от Съвета по предложение на Комисията.

Член 8

1. Когато официалният ветеринарен лекар има основателни съмнения, че домашни птици в дадено стопанство са били заразени в резултат на движението на лица, животни или превозни средства или по някакъв друг начин, то съответното стопанство се поставя под официален контрол съгласно параграф 2.

2. Целта на официалния контрол е незабавно да се провери всяко едно съмнение за наличието на нюкасълска болест, да се преброяват домашните птици, да се следи движението им и когато се налага, да се предприеме някое от действията, предвидени в параграф 3.

3. Когато едно стопанство е обект на официалния контрол по параграфи 1 и 2, компетентният орган забранява извозването на домашни птици от стопанството освен под официален надзор направо към кланицата, където се пристъпва към незабавно клане. Преди да даде такова разрешение, официалният ветеринарен лекар трябва да е извършил клиничен преглед на всички домашни птици, за да изключи наличието на нюкасълска болест в стопанството. Ограниченията за движение, посочени в настоящия член, се налагат за период от 21 дни, считано от последния ден на потенциалното заразяване. Въпреки това ограниченията от такова естество трябва да се прилагат за период поне от седем дни.

4. Когато счете, че условията позволяват, компетентният орган може да ограничи мерките по този член до част от стопанството и до домашните птици, които се намират там, при условие че тези домашни птици са подслонени, гледани и хранени отделно и от отделен персонал.

5. Когато официалният ветеринарен лекар има причина да се съмнява за заразяване на състезателни гълъби или на място за отглеждане на гълъби с вируса на нюкасълската болест, той взема всички подходящи мерки, за да гарантира, че мястото за отглеждане на гълъби подлежи на ограничения, включително забрана за всякакво движение на състезателни гълъби извън мястото за отглеждане на гълъби за 21 дни.

Член 9

1. Когато диагнозата за нюкасълска болест се потвърди официално, държавите-членки гарантират, че компетентният орган определя предпазна зона около заразеното стопанство, която трябва да се простира в радиус от поне три километра, като самата тази зона се включва в надзорна зона с радиус от десет километра. Определянето на тези зони трябва да отчита географските, административните, екологичните и епизоотичните фактори, свързани с нюкасълската болест и с оборудването за контрол.

▼B

2. Мерките, прилагани в предпазната зона, включват:

а) идентифициране на всички птицевъдни стопанства в зоната;

б) периодични посещения във всички птицевъдни стопанства, клинични прегледи на домашните птици и ако е необходимо, взимането на проби за лабораторни изследвания, като за посещенията и за наблюденията трябва да се води регистър;

в) държането на всички домашни птици в помещенията, където живеят, или на друго място, където те могат да бъдат изолирани;

г) използването на подходящи средства за дезинфекция на входовете и на изходите на стопанството;

д) контрол върху движението на лица, които се занимават с домашни птици, труповете на умрели домашни птици и с яйца, както и върху превозните средства, които транспортират домашни птици, труповете на домашни птици и яйца в рамките на зоната; по принцип транспортът на домашни птици се забранява освен в случаите на транзит по големите магистрали или железопътни пътища;

е) забрана за преместване на домашни птици и яйца за люпене от стопанството освен в случаите, когато е дадено разрешение от компетентния орган за транспорт на:

i) на домашни птици за незабавно клане в кланица, разположена за предпочитане в заразената зона, или в случаите, когато това не е възможно, в кланица, намираща се извън заразената зона и определена от компетентния орган; върху птичето месо трябва да бъде поставена специалната здравна маркировка, предвидена в член 5, параграф 1 от Директива 91/494/ЕИО ([1]);

ii) на еднодневни пилета или на ярки, готови да снасят, до стопанство в рамките на надзорната зона, в което няма други домашни птици; въпреки това на държавите-членки, които не могат да предоставят транспорт за еднодневни пилета или готови за снасяне ярки в стопанство в рамките на надзорната зона, се разрешава съгласно процедурата, предвидена в член 25, да транспортират посочените пилета и ярки до стопанство извън надзорната зона; тези стопанства трябва да бъдат поставени под официалния контрол, предвиден в член 8, параграф 2;

iii) на яйца за люпене до люпилня, посочена от компетентния орган, като преди изпращането им яйцата и опаковката им се подлагат на дезинфекция.

Движенията, позволени по i), ii) и iii), се извършват директно, под официален контрол. Те се разрешават само след като официалният ветеринарен лекар е извършил здравна инспекция на стопанството. Използваните превозни средства трябва да бъдат почистени и дезинфекцирани преди и след употреба;

ж) забрана за отстраняване или разпръскване на отпадъци или птичи тор без разрешение;

([1]) Директива 91/494/ЕИО на Съвета от 26 юни 1991 г. относно ветеринарно-санитарните условия, регулиращи търговията в Общността и вноса от трети страни на прясно птиче месо (ОВ L 268, 24.9.1991 г., стр. 35).

▼B

з) забрана за организиране на панаири, пазари, представления и други струпвания на домашни или други птици.

3. Приложените в предпазната зона мерки траят минимум 21 дни, считано от деня, когато са извършени предварителното почистване и дезинфекцията на заразеното стопанство съгласно член 11, след което предпазната зона става част от надзорната зона.

4. Мерките, прилагани в надзорната зона, включват:

а) идентифициране на всички птицевъдни стопанства в зоната;

б) контрол върху движението в рамките на зоната на домашни птици и на яйца за люпене;

в) забрана за изнасяне на домашни птици извън зоната през първите 15 дни с изключение на отвеждането на домашни птици директно до посочената от компетентния орган кланица; върху птичето месо трябва да бъде поставена специалната здравна маркировка, предвидена в член 5 от Директива 91/494/ЕИО;

г) забрана за изнасяне на яйца за люпене извън надзорната зона, освен до люпилня, определена от компетентния орган. Преди изпращане яйцата и техните опаковки трябва да бъдат дезинфекцирани;

д) забрана за изнасянето на отпадъци или на птичи тор извън зоната;

е) забрана за организиране на панаири, пазари, представления и други струпвания на домашни и на други птици;

ж) при спазване на разпоредбите на букви а) и б), забрана за транспортиране на домашни птици освен в случаите на транзит по големите магистрали или железопътни пътища.

5. Приложените в надзорната зона мерки траят минимум 30 дни, считано от деня, когато са извършени предварителното почистване и дезинфекцията на заразеното стопанство съгласно член 11.

6. Когато зоните са разположени на територията на повече от една държава-членка, компетентните органи на съответните държави-членки си сътрудничат при определянето на зоните, описани в параграф 1. Въпреки това при необходимост предпазната зона и надзорната зона се определят по процедурата, предвидена в член 25.

7. Когато епизоотичното проучване, посочено в член 7, потвърди, че възникването се дължи на инфекция и когато няма доказателства за странично разпространение, размерът и продължителността на предпазните зони и надзорните зони могат да бъдат намалени съгласно процедурата, определена в член 25.

Член 10

Държавите-членки гарантират, че:

а) компетентният орган определя правилата, за да може да се проследява движението на яйца, домашни птици и птици, отглеждани в затворени помещения;

б) собственикът или отговарящият за домашните птици и/или състезателните гълъби, и/или птиците, отглеждани в затворени помещения, при поискване от компетентния орган предоставя информация за домашните птици и яйцата, които влизат или излизат от неговото стопанство, а също и информация за състезанията или изложбите, в които състезателните гълъби са участвали;

▼B

в) всички лица, ангажирани в транспорта или в търговията на домашни птици, яйца, състезателни гълъби и птици, отглеждани в затворени помещения, могат да предоставят на компетентния орган информация за движение на домашните птици, яйцата, състезателните гълъби и птиците, отглеждани в затворени помещения, които те са транспортирали или чиято търговия са организирали, както и да предоставят всички подробности, свързани с тази информация.

Член 11

Държавите-членки гарантират, че:

а) използваните дезинфектанти и техните концентрати са официално одобрени от компетентния орган;

б) действията по почистване и дезинфекция са извършвани под официален надзор в съответствие със:

(i) указанията, дадени от официалния ветеринарен лекар;

(ii) процедурата по почистване и дезинфекциране на заразено стопанство, така както е изложена в приложение II.

Член 12

Вземането на проби и лабораторните тестове за определяне наличието на нюкасълска болест се извършват съгласно приложение III.

Член 13

Държавите-членки гарантират, че компетентният орган взема всички необходими мерки относно това лицата, установени в предпазната зона и надзорната зона, да са информирани относно действащите ограничения и създава всички необходими разпоредби за надлежното прилагане на въпросните мерки.

Член 14

1. Държавите-членки гарантират, че във всяка държава-членка са определени:

а) национална лаборатория, в която има необходимото оборудване и експертен персонал, за да се позволи пълно антигенно и биологично записване на вируса на нюкасълската болест по всяко време и за да се потвърждават резултатите, получени в регионалните диагностични лаборатории;

б) национална лаборатория, в която се тестват реагентите за употреба в регионалните лаборатории;

в) национален институт или лаборатория, където ваксините, позволени за профилактична употреба в страната или складирани за употреба по спешност, могат да бъдат тествани за ефикасност, действие и чистота.

▼M3

2. Националните лаборатории, посочени в параграф 1, отговарят за координирането на стандартите и методите за диагностициране, използването на реагенти и тестването на ваксини.

3. Националните лаборатории, посочени в параграф 1, отговарят за координиране на стандартите и на диагностичните методи, определени във всяка лаборатория за диагностика на нюкасълска болест на територията на държавата-членка. За целта:

▼B

а) те могат да предоставят на националните лаборатории реагенти за диагностициране;

б) те упражняват контрол за качеството на всички реагенти за диагностициране, използвани в държавата-членка;

в) те периодично провеждат сравнителни тестове;

г) те притежават проби от вируса на нюкасълската болест от случаи, потвърдени в държавата-членка;

д) те гарантират потвърждаването на положителни резултати, получени в регионалните диагностични лаборатории.

▼M3

4. Националните лаборатории, посочени в параграф 1, поддържат връзка с референтната лаборатория на Общността, посочена в член 15.

5. Държавите-членки поддържат актуализирани списъци на националните лаборатории или институти, посочени в параграф 1, и ги предоставят на останалите държави-членки и на обществеността.

Подробни правила за еднаквото прилагане на настоящия параграф могат да се приемат в съответствие с процедурата, посочена в член 25, параграф 2.

▼M4

Член 15

1. Комисията определя референтна лаборатория на Европейския съюз за нюкасълска болест чрез актове за изпълнение. Тези актове за изпълнение се приемат в съответствие с процедурата по разглеждане, посочена в член 25.

2. Функциите и задълженията на референтната лаборатория на Европейския съюз за нюкасълска болест са:

а) да координира, като се консултира с Комисията, методите, използвани в държавите членки за диагностициране на нюкасълска болест, по-конкретно чрез:

i) типиране, съхраняване и снабдяване с щамове на вируса на нюкасълската болест за серологични тестове и изготвяне на антисеруми;

ii) снабдяване на националните референтни лаборатории със стандартни серуми и други референтни реагенти с цел стандартизиране на тестовете и реагентите, използвани в държавите членки;

iii) създаване и поддържане на набор от щамове и изолати на вируса на нюкасълската болест;

iv) организиране на периодични сравнителни изпитвания на процедурите за диагностициране на равнището на Съюза;

v) събиране и сверяване на данни и информация относно използваните диагностични методи и резултатите от извършваните в Съюза тестове;

vi) характеризиране на изолатите от вирусите на нюкасълската болест с най-съвременни методи, които да спомогнат за по-доброто разбиране на епидемиологията на нюкасълската болест;

▼M4

vii) анализ на световното развитие в областта на надзора над нюкасълската болест, на епидемиологията и на профилактиката;

viii) поддържане на експертни знания във връзка с вируса на нюкасълската болест и други имащи отношение вируси, за да се способства извършването на ускорено диференциално диагностициране;

ix) придобиване на задълбочени познания относно изготвянето и употребата на продуктите на ветеринарната имунология, използвани за ликвидиране и контрол на нюкасълската болест;

б) да подпомага активно диагностицирането при поява на огнища на нюкасълска болест в държавите членки, като приема вирусни изолати за потвърждаващо диагностициране, характеризиране и епидемиологични проучвания;

в) да улеснява обучението и преквалификацията на експерти в областта на лабораторното диагностициране с цел хармонизация на методите в рамките на Съюза.

▼B

Член 16

1. Държавите-членки гарантират, че:

а) ваксинация срещу нюкасълска болест с ваксини, разрешени от компетентния орган, може да бъде използвана за профилактични цели или за да се допълнят мерките за борба, взети при появата на болестта;

б) единствените разрешени ваксини са тези, които са получили разрешение за търговия от компетентния орган на държавата-членка, в която се използва ваксината.

2. Допълнителни критерии за използването на ваксини срещу нюкасълска болест могат да бъдат установявани съгласно процедурата, предвидена в член 25.

Член 17

1. Държава-членка, в която се извършва доброволна или задължителна профилактична ваксинация срещу нюкасълска болест, информира Комисията и другите държави-членки.

2. Информацията, предоставена съгласно параграф 1, трябва да определя:

— характеристиките и състава на ваксината, която се използва,

— процедурите за надзор на разпределението, съхранението и употребата на ваксините,

— видовете и категориите домашни птици, които могат или подлежат на ваксинация,

— зоните, в които ваксинация би могла или се извършва,

— причините, поради които се извършва ваксинация.

▼B

3. Държавите-членки могат да предвидят създаване на програма за ваксиниране на състезателни гълъби. В този случай те трябва да информират Комисията. Без да се засяга подобна програма, държавите-членки гарантират, че организаторите на състезания и изложби предприемат необходимите мерки, така че само състезателни гълъби, които са ваксинирани срещу нюкасълска болест, да могат да участват в състезания и изложби.

4. Подробните правила за прилагане на настоящия член, по-специално относно критериите, които трябва да се приемат, и всякакви дерогации, които могат да бъдат правени с оглед здравния статус на държавите-членки, се определят съгласно процедурата, предвидена в член 25.

Член 18

1. Държавите-членки гарантират, че когато се потвърди нюкасълска болест, компетентният орган, за да допълни другите мерки за борба, предвидени в настоящия регламент, може да определи териториалната зона и периода, в който се извършва своевременна и систематична ваксинация (спешна ваксинация) на определените видове домашни птици под официален контрол. Държавата-членка, прилагаща спешна ваксинация, информира Комисията и другите държави-членки в рамките на Постоянния ветеринарен комитет, създаден с Решение 68/361/ЕИО ([1]), за положението с нюкасълската болест и спешната програма за ваксинация.

2. В случая, посочен в параграф 1, се забранява ваксинацията или реваксинацията на домашни птици в стопанството, подлежащо на ограниченията, посочени в член 4.

3. В случая, посочен в параграф 1:

а) определените видове домашни птици се ваксинират колкото е възможно по-бързо;

б) всички домашни птици от определените видове, родени или пренесени в стопанство вътре в зоната за ваксиниране, трябва да бъдат или да са били ваксинирани;

в) по време на операцията по ваксинирането, предвидена в параграф 1, всички домашни птици от определените видове, държани в стопанства вътре в зоната за ваксиниране, трябва да останат там освен:

— еднодневни пилета, преместени в стопанство вътре в зоната за ваксиниране, където се ваксинират;

— домашни птици, преместени директно в кланица за незабавно клане; ако кланицата се намира извън зоната за ваксиниране, движението на домашни птици следва да се разреши само след като официалният ветеринарен лекар е извършил здравна инспекция на стопанството;

([1]) ОВ L 255, 18.10.1968 г., стр. 23.

▼B

г) когато операциите по ваксинирането, предвидени в буква а), са завършени, движение извън зоната за ваксиниране може да бъде разрешено за:

— еднодневни пилета, предназначени за производство на месо, които могат да бъдат преместени в стопанство, където да бъдат ваксинирани; въпросното стопанство трябва да бъде под наблюдение, докато домашните птици, които са преместени, бъдат заклани,

— домашни птици, ваксинирани преди повече от 21 дни и предназначени за незабавно клане,

— яйца за люпене, които произхождат от домашни птици за развъждане, ваксинирани поне 21 дни предварително; яйцата и техните опаковки трябва да бъдат дезинфекцирани преди преместването.

4. Мерките, предвидени в букви б) и г) от параграф 3, се прилагат за период от три месеца след завършването на операциите по ваксинирането, предвидени в параграф 1; те могат да бъдат разширени за един или повече допълнителни периода от три месеца.

5. Чрез дерогация от букви а) и б) от параграф 3 компетентните органи могат да освободят определени стада със специфична научна стойност от систематичната ваксинация, при условие че всички необходими мерки са взети от компетентния орган, за да се гарантира защитата на тяхното здраве и че са подложени на периодични серологични проверки.

6. Комисията проследява развитието на ситуацията на болестта и ако е необходимо, може съгласно процедурата, предвидена в член 25, да вземе решение, по-специално във връзка с контрола на движение и ваксинацията.

Член 19

1. Когато по отношение на пощенски гълъби или птици, отглеждани в затворени помещения, съществува съмнение, че са заболели от нюкасълска болест, държавите-членки гарантират, че официалният ветеринарен лекар незабавно предприема официално разследване за потвърждаване или уведомяване за наличието на болестта; по-специално той взема подходящи проби за лабораторно изследване или проследява, че те са взети.

2. Веднага след обявяването на съмнението компетентният орган поставя стопанството или мястото за отглеждане на гълъби под официален надзор, за да не може гълъб или птица, отглеждани в затворени помещения, и никакъв обект, който може да пренесе нюкасълската болест, да напусне мястото за отглеждане на гълъби или стопанството.

3. Мерките, предвидени в параграфи 1 и 2, не се отменят, докато съмнението за нюкасълска болест не се отмени от официалния ветеринарен лекар.

4. Веднага след официалното потвърждаване на наличието на нюкасълска болест компетентният орган, *inter alia*, налага:

а) прилагането на контрол и мерки за ликвидиране, предвидени в член 5, параграф 1, букви а), б), д) и е), спрямо пощенски гълъби или птици, отглеждани в затворени помещения и места за отглеждане на гълъби, заразени с нюкасълска болест; или

▼B

б) най-малко:

i) забрана за движение на гълъби или птици, отглеждани в затворени помещения, извън мястото за отглеждане на гълъби или стопанството за поне 60 дни след изчезването на клиничните признаци на нюкасълската болест;

ii) разрушаване или третиране на всяка материя или отпадък, които може да са заразени; третирането трябва да гарантира разрушаването на всякакъв наличен вирус на нюкасълската болест и всички отпадъци, събрани по време на 60-дневния период, посочен в i);

в) епизоотичното проучване в съответствие с член 7.

▼M4

5. До степента, която се изисква за правилното прилагане на мерките, предвидени в настоящия член, държавите членки предоставят на Комисията, в рамките на Постоянния комитет по растенията, животните, храните и фуражите, информация за положението във връзка с болестта и прилаганите мерки за контрол.

6. Комисията може, чрез актове за изпълнение, да определя правила относно информацията, която държавите членки трябва да предоставят на Комисията съгласно параграф 5 от настоящия член. Тези актове за изпълнение се приемат в съответствие с процедурата по разглеждане, посочена в член 25.

▼B

Член 20

1. Използването на кухненски отпадъци от средства за международен транспорт, като кораби, наземни или въздушни превозни средства се забранява за хранене на домашни птици; такива кухненски отпадъци се събират и унищожават под официален контрол.

2. Употребата на кухненски отпадъци, различни от тези, определени в параграф 1, или парчета от домашни птици може да бъде разрешена за хранене на домашни птици само след топлинна обработка в подходящи съоръжения, гарантираща, че болестта не се пренася и вирусът на нюкасълската болест е унищожен.

3. Ако е необходимо, Комисията съгласно процедурата, предвидена в член 25, определя подробните правила за прилагане на параграф 2.

▼M4

Член 21

1. Всяка държава членка изготвя план за действие в извънредни ситуации, в който определя националните мерки, които трябва да бъдат прилагани при поява на огнища на нюкасълска болест. Планът за действие в извънредни ситуации се актуализира, когато е целесъобразно, с цел да бъдат отчетени промените в положението.

Планът за действие в извънредни ситуации позволява достъп до съоръженията, оборудването, персонала и всички други подходящи материали, необходими за бързото и ефективно ликвидиране на огнището на болестта. В него изрично се посочват задължителните ваксини, които всяка държава членка счита за необходими за спешна ваксинация.

▼M4

2. Плановете за действие в извънредни ситуации, както и всички техни актуализации, се представят на Комисията.

3. Комисията разглежда плановете за действие в извънредни ситуации и всички техни актуализации, за да определи дали те позволяват постигането на желаната цел и предлага на съответната държава членка необходимите изменения, по-специално с цел да се осигури съвместимостта им с плановете на другите държави членки.

Комисията одобрява плановете за действие в извънредни ситуации и всички техни актуализации, при необходимост — след като те бъдат изменени, в съответствие с процедурата по разглеждане, посочена в член 25.

4. Комисията може, чрез актове за изпълнение, да определи критериите, които държавите членки трябва да прилагат при изготвянето на плановете за действие в извънредни ситуации. Тези актове за изпълнение се приемат в съответствие с процедурата по разглеждане, посочена в член 25.

▼B

Член 22

С оглед еднаквото приложение на настоящата директива и в сътрудничество с компетентните органи експерти на Комисията могат да извършват проверки на място. С тази цел те могат да проверят представителен процент стопанства, за да установят дали компетентните органи проверяват дали тези стопанства спазват изискванията на настоящата директива. Комисията уведомява държавите членки за резултата от тези проверки.

Държавата членка, на територията на която се извършва проверката, трябва да окаже цялото необходимо съдействие на експертите при изпълнение на задачите им.

Общите разпоредби за приложението на този член се определят съгласно процедурата, установена в член 25.

Член 23

Подробните условия, регулиращи финансовото участие на Общността в мерките, свързани с прилагането на настоящата директива, са установени в Решение 90/424/ЕИО.

Член 24

Приложенията се изменят, ако и когато е необходимо, от Съвета с квалифицирано мнозинство по предложение на Комисията, в частност за да се отчете развитието в изследователската дейност и в процедурите по диагностициране.

▼**M4**

Член 25

1. Комисията се подпомага от Постоянния комитет по растенията, животните, храните и фуражите, създаден с член 58, параграф 1 от Регламент (ЕО) № 178/2002 на Европейския парламент и на Съвета ([1]). Този комитет е комитет по смисъла на Регламент (ЕС) № 182/2011 на Европейския парламент и на Съвета ([2]).

2. При позоваване на настоящия член се прилага член 5 от Регламент (ЕС) № 182/2011.

▼**B**

Член 26

1. Държавите-членки въвеждат в сила законовите, подзаконовите и административните разпоредби, необходими, за да се съобразят с настоящата директива преди 1 октомври 1993 г. Те незабавно информират Комисията за това.

Когато държавите-членки приемат тези мерки, в тях се съдържа позоваване на настоящата директива или то се извършва при официалното им публикуване. Условията и редът на позоваване се определят от държавите-членки.

2. Държавите-членки уведомяват Комисията за текста на разпоредбите от националното законодателство в областта, уредена с настоящата директива.

Член 27

Адресати на настоящата директива са държавите-членки.

([1]) Регламент (ЕО) № 178/2002 на Европейския парламент и на Съвета от 28 януари 2002 г. за установяване на общите принципи и изисквания на законодателството в областта на храните, за създаване на Европейски орган за безопасност на храните и за определяне на процедури относно безопасността на храните (ОВ L 31, 1.2.2002 г., стр. 1).

([2]) Регламент (ЕС) № 182/2011 на Европейския парламент и на Съвета от 16 февруари 2011 г. за установяване на общите правила и принципи относно реда и условията за контрол от страна на държавите членки върху упражняването на изпълнителните правомощия от страна на Комисията (ОВ L 55, 28.2.2011 г., стр. 13).

▼B

ПРИЛОЖЕНИЕ I

РАЗРЕШЕНИЕ ЗА ИЗНАСЯНЕТО НА ЯЙЦА ОТ СТОПАНСТВО, КОЕТО Е ОБЕКТ НА УСЛОВИЯТА ПО ЧЛЕН 4, ПАРАГРАФ 2, БУКВА Д) ОТ НАСТОЯЩАТА ДИРЕКТИВА

Издаденото от компетентния орган разрешение за изнасянето на яйца от стопанство, за което съществуват съмнения, обект на разпоредбите по член 4, параграф 2, буква д), до предприятие, одобрено за производството и преработката на яйчни продукти съгласно разпоредбите на член 6, параграф 1 от Директива 89/437/ЕИО, наричано по-долу „определено предприятие“, трябва да отговаря на следните условия:

1. за да бъде позволено да напуснат стопанството, за което съществуват съмнения, яйцата трябва:

   а) да отговарят на изискванията, предвидени в глава IV от приложението към Директива 89/437/ЕИО;

   б) да бъдат изпратени директно от стопанството, за което съществуват съмнения, до определеното предприятие, като преди изпращането всяка партида трябва да бъде запечатана от официалния ветеринарен лекар, отговарящ за стопанството, за което съществуват съмнения, и трябва да остане запечатана през целия период на транспорта до посоченото предприятие;

2. официалният ветеринарен лекар на съответното стопанство трябва да осведоми компетентния орган на определеното предприятие за намерението си да изпрати яйца там;

3. компетентният орган на определеното предприятие трябва да гарантира:

   а) яйцата, посочени в точка 1, буква б), да бъдат държани отделно от момента на пристигането им до момента на преработката им;

   б) черупките на тези яйца да се разглеждат като високорисков материал съгласно член 2, параграф 2 от Директива 90/667/ЕИО ([1]) и те да бъдат обработвани съгласно изискванията на глава II от посочената директива;

   в) опаковъчният материал, транспортните средства, използвани за транспортирането на яйца, посочени в точка 1, буква б), и всички помещения, с които яйцата влизат в досег, да се почистват и дезинфекцират по такъв начин, че да се унищожават всички вируси на нюкасълската болест;

   г) официалният ветеринарен лекар на стопанството, за което съществуват съмнения, да бъде информиран за всички партиди с преработени яйца.

([1]) Директива 90/667/ЕИО на Съвета от 27 ноември 1990 г. относно ветеринарните правила за унищожаване и преработка на животински отпадъци, тяхното пускане на пазара и предотвратяване на патогени във фуражите от животински или рибен произход, и за изменение на Директива 90/425/ЕИО (ОВ L 363, 27.12.1990 г., стр. 51).

▼B

ПРИЛОЖЕНИЕ II

ПРОЦЕДУРА ЗА ПОЧИСТВАНЕ И ДЕЗИНФЕКЦИРАНЕ НА ЗАРАЗЕНО СТОПАНСТВО

I. **Предварително почистване и дезинфекциране**

а) След като труповете на домашни птици са отстранени за унищожаване, тези части от помещенията, където са били подслонени домашните птици, и другите части от сградите, от дворовете и други, които са заразени по време на клане и по време на следкланичен преглед, трябва да бъдат напръскани с одобрени за употреба дезинфектанти съгласно член 11 от настоящата директива.

б) Всяка тъкан от домашна птица или от яйца, която може да зарази сградите, дворовете, инструментите и други, следва да бъде внимателно събрана и унищожена заедно с труповете.

в) Използваният дезинфектант трябва да се задържи върху повърхностите в продължение на поне 24 часа.

II. **Окончателно почистване и дезинфекция**

а) Мазнините и мръсотията следва да бъдат отстранени от всички повърхности посредством обезмаслител и да бъдат изплакнати с вода.

б) След изплакването с вода, както е описано в буква а), следва отново да се напръска с дезинфектант.

в) След изтичането на седем дни помещенията следва да бъдат обработени с обезмаслител, да бъдат изплакнати със студена вода, да бъдат напръскани с дезинфектант и след това отново да бъдат изплакнати с вода.

г) Отпадъците и торът следва да бъдат обработени по начин, при който се унищожава вирусът. Този метод трябва да включва една от следните практики:

i) изгаряне или обработка на пара при температура от 70 °C;

ii) достатъчно дълбоко закопаване в земята, за да се избегне достъпът на вредители и диви птици;

iii) струпването и овлажняването (ако е необходимо за ускоряване на ферментацията), покриването, за да се запази температурата, като трябва да се поддържа температура от 20 °C и да се оставят така в продължение на 42 дни, за да се избегне достъпът на вредители и диви птици.

▼B

ПРИЛОЖЕНИЕ III

ДИАГНОСТИЧНИ ПРОЦЕДУРИ ЗА ПОТВЪРЖДАВАНЕ И ДИФЕРЕНЦИАЛНА ДИАГНОЗА НА НЮКАСЪЛСКА БОЛЕСТ

Изброените по-долу процедури за изолация и характеризиране на вирусите на нюкасълска болест трябва да бъдат разглеждани като насоки и минимални изисквания, които следва да бъдат прилагани при диагностицирането на болестта.

Вирусът, отговорен за нюкасълската болест, е прототипният вирус на Paramyxoviridae. Понастоящем съществуват девет серологично различими групи парамиксовируси по птиците, които са открити, от PMV-1 до PMV-9. Всички вируси на нюкасълската болест се намират в групата PMV-1. За целите на диагностични процедури за потвърждаване и диференциална диагноза на нюкасълска болест е приложимо следното определение:

„нюкасълска болест“ е инфекция на домашни птици, причинена от всеки щам на парамиксовирус 1 по птиците с интрацеребрален патогенен индекс (ICPI), при еднодневни пилета, по-голям от 0,7.

ГЛАВА I

Вземане и обработка на проби

1. *Проби*

Взети с памук клоакални смивки (или проби от изпражненията) и от трахеята на болни птици, изпражнения, вътрешности, трахеи, бели дробове, черен дроб, далак или от други видимо засегнати органи от наскоро умрели птици.

2. *Разработване на материалите*

Органите и тъканите по параграф 1 могат да бъдат сборни, но при всички случаи фекалиите са в отделна проба. Смивките се поставят в среда с антибиотици, осигуряваща пълното им потапяне. Пробите се хомогенизират чрез стриване или в хаван с пестик и стерилен пясък, или чрез хомогенизатор. Изготвя се 10 — 20 % w/v суспензия в антибиотична среда. Суспензията се инкубира за около 2 часа при стайна температура или на 4 °C за 12 — 24 часа. Грубите съставки в суспензията се отстраняват чрез центрофугиране на 800 — 1000 г за 10 мин.

3. *Антибиотична среда*

Различните лаборатории са използвали успешно различни разтвори на антибиотици и лабораториите, посочени в приложение II, могат да предоставят съвет на някоя страна. За фекални проби се изисква висока концентрация на антибиотици — най-често 10000 международни единици пеницилин, 10 мг стрептомицин, 0,25 мг гентамицин и 5000 единици микостатин за 1 мл суспензия във фосфатен буферен разтвор (PBS). Тези нива на антибиотици могат да бъдат намалени 5-кратно за останалите тъкани и трахеалните смивки. Хламидиите се обезвреждат чрез добавка на 50 мг/мл окситетрациклин. Абсолютно задължително е киселинността (pH) на средата след прибавяне на антибиотици да се коригира до 7,0 — 7,4.

ГЛАВА 2

Изолиране на вируса

Изолиране на вируса в зародишите в яйцата

Изолирането на вируса се извършва в 8—10-дневни кокоши ембриони (КЕ), като обработената суспензия (супернатантът) се инокулира алантоисно в обем 0,1 — 0,2 мл/КЕ. За всяка проба се използват минимум 4 КЕ. Предпочитат се КЕ от стада, свободни от патогенна флора (СПФ). При липса на такива се използват КЕ от стада, които не показват наличие на антитела срещу вируса на нюкасълската болест. Инокулираните ембриони се инкубират на 37 °C и се овоскопират ежедневно. Умрелите и умиращите

▼B

КЕ и всички останали живи след 6-ия ден на инкубацията се подлагат на охлаждане при 4 °C. Аланто-амнионовите течности се изследват за хемаглутинационна активност (ХА). Ако не се установи хемаглутинация, описаната процедура се повтаря, като за инокулум се използва неразредена аланто-амнионова течност от предходния пасаж.

При положителна хемаглутинация трябва да се изключи присъствието в културата на хемаглутиниращи бактерии. При наличие на бактерии течността се пропуска през филтърна мембрана с размер на порите 450 нанометри (nm), след което към нея се добавят антибиотици и с нея се инокулират ембрионите по начин, посочен по-горе.

ГЛАВА 3

Диференциална диагноза

1. *Предварителна диференциация*

Предвижда се, че всички хемаглутиниращи вируси следва да бъдат представени на националната лаборатория, посочена в приложение II, за пълна идентификация, характеризация и тестове за патогенност. Въпреки това е важно да се прилагат колкото е възможно по-скоро междинни контролни мерки за нюкасълска болест, насочени към ограничаване разпространението на вируса, и регионалните лаборатории следва да са в състояние да идентифицират наличието на вируса на нюкасълската болест. Използват се събраните хемаглутинационни течности и стандартни положителни и отрицателни серуми съгласно глави 5 и 6. Основанията за налагане на временни ограничителни мерки на терена са положителните за нюкасълска болест титри 2^4 или повече поликлонен антисерум от теренни изолати, които обикновено показват титри 2^9 и повече.

2. *Потвърждаваща идентификация*

Националната лаборатория следва да направи пълна диференциална диагноза на всеки хемаглутиниращ агент. Потвърждаването на вирус на нюкасълска болест би било отново чрез инхибиране в инхибиционните хемаглутиниращи тестове с моноспецифичен пилешки антисерум. Тестовете за интрацеребралния патогенен индекс, както са описани в глава 7, следва да бъдат извършени върху всички позитивни изолати. Патогенни индекси, по-големи от 0,7, указват наличието на вирус, изискващ пълното прилагане на контролни мерки.

Последните открития при откриване вируси на нюкасълска болест, по-специално техники с моноклонални антитела, са подпомогнали групирането на щамовете и изолатите. По-специално съществуват някои моноклонални антитела, които са специфични за ваксинните щамове, използвани на територията на Общността, и могат да бъдат използвани при единични хемаглутиниращи инхибиционни тестове.

Тъй като живи щамове на ваксини могат често да бъдат изолирани от проби от домашни птици, очевидно е преимуществото за тяхното бързо идентифициране в националната лаборатория, посочена в приложение II. Такива моноклонални антитела следва да бъдат получени от референтната лаборатория на Общността, посочена в член 14, и предоставени на националните лаборатории, за да се подпомогне изолирането на ваксинните вируси.

Националните лаборатории следва да изпратят на референтната лаборатория на Общността всички хемаглутиниращи агенти.

3. *Допълнително откриване и характеризация на изолатите*

Референтната лаборатория на Общността следва да получи всички хемаглутиниращи вируси от националните лаборатории за по-нататъшни антигенни и генетични изследвания, за да се подпомогне по-доброто разбиране на епизоотологията на болестта (болестите) в рамките на Общността, с оглед функциите и задълженията на референтната лаборатория.

▼B

ГЛАВА 4

Бързи тестове за откриване на вируса на нюкасълска болест и антитела

Бързите тестове за откриване вируса на нюкасълска болест във ваксинирани птици и откриване на антитела в неваксинирани птици са изброени по долу:

1. *Откриване на вируса на нюкасълската болест*

Няколко бързи теста, които директно откриват антигените на нюкасълската болест, се използват при диагностицирането на инфекциите при ваксинирани птици. Най-често използвани към момента са тестовете за флуоресцентни антитела по надлъжни секции от трахеята и тестове с прекисни антитела на мозъка. Изглежда, че няма причина за съмнение, че други директни тестове за откриване на антитела трябва да се прилагат към инфекциите с вируса на нюкасълската болест.

Недостатъкът на подобни тестове е, че не е практично да се изследват всички потенциални места на репликиране на вируса на нюкасълската болест във ваксинирани птици. Така че например липсата на наличие на вирус в трахеята не означава репликиране в червото. Не се препоръчва никакъв директен метод за рутинна употреба при диагностициране на нюкасълска болест, въпреки че при специфични обстоятелства подобни тестове могат да играят полезна роля.

2. *Откриване на антитела в неваксинирани птици*

Болшинството лаборатории, включени в диагностицирането на нюкасълска болест, са запознати с хемаглутиниращите инхибиционни тестове и препоръката, описана по долу, се отнася до този тест за измерване на антителата на вируса. Обаче ензим свързан имуносорбентен метод (Елайза) може да бъде успешно използван за откриване на антитела на вируса. Препоръчва се, ако има желание за използване на Елайза тест в регионална лаборатория, тестът да бъде наблюдаван от националната лаборатория, посочена в приложение II.

а) Проби

Когато стадото се състои от по-малко от 20 птици, кръвни проби за лабораторно изследване се вземат от подкрилната вена, както следва: от всички птици на стада до 20 бр.; по 20 проби от по-големите по размер стада (това гарантира откриване поне на една положителна проба с вероятност 99 %; при заразеност на 25 % от птиците в стадата този брой проби е достатъчен за сигурно откриване на инфекцията независимо от големината им). След съсирване (коагулация) на кръвта в пробите серумите се съхраняват за изследване.

б) Изследване на антитела

Индивидуални серумни проби следва да бъдат тествани за тяхната възможност да забранят хемаглутиниращ антиген на вируса на нюкасълската болест в стандартни хемаглутиниращ забранителни тестове, както е определеното в глава 6.

Има спор по въпроса дали за тестовете H1 за потискане на хемаглутинацията трябва да бъдат използвани 4 или 8 хемаглутинационни единици. По всяка вероятност и двата начина са валидни и изборът трябва да бъде направен по преценка на националните лаборатории. Въпреки това използваният антиген ще засегне нивото, при което един серум се счита за положителен: за 4 HAU положителен серум е всеки с титър 2^4 или повече, а за 8 HAU положителен серум е всеки с титър2^3 или повече.

ГЛАВА 5

Хемаглутинационни (ХА) тестове

Реагенти

1. Изотоничен фосфат-буфериран разтвор (0,05M) с pH 7,0—7,4 (PBS).

▼B

2. Смес от еритроцити, взети от поне три пилета, свободни от специфични патогени (ако това не е възможно, кръв може да бъде взета от птици, които са редовно следени и които нямат антитела срещу вируса на нюкасълската болест), се поставя в равни количества разтвор на Алсевер. Преди употреба клетките трябва да бъдат измити три пъти в PBS. За другия тест се препоръчва 1 % суспензия (обем/обем) в PBS.

3. Щам Ulster 2C на вируса на нюкасълската болест се препоръчва да се използва като стандартен антиген.

Процедура

а) Поставят се 0,025 мл PBS във всяка ямка на микротитрова пластмасова плака (могат да се използват ямки и с V-образно дъно).

б) Поставят се 0,025 мл вирусна суспензия (т.е. алантоична течност) в първата ямка.

в) Поставя се микропипета за получаване на падащи разреждания (1:2 до 1:4096) на вируса в ямката.

г) Поставят се още 0,025 милилитра PBS във всяка ямка.

д) Добавят се 0,025 милилитра от 1 % суспензия на червени кръвни телца във всяка ямка.

е) Разбърква се с леко потупване и се поставя при температура от 4 °C.

ж) Плаките се преглеждат 30—40 минути след като еритроцитите са се утаили. Прегледът се състои в накланянето на плаката и в търсенето на наличие или на отсъствие на потоци от еритроцити под формата на повлекла. В ямките, които нямат хемаглутинин, еритроцитите трябва да се стичат със същата скорост като в контролните ямки, които не съдържат вируси.

з) Хемаглутининовият титър е най-голямото разреждане, което причинява слепването на червените кръвни телца. Този разтвор може да бъде разглеждан като съдържащ една хемаглутининова единица (HAU). По-точен метод за определяне на хемаглутининовата титровка е извършването на хемаглутинационни тестове на вирус с близки разреждания на първоначалните разтвори, т.е. 1:3, 1:4, 1:5, 1:6 и т.н. Това се препоръчва за точното приготвяне на антигени за инхибиционни хемаглутининови тестове (виж глава 6).

ГЛАВА 6

Инхибиционни хемаглутининови тестове

Реагенти (виж глава 5)

а) Фосфат-буфериран физиологичен разтвор (PBS).

б) Съдържаща вируси алантоична течност, разтворена с PBS, така че да съдържа 4 или 8 единици хемаглутанин в 0,025 милилитра.

в) 1 % суспензия от пилешки еритроцити.

г) Пилешки серум без антитела (като отрицателна контрола).

д) Серум, съдържащ антитела, като положителна контрола.

Процедура

а) Поставят се 0,025 милилитра PBS във всяка ямка на микротитрова пластмасова плака (с V-образно дъно).

б) Поставят се 0,025 милилитра серум в първата ямка на плаката.

в) Използва се многоканална пипета за получаване на двукратни разреждания на серума в ямките на плаката.

г) Добавят се 0,025 милилитра разредена алантоична течност, съдържаща 4 или 8 единици HAU.

д) Разбърква се чрез потупване и плаката се поставя при температура от 4 °C за най-малко 60 минути или на стайна температура за най-малко 30 минути.

▼B

е) Добавят се 0,025 милилитра 1 % суспензия червени кръвни телца във всички ямки.

ж) Разбърква се с леко потупване и се поставя при температура от 4 °C.

з) Плаките се преглеждат 30—40 минути след като червените кръвни телца са се утаили. Прегледът се състои в накланянето на плаката и търсенето на наличие или на отсъствие на потоци от червени кръвни телца под формата на сълзи, които се стичат със същата скорост като в контролните ямки, съдържащи само еритроцити (0,025 милилитра) и PBS (0,05 милилитра).

и) Титър на анти-хемаглутининте е най-голямото разреждане на изследваните серуми, причиняващо пълно потискане на аглутинацията, причинена от 4 или от 8 единици от вирусния хемаглутинин. Във всеки тест трябва да се включва титриране на хемаглутинина, за да се потвърди присъствието на изискваните хемаглутинационни единици.

й) Валидността на резултатите зависи от получаването на титър с по-малко от 2^3 за 4 хемаглутанинови единици или 2^4 за 8 хемаглутанинови единици с отрицателен контролен серум и с титър в рамките на едно разреждане около известния титър на положителния контролен серум.

ГЛАВА 7

Тест за интрацеребрален патогенен индекс

1. Инфектирана, прясно получена алантоична течност (НА титърът трябва да е по-голям от 2^4 и се разрежда 1:10 в стерилен изотоничен физиологичен разтвор (не трябва да се използват антитела).

2. 0,05 мл от разредения вирус се инжектират вътремозъчно във всяко от 10-те еднодневни пилета (например 24 часа; 40 часа след излюпването). Пилетата следва да бъдат излюпени от яйца, получени от стадо, свободно от специфични патогени.

3. Птиците се преглеждат на всеки 24 часа в продължение на осем дни.

4. За всяко наблюдение всяка птица се определя като: 0 = здрава; 1 = болна; 2 = мъртва.

5. Индексът се изчислява, както е показано в следния пример:

Клинични признаци	Ден след ваксинация (брой птици)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	общо	резултат
здрави	10	4	0	0	0	0	0	0	14 × 0	= 0
болни	0	6	10	4	0	0	0	0	20 × 1	= 20
мъртви	0	0	0	6	10	10	10	10	46 × 2	= 92
									Общо = 112	

Индексът е средният резултат за птица на наблюдение = 112/80 = 1,4

ГЛАВА 8

Преценка на способността за плакообразуване

1. Обикновено е най-добре да се използва разреждане на вируса, което осигурява достатъчно количество петна в клетъчния слой. Достатъчни са десеткратни разреждания до 10^{-7} в PBS.

2. В 5-сантиметрови чинийки на Петри се приготвя сливащ се монослой от подходяща клетъчна линия (например тази на Мадин—Дарби от говежди бъбрек).

3. Във всяка от чинийките на Петри се добавят 0,2 милилитра от всеки разтвор на вирус и се оставя да се абсорбира за 30 минути.

▼B

4. След промиване три пъти с PBS към заразените клетки се добавя съответната среда, която съдържа 1 % w/v агар или 0,01 % милиграма/милилитър трипсин или такава без трипсин. Важно е да не се добавя никакъв серум към надслоената среда.

5. След 72-часова инкубация плаките трябва да бъдат достатъчно големи. Те се виждат най-добре след отстраняването на надслоения агар и след оцветяването на клетъчния монослой с кристал-виолет (0,5 % w/v) в 25 % v/v етанол.

6. Когато е използван трипсин, всички вируси трябва да дадат ясни плаки. Когато не е добавен трипсин, то тогава само вирулентните за домашните птици вируси ще дадат плаки.

▼M3

_____

▼M4

_____