Este texto constitui um instrumento de documentação e não tem qualquer efeito jurídico. As Instituições da União não assumem qualquer responsabilidade pelo respetivo conteúdo. As versões dos atos relevantes que fazem fé, incluindo os respetivos preâmbulos, são as publicadas no Jornal Oficial da União Europeia e encontram-se disponíveis no EUR-Lex. É possível aceder diretamente a esses textos oficiais através das ligações incluídas no presente documento

►**B**

DIRECTIVA 92/66/CEE DO CONSELHO

de 14 de Julho de 1992

que estabelece medidas comunitárias de luta contra a doença de Newcastle

(JO L 260 de 5.9.1992, p. 1)

Alterada por:

		Jornal Oficial		
		n.º	página	data
►**M1**	Regulamento (CE) n.º 806/2003 do Conselho de 14 de Abril de 2003	L 122	1	16.5.2003
►**M2**	Directiva 2006/104/CE do Conselho de 20 de Novembro de 2006	L 363	352	20.12.2006
►**M3**	Directiva 2008/73/CE do Conselho de 15 de Julho de 2008	L 219	40	14.8.2008
►**M4**	Diretiva (UE) 2018/597 do Parlamento Europeu e do Conselho de 18 de abril de 2018	L 103	4	23.4.2018

Alterada por:

►**A1**	Acto relativo às condições de adesão do Reino da Noruega, da República da Áustria, da República da Finlândia e do Reino da Suécia e às adaptações dos Tratados em que se funda a União Europeia (94/C 241/08)	C 241	21	29.8.1994
	(adaptado pela Decisão 95/1/CE, Euratom, CECA do Conselho)	L 1	1	1.1.1995
►**A2**	Acto relativo às condições de adesão da República Checa, da República da Estónia, da República de Chipre, da República da Letónia, da República da Lituânia, da República da Hungria, da República de Malta, da República da Polónia, da República da Eslovénia e da República Eslovaca e às adaptações dos Tratados em que se funda a União Europeia	L 236	33	23.9.2003

▼B

DIRECTIVA 92/66/CEE DO CONSELHO

de 14 de Julho de 1992

que estabelece medidas comunitárias de luta contra a doença de Newcastle

Artigo 1.º

Sem prejuízo das disposições comunitárias que regem o comércio intracomunitário, a presente directiva define as medidas comunitárias de luta a aplicar em caso de aparecimento da doença de Newcastle:

a) Nas explorações avícolas;

b) No que respeita aos pombos-correiro, bem como às outras aves mantidas em cativeiro.

A presente directiva não é aplicável em caso de detecção da doença de Newcastle nas aves selvagens vivendo em liberdade; todavia, nesse caso, o Estado-membro envolvido assinalará à Comissão as medidas que tomar.

Artigo 2.º

Para efeitos da presente directiva, são aplicáveis, na medida em que tal for necessário, as definições que constam do artigo 2.º da Directiva 90/539/CEE do Conselho, de 15 de Outubro de 1990, relativa às condições de polícia sanitária que regem o comércio intracomunitário e as importações de aves de capoeira e de ovos para incubação provenientes de países terceiros ([1]).

Além dessas definições, entende-se por:

a) «Ave de capoeira infectada», qualquer ave de capoeira:

   — na qual tenha sido oficialmente confirmada a presença da doença de Newcastle na sequência de um exame efectuado por um laboratório autorizado, ou

   — no caso de um segundo foco ou focos subsequentes, na qual se verifiquem sintomas clínicos ou lesões *post mortem* correspondentes à doença de Newcastle;

b) «Ave de capoeira suspeita de estar infectada», qualquer ave de capoeira que apresente sintomas clínicos ou lesões *post mortem* que permitam suspeitar justificadamente da presença da doença de Newcastle;

c) «Ave de capoeira suspeita de estar contaminada», qualquer ave de capoeira que possa ter estado exposta, directa ou indirectamente, ao vírus da doença de Newcastle;

d) «Águas de cozinha», desperdícios provenientes de cozinhas, restaurantes ou, se for caso disso, de indústrias que utilizam carne;

e) «Autoridade competente», a autoridade competente na acepção do n.º 6 do artigo 2.º da Directiva 90/425/CEE ([1]);

f) «Veterinário oficial», o veterinário designado pela autoridade competente;

([1]) JO n.º L 303 de 31.10.1990, p. 6. Directiva com a última redacção que lhe foi dada pela Directiva 91/496/CEE (JO n.º L 268 de 24.9.1991, p. 56).

▼B

g) «Pombo correio», qualquer pombo que seja transportado ou se destine a ser transportado para fora do seu pombal a fim de ser largado de modo a que a ele possa regressar livremente a voar ou a que possa atingir do mesmo modo qualquer outro lugar de destino;

h) «Pombal», qualquer instalação utilizada para a detenção ou a criação de pombos-correio.

Artigo 3.º

Os Estados-membros assegurarão que qualquer suspeita de doença de Newcastle seja obrigatória e imediatamente notificada à autoridade competente.

Artigo 4.º

1. Quando numa exploração existam aves de capoeira suspeitas de estarem infectadas ou contaminadas pela doença de Newcastle, os Estados-membros assegurarão que o veterinário oficial acorra imediatamente aos meios de investigação oficiais para confirmar ou infirmar a presença da referida doença; deve, nomeadamente, proceder ou mandar proceder às colheitas de amostras necessárias às análises laboratoriais.

2. Logo após a notificação da suspeita, a autoridade competente mandará colocar a exploração sob vigilância oficial e ordenará, nomeadamente, que:

a) Se efectue um registo de todas as categorias de aves de capoeira da exploração, com indicação, relativamente a cada categoria, do número de aves de capoeira que morreram, das que apresentam sinais clínicos e das que não apresentam qualquer sinal. Este registo deve ser mantido actualizado por forma a ter em conta as aves de capoeira que nasceram e morreram durante o período de suspeita; os dados desse registo devem manter-se actualizados e ser fornecidos a pedido, e poderão ser controlados aquando de cada inspecção;

b) Todas as aves de capoeira da exploração sejam mantidas nos seus locais de alojamento ou confinadas noutros locais onde possam estar isoladas e sem contacto com outras aves;

c) Seja proibido qualquer movimento de aves de capoeira a partir da exploração ou com destino a ela;

d) Fique subordinado à autorização da autoridade competente:

— qualquer movimento de pessoas, de outros animais e de veículos provenientes da exploração ou com destino a ela,

— qualquer movimento de carne ou de carcaças de aves de capoeira, alimentos para animais, material, detritos, dejectos, camas e estrumes, ou tudo o que seja susceptível de transmitir a doença de Newcastle;

e) Seja proibida a saída de ovos da exploração, excepto os ovos enviados directamente para um estabelecimento aprovado para o fabrico e/ou tratamento de ovoprodutos em conformidade com as disposições do n.º 1 do artigo 6.º da Directiva 89/437/CEE ([1]) e que sejam transportados em conformidade com uma autorização emitida pela autoridade competente; esta autorização deverá respeitar as exigências previstas no anexo I;

([1]) Directiva 89/437/CEE do Conselho, de 20 de Junho de 1989 relativa aos problemas de ordem higiénica e sanitária respeitantes à produção e à colocação no mercado dos ovoprodutos (JO n.º L 212 de 22.7.1989, p. 87). Directiva alterada pela Directiva 89/662/CEE (JO n.º L 395 de 30.12.1989, p. 13).

▼B

f) Sejam utilizados meios de desinfecção adequados nas entradas e saídas das instalações de alojamento das aves de capoeira, bem como nas da própria exploração;

g) Seja realizado um inquérito epidemiológico em conformidade com o artigo 7.º

3. Na pendência da execução das medidas oficiais estabelecidas do n.º 2, o proprietário ou o criador de qualquer ave de capoeira suspeita de estar doente deve tomar todas as medidas adequadas para dar cumprimento ao disposto no n.º 2, com excepção da alínea g).

4. A autoridade competente pode aplicar qualquer das medidas previstas no n.º 2 a outras explorações, caso a sua implantação, a sua tipografia ou os contactos com a exploração em que se suspeita que existe a doença permitam suspeitar de uma eventual contaminação.

5. As medidas referidas nos n.os 1 e 2 só serão levantadas quando a suspeita da presença da doença de Newcastle for informada pelo veterinário oficial.

Artigo 5.º

1. Logo que a presença da doença de Newcastle for oficialmente confirmada numa exploração, os Estados-membros assegurarão que a autoridade competente exija, em complemento das medidas enumeradas no n.º 2 do artigo 4.º, a execução das seguintes medidas:

a) Abate imediato, no local, de todas as aves de capoeira presentes na exploração. As aves de capoeira que tenham morrido ou sido abatidas, bem como todos os ovos, devem ser destruídos. Estas operações devem ser efectuadas de modo a reduzir ao mínimo o risco de propagação da doença;

b) Destruição ou tratamento apropriado de todas as substâncias ou detritos, tais como alimentos para animais, camas e estrumes, susceptíveis de estarem contaminados. O tratamento, efectuado em conformidade com as instruções do veterinário oficial, deve assegurar a destruição de qualquer vírus da doença de Newcastle eventualmente presente;

c) Pesquisa, na medida do possível, e destruição da carne das aves de capoeira provenientes da exploração e abatidas durante o período provável de incubação da doença;

d) Pesquisa e destruição dos ovos para incubação produzidos durante o período provável de incubação da doença e que tenham saído da exploração, ficando assente que as aves de capoeira provenientes desses ovos devem ser colocadas sob vigilância oficial; os ovos de mesa produzidos durante o período provável de incubação e retirados da exploração devem ser alvo, sempre que possível, de pesquisa e destruição, excepto se tiverem sido correctamente desinfectados antes;

e) Após a realização das operações enunciadas nas alíneas a) e b) e em conformidade com o disposto no artigo 11.º, limpeza e desinfecção das instalações de alojamento das aves de capoeira e dos locais adjacentes, dos veículos de transporte e de qualquer material susceptível de estar contaminado;

f) Observância, após a realização das operações previstas na alínea e), de um vazio sanitário de, pelo menos, 21 dias antes da reintrodução de aves de capoeira na exploração;

g) Realização de um inquérito epidemiológico em conformidade com o artigo 7.º

▼B

2. A autoridade competente pode aplicar as medidas previstas no n.º 1 a outras explorações caso a sua implantação, a sua topografia ou os contactos com a exploração em que a doença foi confirmada permitam suspeitar de uma eventual contaminação.

3. No caso de ter sido isolada uma estirpe do vírus da doença de Newcastle com um ICPI (índice de patogenia intracerebral) superior a 0,7 e inferior a 1,2 num bando de aves que não apresente nenhum sinal clínico da doença de Newcastle e de o laboratório comunitário de referência mencionado no artigo 15.º ter demonstrado que o isolado do vírus em questão provém de uma vacina viva atenuada da doença de Newcastle, a autoridade competente pode conceder uma derrogação das exigências das alíneas a) a f) do n.º 1, na condição de a exploração em causa ser colocada sob vigilância oficial durante um período de trinta dias, e deve exigir, em especial, que:

— sejam aplicadas as disposições do n.º 2, alíneas a), b), d), e) e f) do artigo 4.º,

— nenhuma ave abandone a exploração, excepto para ser conduzida directamente a um matadouro designado pela autoridade competente.

A autoridade competente responsável por esse matadouro deve ser informada da intenção de enviar aves para abate, as quais, uma vez chegadas ao matadouro, devem ser mantidas e abatidas separadamente das outras aves.

4. A carne fresca proveniente das aves a que se refere o n.º 3 do presente artigo deve ostentar a marca de salubridade prevista no n.º 1 do artigo 5.º da Directiva 91/494/CEE.

5. As disposições previstas no n.º 3 voltarão a ser analisadas tendo em consideração a evolução da investigação científica, com vista à adopção de regras harmonizadas para utilização de vacinas contra a doença de Newcastle na Comunidade.

Artigo 6.º

No caso de uma exploração com dois ou mais bandos distintos, a autoridade competente pode, com base em critérios estabelecidos pela Comissão de acordo com o procedimento previsto no artigo 25.º prever derrogações das exigências do n.º 1 do artigo 5.º, no que respeita aos bandos saudáveis de uma exploração infectada, desde que o veterinário oficial tenha confirmado que as operações aí efectuadas são de molde a manter os bandos completamente separados no que diz respeito ao alojamento, ao tratamento e à alimentação, de tal modo que o vírus não pode propagar-se de um bando para outro.

Artigo 7.º

1. O inquérito epidemiológico abrangerá:

— a duração do período durante o qual a doença de Newcastle pode ter existido na exploração ou no pombal,

— a origem possível da doença de Newcastle na exploração ou no pombal e a determinação das outras explorações ou dos pombais em que se encontram aves de capoeira, pombos ou outras aves mantidas em cativeiro que possam ter sido infectados ou contaminados a partir dessa mesma origem,

▼B

— os movimentos de pessoas, aves de capoeira, pombos, outras aves mantidas em cativeiro, ou outros animais, veículos, ovos, carne e carcaças, e de qualquer material ou substância susceptível de ter transportado o vírus da doença de Newcastle a partir da exploração ou do pombal em causa, ou em direcção a eles.

2. A fim de garantir a completa coordenação de todas as medidas necessárias para assegurar, no mais breve prazo, a erradicação da doença de Newcastle e para efeitos de realização do inquérito epidemiológico será criada uma célula de crise.

As regras gerais relativas às células de crise nacionais e comunitárias serão adoptadas pelo Conselho, deliberando por maioria qualificada sob proposta da Comissão.

Artigo 8.º

1. Quando o veterinário oficial tiver razões para suspeitar de que, em qualquer exploração, existem aves de capoeira que podem ter sido contaminadas devido à circulação de pessoas, animais ou veículos ou por qualquer outro meio, essa exploração será colocada sob controlo oficial em conformidade com o n.º 2.

2. O controlo oficial tem como objectivo detectar imediatamente qualquer suspeita de doença de Newcastle, proceder ao recenseamento e ao controlo dos movimentos de aves de capoeira, bem como, se for caso disso, executar a acção prevista no n.º 3.

3. Quando uma exploração tiver sido submetida ao controlo oficial nos termos dos n.os 1 e 2, a autoridade competente proibirá a saída de aves de capoeira da exploração, excepto quando se tratar do transporte directo para o matadouro sob vigilância oficial com vista ao seu abate imediato. Previamente à concessão da autorização supracitada, o veterinário oficial deve efectuar um exame clínico de todas as aves de capoeira que permita excluir a presença da doença de Newcastle na exploração. As restrições à circulação referidas no presente artigo serão aplicáveis durante um período de 21 dias a partir da última data de contaminação potencial; no entanto, essas restrições devem ser aplicadas durante um período de, pelo menos, sete dias.

4. Quando considerar que as condições o permitem, a autoridade competente pode limitar as medidas previstas no presente artigo a uma parte da exploração e às aves de capoeira que aí se encontram, desde que essas aves tenham sido alojadas, tratadas e alimentadas de modo totalmente separado e por um pessoal distinto.

5. Quando o veterinário oficial tiver razões para suspeitar de que os pombos-correio ou um determinado pombal se encontram contaminados pelo vírus da doença de Newcastle, tomará todas as medidas necessárias para que sejam aplicadas a esse pombal medidas de restrição, que deverão incluir a proibição do transporte de pombos-correio para fora do pombal durante vinte e um dias.

Artigo 9.º

1. Logo que o diagnóstico da doença de Newcastle for oficialmente confirmado nas aves de capoeira, os Estados-membros assegurarão que a autoridade competente delimite, em redor da exploração infectada, uma zona de protecção de um raio mínimo de 3 quilómetros, ela própria dentro de uma zona de vigilância com um raio mínimo de 10 quilómetros. A delimitação dessas zonas deve ter em conta os factores de ordem geográfica, administrativa, ecológica e epizootiológica relacionados com a doença de Newcastle e as estruturas de controlo.

▼B

2. As medidas aplicadas na zona de protecção incluirão:

a) A identificação de todas as explorações da zona onde existam aves de capoeira;

b) Visitas periódicas a todas as explorações onde existam aves de capoeira, exame clínico dessas aves, incluindo, se for caso disso, a colheita de amostras para análises laboratoriais; deve ser mantido um registo das visitas e dos seus resultados;

c) A manutenção de todas as aves de capoeira nos seus locais de alojamento ou em qualquer outro local que permita o seu isolamento;

d) A utilização de meios de desinfecção adequados nas entradas e saídas das explorações;

e) O controlo dos movimentos de pessoas que manipulam as aves de capoeira, os seus ovos e carcaças, bem como dos veículos que transportam as aves de capoeira, carcaças e ovos dentro da zona; de um modo geral, é proibido o transporte de aves de capoeira, excepto em caso de trânsito nos grandes eixos rodoviários ou ferroviários;

f) A proibição de saída das aves de capoeira da exploração onde se encontram, bem como dos ovos para incubação, excepto se a autoridade competente tiver autorizado o transporte;

   i) das aves de capoeira, com vista ao seu abate imediato, para um matadouro situado de preferência na zona infectada ou, em caso de impossibilidade, para um matadouro designado pela autoridade competente situado fora da zona infectada. A carne dessas aves de capoeira deve ostentar a marca especial de salubridade prevista no n.º 1 do artigo 5.º da Directiva 91/494/CEE ([1]);

   ii) dos pintos do dia ou das galinhas prontas para a postura para uma exploração situada na zona de vigilância e onde não existam quaisquer outras aves de capoeira. Todavia, os Estados-membros que não estejam em condições de assegurar o transporte dos pintos do dia ou das galinhas prontas para a postura para uma exploração situada na zona de vigilância ficam autorizados, de acordo com o procedimento previsto no artigo 25.º, a enviar os referidos pintos e galinhas para uma exploração situada fora da zona de vigilância. As explorações acima referidas deverão ser colocadas sob controlo oficial de acordo com o previsto no n.º 2 do artigo 8.º,

   iii) dos ovos para incubação para um centro de incubação designado pela autoridade competente; antes da partida, os ovos e as suas embalagens devem ser desinfectados.

   Os movimentos previstos nas subalíneas i), ii) e iii) devem ser executados em transportes directos, sob controlo oficial. Esses movimentos só podem ser autorizados após uma inspecção sanitária da exploração pelo veterinário oficial. Os meios de transporte utilizados devem ser limpos e desinfectados antes e após a sua utilização;

g) A proibição de transportar ou de espalhar, sem autorização, os estrumes e chorumes de aves de capoeira;

([1]) Directiva 91/494/CEE do Conselho, de 26 de Junho de 1991, relativa às condições de polícia sanitária que regulam o comércio intracomunitário e as importações de carnes frescas de aves de capoeira provenientes de países terceiros (JO n.º L 268 de 24.9.1991, p. 35).

▼B

h) A proibição de feiras, mercados, exposições e outras situações que originem uma concentração de aves de capoeira ou de outras aves.

3. As medidas aplicadas na zona de protecção serão mantidas durante pelo menos 21 dias após a execução, nos termos do artigo 11.º, das operações preliminares de limpeza e de desinfecção na exploração infectada. A zona de protecção passará então a fazer parte da zona de vigilância.

4. As medidas aplicadas na zona de vigilância incluirão:

a) A identificação de todas as explorações da zona onde existam aves de capoeira;

b) O controlo da circulação de aves de capoeira e de ovos para incubação dentro da zona;

c) A proibição da saída de aves de capoeira da zona durante os primeiros 15 dias, excepto para envio directo a um matadouro situado fora da zona de vigilância e designado pela autoridade competente. A carne dessas aves deve ostentar a marca especial de salubridade prevista no artigo 5.º da Directiva 91/494/CEE;

d) A proibição de saída dos ovos para incubação da zona de vigilância excepto para incubadoras designadas pela autoridade competente. Antes da partida, os ovos e as suas embalagens devem ser desinfectados;

e) A proibição de saída da zona de estrumes e chorumes de aves de capoeira;

f) A proibição de feiras, mercados, explorações e outras situações que originem a concentração de aves de capoeira ou de outras aves;

g) Sem prejuízo do disposto na alíneas a) e b), a proibição do transporte de aves de capoeira na zona, com exclusão do trânsito pelos grandes eixos rodoviários ou ferroviários.

5. As medidas aplicadas na zona de vigilância serão mantidas durante pelo menos 30 dias após a execução das operações preliminares de limpeza e desinfecção na exploração infectada, nos termos do artigo 11.º

6. No caso de as zonas se situarem no território de vários Estados-membros, as autoridades competentes dos Estados-membros em causa colaborarão de modo a delimitar as zonas referidas no n.º 1. Todavia, se necessário, a zona de protecção e a zona de vigilância serão delimitidas de acordo com o procedimento previsto no artigo 25.º

7. Sempre que o inquérito epidemológico previsto no artigo 7.º confirme que o foco se deve a uma injecção que não apresente qualquer extensão, a dimensão e a duração da aplicação das zonas de protecção e de vigilância podem ser reduzidas de acordo com o procedimento previsto no artigo 25.º

Artigo 10.º

Os Estados-membros assegurarão que:

a) A autoridade competente fixe as regras que lhe permitirão determinar os movimentos dos ovos, das aves de capoeira e das aves mantidas em cativeiro;

b) O proprietário ou o responsável pelas aves de capoeira e/ou pelos pombos-correio seja obrigado a apresentar à autoridade competente, sempre que esta última o solicite, as informações relativas às aves de capoeira e aos ovos que entrem ou saiam da sua exploração, bem como as informações relativas às competições ou exposições em que tenham participado os pombos-correio;

▼B

c) Qualquer pessoa que proceda ao transporte ou ao comércio de aves de capoeira, de pombos-correio e de ovos de aves mantidas em cativeiro possa apresentar à autoridade competente as informações relativas aos movimentos das aves de capoeira, dos pombos-correio e dos ovos de aves mantidas em cativeiro que transportou ou comercializou e fornecer todo e qualquer elemento relacionado com essas informações.

Artigo 11.º

Os Estados-membros assegurarão que:

a) Os desinfectantes a utilizar bem como as suas concentrações sejam oficialmente aprovados pela autoridade competente;

b) As operações de limpeza e desinfecção sejam efectuadas sob vigilância oficial, em conformidade com:

i) as instruções do veterinário oficial,

ii) o processo de limpeza e desinfecção de explorações infectadas previsto no anexo II.

Artigo 12.º

As colheitas de amostras e as análises laboratoriais destinadas a detectar a presença do vírus da doença de Newcastle devem ser efectuados em conformidade com o anexo III.

Artigo 13.º

Os Estados-membros providenciarão para que a autoridade competente adopte todas as medidas adequadas para informar as pessoas estabelecidas nas zonas de protecção e da vigilância das restrições em vigor e adoptem todas as disposições que se impõem para aplicar de um modo adequado essas medidas.

Artigo 14.º

1. Os Estados-membros assegurarão que em cada Estado-membro sejam designados:

a) Um laboratório nacional com equipamentos e pessoal especializado que lhe permitam, em qualquer momento proceder à definição das características antigénicas e biológicas do vírus da doença de Newcastle, bem como confirmar os resultados obtidos pelos laboratórios de diagnóstico regionais;

b) Um laboratório nacional encarregado de controlar os reagentes utilizados pelos laboratórios de diagnóstico regionais;

c) Um instituto ou laboratório nacional capaz de controlar a eficácia, actividade e pureza das vacinas utilizadas para a prevenção nesse país ou armazenadas para permitir uma intervenção de emergência.

▼M3

2. Os laboratórios nacionais mencionados no n.º 1 são responsáveis pela coordenação das normas e métodos de diagnóstico, pela utilização dos reagentes e pelo controlo das vacinas.

3. Os laboratórios nacionais indicados no n.º 1 são responsáveis pela coordenação das normas e métodos de diagnóstico estabelecidos em cada laboratório de diagnóstico da doença de Newcastle no Estado-Membro. Para o efeito:

▼B

a) Podem fornecer reagentes de diagnóstico aos laboratórios regionais;

b) Devem controlar a qualidade de todos os reagentes de diagnóstico utilizados nesse Estado-membro;

c) Devem organizar periodicamente testes comparativos;

d) Devem manter isolados do vírus da doença de Newcastle a partir de casos confirmados nesse Estado-membro;

e) Devem assegurar a confirmação dos resultados obtidos nos laboratórios de diagnóstico regionais.

▼M3

4. Os laboratórios nacionais indicados no n.º 1 cooperam com o laboratório comunitário de referência a que se refere o artigo 15.º

5. Os Estados-Membros mantêm listas actualizadas dos laboratórios ou institutos nacionais mencionados no n.º 1, disponibilizando-as aos demais Estados-Membros e ao público.

Podem ser aprovadas nos termos do n.º 2 do artigo 25.º regras de execução para uma aplicação uniformizada do presente número.

▼M4

Artigo 15.º

1. A Comissão deve designar, por meio de atos de execução, um laboratório de referência da União Europeia para a doença de Newcastle. Os referidos atos de execução são adotados pelo procedimento de exame a que se refere o artigo 25.º.

2. São as seguintes as competências e atribuições do laboratório de referência da União Europeia para a doença de Newcastle:

a) Coordenar, em consulta com a Comissão, os métodos de diagnóstico da doença de Newcastle nos Estados-Membros, nomeadamente, mediante:

i) a tipificação, o armazenamento e o fornecimento de estirpes de vírus da doença de Newcastle destinadas aos testes serológicos e à preparação de antissoros,

ii) o fornecimento de soros-padrão e de outros reagentes de referência aos laboratórios nacionais de referência, com vista à padronização dos testes e dos reagentes utilizados nos Estados-Membros,

iii) a constituição e a conservação de uma coleção de estirpes e de isolados do vírus da doença de Newcastle,

iv) a organização periódica de testes comparativos dos métodos de diagnóstico utilizados a nível da União,

v) a recolha e o confronto dos dados e informações sobre os métodos de diagnóstico utilizados e os resultados dos testes efetuados na União,

vi) a caracterização dos isolados dos vírus da doença de Newcastle pelos métodos mais avançados, de modo a promover uma melhor compreensão da epidemiologia da doença de Newcastle,

▼M4

vii) o acompanhamento da evolução da situação em todo o mundo em matéria de vigilância, epidemiologia e prevenção da doença de Newcastle,

viii) a manutenção de competências em matéria de vírus da doença de Newcastle e outros vírus pertinentes, a fim de permitir um diagnóstico diferencial rápido,

ix) a aquisição de um conhecimento aprofundado da preparação e utilização dos medicamentos imunológicos veterinários utilizados na erradicação e no controlo da doença de Newcastle;

b) Prestar uma ajuda ativa na identificação de focos da doença de Newcastle nos Estados-Membros, através de isolados do vírus que lhe sejam enviados para confirmação do diagnóstico, caracterização e estudos epidemiológicos;

c) Facilitar a formação ou a reciclagem de especialistas em diagnóstico laboratorial, tendo em vista a harmonização das técnicas em toda a União.

▼B

Artigo 16.º

1. Os Estados-membros assegurarão que:

a) A vacinação contra a doença de Newcastle por meio de vacinas autorizadas pela autoridade competente possa ser praticada no âmbito de medidas de profilaxia ou em complemento de medidas de luta adoptadas por ocasião do aparecimento da doença;

b) Só sejam autorizadas as vacinas cuja comercialização tenha sido autorizada pela autoridade competente do Estado-membro em que essa vacina será utilizada.

2. Podem ser previstos outros critérios para a utilização de vacinas contra a doença de Newcastle de acordo com o procedimento previsto no artigo 25.º

Artigo 17.º

1. Um Estado-membro em que seja praticada a vacinação preventiva, voluntária ou obrigatória das aves de capoeira, contra a doença de Newcastle informará desse facto a Comissão e os outros Estados-membros.

2. A informação fornecida nos termos do n.º 1 deve indicar:

— as características e a composição de cada vacina utilizada,

— as regras de controlo da distribuição, armazenagem e utilização das vacinas,

— as espécies e categorias de aves de capoeira que podem ou devem ser submetidas à vacinação,

— as zonas em que a vacinação pode ou deve ser realizada,

— as razões por que foi praticada a vacinação.

▼B

3. Os Estados-membros podem prever a organização de um programa de vacinação dos pombos-correio. Nesse caso, devem informar a Comissão. Sem prejuízo desse programa, os Estados-membros zelarão por que os organizadores de concursos e exposições tomem as disposições necessárias para que apenas sejam inscritos em competições ou exposições os pombos-correio que tenham sido vacinados contra a doença de Newcastle.

4. As modalidades de aplicação do presente artigo, nomeadamente no que diz respeito aos critérios a adoptar e às eventuais derrogações que podem ser concedidas de acordo com o estatuto sanitário dos Estados-membros, serão fixadas segundo o procedimento previsto no artigo 25.º

Artigo 18.º

1. Em caso de confirmação da doença de Newcastle, os Estados-membros assegurarão que, a fim de completar as outras medidas de luta previstas no presente regulamento, a autoridade competente possa delimitar a zona territorial e o período em que será realizada, sob controlo oficial e no mais breve prazo possível, a vacinação sistemática (vacinação de urgência) das espécies de aves de capoeira designadas. Um Estado-membro que proceda à vacinação de urgência informará a Comissão e os outros Estados-membros, no âmbito do Comité veterinário permanente, instituído pela Decisão 68/361/CEE do Conselho ([1]), da situação da doença de Newcastle e do programa de vacinação de urgência.

2. No caso previsto no n.º 1, é proibida a vacinação ou a revacinação de aves de capoeira nas explorações sujeitas às restrições referidas no artigo 4.º

3. No caso previsto no n.º 1:

a) As espécies de aves de capoeira designadas para serem vacinadas serão vacinadas no mais breve prazo possível;

b) Todas as aves de capoeira das espécias designadas nascidas ou introduzidas num exploração da zona de vacinação devem ser ou ter sido vacinadas;

c) Durante o desenrolar das operações de vacinação previstas no n.º 1, todas as aves de capoeira das espécies designadas existentes nas explorações da zona de vacinação devem permanecer nas mesmas, excepto:

— no que diz respeito aos pintos do dia transferidos para uma exploração da zona de vacinação onde devem ser vacinados,

— no que diz respeito às aves de capoeira transferidas directamente para um matadouro com vista ao seu abate imediato. Caso o matadouro se situe fora da zona de vacinação, a saída das aves de capoeira só será permitida depois de o veterinário oficial ter procedido a uma inspecção sanitária da exploração;

([1]) JO n.º L 255 de 18.10.1968, p. 23.

▼B

d) Uma vez realizadas as operações de vacinação previstas na alínea a), pode ser autorizada a saída da zona de vacinação nos seguintes casos:

— pintos do dia destinados à produção de carne, que podem ser transferidos para uma exploração onde serão vacinados; esta deve ser mantida sob vigilância até ao abate das aves de capoeira transferidas,

— aves de capoeira vacinadas há mais de 21 dias e destinadas ao abate imediato,

— ovos para incubação provenientes de aves de capoeira reprodutoras vacinadas há pelo menos 21 dias; os ovos e as respectivas embalagens devem ser desinfectados antes da expedição.

4. As medidas previstas nas alíneas b) e d) do n.º 3 serão mantidas após o final das operações de vacinação previstas no n.º 1 durante um período de três meses, renovável por períodos sucessivos de três meses.

5. Em derrogação das alíneas a) e b) do n.º 3, as autoridades competentes podem isentar da vacinação sistemática determinados bandos de aves de capoeira de especial valor científico, desde que tomem todas as disposições necessárias para assegurar a sua protecção sanitária e que esses bandos sejam submetidos a controlos serológicos periódicos.

6. A Comissão deve acompanhar a evolução da situação da doença e, se for caso disso, pode, acordo com o procedimento previsto no artigo 25.º, tomar uma decisão, nomeadamente no que se refere ao controlo dos movimentos e da vacinação.

Artigo 19.º

1. Sempre que se suspeitar da existência de pombos-correio ou de aves mantidas em cativeiro infectados pela doença de Newcastle, os Estados-membros providenciarão por que o veterinário oficial aplique imediatamente os meios de investigação oficiais, com o objectivo de confirmar ou informar a presença da doença, devendo, em especial, efectuar ou mandar efectuar as colheitas adequadas para efeitos de análises laboratoriais.

2. Logo que a autoridade competente seja notificada, deverá mandar colocar o pombal ou a exploração sob vigilância oficial e, nomeadamente, proibir a saída destes de qualquer pombo ou ave mantida em cativeiro e de tudo o que possa transmitir a doença de Newcastle.

3. As medidas previstas nos n.os 1 e 2 só serão levantadas quando o veterinário oficial infirmar a suspeita da doença de Newcastle.

4. Caso a infecção seja oficialmente confirmada, a autoridade competente ordenará imediatamente;

a) A aplicação das medidas de controlo e erradicação previstas no n.º 1, alíneas a), b), e) e f) do artigo 5.º aos pombos-correio ou às aves mantidas em cativeiro e aos pombais ou explorações infectados pela doença de Newcastle, ou,

▼B

b) No mínimo:

i) a proibição de transporte dos pombos ou de aves mantidas em cativeiro para fora do pombal ou da exploração durante pelo menos 60 dias após o desaparecimento dos sinais clínicos da doença de Newcastle;

ii) a destruição ou o tratamento de todas as matérias ou resíduos que possam estar contaminados. O tratamento deverá assegurar a destruição de todos os vírus da doença de Newcastle presentes e de todos os resíduos acumulados durante o período de 60 dias referido em i),

c) Um inquérito epidemiológico, nos termos do artigo 7.º

▼M4

5. Na medida em que tal seja necessário para a correta aplicação das medidas estabelecidas no presente artigo, os Estados-Membros devem apresentar à Comissão, no âmbito do Comité Permanente dos Vegetais, Animais e Alimentos para Consumo Humano e Animal, informações acerca da situação da doença e das medidas de controlo aplicadas.

6. A Comissão pode estabelecer, por meio de atos de execução, regras relativas às informações a apresentar pelos Estados-Membros à Comissão, tal como previsto no n.º 5 do presente artigo. Os referidos atos de execução são adotados pelo procedimento de exame a que se refere o artigo 25.º.

▼B

Artigo 20.º

1. É proibida a utilização, para alimentação das aves de capoeira, das águas de cozinha provenientes de meios de transporte internacionais tais como navios, veículos terrestres e aeronaves, devendo essas águas ser recolhidas e destruídas sob controlo oficial.

2. A utilização, para alimentação das aves de capoeira, de águas de cozinha que não as referidas no n.º 1 ou de detritos de aves de capoeira só pode ser autorizada após um tratamento pelo calor em instalações adequadas que assegurem a não transmissão da doença e a destruição do vírus da doença de Newcastle.

3. Se for caso disso e de acordo com o procedimento definido no artigo 25.º, a Comissão estabelecerá as regras para execução do n.º 2.

▼M4

Artigo 21.º

1. Cada Estado-Membro elabora um plano de contingência, especificando as medidas nacionais a aplicar em caso de aparecimento da doença de Newcastle. O plano de contingência deve ser atualizado, conforme adequado, para ter em conta a evolução da situação.

O plano de contingência deve permitir o acesso a instalações, equipamentos, pessoal e qualquer outro material adequado necessário para a erradicação rápida e eficaz do foco da doença de Newcastle. O plano de contingência deve fornecer uma indicação precisa dos *stocks* de vacinas de que cada Estado-Membro considera dever dispor para uma vacinação de emergência.

▼M4

2. Os planos de contingência e as suas atualizações devem ser apresentados à Comissão.

3. A Comissão analisa os planos de contingência e as suas atualizações a fim de determinar se permitem alcançar o objetivo pretendido, e propõe ao Estado-Membro em causa as alterações necessárias, nomeadamente para garantir a compatibilidade do seu plano com os dos restantes Estados-Membros.

A Comissão aprova os planos de contingência e as suas atualizações, se necessário alterados, pelo procedimento de exame a que se refere o artigo 25.º.

4. A Comissão pode estabelecer, por meio de atos de execução, os critérios a aplicar pelos Estados-Membros para a elaboração de planos de contingência. Os referidos atos de execução são adotados pelo procedimento de exame a que se refere o artigo 25.º.

▼B

Artigo 22.º

Na medida em que tal seja necessário à aplicação uniforme da presente directiva e em colaboração com as autoridades competentes, os peritos da Comissão poderão efectuar controlos no local. Para esse efeito poderão verificar, através do controlo de uma percentagem representativa de explorações, se as autoridades competentes controlam o cumprimento das disposições da presente directiva. A Comissão informará os Estados-membros do resultado dos controlos efectuados.

O Estados-membros em cujo território esteja a ser efectuado um controlo deve prestar todo o apoio necessário aos peritos no cumprimento da sua missão.

As regras de aplicação do presente artigo serão definidas em conformidade com o procedimento previsto no artigo 25.º

Artigo 23.º

As condições da participação financeira da Comunidade nas acções decorrentes da aplicação da presente directiva estão definidas na Decisão 90/424/CEE.

Artigo 24.º

Os anexos serão alterados, consoante as necessidades, pelo Conselho, deliberando por maioria qualificada, sob proposta da Comissão, nomeadamente a fim de ter em conta a evolução da investigação e dos processos de diagnóstico.

▼M4

Artigo 25.º

1. A Comissão é assistida pelo Comité Permanente dos Vegetais, Animais e Alimentos para Consumo Humano e Animal criado pelo artigo 58.º, n.º 1, do Regulamento (CE) n.º 178/2002 do Parlamento Europeu e do Conselho ([1]). Este comité é um comité na aceção do Regulamento (UE) n.º 182/2011 do Parlamento Europeu e do Conselho ([2]).

2. Caso se remeta para o presente artigo, aplica-se o artigo 5.º do Regulamento (UE) n.º 182/2011.

▼B

Artigo 26.º

1. Os Estados-membros porão em vigor as disposições legislativas, regulamentares e administrativas necessárias para dar cumprimento às disposições da presente directiva, ante de 1 de Outubro de 1993. Desse facto informarão imediatamente a Comissão.

Quando os Estados-membros aprovarem as referidas disposições, estas deverão incluir uma referência à presente directiva ou ser acompanhadas dessa referência aquando da sua publicação oficial; as modalidades dessa referência serão adoptadas pelos Estados-membros.

2. Os Estados-membros comunicarão à Comissão o texto das disposições essenciais de direito interno que adoptarem no domínio regido pela presente directiva.

Artigo 27.º

Os Estados-membros são os destinatários da presente directiva.

([1]) Regulamento (CE) n.º 178/2002 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 28 de janeiro de 2002, que determina os princípios e normas gerais da legislação alimentar, cria a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos e estabelece procedimentos em matéria de segurança dos géneros alimentícios (JO L 31 de 1.2.2002, p. 1).

([2]) Regulamento (UE) n.º 182/2011 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 16 de fevereiro de 2011, que estabelece as regras e os princípios gerais relativos aos mecanismos de controlo pelos Estados-Membros do exercício das competências de execução pela Comissão (JO L 55 de 28.2.2011, p. 13).

▼B

ANEXO I

AUTORIZAÇÃO PARA A SAÍDA DE OVOS DE UMA EXPLORAÇÃO SUJEITA ÀS CONDIÇÕES DO N.º 2, ALÍNEA E), DO ARTIGO 4.º DA PRESENTE DIRECTIVA

A autorização emitida pela autoridade competente para efeitos de transporte de ovos de uma exploração suspeita sujeita ao disposto no n.º 2, alínea e), do artigo 4.º para um estabelecimento aprovado para o fabrico e para o tratamento de ovoprodutos em conformidade com o disposto no n.º 1 do artigo 6.º da Directiva 89/437/CEE, adiante denominado «estabelecimento designado», deverá respeitar as seguintes condições:

1. Para poderem sair da exploração suspeita, os ovos deverão:

   a) Respeitar as exigências do anexo, Capítulo IV, da Directiva 89/437/CEE;

   b) Ser directamente enviados da exploração suspeita para o estabelecimento designado; cada envio deverá ser selado antes da partida pelo veterinário oficial da exploração suspeita e deverá manter-se selado durante todo o transporte até ao estabelecimento designado.

2. O veterinário oficial da exploração suspeita informará a autoridade competente do estabelecimento designado da intenção de lhe enviar os referidos ovos.

3. A autoridade competente responsável do estabelecimento designado assegurará que:

   a) Os ovos referidos na alínea b) do n.º 1 sejam mantidos isolados dos outros ovos desde a sua chegada até serem tratados;

   b) As cascas desses ovos sejam consideradas material de alto risco, em conformidade com o n.º 2 do artigo 2.º da Directiva 90/667/CEE ([1]) e sejam tratadas em conformidade com as exigências do capítulo II da directiva acima referida;

   c) O material de embalagem, os veículos utilizados para o transporte dos ovos referidos na alínea b) do n.º 1 e todos os locais com que os ovos possam ter estado em contacto sejam limpos e desinfectados de forma a destruir qualquer vírus da doença de Newcastle;

   d) O veterinário oficial da exploração suspeita seja informado de toda e qualquer expedição de ovos tratados.

([1]) Directiva 90/667/CEE do Conselho, de 27 de Novembro de 1990, que estabelece as normas sanitárias para a eliminação e a transformação de resíduos animais, para a sua colocação no mercado e para a prevenção da presença de agentes patogénicos nos alimentos para animais de origem animal ou à base de peixe, e que altera a Directiva 90/425/CEE (JO n.º L 363 de 27.12.1990, p. 51).

▼B

ANEXO II

PROCESSO DE LIMPEZA E DE DESINFECÇÃO DE UMA EXPLORAÇÃO INFECTADA

I. **Limpeza preliminar e desinfecção**

a) Logo que as carcaças das aves de capoeira tenham sido retiradas para serem destruídas, as partes das instalações onde as aves estiverem e qualquer parte dos edifícios, recintos, etc. contaminados durante o abate ou inspecção *post mortem* deverão ser limpas com um desinfectante aprovado nos termos do artigo 11.º da presente directiva.

b) Quaisquer tecidos de aves de capoeira e de ovos que tenham podido contaminar as instalações, os utensílios, etc. deverão ser cuidadosamente recolhidos e destruídos juntamente com as carcaças.

c) O desinfectante utilizado deve ficar na superfície tratada pelo menos durante 24 horas.

II. **Limpeza final e desinfecção**

a) A gordura e as sujidades devem ser retiradas de todas as superfícies mediante a aplicação de um desengordurante, procedendo-se em seguida a uma lavagem com água.

b) Após a lavagem com água descrita na alínea a), voltar a aplicar desinfectante.

c) Sete dias depois, as instalações devem ser tratadas com um desengordurante, lavadas com água fria, aspergidas com desinfectante e lavadas novamente com água.

d) As camas usadas e o estrume devem ser tratados por um método capaz de matar o vírus. Este método deve incluir pelo menos uma das seguintes alternativas:

   i) Serem incinerados ou tratados pelo vapor a uma temperatura de 70 °C;

   ii) Serem enterrados a uma profundidade que impeça o acesso de insectos e aves selvagens;

   iii) Serem empilhados e humedecidos (se necessário, para facilitar a fermentação), e cobertos para manter o calor de modo a que seja atingida um temperatura de 20 °C, ficando cobertos durante 42 dias de forma a impedir o acesso de insectos e aves selvagens.

▼B

ANEXO III

MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO PARA CONFIRMAÇÃO E DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DA DOENÇA DE NEWCASTLE

Os processos a seguir indicados de isolamento e caracterização do vírus da doença de Newcastle devem ser considerados como orientação e como mínimos a aplicar no diagnóstico da doença.

O vírus responsável pela doença de Newcastle é o vírus protótipo dos *Paramyxoviridae*. Actualmente, existem nove grupos de paramixovírus aviários diferenciáveis serologicamente, que são designados por PMV-1 a PMV-9. Todos os vírus da doença de Newcastle se encontram no grupo PMV-1. Para efeitos de processos de diagnóstico de confirmação e diagnóstico diferencial da doença de Newcastle, entende-se por:

Doença de Newcastle, uma infecção das aves de capoeira causada por qualquer estirpe aviária do paramixovírus 1 com um índice de patogenicidade intracerebral (ICPI), em pontos do dia, superior a 0,7.

CAPÍTULO 1

Amostragem e tratamento das amostras

1. *Amostras*

   Zaragatoa de cloaca (ou fezes) e zaragatoa de traqueia de aves doentes; fezes ou conteúdo intestinal, tecido cerebral, traqueia, pulmões, fígado, baço e outros órgãos visivelmente afectados provenientes de aves mortas recentemente.

2. *Tratamento das amostras*

   Os órgãos e tecidos atrás enumerados no n.º 1 podem ser tratados em conjunto; todavia, é essencial o tratamento separado das substâncias fecais. As zaragatoas devem ser colocadas num meio antibiótico suficiente para assegurar a sua imersão completa. As amostras de fezes e de órgãos devem ser homogeneizadas (num misturador fechado ou utilizando um almofariz e pilão e areia estéril) num meio antibiótico, sendo feitas suspensões no meio a 10--20 % m/v. As suspensões devem ser mantidas durante cerca de duas horas à temperatura ambiente (ou períodos mais longos a 4° C) e seguidamente clarificadas por centrifugação (por exemplo, a 800-1 000 rotações durante 10 minutos).

3. *Meio antibiótico*

   Muitos laboratórios têm utilizado, com êxito, várias fórmulas de meios antibióticos e os laboratórios referidos no anexo II poderão proporcionar pareceres. No que respeita as amostras de fezes, são necessárias concentrações elevadas de antibióticos, sendo a mistura típica de 10 000 unidades/ml de penicilina, 10 mg/ml de estreptomicina, 0,25 mg/ml de gentamicina e 5 000 unidades/ml de micostatina numa solução salina tamponada com fosfato. Estes níveis podem ser reduzidos até cinco vezes no caso dos tecidos e das zaragatoas de traqueia. Para o controlo das *Chlamydia* podem ser adicionados 50 mg/ml de oxitetraciclina. É imperativo, aquando da preparação do meio, que o pH seja verificado após a adição dos antibióticos e reajustado para obter um pH de 7,0 a 7,4.

CAPÍTULO 2

Isolamento do vírus

Isolamento do vírus em ovos de galinha embrionados

O líquido sobrenadante clarificado deve ser inoculado em quantidades de 0,1-0,2 ml na cavidade alantóide de cada um dos, pelo menos, quatro ovos de galinha embrionados, incubados durante 8 a 10 dias. De preferência, estes ovos devem ser provenientes de um bando índemne de organismos patogénicos específicos; em caso de impossibilidade, podem utilizar-se ovos provenientes de um bando sem anticorpos do vírus da doença de Newcastle. Os ovos inoculados devem ser mantidos a uma temperatura de 37° C e transiluminados diariamente. Os ovos

▼B

com embriões mortos ou moribundos, à medida que forem detectados, bem como todos os ovos restantes seis dias após a inoculação, devem ser arrefecidos a uma temperatura de 4° C, procedendo-se à testagem do líquido alantóico-amniótico em relação à actividade de hemaglutinação. Caso não seja detectada a hemaglutinação, respeite-se este processo utilizando como inóculo o líquido alantóico--amniótico por diluir.

Quando for detectada a hemaglutinação, a presença de bactérias deve ser excluída por meio de cultura. Caso seja detectada a presença de bactérias, os líquidos podem ser passados por um filtro de membrana de 450 nm e após a adição de mais antibióticos devem ser inoculados em ovos embrionados, tal como descrito acima.

CAPÍTULO 3

Diagnóstico diferencial

1. *Diferenciação preliminar*

Pretende-se que todos os vírus hemaglutinantes sejam apresentados ao laboratório nacional com vista à sua identificação e caracterização completas e à realização de testes de patogenicidade. Todavia, é importante introduzir, o mais rapidamente possível, medidas provisórias de luta contra a doença de Newcastle, a fim de limitar a propagação do vírus; os laboratórios regionais devem ser capazes de identificar a presença do vírus da doença de Newcastle. Os líquidos hemaglutinantes devem, pois, ser utilizados num teste de inibição da hemaglutinação, tal como descrito nos capítulos 5 e 6. Uma inibição positiva de 2^4 ou mais, com o anti-soro policional específico do vírus da doença de Newcastle de título conhecido como sendo, pelo menos, de 2^9, poderá servir de identificação preliminar e permitir, assim, a imposição de medidas de controlo provisórias.

2. *Identificação confirmatória*

O laboratório nacional deve realizar diagnósticos diferenciais completos de qualquer agente hemaglutinante. A confirmação do vírus da doença de Newcastle deveria fazer-se igualmente por inibição em testes de inibição da hemaglutinação com anti-soros de frango mono-específicos. Em todos os isolados positivos devem ser efectuados testes de determinação do índice de patogenicidade intracerebral, tal como descritos no capítulo 7. Os índices de patogenicidade superiores a 0,7 indicam a presença do vírus, exigindo a plena aplicação de medidas de controlo.

Os progressos recentemente alcançados na classificação dos vírus da doença de Newcastle, especialmente as técnicas que utilizam anticorpos monocionais, permitiram o agrupamento de estirpes e isolados. Encontram-se, nomeadamente, disponíveis determinados anticorpos específicos das estirpes de vacinas utilizadas na Comunidade Europeia que podem ser empregues em testes simples de inibição da hemaglutinação.

Uma vez que as estirpes das vacinas vivas podem, frequentemente, ser isoladas a partir de amostras de aves de capoeira, é clara a vantagem da sua identificação rápida pelos laboratórios nacionais. Esses anticorpos monocionais poderão ser obtidos junto do laboratório de referência comunitário e fornecidos aos laboratórios nacionais a fim de possibilitar a confirmação do isolamento de vírus de vacinas.

Os laboratórios nacionais deverão apresentar todos os agentes hemaglutinantes ao laboratório comunitário de referência.

3. *Outras classificações e caracterizações dos isolados*

O laboratório comunitário de referência deve receber dos laboratórios nacionais todos os vírus hemaglutinantes, com vista à realização de outros estudos antigénicos e genéticos que permitam uma melhor compreensão da epizootiologia da(s) doença(s) na Comunidade Europeia, respeitando assim as funções e os deveres do laboratório de referência.

▼B

CAPÍTULO 4

Testes rápidos de detecção do vírus e dos anticorpos da doença de Newcastle

Apresentam-se a seguir alguns testes rápidos de detecção do vírus da doença de Newcastle em aves vacinadas e de detecção de anticorpos em aves não vacinadas.

1. *Detecção do vírus da doença de Newcastle*

No diagnóstico de infecções em aves vacinadas têm sido utilizados diversos testes rápidos que detectam directamente os antigénios da doença de Newcastle. Os testes geralmente mais utilizados até ao momento são os testes de anticorpos com fluorescência em secções longitudinais da traqueia e os testes de anticorpos com peroxidase no cérebro. Não há motivos para crer que não possam ser aplicados outros testes de detecção directa do antigénio no caso das infecções provocadas pelo vírus da doença de Newcastle.

O inconveniente destes testes é que não é possível examinar todos os locais potenciais de replicação do vírus da doença de Newcastle nas aves vacinadas. Assim, por exemplo, a ausência de indícios do vírus na traqueia não exclui a replicação do vírus no intestino. Não é recomendado nenhum método directo de detecção para uso de rotina no diagnóstico da doença de Newcastle, apesar de estes testes poderem ter uma função útil em circunstâncias específicas.

2. *Detecção de anticorpos em aves não vacinadas*

A maioria dos laboratórios ligados ao diagnóstico da doença de Newcastle estão familiarizados com o teste de inibição da hemaglutinação e a recomendação feita mais adiante aplica-se a este teste para a medição dos anticorpos do vírus. No entanto, a prova de imunoabsorção enzimática (Elisa) pode ser utilizada com êxito na detecção de anticorpos do vírus. Sugere-se que, caso se pretenda utilizar o teste Elisa ao nível de um laboratório regional, o teste seja controlado pelo laboratório nacional referido no anexo II.

a) Amostras

Devem ser colhidas amostras de sangue de todas as aves se a dimensão do bando for inferior a 20, ou de 20 aves no caso de bandos maiores (tal dá origem a uma probabilidade superior a 99 % de detectar pelo menos um soro positivo se 25 % ou mais do bando for positivo, independentemente da dimensão do bando). Deve deixar-se o sangue coagular, utilizando-se o soro na realização do teste.

b) Pesquisa de anticorpos

As amostras individuais de soro devem ser submetidas a testes-padrão de inibição da hemaglutinação, como descritas no capítulo 6, a fim de determinar a sua capacidade para inibirem o antigénio hemaglutinante do vírus da doença de Newcastle.

Existe alguma polémica sobre se devem ser utilizados quatro ou oilo to unidades de hemoglutinina nos testes de inibição da hemaglutinação. Aparentemente, ambas as doses são válidas e deveria caber aos laboratórios nacionais a escolha da dose a utilizar. Todavia, o antigénio utilizado afecta o nível em que um soro é considerado positivo; para quatro unidades de hemaglutinina, considera-se positivo o soro que apresenta um título igual ou superior a 2^4; para oito unidades de hemaglutinina, considera-se positivo o soro que apresenta um título igual ou superior a 2^3.

CAPÍTULO 5

Teste de hemaglutinação (HA)

Reagentes

1. Solução isotónica salina tamponada com fosfato (0,05M) com um pH de 7,0 a 7,4.

▼B

2. Colher hemácias de, pelo menos, três frangos sem organismos patogénicos específicos (se tal não for possível, pode colher-se sangue de aves controladas regularmente e que se tenham apresentado isentas de anticorpos do vírus da doença de Newcastle) e misturá-las num volume igual de solução de Alsever. As células devem ser lavadas três vezes na solução isotónica salina tamponada com fosfato antes da sua utilização. Para o teste, recomenda-se uma suspensão a 1 % (células empacotadas v/v).

3. É recomendada a utilização da estirpe Ulster de 2C do vírus da doença de Newcastle como antigenio-padrão.

Método

a) Colocar 0,025 ml de solução isotónica salina tamponada com fosfato em cada cavidade de uma placa de microtitulação de plástico (devem ser utilizadas cavidades com fundos em «V»).

b) Colocar 0,025 ml de suspensão de vírus (isto é, líquido alantóico) na primeira cavidade.

c) Utilizar um diluente de microtitulação para proceder às diluições duplas (1:2 a 1:4096) do vírus de cavidade ao longo da placa.

d) Colocar mais 0,025 ml de solução isotónica salina tamponada com fosfato em cada cavidade.

e) Juntar 0,025 ml de hemácias a 1 % em cada cavidade.

f) Misturar agitando ligeiramente e colocar a 4° C.

g) Ler as placas 30 a 40 minutos depois, quando as testemunhas tiverem sedimentado. A leitura é feita inclinando a placa para observar a presença ou a ausência de um fluxo, em forma de lágrima, das hemácias. As cavidades sem hemaglutinação devem fluir à mesma velocidade que as células testemunha sem vírus.

h) O título de hemaglutinação é a diluição mais elevada que provoca a aglutinação das hemácias. Essa diluição pode ser considerada como contendo uma unidade de hemaglutinação. Um método mais exacto de determinação do título de hemaglutinação consiste na realização de testes de hemaglutinação em vírus provenientes de uma série de diluições iniciais mais próximas, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6 etc. Este método é recomendado para a preparação exacta do antigénio destinado aos testes de inibição da hemaglutinação (capítulo 6).

CAPÍTULO 6

Teste de inibição da hemaglutinação

Reagentes (Ver capítulo 5)

a) Solução isotónica salina tamponada com fosfato.

b) Líquido alantóico com vírus, diluído numa solução isotónica salina tamponada com fosfato de modo a conter quatro ou oito unidades de hemaglutinação por 0,025 ml.

c) Hemácias de frango a 1 %.

d) Soro-testemunha de frango, negativo.

f) Soro-testemunha positivo.

Método

a) Colocar 0,025 ml de solução isotónica salina tamponada com fosfato em todas as cavidades de uma placa de microtitulação de plástico (com cavidades com fundos em «V»).

b) Colocar 0,025 ml de soro na primeira cavidade da placa.

c) Utilizar um diluente de microtitulação para fazer diluições duplas de soro de cavidade em cavidade ao longo da placa.

d) Adicionar 0,025 ml de líquido alantóico diluído contendo quatro ou oito unidades de hemaglutinação.

e) Misturar agitando ligeiramente e colocar a placa a 4° C durante, pelo menos, 60 minutos ou à temperatura ambiente durante pelo menos 30 minutos.

▼B

f) Adicionar 0,025 ml de hemácias a 1 % em todas as cavidades.

g) Misturar agitando ligeiramente e colocar a 4° C.

h) Ler as placas 30 a 40 minutos depois, quando as hemácias-testemunha tiverem sedimentado. A leitura é feita inclinando a placa para observar a presença ou a ausência de um fluxo, em forma de lágrima, das hemácias. As cavidades sem hemaglutinação devem fluir à mesma velocidade que as células testemunha que contêm apenas hemácias (0,025 ml) e solução isotónica salina tamponada com fosfato (0,05 ml).

i) O título da inibição da hemaglutinação é a diluição mais elevada de anti-soro que provoca a inibição completa de quatro ou oito unidades de vírus (deveria ser incluída em cada teste uma titulação da hemaglutinação para confirmar a presença do número de unidades de hemaglutinação necessário).

j) A validade dos resultados depende da obtenção de um título inferior a 2^3 para quatro unidades de hemaglutinação ou 2^2 para oito unidades de hemaglutinação com o soro-testemunha negativo e de um título com a diferença de apenas uma diluição em relação ao título conhecido do soro-testemunha positivo.

CAPÍTULO 7

Teste do índice de patogenicidade intracerebral (IPIC)

1. Diluir a 1:10 numa solução isotónica salina estéril líquido alantóico infeccioso colhido recentemente (o título de hemaglutinação deve ser superior a 2^4) (não devem ser utilizados antibióticos).

2. Injectar por via intracerebral 0,05 ml de vírus diluído em cada um de 10 pintos de um dia de idade (isto é, 24 a 40 horas após a colosão). Os pintos devem ter nascido de ovos provenientes de um bando indemne de organismos patogénicos específicos.

3. Examinar as aves em intervalos de 24 horas, durante oito dias.

4. Em cada observação, atribuir a cada ave a seguinte classificação: 0 = normal; 1 = doente; 2 = morta.

5. Calcular o índice de acordo com o seguinte exemplo:

Sinais clínicos	Dia após a inoculação (número de aves)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	Total	Classificação
Normais	10	4	0	0	0	0	0	0	14 × 0	= 0
Doentes	0	6	10	4	0	0	0	0	20 × 1	= 20
Mortos	0	0	0	6	10	10	10	10	46 × 2	= 92
									TOTAL = 112	
O índice é o resultado médio por ave e por observação = 112/80 = 1,4										

CAPÍTULO 8

Avaliação da capacidade de formação de placas

1. É geralmente mais aconselhável utilizar uma série de diluições do vírus, a fim dé assegurar a presença na placa de Petri de um número óptimo de placas. Devem ser suficientes diluições de 10 vezes até 10^{-7} numa solução isotónica salina tamponada com fosfato.

2. Em placas de Petri de 5 cm de diâmetro, preparam-se camadas simples confluentes de células de embriões de pintos ou linhas adequadas de células (por exemplo, rim de bovino Madin-Darby).

3. Junta-se a cada uma de duas placas de Petri 0,2 ml de cada diluição do vírus; deixa-se o vírus absorver durante 30 minutos.

▼B

4. Depois de serem lavadas três vezes com solução isotónica salina tamponada com fosfato, as células infectadas são cobertas com um meio apropriado contendo 1 % m/v de ágar e 0,01 mg/ml de tripsina ou sem tripsina; é importante que não seja adicionado soro ao meio de cobertura.

5. Após 72 horas de incubação a 37° C, as placas devem ter a dimensão suficiente. Estas placas são observadas mais correctamente se a camada de ágar for removida e se a camada simples de células for corada com cristal violeta (0,5 % m/v) em etanol (25 % v/v).

6. Todos os vírus devem originar placas claras quando incubados na presença de tripsina na cobertura. Se não for utilizada tripsina na cobertura, apenas os vírus virulentos para os frangos produzirão placas.

▼M3

_____

▼M4

_____