Il presente testo è un semplice strumento di documentazione e non produce alcun effetto giuridico. Le istituzioni dell'Unione non assumono alcuna responsabilità per i suoi contenuti. Le versioni facenti fede degli atti pertinenti, compresi i loro preamboli, sono quelle pubblicate nella Gazzetta ufficiale dell'Unione europea e disponibili in EUR-Lex. Tali testi ufficiali sono direttamente accessibili attraverso i link inseriti nel presente documento

►**B**

DIRETTIVA 92/66/CEE DEL CONSIGLIO

del 14 luglio 1992

che istituisce misure comunitarie di lotta contro la malattia di Newcastle

(GU L 260 del 5.9.1992, pag. 1)

Modificata da:

		Gazzetta ufficiale		
		n.	pag.	data
►**M1**	Regolamento (CE) n. 806/2003 del Consiglio del 14 aprile 2003	L 122	1	16.5.2003
►**M2**	Direttiva 2006/104/CE del Consiglio del 20 novembre 2006	L 363	352	20.12.2006
►**M3**	Direttiva 2008/73/CE del Consiglio del 15 luglio 2008	L 219	40	14.8.2008
►**M4**	Direttiva (UE) 2018/597 del Parlamento europeo e del Consiglio del 18 aprile 2018	L 103	4	23.4.2018

Modificata da:

►**A1**	Atto relativo alle condizioni di adesione del Regno di Norvegia, della Repubblica d'Austria, della Repubblica di Finlandia e del Regno di Svezia e agli adattamenti dei trattati sui quali si fonda l'Unione europea (94/C 241/08)	C 241	21	29.8.1994
	(adattado dalla decisione 95/1/CE, Euratom, CECA del Consiglio)	L 1	1	1.1.1995
►**A2**	Atto relativo alle condizioni di adesione della Repubblica ceca, della Repubblica di Estonia, della Repubblica di Cipro, della Repubblica di Lettonia, della Repubblica di Lituania, della Repubblica di Ungheria, della Repubblica di Malta, della Repubblica di Polonia, della Repubblica di Slovenia e della Repubblica slovacca e agli adattamenti dei trattati sui quali si fonda l'Unione europea	L 236	33	23.9.2003

▼B

DIRETTIVA 92/66/CEE DEL CONSIGLIO

del 14 luglio 1992

che istituisce misure comunitarie di lotta contro la malattia di Newcastle

Articolo 1

La presente direttiva definisce le misure comunitarie di lotta da applicare in caso di comparsa della malattia di Newcastle, fatte salve le disposizioni comunitarie che disciplinano gli scambi intracomunitari:

a) negli allevamenti di volatili,

b) per quanto concerne i piccioni viaggiatori, nonché gli altri uccelli tenuti in cattività.

La presente direttiva non si applica se la malattia di Newcastle viene individuata negli uccelli selvatici che vivono in libertà; tuttavia, in questo caso, lo Stato membro interessato segnala alla Commissione le misure che ha preso.

Articolo 2

Ai fini della presente direttiva si applicano, se del caso, le definizioni figuranti all'articolo 2 della direttiva 90/539/CEE del Consiglio, del 15 ottobre 1990, relativa alle norme di polizia sanitaria per gli scambi intracomunitari e le importazioni in provenienza dai paesi terzi di pollame e uova da cova ([1]).

Inoltre si intende per:

a) «volatile infetto» qualsiasi volatile:

   — in cui sia stata ufficialmente confermata la presenza della malattia di Newcastle a seguito di un esame effettuato da un laboratorio riconosciuto, oppure

   — che presenti, nel caso del focolaio constatato o di focolai successivi, sintomi clinici o lesioni post mortem propri della malattia di Newcastle;

b) «volatile sospetto di infezione»: qualsiasi volatile che presenti sintomi clinici o lesioni post mortem tali da indurre ragionevolmente a sospettare la presenza della malattia di Newcastle;

c) «volatile sospetto di contaminazione»: qualsiasi volatile che abbia potuto essere esposto, direttamente o indirettamente, al virus della malattia di Newcastle;

d) «intruglio»: i rifiuti provenienti da cucine, ristoranti o, eventualmente, da industrie che utilizzano carni;

e) «autorità competente»: l'autorità competente ai sensi dell'articolo 2, punto 6 della direttiva 90/425/CEE ([2]);

f) «veterinario ufficiale»: il veterinario designato dall'autorità competente;

([1]) GU n. L 303 del 31.10.1990, pag. 6. Direttiva modificata, da ultimo, dalla direttiva 91/496/CEE (GU n. L 268 del 24.9.1991, pag. 56).

([2]) Direttiva 90/425/CEE del Consiglio, del 26 giugno 1990, relativa ai controlli veterinari e zootecnici applicabili negli scambi intracomunitari di taluni animali vivi e prodotti di origine animale nella prospettiva della realizzazione del mercato interno (GU n. L 224 del 18.8.1990, pag. 29). Direttiva modificata, da ultimo, dalla direttiva 91/496/CEE (GU n. L 268 del 24.9.1991, pag. 56).

▼B

g) «piccione viaggiatore»: qualsiasi piccione che è trasferito, o è destinato ad essere trasferito, dalla sua piccionaia per essere liberato in modo che possa ritornare liberamente, volando, alla sua piccionaia o in qualsiasi altro luogo;

h) «piccionaia»: qualsiasi struttura utilizzata per ospitare o per allevare piccioni viaggiatori.

Articolo 3

Gli Stati membri si adoperano affinché il sospetto dell'esistenza della malattia di Newcastle sia oggetto di notifica obbligatoria ed immediata all'autorità competente.

Articolo 4

1. Qualora in un'azienda siano presenti volatili sospetti di infezione o di contaminazione della malattia di Newcastle, gli Stati membri si adoperano affinché il veterinario ufficiale applichi immediatamente i mezzi ufficiali di investigazione allo scopo di confermare o escludere la presenza della malattia e, in particolare, prelevare o far prelevare i campioni idonei per gli esami di laboratorio.

2. Non appena è notificato un caso sospetto di infezione, l'autorità competente pone l'azienda interessata sotto controllo ufficiale e dispone in particolare che:

a) venga compilato un registro di tutte le categorie di volatili presenti nell'azienda specificando, per ciascuna di esse, quanti volatili sono morti, quanti presentano sintomi clinici e quanti non presentano sintomi; il registro dovrà essere aggiornato per tener conto dei volatili nati e morti nel corso del periodo in cui si sospetta l'infezione; i dati di detto registro dovranno essere tenuti aggiornati, essere presentati su richiesta, e potranno essere controllati in occasione di ciascuna visita;

b) tutti i volatili presenti nell'azienda siano tenuti nei locali in cui sono allevati o confinati in altri locali in cui possano essere isolati per non essere in contatto con altri volatili;

c) siano proibiti gli spostamenti di volatili provenienti o destinati all'azienda;

d) sia subordinato all'autorizzazione dell'autorità competente:

— qualsiasi movimento di persone, di altri animali e di veicoli in provenienza dall'azienda o a destinazione della stessa;

— qualsiasi movimento di carni o di carcasse di volatili, mangimi, materiale, rifiuti, deiezioni, lettiere, letami o tutto ciò che è suscettibile di trasmettere la malattia di Newcastle;

e) dall'azienda non siano fatte uscire uova, tranne le uova che sono inviate direttamente in uno stabilimento riconosciuto per la fabbricazione e/o il trattamento degli ovoprodotti conformemente all'articolo 6, punto 1 della direttiva 89/437/CEE ([1]), e che vengono trasportate conformemente ad un'autorizzazione rilasciata dall'autorità competente. Questa autorizzazione dovra soddisfare i requisiti dell'allegato I;

([1]) Direttiva 89/437/CEE del Consiglio, del 20 giugno 1989, concernente i problemi igienici e sanitari relativi alla produzione ed immissione sul mercato degli ovoprodotti (GU n. L 212 del 22.7.1989, pag. 87). Direttiva modificata dalla direttiva 89/662/CEE (GU n. L 395 del 30.12.1989, pag. 13).

▼B

f) venga fatto ricorso a mezzi appropriati di disinfezione alle entrate ed alle uscite dei fabbricati in cui sono allevati i volatili, nonché dell'azienda stessa;

g) venga effettuata un'indagine epidemiologica conformemente all'articolo 7.

3. In attesa dell'entrata in vigore delle misure ufficiali, previste al paragrafo 2, il proprietario o il detentore di qualsiasi allevamento di volatili sospetti di infezione si adopera per garantire il rispetto delle disposizioni di cui al paragrafo 2, ad esclusione della lettera g).

4. L'autorità competente può estendere qualsiasi misura di cui al paragrafo 2 ad altre aziende qualora, tenuto conto dell'ubicazione e della configurazione dei fabbricati o di eventuali contatti con l'azienda nella quale si sospetta la presenza della malattia, vi siano fondati motivi per sospettare un'eventuale contaminazione.

5. Le misure previste ai paragrafi 1 e 2 rimangono applicabili finché la sospetta presenza della malattia di Newcastle sia esclusa dal veterinario ufficiale.

Articolo 5

1. Non appena viene confermata ufficialmente la presenza della malattia di Newcastle in un'azienda, gli Stati membri si adoperano affinché l'autorità competente disponga, oltre all'applicazione delle misure previste all'articolo 4, paragrafo 2, che:

a) tutti i volatili presenti nell'azienda siano abbattuti in loco senza indugio. I volatili morti o abbattuti e tutte le uova devono essere distrutti. Queste operazioni devono essere eseguite in modo da ridurre al minimo il rischio di diffusione della malattia;

b) tutti i materiali o tutti i rifiuti, come il mangime, le lettiere ed il letame, suscettibili di essere contaminati vengano distrutti o sottoposti a trattamento idoneo. Quest'ultimo, eseguito conformemente alle istruzioni del veterinario ufficiale, deve garantire la distruzione del virus di Newcastle eventualmente presente;

c) qualora i volatili siano stati macellati durante il periodo presunto di incubazione della malattia, le carni da essi ottenute vengano, nella misura del possibile, individuate e distrutte;

d) le uova da cova deposte durante il presunto periodo di incubazione e uscite dall'azienda siano individuate e distrutte; i pulcini già nati da queste uova devono essere posti sotto sorveglianza ufficiale; le uova da mensa deposte durante il presunto periodo di incubazione e uscite dall'azienda devono, nella misura del possibile, essere individuate e distrutte, a meno che non siano state precedentemente disinfettate in modo corretto;

e) ultimate le operazioni di cui alle lettere a) e b), i fabbricati adibiti all'allevamento dei volatili e le loro vicinanze nonché i veicoli usati per il trasporto e qualsiasi materiale suscettibile di essere contaminato vengano puliti e disinfettati conformemente all'articolo 11;

f) nell'azienda non vengano reintrodotti volatili per almeno 21 giorni a decorrere dall'ultimazione delle operazioni di cui alla lettera e);

g) venga effettuata un'indagine epidemiologica conformemente all'articolo 7.

▼B

2. L'autorità competente può estendere le misure di cui al paragrafo 1 ad altre aziende vicine, qualora la loro ubicazione, topografia o contatto con l'azienda in cui è stata confermata la presenza della malattia permettano di sospettare un'eventuale contaminazione.

3. Qualora un ceppo del virus di Newcastle con un ICPI (indice di patogenicità intracerebrale) compreso tra 0,7 e 1,2 sia stato isolato in un branco di volatili che non presenta alcun sintomo clinico della malattia di Newcastle e sia stato dimostrato dal laboratorio comunitario di riferimento, di cui all'articolo 15, che l'isolato del virus in questione proviene da un vaccino vivo attenuato della malattia di Newcastle, l'autorità competente può derogare ai requisiti del paragrafo 1, lettere da a) a f) a condizione che l'azienda interessata sia sottoposta a controllo ufficiale per un periodo di 30 giorni, e, in particolare, deve esigere che:

— le disposizioni dell'articolo 4, paragrafo 2, lettere a), b), d), e) e f) siano applicate,

— nessun volatile lasci l'azienda tranne che per essere direttamente condotto ad un macello designato dall'autorità competente.

L'autorità competente responsabile di tale macello deve essere informata dell'intenzione di inviarle volatili da abbattere e non appena arrivano al macello i volatili sono tenuti ed abbattuti separatamente dagli altri volatili.

4. Le carni fresche dei volatili di cui al paragrafo 3 del presente articolo, devono recare il bollo sanitario previsto all'articolo 5, paragrafo 1 della direttiva 91/494/CEE.

5. Le disposizioni previste al paragrafo 3 saranno oggetto di un riesame in funzione dell'evoluzione delle ricerche scientifiche intese all'adozione di norme armonizzate per l'utilizzazione di vaccini contro la malattia di Newcastle nella Comunità.

Articolo 6

Nel caso di allevamenti costituiti da due o più branchi separati, l'autorità competente può, sulla base dei criteri stabiliti dalla Commissione secondo la procedura prevista all'articolo 25, derogare ai requisiti dell'articolo 5, paragrafo 1, per i branchi sani di un'azienda infetta, a condizione che il veterinario ufficiale confermi che le operazioni ivi effettuate lasciano i branchi completamente separati per quanto riguarda la stabulazione, il governo e l'alimentazione, in modo che il virus non possa propagarsi da un branco all'altro.

Articolo 7

1. L'indagine epidemiologica verte sugli aspetti seguenti:

— la durata del periodo in cui la malattia di Newcastle può essere stata presente nell'azienda o nella piccionaia;

— l'origine probabile della malattia di Newcastle nell'azienda o nella piccionaia e l'identificazione delle altre aziende o piccionaie in cui si trovano volatili, piccioni viaggiatori o altri uccelli tenuti in cattività che possono essere stati infettati o contaminati dalla stessa fonte del virus;

▼B

— i movimenti di persone, volatili piccioni viaggiatori o altri uccelli tenuti in cattività o di altri animali, veicoli, uova, carni e carcasse, nonché di qualsiasi materiale o materia suscettibile di aver veicolato il virus di Newcastle nell'azienda o nella piccionaia in questione o in provenienza da esse.

2. Viene istituita un'unità di crisi per coordinare pienamente tutte le misure necessarie all'eradicazione della malattia di Newcastle con la massima tempestività e per condurre l'indagine epidemiologica.

Le norme generali riguardanti le unità di crisi nazionali e l'unità di crisi comunitaria sono adottate dal Consiglio che delibera a maggioranza qualificata, su proposta della Commissione.

Articolo 8

1. Qualora il veterinario ufficiale abbia motivo per sospettare che i volatili di un'azienda possano essere stati contaminati in conseguenza di movimenti di persone, animali o veicoli o in qualsiasi altro modo, l'azienda in questione è sottoposta a controllo ufficiale conformemente al paragrafo 2.

2. Il controllo ufficiale ha lo scopo di individuare immediatamente qualsiasi caso sospetto di malattia di Newcastle, di tenere un registro dei volatili detenuti nell'azienda e di controllarne i movimenti nonché, ove occorra, di prendere le misure elencate al paragrafo 3.

3. Quando un'azienda è sottoposta a controllo ufficiale conformemente ai paragrafi 1 e 2, l'autorità competente vieta l'uscita di volatili dall'azienda tranne per il loro trasferimento diretto in un macello, sotto controllo ufficiale, ai fini della loro immediata macellazione. L'autorizzazione è concessa previa esecuzione, da parte del veterinario ufficiale, di un esame clinico dei volatili dal quale risulti l'assenza della malattia di Newcastle nell'azienda. Le restrizioni ai movimenti degli animali previste nel presente articolo sono applicate per un periodo di 21 giorni a decorrere dall'ultima data in cui può essersi verificata la contaminazione; tali restrizioni devono comunque essere applicate per un periodo di almeno 7 giorni.

4. Qualora ritenga che le condizioni lo permettono, l'autorità competente può limitare le misure di cui al presente articolo ad una parte dell'azienda ed ai volatili che si trovano in tale parte, a condizione che i volatili in questione siano stati completamente separati dal restante quanto al ricovero, al governo e all'alimentazione e che le relative operazioni siano state eseguite da addetti diversi.

5. Se il veterinario ufficiale ha motivo di sospettare che i piccioni viaggiatori o tutta una piccionaia siano stati contaminati dal virus della malattia di Newcastle, prende tutte le misure appropriate affinché la piccionaia sia soggetta a misure restrittive, tra cui il divieto di spostare i piccioni viaggiatori fuori della piccionaia per 21 giorni.

Articolo 9

1. Non appena è ufficialmente confermata la presenza della malattia di Newcastle nei volatili, gli Stati membri si adoperano affinché l'autorità competente delimiti, attorno all'azienda infetta, una zona di protezione di almeno 3 km di raggio, inserita in una zona di sorveglianza di almeno 10 km di raggio. Nel delimitare queste zone si tiene conto dei fattori d'ordine geografico, amministrativo, ecologico ed epizooziologico connessi alla malattia di Newcastle, nonché delle strutture di controllo.

▼B

2. Le misure applicate nella zona di protezione comprendono:

a) l'identificazione di tutte le aziende che detengono volatili all'interno della zona;

b) visite periodiche di tutte le aziende che detengono volatili, l'esame clinico dei volatili in questione, compresa, ove occorra, la raccolta di campioni da sottoporre ad esami di laboratorio; va tenuto inoltre un registro delle visite e dei risultati degli esami;

c) il sequestro di tutti i volatili nei locali in cui sono allevati o in qualsiasi altro locale in cui possano essere tenuti isolati;

d) il ricorso a mezzi appropriati di disinfezione agli ingressi e alle uscite delle aziende;

e) il controllo dei movimenti degli addetti alla manipolazione dei volatili, delle carcasse di volatili e delle uova, nonché dei veicoli adibiti al trasporto di volatili, di carcasse e di uova all'interno della zona; in linea di massima il trasporto di volatili è vietato, fatta eccezione per il transito sui grandi assi stradali o ferroviari;

f) il divieto di uscita dei volatili e di uova da cova dall'azienda in cui si trovano, tranne qualora l'autorità competente abbia autorizzato il trasporto:

   i) di volatili destinati alla macellazione immediata in un macello situato, di preferenza, nella zona infetta o, in casi di impossibilità, in un altro macello designato dall'autorità competente al di fuori della zona infetta. Le carni di tali volatili devono recare il bollo sanitario speciale previsto all'articolo 5, paragrafo 1 della direttiva 91/494/CEE ([1]);

   ii) di pulcini di un giorno o di pollastre pronte per la deposizione in un'azienda situata nella zona di sorveglianza, in cui non sono presenti altri volatili. Tuttavia gli Stati membri che non possono assicurare il trasporto dei pulcini di un giorno o delle pollastre pronte per la deposizione in un'azienda situata nella zona di sorveglianza sono autorizzati, secondo la procedura prevista all'articolo 25, a far trasportare detti pulcini e pollastre in un'azienda situata al di fuori della zona di sorveglianza. Le aziende sopracitate devono essere poste sotto controllo ufficiale conformemente all'articolo 8, paragrafo 2;

   iii) di uova da cova in un incubatoio designato dall'autorità competente; prima della spedizione, le uova e gli imballaggi che le contengono devono essere disinfettati.

   Gli spostamenti previsti ai punti i), ii) e iii) devono essere effettuati direttamente e sotto controllo ufficiale. Essi sono autorizzati soltanto previa esecuzione, da parte del veterinario ufficiale, di una ispezione sanitaria dell'azienda. I mezzi di trasporto usati devono essere puliti e disinfettati prima e dopo l'uso;

g) il divieto di spostare o spandere letame o lettiere usate di volatili senza autorizzazione;

([1]) Direttiva 91/494/CEE del Consiglio, del 26 giugno 1991, relativa alle norme di polizia sanitaria per gli scambi intracomunitari e le importazioni in provenienza dai paesi terzi di carni fresche di volatili da cortile (GU n. L 268 del 24.9.1991, pag. 35).

▼B

h) il divieto di fiere, mercati, esposizioni e altri raduni di volatili o di altri uccelli.

3. Le misure applicate nella zona di protezione restano in vigore per almeno 21 giorni dopo l'esecuzione delle operazioni preliminari di pulizia e di disinfezione dell'azienda infetta, conformemente all'articolo 11. La zona di protezione entra allora a far parte della zona di sorveglianza.

4. Le misure applicate nella zona di sorveglianza comprendono:

a) l'identificazione di tutte le aziende che detengono volatili situate nella zona;

b) il controllo dei movimenti dei volatili e di uova da cova nell'ambito della zona;

c) il divieto di uscita dalla zona dei volatili per i primi 15 giorni, tranne per il trasporto diretto dei volatili ad un macello situato fuori dalla zona di sorveglianza, designato dall'autorità competente. Le carni di tali volatili devono recare il marchio sanitario speciale previsto all'articolo 5 della direttiva 91/494/CEE;

d) il divieto di uscita dalla zona di sorveglianza di uova da cova, tranne per il trasporto ad un incubatoio designato dall'autorità competente. Prima della spedizione le uova e gli imballaggi che le contengono devono essere disinfettati;

e) il divieto di uscita dalla zona di concime e lettiere usate di volatili;

f) il divieto di fiere, mercati, esposizioni o altri raduni di volatili o di altri uccelli;

g) fatte salve le disposizioni di cui alle lettere a) e b), il divieto di trasporto di volatili, fatta eccezione per il transito sui grandi assi stradali o ferroviari.

5. Le misure applicate nella zona di sorveglianza restano in vigore per almeno 30 giorni dopo l'esecuzione delle operazioni preliminari di pulizia e di disinfezione dell'azienda infetta, conformemente all'articolo 11.

6. Qualora le zone siano situate sul territorio di più Stati membri, le autorità competenti degli Stati membri interessati collaborano allo scopo di delimitare le zone di cui al paragrafo 1. Tuttavia, se necessario, la zona di protezione e la zona di sorveglianza sono delimitate secondo la procedura di cui all'articolo 25.

7. Se l'inchiesta epidemiologica di cui all'articolo 7 conferma che il focolaio è dovuto ad un'infezione che non presenta alcuna estensione, si possono ridurre, secondo la procedura prevista all'articolo 25, la dimensione e la durata di applicazione delle zone di protezione e di sorveglianza.

Articolo 10

Gli Stati membri si adoperano affinché:

a) l'autorità competente stabilisca le procedure che le consentono di seguire i movimenti di uova, di volatili, di piccioni viaggiatori e di altri uccelli tenuti in cattività;

b) il proprietario o il detentore di volatili, di piccioni viaggiatori e/o di uccelli tenuti in cattività debba fornire, a richiesta dell'autorità competente, le informazioni relative ai volatili ed alle uova che entrano o escono dall'azienda, nonché le informazioni relative alle gare o esposizioni cui hanno partecipato i piccioni viaggiatori;

▼B

c) le persone addette al trasporto o alla commercializzazione di volatili, di uova, di piccioni viaggiatori e di uccelli tenuti in cattività devono poter fornire all'autorità competente le informazioni relative agli spostamenti dei volatili, delle uova, dei piccioni viaggiatori e degli uccelli tenuti in cattività da esse trasportati o commercializzati nonché qualsiasi altro dettaglio in materia.

Articolo 11

Gli Stati membri si adoperano affinché:

a) i disinfettanti da usare e le relative concentrazioni siano ufficialmente approvati dall'autorità competente;

b) le operazioni di pulizia e disinfezione siano effettuate sotto controllo ufficiale, conformemente:

i) alle istruzioni impartite dal veterinario ufficiale,

ii) alla procedura per la pulizia e la disinfezione delle aziende infette prevista all'allegato II.

Articolo 12

La raccolta dei campioni e gli esami di laboratorio volti ad individuare la presenza del virus della malattia di Newcastle devono essere effettuati conformemente all'allegato III.

Articolo 13

Gli Stati membri si adoperano affinché l'autorità competente adotti tutte le misure necessarie per informare le persone stabilite nelle zone di protezione e di sorveglianza in merito alle restrizioni in vigore e prendano tutte le disposizioni necessarie ai fini di un'adeguata applicazione delle suddette misure.

Articolo 14

1. Gli Stati membri si adoperano affinché in ogni Stato membro sia designato:

a) un laboratorio nazionale munito delle attrezzature e del personale specializzato necessari per poter procedere in qualsiasi momento all'individuazione delle caratteristiche antigeniche e biologiche del virus della malattia di Newcastle e per confermare i risultati ottenuti dai laboratori regionali di diagnosi;

b) un laboratorio nazionale incaricato del controllo dei reagenti da usare nei laboratori regionali di diagnosi;

c) un istituto o laboratorio nazionale in grado di controllare l'efficacia, l'attività e la purezza dei vaccini da usare a scopo profilattico nel paese, o immagazzinati per far fronte a situazioni di emergenza.

▼M3

2. I laboratori nazionali di cui al paragrafo 1 sono responsabili per il coordinamento delle norme, dei metodi di diagnosi, dell'uso dei reagenti e delle prove sui vaccini.

3. I laboratori nazionali di cui al paragrafo 1 sono responsabili per il coordinamento delle norme e dei metodi di diagnosi stabiliti in ciascun laboratorio diagnostico della malattia di Newcastle in seno allo Stato membro. A tal fine:

▼B

a) possono fornire i reagenti diagnostici ai laboratori regionali;

b) controllano la qualità di tutti i reagenti diagnostici usati in detto Stato membro;

c) organizzano periodicamente prove comparative;

d) conservano isolati del virus della malattia di Newcastle, provenienti da casi confermati in detto Stato membro;

e) garantiscono la conferma di risultati positivi ottenuti nei laboratori diagnostici regionali.

▼M3

4. I laboratori nazionali di cui al paragrafo 1 si tengono in contatto con il laboratorio di riferimento comunitario di cui all'articolo 15.

5. Gli Stati membri aggiornano gli elenchi dei laboratori o degli istituti nazionali di cui al paragrafo 1 e li mettono a disposizione degli altri Stati membri e del pubblico.

Norme dettagliate per applicare il presente paragrafo in modo uniforme possono essere adottate secondo la procedura di cui all'articolo 25, paragrafo 2.

▼M4

Articolo 15

1. La Commissione designa, mediante atti di esecuzione, un laboratorio di riferimento dell'Unione europea per la malattia di Newcastle. Tali atti di esecuzione sono adottati secondo la procedura d'esame di cui all'articolo 25.

2. Le competenze e i compiti del laboratorio di riferimento dell'Unione europea per la malattia di Newcastle sono:

a) coordinare, in consultazione con la Commissione, i metodi di diagnosi della malattia di Newcastle negli Stati membri, segnatamente mediante:

   i) la specificazione, la detenzione e il rilascio dei ceppi di virus della malattia di Newcastle ai fini dei testi sierologici e della preparazione dell'antisiero;

   ii) il rilascio dei sieri di riferimento e di altri reagenti di riferimento ai laboratori di riferimento nazionali ai fini della standardizzazione delle prove e dei reagenti utilizzati in ogni Stato membro;

   iii) la creazione e la conservazione di una collezione di ceppi e di isolati del virus della malattia di Newcastle;

   iv) l'organizzazione periodica, a livello di Unione, di prove comparative delle procedure diagnostiche;

   v) la raccolta e il raffronto dei dati e delle informazioni concernenti i metodi di diagnosi utilizzati e i risultati delle prove effettuate nell'Unione;

   vi) la caratterizzazione degli isolati del virus della malattia di Newcastle con i metodi più avanzati per promuovere una migliore comprensione dell'epidemiologia della malattia di Newcastle;

▼M4

vii) il controllo dell'evoluzione della situazione in tutto il mondo in materia di sorveglianza, di epidemiologia e di prevenzione della malattia di Newcastle;

viii) il mantenimento di una perizia sul virus della malattia di Newcastle e su altri virus in questione, in modo da permettere una rapida diagnosi differenziale;

ix) l'acquisizione di una conoscenza approfondita della preparazione e dell'utilizzazione dei prodotti di medicina veterinaria immunologica utilizzati per l'eradicazione e il contenimento della malattia di Newcastle;

b) apportare un aiuto efficace all'identificazione dei focolai della malattia di Newcastle negli Stati membri mediante lo studio degli isolati di virus loro inviati per conferma della diagnosi, caratterizzazione e studi epidemiologici;

c) facilitare la formazione o riqualificazione professionale degli esperti in diagnosi di laboratorio in vista dell'armonizzazione delle tecniche diagnostiche in tutta l'Unione.

▼B

Articolo 16

1. Gli Stati membri provvedono affinché:

a) la vaccinazione contro la malattia di Newcastle mediante vaccini autorizzati dall'autorità competente possa essere praticata a scopo profilattico o per integrare le misure di lotta messe in applicazione in caso di comparsa della malattia;

b) siano autorizzati soltanto i vaccini la cui immissione in commercio è stata autorizzata dall'autorità competente dello Stato membro in cui il vaccino è utilizzato.

2. Ulteriori criteri per l'uso di vaccini contro la malattia di Newcastle possono essere stabiliti conformemente alla procedura prevista all'articolo 25.

Articolo 17

1. Gli Stati membri in cui è praticata la vaccinazione preventiva facoltativa o obbligatoria contro la malattia di Newcastle dei volatili ne informano la Commissione e gli altri Stati membri.

2. L'informazione data in conformità del paragrafo 1 deve precisare:

— le caratteristiche e la composizione di ciascuno dei vaccini usati,

— le modalità di controllo della distribuzione, del magazzinaggio e dell'impiego dei vaccini,

— le specie e le categorie di volatili che possono o devono essere vaccinate,

— le zone in cui la vaccinazione può o deve essere effettuata,

— i motivi per cui la vaccinazione è stata praticata.

▼B

3. Gli Stati membri possono prevedere l'organizzazione di un programma di vaccinazione dei piccioni viaggiatori. Se tale è il caso, essi devono informare la Commissione. Fatto salvo un programma di questo tipo, gli Stati membri assicurano che gli organizzatori di gare ed esposizioni prendano le disposizioni necessarie perché siano iscritti alle gare o esposizioni piccioni viaggiatori vaccinati contro la malattia di Newcastle.

4. Le modalità di applicazione del presente articolo, in particolare per quanto riguarda i criteri da prevedere e le eventuali deroghe che possono essere accordate in funzione dello statuto sanitario degli Stati membri, saranno fissate secondo la procedura prevista all'articolo 25.

Articolo 18

1. Qualora venga confermata la presenza della malattia di Newcastle, gli Stati membri provvedono affinché l'autorità competente possa, a titolo di integrazione delle altre misure di lotta previste dal presente regolamento, delimitare una zona territoriale e un periodo in cui dovrà essere effettuata immediatamente, sotto controllo ufficiale, la vaccinazione sistematica (vaccinazione di emergenza) di specie designate di volatili. Uno Stato membro che fa eseguire la vaccinazione d'emergenza informa la Commisione e gli altri Stati membri, nell'ambito del comitato veterinario permanente istituito con la decisione 68/361/CEE ([1]), in merito all'evolversi della malattia di Newcastle e al programma di vaccinazione di emergenza.

2. Nel caso previsto al paragrafo 1, è vietato procedere a vaccinazione o a rivaccinazione dei volatili presenti nelle aziende sottoposte alle restrizioni di cui all'articolo 4.

3. Nel caso previsto al paragrafo 1:

a) le specie di volatili da sottoporre a vaccinazione devono essere vaccinate al più presto;

b) tutti i volatili delle specie designate, nati o introdotti in un'azienda situata nella zona di vaccinazione, devono essere o essere stati vaccinati;

c) per tutta la durata della campagna di vaccinazione di cui al paragrafo 1, tutti i volatili delle specie designate detenuti in un'azienda situata nella zona di vaccinazione devono rimanere nell'azienda, con le seguenti eccezioni:

   — i pulcini di un giorno che sono trasferiti in un'azienda situata nella zona di vaccinazione, nella quale dovranno essere sottoposti a vaccinazione;

   — i volatili trasportati direttamente in un macello situato nella zona di vaccinazione per esservi immediatamente macellati. Qualora il macello sia situato fuori dalla zona di vaccinazione, lo spostamento dei volatili è ammesso soltanto previa esecuzione, da parte del veterinario ufficiale, di una ispezione sanitaria dell'azienda;

([1]) GU n. L 255 del 18.10.1968, pag. 23.

▼B

d) quando le operazioni di vaccinazione di cui alla lettera a) sono state ultimate, può essere autorizzata l'uscita dalla zona di vaccinazione:

— di pulcini di un giorno destinati alla produzione di carne per essere trasferiti in un'azienda in cui devono essere sottoposti a vaccinazione; l'azienda in questione deve essere tenuta sotto controllo fino a che i volatili che vi sono stati trasferiti siano stati macellati;

— dei volatili vaccinati da oltre 21 giorni e destinati all'immediata macellazione;

— delle uova da cova deposte da volatili da produzione vaccinati da almeno 3 settimane; è inteso che le uova e gli imballaggi in cui sono contenute devono essere previamente disinfettati.

4. Le misure di cui al paragrafo 3, lettere b) e d), rimangono in applicazione per un periodo di 3 mesi dall'ultimazione delle operazioni di vaccinazione di cui al paragrafo 1; esse possono essere prorogate per uno o più periodi ulteriori di 3 mesi.

5. In deroga al paragrafo 3, lettere a) e b), l'autorità competente può escludere dalla vaccinazione sistematica prevista determinati branchi di particolare valore scientifico, a condizione che siano prese tutte le misure per garantirne la protezione sul piano sanitario e che i branchi siano sottoposti periodicamente a controllo sierologico.

6. La Commissione segue l'evolversi dell'epizoozia e, all'occorrenza, può, secondo la procedura prevista all'articolo 25, decidere in merito al controllo dei trasporti e della vaccinazione.

Articolo 19

1. Se esiste il sospetto che piccioni viaggiatori o uccelli tenuti in cattività possano essere infettati dalla malattia di Newcastle, gli Stati membri provvedono affinché il veterinario ufficiale metta immediatamente in atto i mezzi di indagine ufficiali intesi a confermare o a escludere la presenza della malattia; in particolare, il veterinario ufficiale effettua o fa effettuare gli opportuni prelievi ai fini degli esami di laboratorio.

2. Dalla notifica del sospetto di presenza della malattia, l'autorità competente pone la piccionaia o l'azienda sotto controllo ufficiale e ordina in particolare che nessun piccione viaggiatore o uccello tenuto in cattività e nulla che possa trasmettere la malattia di Newcastle lasci la piccionaia o l'azienda.

3. Le misure di cui ai paragrafi 1 e 2 sono revocate soltanto allorché il sospetto di malattia di Newcastle è smentito dal veterinario ufficiale.

4. Non appena l'infezione è ufficialmente confermata, l'autorità competente dispone, in particolare:

a) che le misure di controllo e di eradicazione di cui all'articolo 5, paragrafo 1, lettere a), b), e) e f) siano applicate ai piccioni viaggiatori o agli uccelli tenuti in cattività ed alle piccionaie o aziende infettate dalla malattia di Newcastle, oppure

▼B

b) per lo meno che:

i) sia vietata l'uscita dei piccioni viaggiatori o degli uccelli tenuti in cattività dalla piccionaia o dall'azienda per almeno 60 giorni dopo la scomparsa dei sintomi clinici della malattia di Newcastle,

ii) tutte le materie o rifiuti che possono essere stati contaminati siano distrutti o trattati. Il trattamento dovrà garantire la distruzione di tutti i virus della malattia di Newcastle presenti e di tutti i rifiuti accumulati durante il periodo di 60 giorni di cui al punto i),

c) che sia svolta un'indagine epidemiologica conformemente all'articolo 7.

▼M4

5. Qualora risulti necessario per la corretta applicazione delle misure previste dal presente articolo, gli Stati membri trasmettono alla Commissione, in sede di comitato permanente per le piante, gli animali, gli alimenti e i mangimi, le informazioni relative alla situazione della malattia e alle misure di controllo applicate.

6. La Commissione può stabilire, mediante atti di esecuzione, norme relative alle informazioni che gli Stati membri devono trasmettere alla Commissione come previsto dal paragrafo 5 del presente articolo. Tali atti di esecuzione sono adottati secondo la procedura d'esame di cui all'articolo 25.

▼B

Articolo 20

1. È vietato utilizzare per l'alimentazione del pollame intrugli provenienti dai mezzi di trasporto internazionali come navi, veicoli per il trasporto terrestre o aerei; gli intrugli devono essere ammassati e distrutti sotto controllo ufficiale.

2. L'utilizzazione per l'alimentazione del pollame di intrugli diversi da quelli di cui al paragrafo 1 o di rifiuti di pollame può essere autorizzata soltanto se questi sono stati sottoposti, in impianti idonei, ad un trattamento termico, atto a garantire che la malattia non venga trasmessa e ad assicurare che il virus della malattia di Newcastle sia distrutto.

3. Se necessario, la Commissione definisce, secondo la procedura prevista all'articolo 25, le modalità per l'applicazione del paragrafo 2.

▼M4

Articolo 21

1. Ciascuno Stato membro redige un piano di emergenza nel quale sono specificate le misure nazionali da applicare in caso di comparsa di un focolaio della malattia di Newcastle. Il piano di emergenza è aggiornato, se necessario, per tener conto dell'evoluzione della situazione.

Il piano di emergenza consente l'accesso alle installazioni, alle attrezzature, al personale e a tutti gli altri materiali idonei necessari per una rapida ed efficace eradicazione del focolaio della malattia di Newcastle. Esso dà un'indicazione precisa del quantitativo di vaccino di cui ciascuno Stato membro ritiene di aver bisogno per una vaccinazione d'emergenza.

▼M4

2. I piani di emergenza ed eventuali aggiornamenti sono presentati alla Commissione.

3. La Commissione esamina i piani di emergenza ed eventuali aggiornamenti allo scopo di determinare se essi consentano di raggiungere l'obiettivo perseguito e propone allo Stato membro interessato le eventuali modifiche necessarie, in particolare per garantire la compatibilità del piano con quelli degli altri Stati membri.

La Commissione approva i piani di emergenza ed eventuali aggiornamenti, se necessario modificati, secondo la procedura d'esame di cui all'articolo 25.

4. La Commissione può stabilire, mediante atti di esecuzione, criteri che gli Stati membri devono seguire per redigere i piani di emergenza. Tali atti di esecuzione sono adottati secondo la procedura d'esame di cui all'articolo 25.

▼B

Articolo 22

Nella misura in cui ciò sia necessario all'applicazione uniforme della presente direttiva, ed in collaborazione con le autorità competenti, gli esperti della Commissione possono effettuare controlli in loco. A tal fine essi possono verificare, controllando una percentuale rappresentativa di stabilimenti, se le autorità competenti controllano il rispetto della presente direttiva da parte di detti stabilimenti. La Commissione informa gli Stati membri del risultato dei controlli effettuati.

Lo Stato membro sul cui territorio viene effettuato un controllo presta tutta l'assistenza necessaria affinché gli esperti possano espletare le loro mansioni.

Le modalità di applicazione del presente articolo sono adottate secondo la procedura prevista all'articolo 25.

Articolo 23

Le condizioni di partecipazione finanziaria della Comunità alle azioni connesse all'attuazione dalla presente direttiva sono definite nella decisione 90/424/CEE.

Articolo 24

Gli allegati sono modificati, se necessario, dal Consiglio che delibera a maggioranza qualificata su proposta della Commissione, in particolare per tener conto dell'evoluzione delle ricerche e delle procedure di diagnosi.

▼M4

Articolo 25

1. La Commissione è assistita dal comitato permanente per le piante, gli animali, gli alimenti e i mangimi istituito dall'articolo 58, paragrafo 1, del regolamento (CE) n. 178/2002 del Parlamento europeo e del Consiglio ([1]). Esso è un comitato ai sensi del regolamento (UE) n. 182/2011 del Parlamento europeo e del Consiglio ([2]).

2. Nei casi in cui è fatto riferimento al presente articolo, si applica l'articolo 5 del regolamento (UE) n. 182/2011.

▼B

Articolo 26

1. Gli Stati membri mettono in vigore le disposizioni legislative, regolamentari e amministrative necessarie per conformarsi alla presente direttiva anteriormente al 1º ottobre 1993. Essi ne informano immediatamente la Commissione.

Quando gli Stati membri adottano tali disposizioni, queste contengono un riferimento alla presente direttiva o sono corredate di un siffatto riferimento all'atto della pubblicazione ufficiale. Le modalità di tale riferimento sono decise dagli Stati membri.

2. Gli Stati membri comunicano alla Commissione il testo delle disposizioni essenziali del diritto interno da essi adottate nel settore disciplinato dalla presente direttiva.

Articolo 27

Gli Stati membri sono destinatari della presente direttiva.

([1]) Regolamento (CE) n. 178/2002 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 28 gennaio 2002, che stabilisce i principi e i requisiti generali della legislazione alimentare, istituisce l'Autorità europea per la sicurezza alimentare e fissa procedure nel campo della sicurezza alimentare (GU L 31 dell'1.2.2002, pag. 1).

([2]) Regolamento (UE) n. 182/2011 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 16 febbraio 2011, che stabilisce le regole e i principi generali relativi alle modalità di controllo da parte degli Stati membri dell'esercizio delle competenze di esecuzione attribuite alla Commissione (GU L 55 del 28.2.2011, pag. 13).

▼B

ALLEGATO I

AUTORIZZAZIONE A FAR USCIRE UOVA DALL'AZIENDA CONFORMEMENTE ALL'ARTICOLO 4, PARAGRAFO 2, LETTERA e) DELLA PRESENTE DIRETTIVA

L'autorizzazione rilasciata dall'autorità competente ai fini del trasporto delle uova da un'azienda sospetta soggetta alle disposizioni dell'articolo 4, paragrafo 2, lettera e) verso uno stabilimento riconosciuto per la fabbricazione ed il trattamento di ovoprodotti conformemente all'articolo 6, paragrafo 1 della direttiva 89/437/CEE, di seguito denominato «stabilimento designato», dovrà rispettare le condizioni seguenti:

1) per poter lasciare l'azienda sospetta le uova dovranno:

   a) soddisfare i requisiti dell'allegato, capitolo IV della direttiva 89/437/CEE;

   b) essere inviate direttamente dall'azienda sospetta allo stabilimento designato; ogni spedizione dovrà essere sigillata prima della partenza dal veterinario ufficiale dell'azienda sospetta e dovrà restare sigillata per tutta la durata del trasporto fino allo stabilimento designato;

2) il veterinario ufficiale dell'azienda sospetta informa l'autorità competente dello stabilimento designato dell'intenzione di inviargli delle uova;

3) l'autorità competente responsabile dello stabilimento designato si assicurerà che:

   a) le uova di cui al punto 1), lettera b) siano mantenute isolate dalle altre uova dal momento del loro arrivo fino a quando non siano trattate;

   b) i gusci di tali uova siano considerati materiale ad alto rischio conformemente all'articolo 2, paragrafo 2 della direttiva 90/667/CEE ([1]) e siano trattati conformemente ai requisiti del capitolo II della direttiva summenzionata;

   c) il materiale d'imballaggio, i veicoli utilizzati per il trasporto delle uova di cui al punto 1), lettera b), nonché tutti i luoghi con cui le uova sono entrate in contatto siano puliti e disinfettati in modo tale che qualsiasi virus della malattia di Newcastle sia distrutto;

   d) il veterinario ufficiale dell'azienda sospetta sia informato di qualsiasi spedizione di uova trattate.

([1]) Direttiva 90/667/CEE del Consiglio, del 27 novembre 1990, che stabilisce le norme sanitarie per l'eliminazione, la trasformazione e l'immissione in commercio di rifiuti di origine animale e la protezione dagli agenti patogeni degli alimenti per animali di origine animale o a base di pesce e che modifica la direttiva 90/425/CEE (GU n. L 363 del 27.12.1990, pag. 51).

▼B

ALLEGATO II

PROCEDURA PER LA PULIZIA E LA DISINFEZIONE DI UN'AZIENDA INFETTA

I. **Pulizia e disinfezione preliminari**

a) Non appena le carcasse dei volatili siano state rimosse per essere distrutte, quelle parti dei locali in cui sono allevati i volatili e qualsiasi parte di edifici, cortili, ecc., contaminati durante l'abbattimento o l'ispezione post mortem devono essere irrorati con un disinfettante approvato conformemente all'articolo 11 della presente direttiva.

b) Qualsiasi tessuto di volatili e uova che avesse potuto contaminare gli edifici, i cortili, gli utensili, ecc., deve essere accuratamente recuperato ed eliminato con le carcasse.

c) Il disinfettante utilizzato deve rimanere sulla superficie trattata per almeno 24 ore.

II. **Pulizia e disinfezione finale**

a) Il grasso ed il sudiciume devono essere eliminati da tutte le superfici con l'applicazione di un prodotto sgrassante e successivamente lavate con acqua.

b) Una volta lavate con acqua come indicato alla lettera a), le superfici di cui sopra devono essere irrorate di nuovo con un disinfettante.

c) Dopo sette giorni, i locali devono essere trattati con un prodotto sgrassante, sciacquati con acqua fredda, irrorati con un disinfettante e nuovamente sciacquati con acqua.

d) Il concime e le lettiere usate devono essere trattati con un metodo atto ad uccidere il virus. Questo metodo deve comprendere almeno una delle procedure seguenti:

i) essere bruciati o sottoposti a vapore ad una temperatura di 70 °C;

ii) essere seppelliti ad una profondità tale da impedire che i parassiti e gli uccelli selvatici vi accedano;

iii) essere accumulati ed inumiditi (se necessario per facilitare la fermentazione), coperti per mantenere il calore in modo che raggiungano una temperatura di 20 °C, e rimanere coperti per 42 giorni in maniera da impedire che i parassiti e gli uccelli selvatici vi accedano.

▼B

ALLEGATO III

METODI DIAGNOSTICI PER LA CONFERMA E LA DIAGNOSI DIFFERENZIALE DELLA MALATTIA DI NEWCASTLE

I metodi per isolare e individuare i virus della malattia di Newcastle, descritti qui di seguito, devono essere considerati come orientamenti e criteri minimi da applicare nella suddetta diagnosi.

Il virus responsabile della malattia di Newcastle è il virus prototipo appartenente alla famiglia della Paramyxoviridae. Attualmente vi sono nove gruppi sierologicamente distinguibili di Paramixovirus aviare, designati con le sigle PMV-1 fino a PMV-9. Tutti i virus della malattia di Newcastle sono stati assegnati al gruppo PMV-1. Ai fini delle procedure diagnostiche per la conferma e la diagnosi differenziale della malattia di Newcastle si applica la seguente definizione:

Per malattia di Newcastle si intende un'infezione dei volatili causata da un ceppo aviare del Paramixovirus 1 con un indice di patogenicità intracerebrale (ICPI) superiore a 0,7 nei pulcini di un giorno.

CAPITOLO 1

Campionatura e trattamento dei campioni

1. *Campioni*

   Frammenti prelevati mediante tampone nell'intestino (o feci) e nella trachea di volatili malati; feci o contenuti degli organi (intestino, tessuti cerebrali, trachea, polmoni, fegato, milza e altri) dell'animale malato, prelevati da volatili morti di recente.

2. *Trattamento dei campioni*

   Gli organi e i tessuti menzionati al paragrafo 1 sopra elencati possono essere trattati insieme, salvo per quanto riguarda le feci, per le quali è essenziale un trattamento separato. I materiali prelevati devono essere immersi completamente in un quantitativo sufficiente di antibiotico. I campioni di feci e gli organi devono essere omogeneizzati (in un miscelatore chiuso o in un mortaio con pestello e sabbia sterile) in un mezzo antibiotico e portati in sospensione in tale mezzo al 10—20 % p/v. Le sospensioni devono essere lasciate riposare per circa due ore a temperatura ambiente (o per un intervallo superiore a 4 °C) e successivamente chiarificati mediante centrifugazione (ad esempio da 800 a 1000 g per 10 minuti).

3. *Mezzo antibiotico*

   Numerosi laboratori hanno utilizzato con successo mezzi antibiotici di varia composizione e i laboratori di cui all'allegato II potranno essere consultati in proposito nei rispettivi paesi. Per i campioni di feci occorre una elevata concentrazione di antibiotici; una miscela tipica è la seguente: 10 000 unità/ml di penicillina, 10 mg/ml di streptomicina, 0,25 mg/ml di gentamicina e 5 000 unità/ml di micostatina in una soluzione salina tampone di fosfato. Queste dosi possono essere ridotte fino a cinque volte per i tessuti e per i prelievi di trachea. Per l'accertamento della Clamidia, si possono aggiungere 50 mg/ml di ossitetraciclina. Nella preparazione del mezzo antibiotico, occorre assolutamente controllare il pH dopo l'aggiunta degli antibiotici e portarlo ad un valore compreso tra 7,0 e 7,4.

CAPITOLO 2

Isolamento del virus

Isolamento del virus nelle uova embrionate di galline

Inoculare 0,1—0,2 ml del liquido sopranatante chiarificato nella cavità allantoica di almeno quattro uova embrionate di gallina previamente sottoposte a incubazione per otto-dieci giorni. Idealmente si dovrebbero utilizzare uova provenienti da un branco indenne da organismi patogeni specifici, ma, in caso di impossibilità, si possono utilizzare uova provenienti da un branco in cui sia comprovata l'assenza di anticorpi del virus della malattia di Newcastle. Le uova inoculate

▼B

sono mantenute alla temperatura di 37 °C ed esaminate ogni giorno in controluce. Le uova in cui si constata che l'embrione è morto o è morente, nonché tutte le uova restanti sei giorni dopo l'inoculazione, vengono refrigerate a 4 °C e il liquido allantoico-amniotico sottoposto alla prova dell'attività emoagglutinante. Qualora non si constati emoagglutinazione, il procedimento sopra descritto deve essere ripetuto inoculando nelle uova liquido allantoico-amniotico non diluito.

Quando viene constatata emoagglutinazione, la presenza di batteri deve essere esclusa mediante coltura. In caso di presenza di batteri, far passare i liquidi attraverso un filtro a membrana di 450 nm, quindi aggiungere altri antibiotici e procedere nuovamente, come indicato sopra, alla inoculazione in uova embrionate.

CAPITOLO 3

Diagnosi differenziale

1. *Differenziazione preliminare*

Tutti i virus che provocano emoagglutinazione devono essere trasmessi al laboratorio nazionale per esservi sottoposti ad una gamma completa di prove di identificazione, caratterizzazione e patogenicità. Tuttavia, è importante ricorrere al più presto a misure provvisorie di contenimento della malattia di Newcastle, allo scopo di limitare la diffusione del virus, e occorre che i laboratori regionali ne identifichino la presenza. Occorre pertanto utilizzare i liquidi emoagglutinanti eseguendo una prova di inibizione dell'emoagglutinazione come descritto ai capitoli 5 e 6. Una inibizione positiva, cioè pari a 2^4 o più, con l'antisiero policlonale specifico del virus della malattia di Newcastle e avente un titolo noto, pari almeno a 2^9, potrà servire per una identificazione preliminare sulla cui base istituire misure provvisorie di contenimento.

2. *Identificazione di conferma*

Il laboratorio nazionale procede ad una diagnosi differenziale completa di tutti gli agenti emoagglutinanti. La conferma della presenza del virus della malattia di Newcastle è nuovamente fornita mediante prove di inibizione dell'emoagglutinazione con antisieri monospecifici dei polli. Vanno inoltre eseguite le prove descritte al capitolo 7 sull'indice di patogenicità intracerebrale in tutti i casi positivi isolati. Indici di patogenicità superiori a 0,7 indicano la presenza dei virus, con la conseguente applicazione integrale delle misure di contenimento.

Recenti progressi nell'individuazione dei tipi di virus della malattia di Newcastle, soprattutto nelle tecniche concernenti anticorpi monoclonali, hanno permesso il raggruppamento di ceppi e di isolati. In particolare, sono ora disponibili anticorpi monoclonali specifici per i ceppi vaccinici utilizzati nella Comunità, i quali possono essere utilizzati in prove di inibizione dell'emoagglutinazione di tipo semplice.

Dal momento che ceppi di vaccino vivo possono essere isolati in campioni di volatili, è evidente il vantaggio di poter provvedere ad una loro rapida identificazione presso il laboratorio nazionale. Questi anticorpi monoclonali potrebbero essere ricavati dal laboratorio comunitario di riferimento e distribuito ai laboratori nazionali per la conferma dell'isolamento di virus vaccinici.

I laboratori nazionali dovrebbero trasmettere al laboratorio comunitario di riferimento tutti gli agenti emoagglutinanti.

3. *Altre prove di individuazione del tipo e delle caratteristiche degli isolati*

I laboratori nazionali dovrebbero trasmettere al laboratorio comunitario di riferimento tutti i virus emoagglutinanti, da sottoporre ad ulteriori esami antigenici e genetici, ai fini di una maggiore comprensione dell'epidemiologia della o delle malattie all'interno della Comunità, conformemente alle competenze ed ai compiti del laboratorio comunitario di riferimento.

▼B

CAPITOLO 4

Prove rapide per individuare gli anticorpi dei virus della malattia di Newcastle

Prove rapide per individuare il virus della malattia di Newcastle in volatili vaccinati e anticorpi in volatili non vaccinati:

1. *Individuazione del virus della malattia di Newcastle*

Nella diagnosi di infezioni nei volatili vaccinati sono state impiegate parecchie prove rapide che consentono di individuare direttamente gli antigeni della malattia di Newcastle. Quelle attualmente più usate sono le prove di fluorescenza degli anticorpi su sezioni longitudinali della trachea e le prove degli anticorpi della perossidasi nel cervello. Sembra indubbio che altre prove per l'individuazione diretta degli antigeni possano essere applicate alle infezioni da virus della malattia di Newcastle.

L'inconveniente di queste prove risiede nell'impossibilità pratica di esaminare tutti i punti potenziali di replicazione del virus della malattia di Newcastle nei volatili vaccinati. Ad esempio, il fatto che non si riscontri il virus nella trachea non ne esclude la replicazione nell'intestino. Non vi sono metodi diretti di individuazione «di routine» che possono essere raccomandati nella diagnosi della malattia di Newcastle; in circostanze specifiche, queste prove possono tuttavia essere utili.

2. *Individuazione di anticorpi in volatili non vaccinati*

La maggior parte dei laboratori che si occupano della diagnosi della malattia di Newcastle conosce perfettamente la prova di inibizione dell'emoagglutinazione; le raccomandazioni riportate in appresso riguardano appunto tale prova per la misurazione degli anticorpi del virus. Tuttavia per l'individuazione degli anticorpi del virus si può ricorrere, con molte probabilità di riuscita, alla prova di immunoassorbimento enzimatico (ELISA). Qualora si intenda usare questa tecnica a livello di laboratori regionali, si suggerisce che la prova in questione sia controllata dal laboratorio nazionale di cui all'allegato II.

a) Campioni

Prelevare campioni di sangue da tutti i volatili, se il branco è costituito da meno di venti capi, e da venti esemplari in caso di branchi più numerosi (si ha, in tal modo, una probabilità superiore al 99 % di individuare almeno un caso sieropositivo se almeno il 25 % degli individui del branco è positivo, indipendentemente dalle dimensioni del branco stesso). Lasciar coagulare il sangue e asportare il siero da sottoporre alla prova.

b) Ricerca degli anticorpi

Verificare la capacità di singoli campioni di siero di inibire l'antigene emoagglutinante del virus della malattia di Newcastle, mediante prove standard di inibizione dell'emoagglutinazione come indicato nel capitolo 6.

Un aspetto discusso è se nella prova di inibizione dell'emoagglutinante occorra usare 4 o 8 unità di emoagglutinina. Entrambe le ipotesi sembrano valide; la scelta deve essere quindi lasciata a discrezione dei laboratori nazionali. Tuttavia l'antigene usato incide sul livello al quale un siero è considerato positivo: usando 4 unità di emoagglutinina, un siero è considerato positivo se rivela un titolo uguale o superiore a 2^4; usando 8 unità di emoagglutinina, un siero è considerato positivo se rivela un titolo uguale o superiore a 2^3.

CAPITOLO 5

Prova di emoagglutinazione (HA)

Reagenti

1. Soluzione salina isotonica tamponata con fosfato (SPT) (0,05 M) al pH compreso tra 7,0 e 7,4.

▼B

2. Prelevare globuli rossi da almeno tre volatili esenti da organismi patogeni specifici (in caso di impossibilità, il sangue può essere prelevato da volatili che sono regolarmente sottoposti a controllo e che non presentano anticorpi del virus della malattia di Newcastle), raggrupparli e aggiungerli ad un volume uguale di soluzione di Alsever. Prima dell'uso, i globuli rossi devono essere lavati tre volte in soluzione salina tamponata con fosfato. Per l'esecuzione della prova si raccomanda una sospensione all'1 % (globuli confezionati v/v) in soluzione salina tamponata.

3. Si raccomanda di usare, come antigene standard, il ceppo di virus della malattia di Newcastle Ulster 2C.

Procedimento

a) Porre 0,025 ml di soluzione in ciascuno dei pozzetti di una piastra di microtitolazione in materiale plastico (usare pozzetti a V).

b) Versare 0,025 ml di sospensione del virus (ad esempio liquido allantoico) nel primo pozzetto.

c) Usare un diluente da microtitolazione per raddoppiare la diluizione (da 1: 2 a 1: 4096) di virus nella piastra.

d) Aggiungere altri 0,025 ml di soluzione salina in ogni pozzetto.

e) Aggiungere 0,025 ml di globuli rossi all'1 % in ogni pozzetto.

f) Mescolare agitando leggermente e porre a riposo alla temperatura di 4 °C.

g) La lettura viene effettuata 30—40 minuti dopo, una volta stabilizzati i globuli rossi di controllo. La lettura si effettua inclinando la piastra ed osservando la presenza o l'assenza di globuli rossi raggruppati a forma di goccia. Il flusso nei pozzetti che non presentano emoagglutinazione deve essere identico a quello constatato presso i globuli rossi di controllo esenti dal virus.

h) Il titolo di emoagglutinazione è costituito dalla diluizione più elevata che provoca agglutinazione dei globuli rossi. Tale diluizione può essere considerata come contenente una unità emoagglutinante (HAU). Un metodo più accurato per la determinazione del titolo di emoagglutinazione consiste nell'effettuare prove di agglutinazione sul virus in una serie di diluizioni iniziali progressive, ad esempio 1: 3, 1: 4, 1: 5, 1: 6, ecc. Si raccomanda questa procedura per una preparazione accurata dell'antigene per le prove di inibizione dell'emoagglutinazione (capitolo 6).

CAPITOLO 6

Prova di inibizione dell'emoagglutinazione

Reagenti

a) Soluzione salina tamponata con fosfato (SPT).

b) Liquido allantoico contenente il virus, diluito nella soluzione salina in modo da avere un contenuto di 4 o 8 unità di emoagglutinazione per 0,025 ml.

c) Globuli rossi di pollame: 1 %.

d) Siero di pollame negativo di controllo.

e) Siero positivo di controllo.

Procedimento

a) Versare 0,025 ml di soluzione salina tamponata con fosfato in tutti i pozzetti di una piastra di microtitolazione in materiale plastico (i pozzetti devono avere una forma a V).

b) Versare 0,025 ml di siero nel primo pozzetto della piastra.

c) Usare un diluente da microtitolazione per ottenere una diluizione di 1: 2 di siero sulla piastra.

d) Aggiungere 0,025 ml di liquido allantoico diluito contenente 4 o 8 unità di emoagglutinazione.

e) Mescolare picchiettando leggermente e conservare alla temperatura di 4 °C per almeno 60 minuti o a temperatura ambiente per almeno 30 minuti.

▼B

f) Aggiungere 0,025 ml di globuli rossi all'1 % in tutti i pozzetti.

g) Mescolare picchiettando leggermente e porre a riposo alla temperatura di 4 °C.

h) La lettura delle piastre è effettuata dopo 30—40 minuti, dopo che i globuli rossi di controllo si sono stabilizzati. La lettura viene effettuata inclinando la piastra e osservando se nel flusso del liquido vi è o meno formazione di gocce in misura uguale a quelle dei pozzetti di controllo che contengono unicamente globuli rossi (0,025 ml) e soluzione salina (0,05 ml).

i) Il titolo di inibizione dell'emoagglutinazione è costituito dalla diluizione massima di antisiero che comporta una inibizione totale di 4 o 8 unità di virus (ciascuna prova dovrebbe comprendere una titolazione di emoagglutinazione a scopo di conferma della presenza delle unità di emoagglutinazione richieste).

j) I risultati sono validi se si ottiene un titolo inferiore a 2^3 per 4 unità di emoagglutinazione o 2^2 per 8 unità di emoagglutinazione con il siero negativo di controllo ed un titolo avente una diluizione immediatamente superiore o inferiore al titolo noto del siero di controllo positivo.

CAPITOLO 7

Prova dell'indice di patogenicità

1. Diluire in una proporzione di 1: 10, in una soluzione isotonica salina sterile, un'aliquota di liquido allantoico infetto appena prelevato (il titolo di emoagglutinazione deve essere superiore a 2^4) (non usare antibiotici).

2. Iniettare nel cervello di dieci pulcini di un giorno (cioè aventi un'età compresa fra 24 e 40 ore alla schiusa) 0,05 ml di virus diluito. I pulcini devono essere ottenuti da uova provenienti da un branco esente da organismi patogeni specifici.

3. Esaminare i pulcini per otto giorni, ad intervalli di 24 ore.

4. Classificare ognuno dei pulcini ad ogni osservazione come segue: 0 = normale; 1 = malato; 3 = morto.

5. L'indice è calcolato come nell'esempio che segue:

Sintomi clinici	Giorni successivi all'inoculazione (numero di pulcini)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	Totale	Punteggio
Normale	10	4	0	0	0	0	0	0	14 × 0	= 0
Malato	0	6	10	4	0	0	0	0	20 × 1	= 20
Morto	0	0	0	6	10	10	10	10	46 × 2	= 92
									TOTALE = 112	

L'indice è costituito dal punteggio medio per pulcino per ogni osservazione, ossia 112/80 = 1,4

CAPITOLO 8

Valutazione della capacità di formazione di placca

1. Il procedimento migliore consiste nel'utilizzare tutta una gamma di diluizioni di virus per essere certi di disporre sulla piastra dei numeri ottimali di placche. Dieci diluizioni fino a 10^{-7} in soluzione salina fosfatata dovrebbero essere sufficienti.

2. Monostrati confluenti di cellule di embrione di volatile o una linea cellulare adeguata (ad esempio rene bovino Madin-Darby) sono preparati e disposti in scatole di Petri aventi 5 cm di diametro.

3. Aggiungere in due scatole di Petri 0,2 ml di ciascuna delle diluizioni di virus e lasciar assorbire il virus per 30 minuti.

▼B

4. Lavare 3 volte con la soluzione salina le cellule infette, indi ricoprirle di mezzo pertinente, contenente l'1 % p/v di agar e 0,01 mg/ml di tripsina, oppure non contenente tripsina; è importante non aggiungere siero al mezzo di copertura.

5. Dopo una incubazione a 37 °C per 72 ore, le placche dovrebbero avere una dimensione sufficiente. Per una migliore osservazione delle placche, asportare lo strato di agar di copertura e colorare il monostrato cellulare con cristalvioletto (0,5 % p/v) in metanolo al 25 % v/v.

6. Tutti i virus dovrebbero fornire placche evidenti, se incubati alla presenza di tripsina nello strato di copertura. Se nel mezzo di copertura non vi è tripsina, soltanto i virus virulenti per i volatili producono placche.

▼M3

_____

▼M4

_____