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

►**B**

RÅDETS DIREKTIV 92/66/EEG

av den 14 juli 1992

om införande av gemenskapsåtgärder för bekämpning av Newcastlesjukan

(EGT L 260, 5.9.1992, s. 1)

Ändrad genom:

		Officiella tidningen		
		nr	sida	datum
►**M1**	Rådets förordning (EG) nr 806/2003 av den 14 april 2003	L 122	1	16.5.2003
►**M2**	Rådets direktiv 2006/104/EG av den 20 november 2006	L 363	352	20.12.2006
►**M3**	Rådets direktiv 2008/73/EG av den 15 juli 2008	L 219	40	14.8.2008
►**M4**	Europaparlamentets och rådets direktiv (EU) 2018/597 av den 18 april 2018	L 103	4	23.4.2018

Ändrad genom:

►**A1**	Akt om villkoren för Konungariket Norges, Republiken Österrikes, Republiken Finlands och Konungariket Sveriges anslutning till de fördrag som ligger till grund för Europeiska unionen och om anpassning av fördragen	C 241	21	29.8.1994
	(anpassad genom rådets beslut 95/1/EG, Euratom, EKSG)	L 1	1	1.1.1995
►**A2**	Akt om villkoren för Republiken Tjeckiens, Republiken Estlands, Republiken Cyperns, Republiken Lettlands, Republiken Litauens, Republiken Ungerns, Republiken Maltas, Republiken Polens, Republiken Sloveniens och Republiken Slovakiens anslutning till de fördrag som ligger till grund för Europeiska Unionen och om anpassning av fördragen	L 236	33	23.9.2003

▼B

RÅDETS DIREKTIV 92/66/EEG

av den 14 juli 1992

om införande av gemenskapsåtgärder för bekämpning av Newcastlesjukan

Artikel 1

Utan att det påverkar tillämpningen av de gemenskapsbestämmelser om handeln inom gemenskapen, fastställs i detta direktiv de bekämpningsåtgärder som skall vidtas inom gemenskapen vid ett utbrott av Newcastlesjukan hos

a) fjäderfä,

b) tävlingsduvor och andra fåglar som hålls i fångenskap.

Detta direktiv skall inte gälla när Newcastlesjukan upptäcks hos vilda fåglar som lever i frihet. I sådana fall skall dock den berörda medlemsstaten underrätta kommissionen om vilka åtgärder den har vidtagit.

Artikel 2

Definitionerna i artikel 2 i rådets direktiv 90/539/EEG av den 15 oktober 1990 om djurhälsovillkor för handel inom gemenskapen med och för import från tredje land av fjäderfä och kläckningsägg ([1]) skall i tillämpliga delar gälla också detta direktiv.

Dessutom används följande beteckningar med de betydelser som här anges:

a) *smittat fjäderfä:* fjäderfä

— hos vilket Newcastlesjukan officiellt har bekräftats efter undersökning av ett godkänt laboratorium,

eller

— hos vilket det vid ett andra och senare utbrott förekommer kliniska symtom eller postmortala förändringar som kan tillskrivas Newcastlesjukan.

b) *fjäderfä som misstänks vara smittat:* ett fjäderfä som har kliniska symtom eller postmortala förändringar av sådant slag att Newcastlesjukan rimligen kan misstänkas.

c) *fjäderfä som misstänks vara smittbärare:* ett fjäderfä som direkt eller indirekt kan ha blivit utsatt för Newcastlesjukans virus.

d) *matavfall:* avfall från kök och restauranger eller, i förekommande fall, avfall från industrier som arbetar med kött.

e) *behörig myndighet:* den behöriga myndighet som avses i artikel 2.6 i direktiv 90/425/EEG ([2]).

f) *officiell veterinär:* en veterinär som den behöriga myndigheten har utsett.

([1]) EGT nr L 303 31.10.1990, s. 6. Direktivet har senast ändrats genom direktiv 91/496/EEG (EGT nr L 268, 24.9.1991, s. 56).

([2]) Rådets direktiv 90/425/EEG av den 26 juni 1990 om veterinära och avelstekniska kontroller i handeln med vissa levande djur och varor inom gemenskapen med sikte på att förverkliga den inre marknaden (EGT nr L 224, 18.8.1990, s. 29), senast ändrat genom direktiv 91/496/EEG (EGT nr L 268, 24.9.1991, s. 56).

▼B

g) *tävlingsduva:* en duva som transporteras eller är avsedd att transporteras från sitt duvslag för att släppas och flyga tillbaka till duvslaget eller till något annat färdmål.

h) *duvslag:* en inrättning som används för inhysning eller uppfödning av tävlingsduvor.

Artikel 3

Medlemsstaterna skall säkerställa att det finns en skyldighet att omedelbart anmäla varje misstanke om Newcastlesjuka till den behöriga myndigheten.

Artikel 4

1. Om fjäderfän i en anläggning misstänks vara smittade eller smittbärande med Newcastlesjukan, skall medlemsstaten säkerställa att en officiell veterinär omedelbart startar en officiell undersökning för att bekräfta eller utesluta förekomst av sjukdomen och i synnerhet ta eller låta ta de prover som krävs för en laboratorieundersökning.

2. Så snart den misstänkta smittan har anmälts skall den behöriga myndigheten sätta den misstänkta anläggningen under officiell övervakning och särskilt kräva följande:

a) Det skall upprättas en förteckning som för varje slag av fjäderfä i anläggningen anger det antal fåglar som har dött, som visar kliniska symtom och som saknar symtom. Förteckningen skall fortlöpande kompletteras så att den även omfattar de fåglar som föds eller dör under den tid som misstanken kvarstår. Uppgifterna i förteckningen skall hållas aktuella och redovisas på begäran och får kontrolleras vid varje besök.

b) Alla fjäderfän i anläggningen skall hållas kvar i sina stallar eller på någon annan plats där de kan hållas isolerade och fria från kontakt med andra fjäderfän.

c) Inga fjäderfän får flyttas till eller från anläggningen.

d) Det krävs tillstånd av den behöriga myndigheten till varje förflyttning

— av personer, andra djur och fordon till eller från anläggningen,

— av kött eller kroppar av fjäderfä, eller av djurfoder, redskap, avfall, spillning, gödselströ eller annat som kan tänkas överföra Newcastlesjukan.

e) Inga ägg får lämna anläggningen med undantag för ägg som med den behöriga myndighetens tillstånd skickas direkt till en anläggning som är godkänd för framställning eller förädling av äggprodukter enligt artikel 6.1 i direktiv 89/437/EEG ([1]). Sådana tillstånd måste uppfylla kraven enligt bilaga 1.

([1]) Rådets direktiv 89/437/EEG av den 20 juni 1989 om hygienfrågor och hälsorisker som påverkar tillverkningen och försäljningen av äggprodukter (EGT nr L 212, 22.7.1989, s. 87) ändrat genom direktiv 89/662/EEG (EGT nr L 395, 30.12.1989, s. 13).

▼B

f) Lämpliga desinficeringsmedel skall användas vid in- och utgångar till de byggnader där fjäderfäna är inhysta liksom till själva anläggningen.

g) En epizootiologisk undersökning skall utföras i enlighet med artikel 7.

3. Innan officiella åtgärder enligt punkt 2 har genomförts skall den som äger eller sköter de fjäderfän som misstänks ha drabbats av sjukdomen göra allt som rimligen kan göras för att säkerställa att punkt 2 efterlevs, med undantag för punkt 2 g.

4. Den behöriga myndigheten får tillämpa vilken som helst av de åtgärder som anges i punkt 2 på andra anläggningar om dessa genom sin placering, geografiska belägenhet, eller kontakt med anläggningen där sjukdomen misstänks, kan befaras ha blivit smittade.

5. Åtgärderna enligt punkt 1 och 2 får avbrytas först när den officiella veterinären inte längre misstänker förekomst av Newcastlesjuka.

Artikel 5

1. Så snart det officiellt har konstaterats att Newcastlesjukan har brutit ut hos fjäderfä i en anläggning skall medlemsstaterna säkerställa att den behöriga myndigheten kräver att följande åtgärder vidtas utöver de åtgärder som anges i artikel 4.2:

a) Alla fjäderfän i anläggningen skall utan dröjsmål avlivas på platsen. De självdöda eller avlivade fåglarna och alla ägg skall destrueras. Detta skall göras på ett sådant sätt att risken för att sjukdomen skall spridas blir så liten som möjligt.

b) Allt material eller avfall såsom djurfoder, strö eller gödsel som kan tänkas vara smittförande skall destrueras eller behandlas på lämpligt sätt. Denna behandling skall utföras i enlighet med vad den officiella veterinären bestämmer och skall säkerställa att varje förekommande virus av Newcastlesjukan förintas.

c) Om fjäderfä från anläggningen har slaktats under sjukdomens förmodade inkubationstid, skall köttet från dessa fåglar så långt möjligt spåras upp och destrueras.

d) Kläckningsägg som lagts under den förmodade inkubationstiden och som har avlägsnats från anläggningen skall spåras och destrueras. Fåglar som redan har kläckts från sådana ägg skall sättas under officiell övervakning. Konsumtionsägg som är producerade under den förmodade inkubationstiden och som har avlägsnats från anläggningen skall så långt möjligt spåras upp och destrueras, såvida de inte redan har desinficerats på lämpligt sätt.

e) Sedan åtgärderna enligt a och b har vidtagits skall de byggnader där fjäderfäna varit inhysta, byggnadernas omgivning, fordon som använts för transport och all utrustning som kan tänkas vara smittbärande rengöras och desinficeras i enlighet med bestämmelserna i artikel 11.

f) Inga fjäderfän får återinsättas i anläggningen förrän tidigast 21 dagar efter det att åtgärderna enligt e har genomförts.

g) En epizootiologisk undersökning skall utföras i enlighet med artikel 7.

▼B

2. Den behöriga myndigheten får utsträcka åtgärderna enligt punkt 1 till närliggande anläggningar om dessa genom sin placering, geografiska belägenhet eller kontakt med anläggningen där sjukdomen har bekräftats, kan befaras ha blivit smittade.

3. Om en stam av Newcastlesjukans virus med ICPI (intracerebralt patogenicitetsindex) över 0,7 men under 1,2 har isolerats i en fjäderfäbesättning som inte visar kliniska symtom på Newcastlesjukan och om gemenskapens referenslaboratorium enligt artikel 15 har påvisat att virusisolatet härstammar från ett försvagat levande vaccin mot Newcastlesjukan, får den behöriga myndigheten bevilja undantag från kraven enligt punkt 1 a-f under förutsättning att den berörda anläggningen ställs under officiell övervakning i 30 dagar och att undantaget förenas med villkor om framförallt följande:

— Bestämmelserna i artikel 4.2 a, b, d, e och f skall gälla.

— Inga fjäderfän får lämna anläggningen utom för att transporteras direkt till ett slakteri som den behöriga myndigheten har utsett.

Den myndighet som har ansvaret för detta slakteri skall underrättas om avsikten att sända dit fjäderfäna för slakt och så snart fjäderfäna anlänt till slakteriet skall de hållas avskilda och slaktas avskilda från andra fjäderfän.

4. Färskt kött från sådana fjäderfän som avses i punkt 3 i denna artikel skall kontrollmärkas enligt artikel 5.1 i direktiv 91/494/EEG.

5. Bestämmelserna i punkt 3 skall omprövas mot bakgrund av nya forskningsresultat och med sikte på att anta harmoniserade regler om hur vaccin mot Newcastlesjukan skall användas inom gemenskapen.

Artikel 6

För anläggningar med två eller flera separata flockar får den behöriga myndigheten i enlighet med de kriterier som kommissionen fastställt enligt förfarandet i artikel 25 bevilja undantag från kraven i artikel 5.1 i fråga om friska flockar i en smittad anläggning, under förutsättning att den officiella veterinären har bekräftat att verksamheten där är av sådant slag att flockarna är fullständigt åtskilda i fråga om inhysning, skötsel och utfodring, så att viruset inte kan spridas från den ena flocken till den andra.

Artikel 7

1. Den epizootiologiska undersökningen skall avse

— under vilken tid Newcastlesjukan kan ha funnits i anläggningen eller i duvslaget,

— hur Newcastlesjukan kan ha kommit till anläggningen eller duvslaget och uppspårande av andra anläggningar eller duvslag där fjäderfän, duvor eller andra fåglar som hålls i fångenskap kan ha smittats eller blivit smittbärande på samma sätt,

▼B

— förflyttning av personer, fjäderfän, duvor eller andra fåglar som hålls i fångenskap eller andra djur, fordon, ägg, kött och kroppar och alla redskap eller allt material som kan tänkas ha överfört viruset till eller från anläggningen eller duvslaget i fråga.

2. En krisgrupp skall bildas med uppgift att fullständigt samordna alla de åtgärder som krävs för att utrota Newcastlesjukan så snabbt som möjligt samt att genomföra den epizootiologiska undersökningen.

Allmänna regler för nationella krisgrupper och gemenskapens krisgrupper skall fastställas av rådet på ett förslag från kommissionen som denna har antagit med kvalificerad majoritet.

Artikel 8

1. Om den officiella veterinären har skäl att misstänka att fjäderfän i en anläggning kan ha smittats genom förflyttning av personer, djur eller fordon eller på något annat sätt, skall anläggningen ställas under officiell kontroll enligt punkt 2.

2. Syftet med den officiella kontrollen skall vara att omedelbart klarlägga varje misstänkt fall av Newcastlesjukan, att räkna fjäderfäna och kontrollera förflyttningar av fjäderfä samt, om det är lämpligt, vidta de åtgärder som anges i punkt 3.

3. När en anläggning står under officiell kontroll enligt punkt 1 och 2 skall den behöriga myndigheten förbjuda att fjäderfän avlägsnas från anläggningen utom för att under officiell övervakning transporteras direkt till ett slakteri för omedelbar slakt. Innan en sådan transport tillåts skall den officiella veterinären ha utfört en klinisk undersökning av alla fjäderfän i anläggningen för att fastställa att ingen Newcastlesjuka förekommer i anläggningen. Förflyttningsrestriktionerna enligt denna artikel skall gälla i 21 dagar från den dag då en eventuell överföring av smittan senast kan ha ägt rum; de skall dock alltid gälla i minst sju dagar från den dag då de infördes.

4. Om förhållandena anses tillåta detta, får den behöriga myndigheten begränsa åtgärderna enligt denna artikel till en del av anläggningen och till de fjäderfän som finns i den delen, under förutsättning att dessa fjäderfän har inhysts, skötts och utfodrats i fullständig avskildhet och av särskild personal.

5. Om den officiella veterinären har anledning misstänka att tävlingsduvor eller något duvslag har smittats av Newcastlesjukans virus, skall han vidta alla lämpliga åtgärder för att säkerställa att duvslaget underkastas restriktioner med förbud under 21 dagar mot att tävlingsduvorna lämnar duvslaget.

Artikel 9

1. Så snart diagnosen på Newcastlesjuka hos fjäderfäna har bekräftats officiellt skall medlemsstaterna säkerställa att den behöriga myndigheten kring den smittade anläggningen upprättar ett kontrollområde med en radie av minst tre kilometer, som i sin tur skall ligga inom ett övervakningsområde med en radie av minst tio kilometer.

Områdena skall avgränsas med hänsyn till de geografiska, administrativa, ekologiska och epizootiologiska faktorer som är relevanta för Newcastlesjuka och med hänsyn till kontrollmöjligheterna.

▼B

2. Åtgärderna inom kontrollområdet skall omfatta följande:

a) Kartläggning av alla anläggningar som håller fjäderfän inom området.

b) Regelbundna besök i alla anläggningar som har fjäderfän, en klinisk undersökning av dessa fjäderfän och, vid behov, provtagning för laboratorieundersökning. Ett protokoll över besök och iakttagelser skall upprättas.

c) Alla fjäderfän skall hållas kvar i sina stallar eller på någon annan plats där de kan isoleras.

d) Lämpliga desinficeringsmedel skall användas vid anläggningens in- och utgångar.

e) Förflyttningar av personer som hanterar fjäderfä, fjäderfäkroppar och ägg samt fordon som transporterar fjäderfä, fjäderfäkroppar och ägg skall kontrolleras inom området. Fjäderfätransporter skall i princip vara förbjudna, utom för transitering på huvudvägar eller huvudjärnvägar.

f) Det skall vara förbjudet att utan tillstånd från den behöriga myndigheten flytta fjäderfän och kläckningsägg från den anläggning där de finns. Tillstånd får lämnas i följande fall:

   i) Transport av fjäderfän till omedelbar slakt vid ett slakteri som helst skall vara beläget inom det smittade området eller, om detta inte är möjligt, till ett slakteri utanför det smittade området som är utsett av den behöriga myndigheten. Detta fågelkött skall vara kontrollmärkt enligt artikel 5.1 i direktiv 91/494/EEG ([1]).

   ii) Transport av daggamla kycklingar eller värpningsklara unghöns inom övervakningsområdet till en anläggning där det inte finns några andra fjäderfän. De medlemsstater som inte har möjlighet att ordna med transport av daggamla kycklingar eller värpningsklara unghöns till en anläggning i övervakningsområdet kan dock med tillämpning av förfarandet i artikel 25 bemyndigas att låta transportera dessa kycklingar och unghöns till en anläggning utanför övervakningsområdet. Denna anläggning skall ställas under den officiella kontroll som anges i artikel 8.2.

   iii) Transport av kläckningsägg till ett kläckeri som den behöriga myndigheten har utsett. Före avsändandet skall äggen och deras förpackningar desinficeras.

   Transporter enligt i, ii och iii skall genomföras som direkttransporter och under officiell kontroll. Innan tillstånd ges skall den officiella veterinären ha gjort en hälsokontroll på anläggningen. De transportmedel som används skall rengöras och desinficeras före och efter användningen.

g) Det skall vara förbjudet att utan tillstånd flytta eller sprida använt strö eller fågelgödsel.

([1]) Rådets direktiv 91/494/EEG av den 26 juni 1991 om djurhälsovillkor för handel med färskt kött av fjäderfä inom gemenskapen och import av sådant kött från tredje land (EGT nr L 268, 24.9.1991, s. 35).

▼B

h) Det skall råda förbud mot marknader, utställningar eller annat sammanförande av fjäderfän eller andra fåglar.

3. Åtgärderna i kontrollområdet skall vidmakthållas i minst 21 dagar efter det att den inledande rengöringen och desinficeringen har ägt rum i den smittade anläggningen i enlighet med artikel 11. Kontrollområdet skall därefter ingå i övervakningsområdet.

4. Åtgärderna inom övervakningsområdet skall omfatta följande:

a) En kartläggning av alla anläggningar som har fjäderfän inom området.

b) Kontroll av förflyttningar inom området av fjäderfän och kläckningsägg.

c) Förbud mot förflyttningar av fjäderfän från området under de första 15 dagarna, utom för transport direkt till ett sådant slakteri utanför övervakningsområdet som har utsetts av den behöriga myndigheten. Detta fågelkött skall vara kontrollmärkt enligt artikel 5 i direktiv 91/494/EEG.

d) Förbud mot förflyttning av kläckningsägg från övervakningsområdet, utom för transport till ett sådant kläckeri som den behöriga myndigheten har utsett. Äggen och deras förpackningar skall desinficeras före avsändandet.

e) Förbud mot att flytta använt strö eller fågelgödsel från området.

f) Förbud mot marknader, utställningar eller annat sammanförande av fjäderfän eller andra fåglar.

g) Utan att det påverkar tillämpningen av a och b, förbud mot transport av fjäderfän, utom för transitering på huvudvägar eller huvudjärnvägar.

5. Åtgärderna i övervakningsområdet skall vidmakthållas i minst 30 dagar efter det att den inledande rengöringen och desinficeringen har ägt rum i den smittade anläggningen i enlighet med artikel 11.

6. Är områdena belägna inom flera medlemsstaters territorier skall de behöriga myndigheterna i de berörda medlemsstaterna gemensamt fastställa de områden som avses i punkt 1. Om det behövs skall kontroll- och övervakningsområdena fastställas enligt förfarandet i artikel 25.

7. Om den epizootiologiska undersökningen enligt artikel 7 bekräftar att utbrottet beror på en smitta som inte har spritt sig, kan kontroll- och övervakningsområdenas storlek och den tid under vilken områdena skall behållas, begränsas enligt förfarandet i artikel 25.

Artikel 10

Medlemsstaterna skall säkerställa att

a) den behöriga myndigheten vidtar sådana åtgärder att det går att spåra transporter av ägg, fjäderfän och fåglar i fångenskap,

b) den som äger eller sköter fjäderfäna, tävlingsduvorna eller de fåglar som hålls i fångenskap är skyldig att på begäran lämna den behöriga myndigheten uppgifter om de fjäderfän och ägg som förts till eller från hans anläggning och uppgifter om vilka tävlingar eller utställningar som tävlingsduvorna har deltagit i,

▼B

c) var och en som transporterar eller handlar med fjäderfän, ägg, tävlingsduvor eller fåglar i fångenskap kan lämna den behöriga myndigheten uppgifter om förflyttningar av de fjäderfän, ägg, tävlingsduvor och fåglar i fångenskap som han har transporterat eller handlat med samt redovisa alla detaljer om detta.

Artikel 11

Medlemsstaterna skall säkerställa

a) att de desinficeringsmedel och koncentrationer av sådana medel som används är officiellt godkända av den behöriga myndigheten,

b) att rengöring och desinficering utförs under officiell övervakning i enlighet med

i) de direktiv som ges av den officiellt förordnade veterinären,

ii) det förfarande för rengöring och desinficering av en smittad anläggning som anges i bilaga 2.

Artikel 12

För att påvisa förekomsten av Newcastlesjukans virus skall prover samlas in och laboratorietester utföras i enlighet med bilaga 3.

Artikel 13

Medlemsstaterna skall säkerställa att den ansvariga myndigheten vidtar alla åtgärder som behövs för att alla personer inom kontroll- och övervakningsområdena skall få full kännedom om gällande restriktioner och göra allt som behövs för att dessa åtgärder skall genomföras på ett riktigt sätt.

Artikel 14

1. Medlemsstaterna skall säkerställa att det i varje medlemsstat utses

a) ett nationellt laboratorium där tekniska resurser och specialutbildad personal ständigt finns tillgängliga för fullständig antigenisk och biologisk typning av Newcastlesjukans virus och för bekräftelse av resultat från regionala diagnostiska laboratorier,

b) ett nationellt laboratorium som skall testa de reagenser som används vid de regionala laboratorierna,

c) ett nationellt institut eller laboratorium där vacciner som är godkända för profylaktisk användning i det landet, eller som skall förvaras i beredskapslager, kan testas med avseende på verkan, kraft och renhet.

▼M3

2. De nationella laboratorierna i punkt 1 ska ansvara för samordningen av standarder och diagnosmetoder, användning av reagenser och test av vacciner.

3. De nationella laboratorierna i punkt 1 ska ansvara för samordningen av de standarder och diagnosmetoder som fastställts för varje laboratorium som diagnostiserar Newcastlesjukan i medlemsstaten. I detta syfte.

▼B

a) får de förse nationella laboratorier med diagnostiska reagenser,

b) skall de kontrollera kvaliteten hos alla diagnostiska reagenser som används i den medlemsstaten,

c) skall de med jämna mellanrum ordna jämförande tester,

d) skall de hålla isolat av Newcastlesjukans virus från fall som bekräftats i den medlemsstaten,

e) skall de bekräfta positiva resultat från regionala diagnoslaboratorier.

▼M3

4. De nationella laboratorierna i punkt 1 ska samarbeta med det gemenskapsreferenslaboratorium som avses i artikel 15.

5. Medlemsstaterna ska hålla uppdaterade förteckningar över de nationella laboratorierna eller instituten i punkt 1 och göra dem tillgängliga för övriga medlemsstater och för allmänheten.

Närmare föreskrifter för den enhetliga tillämpningen av denna punkt kan antas i enlighet med förfarandet i artikel 25.2.

▼M4

Artikel 15

1. Kommissionen ska genom genomförandeakter utse Europeiska unionens referenslaboratorium för Newcastlesjukan. Dessa genomförandeakter ska antas i enlighet med det granskningsförfarande som avses i artikel 25.

2. Europeiska unionens referenslaboratorium för Newcastlesjukan ska ha följande funktioner och uppgifter:

a) Att i samråd med kommissionen samordna de metoder som används i medlemsstaterna för diagnostisering av Newcastlesjukan, särskilt genom att

   i) typa, förvara och tillhandahålla stammar av Newcastlesjukevirus för serologiska tester och beredning av antiserum,

   ii) förse de nationella referenslaboratorierna med standardserum och andra referensreagenser i syfte att standardisera de tester och reagenser som används i medlemsstaterna,

   iii) bygga upp och vidmakthålla en uppsättning virusstammar och isolat av Newcastlesjukan,

   iv) organisera regelbundet återkommande jämförande tester av diagnostiska förfaranden på unionsnivå,

   v) samla in och sammanställa data och information om de diagnosmetoder som används samt om resultaten av de tester som utförs i unionen,

   vi) utföra bestämningar av virusisolat av Newcastlesjuka med hjälp av de modernaste metoder som står till förfogande för att vinna ökad förståelse för epidemiologin för Newcastlesjukan,

▼M4

vii) följa utvecklingen i hela världen vad avser övervakning, epidemiologi och förebyggande åtgärder i samband med Newcastlesjukan,

viii) anlita experter på Newcastlesjukan och andra relevanta virus för att möjliggöra en snabb differentialdiagnos,

ix) förvärva ingående kännedom om beredning och användning av veterinärmedicinska immunologiska produkter som används för att utrota och bekämpa Newcastlesjukan.

b) Att aktivt medverka vid diagnostisering vid utbrott av Newcastlesjukan i medlemsstaterna genom att ta emot virusisolat för att bekräfta diagnosen, karaktärisera viruset och utföra epidemiologiska undersökningar.

c) Att underlätta utbildning och vidareutbildning av experter på laboratoriediagnostik i syfte att harmonisera metoderna i hela unionen.

▼B

Artikel 16

1. Medlemsstaterna skall säkerställa att

a) vaccinering mot Newcastlesjukan med vacciner som har godkänts av den behöriga myndigheten kan ske i profylaktiskt syfte eller som ett komplement till de bekämpningsåtgärder som sätts in vid ett sjukdomsutbrott,

b) de enda tillåtna vaccinerna är sådana som har godkänts för utsläppande på marknaden av den behöriga myndigheten i den medlemsstat där vaccinet skall användas.

2. Ytterligare kriterier för användning av vacciner mot Newcastlesjukan får fastställas enligt förfarandet i artikel 25.

Artikel 17

1. En medlemsstat som i profylaktiskt syfte använder frivillig eller obligatorisk vaccination mot Newcastlesjukan skall underrätta kommissionen och de övriga medlemsstaterna om detta.

2. En underrättelse enligt punkt 1 skall innehålla uppgifter om

— egenskaper och sammansättning hos det vaccin som skall användas,

— regler för övervakning av distribution, lagring och användning av vaccinerna,

— de arter och kategorier av fjäderfän som får eller skall vaccineras,

— de områden, där vaccineringen får eller skall äga rum,

— skälen till att vaccination utförs.

▼B

3. Medlemsstaterna får besluta ett vaccinationsprogram för tävlingsduvor. De skall i så fall underrätta kommissionen om detta. Utan att det påverkar tillämpningen av ett sådant program skall medlemsstaterna se till att de som anordnar tävlingar och utställningar vidtar de åtgärder som behövs för att säkerställa att endast sådana tävlingsduvor som har vaccinerats mot Newcastlesjukan deltar i tävlingar och utställningar.

4. Regler för genomförande av denna artikel, särskilt om vilka kriterier som skall gälla och om vilka undantag som får beviljas med hänsyn till hälsotillståndet i medlemsstaten, skall fastställas enligt förfarandet i artikel 25.

Artikel 18

1. Som ett komplement till andra föreskrivna bekämpningsåtgärder när förekomst av Newcastlesjukan har bekräftats skall medlemsstaterna säkerställa att den behöriga myndigheten dels kan avgränsa en zon där angivna fjäderfäarter omedelbart och systematiskt skall vaccineras under officiell kontroll, dels kan bestämma en tidrymd inom vilken vaccinationen skall ske (vaccination i samband med sjukdomsutbrott). En medlemsstat som genomför vaccination i samband med sjukdomsutbrott skall genom Ständiga veterinärkommittén, som inrättats genom beslut 68/361/EEG ([1]), underrätta kommissionen och de övriga medlemsstaterna om sjukläget och vaccinationsprogrammet.

2. I fall som avses i punkt 1 är det förbjudet att vaccinera eller omvaccinera fjäderfä i en anläggning där sådana restriktioner gäller som anges i artikel 4.

3. I fall söm avses i punkt 1 gäller följande:

a) De angivna fjäderfäarterna skall vaccineras så snart som möjligt.

b) Alla de fjäderfän av de angivna arterna som är födda i eller överförda till en anläggning inom vaccinationsområdet skall vaccineras eller ha vaccinerats.

c) Alla fjäderfän av de angivna arterna som hålls i anläggningar inom vaccinationsområdet skall förbli där under hela vaccinationsperioden enligt punkt 1 med undantag för

— daggamla kycklingar som flyttats till en anläggning inom vaccinationsområdet där de skall vaccineras,

— fjäderfän som flyttas direkt till ett slakteri för omedelbar slakt. Om slakteriet ligger utanför vaccinationsområdet får fjäderfäna inte flyttas förrän den officiella veterinären har gjort en hälsokontroll i anläggningen.

([1]) EGT nr L 255, 18.10.1968, s. 23.

▼B

d) När vaccinationerna enligt a har slutförts, får förflyttning från vaccinationsområdet tillåtas för

— daggamla kycklingar avsedda för köttproduktion till en anläggning där de skall vaccineras, varvid anläggningen i fråga skall stå under övervakning tills de förflyttade fjäderfäna har slaktats,

— fjäderfän som har vaccinerats mer än 21 dagar tidigare och är avsedda för omedelbar slakt,

— kläckningsägg som kommer från en avelsbesättning som vaccinerats minst 21 dagar tidigare. Äggen och deras emballage skall desinficeras före förflyttningen.

4. Åtgärderna enligt punkt 3 b och d skall gälla i tre månader efter det att vaccinationen enligt punkt 1 har slutförts. De kan förlängas med en eller flera perioder om vardera tre månader.

5. Med avvikelse från punkt 3 a och b får den ansvariga myndigheten undanta vissa flockar av särskilt vetenskapligt värde från systematisk vaccination, under förutsättning att myndigheten har vidtagit alla åtgärder som krävs för att säkert skydda deras hälsa och regelbundet låta dem genomgå serologiska kontroller.

6. Kommissionen skall följa sjukdomens utveckling och kan om så behövs fatta beslut enligt förfarandet i artikel 25, i synnerhet om kontroll av förflyttningar och vaccinationer.

Artikel 19

1. Om tävlingsduvor eller fåglar som hålls i fångenskap misstänks vara smittade av Newcastlesjukan, skall medlemsstaterna se till att den officiella veterinären omedelbart påbörjar en undersökning för att bekräfta eller anmäla att sjukdomen har brutit ut. Han skall i synnerhet ta eller låta ta prover som är nödvändiga för en undersökning vid laboratorium.

2. Så snart den behöriga myndigheten har underrättats om misstanken skall den sätta anläggningen eller duvslaget under officiell övervakning och beordra att inga duvor eller fåglar som hålls i fångenskap, och ingenting som kan tänkas sprida Newcastlesjukan får lämna duvslaget eller anläggningen.

3. Åtgärderna enligt punkt 1 och 2 får avbrytas först när den officiella veterinären inte längre misstänker förekomst av Newcastlesjukan.

4. Så snart förekomst av Newcastlesjukan har bekräftats officiellt skall den behöriga myndigheten bland annat vidta följande åtgärder:

a) Beordra att de bekämpnings- och utrotningsåtgärder som anges i artikel 5.1 a, b, e och f skall tillämpas på tävlingsduvor eller fåglar som hålls i fångenskap och på duvslag eller anläggningar som har smittats med Newcastlesjukan, eller

▼B

b) åtminstone

i) förbjuda för en tid av minst 60 dagar efter det att de kliniska symtomen på Newcastlesjukan har försvunnit, att duvor eller fåglar som hålls i fångenskap lämnar duvslaget eller anläggningen,

ii) beordra att allt material eller avfall som kan tänkas vara kontaminerat destrueras eller behandlas. Behandlingen skall säkerställa att varje förekommande virus av Newcastlesjukan och allt avfall, som har hopat sig under de 60 dagar som avses i punkt 4 b i, förstörs.

c) Beordra en epizootiologisk undersökning i enlighet med artikel 7.

▼M4

5. I den omfattning som behövs för att bestämmelserna i denna artikel ska kunna tillämpas ska medlemsstaterna, genom ständiga kommittén för växter, djur, livsmedel och foder, underrätta kommissionen om sjukdomssituationen och de vidtagna bekämpningsåtgärderna.

6. Kommissionen får genom genomförandeakter fastställa bestämmelser för de uppgifter som medlemsstaterna ska lämna till kommissionen enligt punkt 5 i denna artikel. Dessa genomförandeakter ska antas i enlighet med det granskningsförfarande som avses i artikel 25.

▼B

Artikel 20

1. Matavfall från internationella transportmedel som fartyg, landfordon eller flygplan får inte användas som foder åt fjäderfä. Sådant avfall skall samlas upp och destrueras under officiell övervakning.

2. Matavfall av annat slag än det som avses i punkt 1 eller matrester av fjäderfä får användas som foder åt fjäderfä först efter värmebehandling med lämpliga hjälpmedel som säkerställer att sjukdomen inte kan överföras och att Newcastlesjukans virus har förintats.

3. Om så behövs skall kommissionen i enlighet med förfarandet i artikel 25 fastställa närmare bestämmelser för hur punkt 2 skall genomföras.

▼M4

Artikel 21

1. Varje medlemsstat ska upprätta en beredskapsplan med uppgifter om de nationella åtgärder som ska vidtas om Newcastlesjukan skulle bryta ut. Beredskapsplanen ska i förekommande fall uppdateras med hänsyn till hur situationen utvecklas.

Beredskapsplanen ska medge tillgång till lokaler, utrustning, personal och allt annat lämpligt material som behövs för snabb och effektiv bekämpning av utbrottet av Newcastlesjukan. Den ska innehålla exakta uppgifter om det vaccin som varje medlemsstat anser sig behöva vid vaccination i samband med sjukdomsutbrott.

▼M4

2. Beredskapsplanerna och alla uppdateringar av dem ska lämnas till kommissionen.

3. Kommissionen ska granska beredskapsplanerna och alla uppdateringar av dem för att avgöra om de är ändamålsenliga samt föreslå för den berörda medlemsstaten de ändringar som behövs, särskilt för att säkerställa att de är förenliga med de övriga medlemsstaternas beredskapsplaner.

Kommissionen ska godkänna beredskapsplanerna och alla uppdateringar av dem, med eventuella ändringar, i enlighet med det granskningsförfarande som avses i artikel 25.

4. Kommissionen får genom genomförandeakter fastställa kriterierna för hur medlemsstaterna ska upprätta beredskapsplanerna. Dessa genomförandeakter ska antas i enlighet med det granskningsförfarande som avses i artikel 25.

▼B

Artikel 22

Experter från kommissionen får i samarbete med de behöriga myndigheterna utföra stickprovskontroller på fältet i den utsträckning som behövs för att säkerställa en enhetlig tillämpning av detta direktiv. I detta syfte får de genom att inspektera ett representativt urval av anläggningar kontrollera att de ansvariga myndigheterna övervakar att dessa anläggningar uppfyller kraven enligt detta direktiv. Kommissionen skall underrätta medlemsstaterna om resultatet av kontrollerna.

Den medlemsstat på vars territorium inspektionen utförs skall lämna experterna all den hjälp som behövs för att de skall kunna fullgöra sina uppgifter.

Allmänna regler för tillämpningen av denna artikel skall antas enligt förfarandet i artikel 25.

Artikel 23

De närmare villkoren för gemenskapens ekonomiska bidrag till åtgärder i samband med tillämpningen av detta direktiv fastställs i beslut 90/424/EEG.

Artikel 24

På kommissionens förslag skall rådet med kvalificerad majoritet besluta om ändring av bilagorna om och när detta behövs, särskilt med hänsyn till utvecklingen inom forskning och diagnostik.

▼M4

Artikel 25

1. Kommissionen ska biträdas av ständiga kommittén för växter, djur, livsmedel och foder som inrättades genom artikel 58.1 i Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 178/2002 ([1]). Denna kommitté ska vara en kommitté i den mening som avses i Europaparlamentets och rådets förordning (EU) nr 182/2011 ([2]).

2. När det hänvisas till denna artikel ska artikel 5 i förordning (EU) nr 182/2011 tillämpas.

▼B

Artikel 26

1. Medlemsstaterna skall före den 1 oktober 1993 sätta i kraft de lagar och andra författningar som behövs för att följa detta direktiv. De skall genast underrätta kommissionen om detta.

De författningar som medlemsstaterna sätter i kraft skall innehålla en hänvisning till detta direktiv eller åtföljas av en sådan hänvisning när de offentliggörs. Närmare föreskrifter om hur hänvisningen skall göras skall varje medlemsstat själv utfärda.

2. Medlemsstaterna skall till kommissionen överlämna texterna till centrala bestämmelser i nationell lagstiftning som de antar inom det område som omfattas av detta direktiv.

Artikel 27

Detta direktiv riktar sig till medlemsstaterna.

([1]) Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 178/2002 av den 28 januari 2002 om allmänna principer och krav för livsmedelslagstiftning, om inrättande av Europeiska myndigheten för livsmedelssäkerhet och om förfaranden i frågor som gäller livsmedelssäkerhet (EGT L 31, 1.2.2002, s. 1).

([2]) Europaparlamentets och rådets förordning (EU) nr 182/2011 av den 16 februari 2011 om fastställande av allmänna regler och principer för medlemsstaternas kontroll av kommissionens utövande av sina genomförandebefogenheter (EUT L 55, 28.2.2011, s. 13).

▼B

BILAGA 1

TILLSTÅND ATT TRANSPORTERA ÄGG FRÅN EN ANLÄGGNING FÖR VILKEN ARTIKEL 4.2 e I DETTA DIREKTIV GÄLLER

Transport av ägg från en misstänkt anläggning, för vilken bestämmelserna i artikel 4.2 e gäller, till en anläggning som är godkänd för framställning och förädling av äggprodukter i enlighet med bestämmelserna i artikel 6.1 i direktiv 89/437/EEG, i fortsättningen kallad den utsedda anläggningen, får endast ske med tillstånd av den behöriga myndigheten och på följande villkor:

1. För att få avlägsnas från en misstänkt anläggning skall äggen

   a) uppfylla kraven enligt kapitel IV i bilagan till direktiv 89/437/EEG,

   b) skickas direkt från den misstänkta anläggningen till den utsedda anläggningen. Varje sändning skall före leveransen plomberas av den officiella veterinären vid den misstänkta anläggningen och skall förbli plomberad under hela transporten till den utsedda anläggningen.

2. Den officiella veterinären vid den misstänkta anläggningen skall underrätta den behöriga myndigheten för den utsedda anläggningen om avsikten att sända äggen dit.

3. Den behöriga myndigheten för den utsedda anläggningen skall säkerställa att

   a) äggen enligt 1 b hålls avskilda från andra ägg från tidpunkten för ankomsten tills de har bearbetats,

   b) skalen från sådana ägg betraktas som högriskmaterial i enlighet med artikel 2.2 i direktiv 90/667/EEG ([1]) och behandlas enligt kraven i kapitel II i det direktivet,

   c) förpackningsmaterialet och fordonen som använts för transporten av äggen enligt 1 b liksom alla lokaliteter som äggen kommer i beröring med rengörs och desinficeras på ett sådant sätt att alla virus av Newcastlesjuka förstörs,

   d) den officiella veterinären vid den misstänkta anläggningen underrättas om alla leveranser av förädlade ägg.

([1]) Rådets direktiv 90/667/EEG av den 27 november 1990 om fastställande av veterinära bestämmelser om bortskaffande och bearbetning av animaliskt avfall och dess utsläppande på marknaden samt om förhindrande av sjukdomsalstrande organismer i foder som härrör från djur eller fisk samt om ändring av direktiv 90/425/EEG (EGT nr L 363, 27.10.1990, s. 51).

▼B

BILAGA 2

RENGÖRING OCH DESINFICERING AV EN SMITTAD ANLÄGGNING

I. **Inledande rengöring och desinficering**

a) Alla delar av lokaliteterna där fjäderfäna varit inhysta samt alla delar av andra byggnader, gårdar etc. som har blivit förorenade under slakten eller i samband med obduktion skall så snart fågelkropparna har avlägsnats för kvittblivning sprutas med ett desinficeringsmedel som är godkänt för användning enligt artikel 11 i detta direktiv.

b) Alla vävnader från fjäderfä eller ägg som skulle kunna överföra smitta till byggnader, gårdar, redskap etc. skall omsorgsfullt samlas upp och förstöras tillsammans med fågelkropparna.

c) Det använda desinficeringsmedlet skall lämnas kvar på ytorna i minst 24 timmar.

II. **Slutlig rengöring och desinficering**

a) Alla ytor skall befrias från fett och smuts med avfettningsmedel och tvättas med vatten.

b) Efter tvättning med vatten enligt a skall ytorna sprutas på nytt med desinficeringsmedel.

c) Efter sju dagar skall lokaliteterna behandlas med avfettningsmedel, sköljas med kallt vatten, sprutas med desinficeringsmedel och åter sköljas med vatten.

d) Gödsel och använt strö skall behandlas på ett sådant sätt att viruset dör. Någon av följande metoder skall ingå i behandlingen:

i) Förbränning eller behandling med ånga vid en temperatur av 70 °C.

ii) Nedgrävning på sådant djup att det inte är åtkomligt för skadedjur eller vilda fåglar.

iii) Stackning och fuktning (om så behövs för att underlätta fermenteringen) och övertäckning så att temperaturen når upp till 20 °C, varefter stacken skall övertäckas till skydd mot skadedjur och vilda fåglar samt lämnas så i 42 dagar.

▼B

BILAGA 3

DIAGNOSTIKMETODER FÖR KONFIRMERING AV ELLER DIFFERENTIAL DIAGNOS TILL NEWCASTELSJUKAN

Följande förfaranden för isolering och karaktärisering av Newcastlesjukans virus skall ses som riktlinjer och minimiåtgärder vid diagnostisering av sjukdomen.

Det virus som orsakar Newcastlesjukan är prototypvirus för släktet *paramyoviridae*. För närvarande finns det nio serologiskt särskiljbara typer av aviära paramyxovirus och de betecknas PMV-1 till PMV-9. Alla Newcastlesjukans virus tillhör typen PMV-1. För konfirmering av diagnos av och differentialdiagnos till Newcastlesjukan skall följande definition gälla:

*Newcastle-sjuka:*en infektion på fjäderfä orsakad av vilken som helst aviär stam av paramyxovirus 1 (PMV-1) med ett intracerebralt patogenicitetsindex (ICPI) som hos daggamla kycklingar överstiger 0,7.

KAPITEL 1

Provtagning och behandling av prover

1. *Prover*

Svabbprov från kloak (eller faeces) och från luftstrupen på sjuka fåglar; faeces eller tarminnehåll, hjärnvävnad, luftstrupe, lungor, lever, mjälte och andra organ som visar tydliga förändringar från fåglar som nyss dött.

2. *Behandling av prover*

De organ och vävnader som räknas upp i punkt 1 kan slås samman, men det är viktigt att allt faekalt material behandlas för sig. Svabbproverna skall placeras i så mycket antibiotikamedium att de blir helt täckta. Prover på faeces och organ homogeniseras var för sig (i en tillsluten blandare eller med hjälp av mortel och stöt och steril sand) i antibiotikamedium och späds till en suspension av 10-20 % vikt/volym i mediet. Suspensionerna skall stå i ca två timmar i rumstemperatur (eller längre tid vid 4 °C) och sedan klargöras genom centrifugering (t. ex. 800-1000 g i 10 minuter).

3. *Antibiotiskt medium*

Olika laboratorier har med framgång använt olika beredningar av antibiotikamedia och de laboratorier som avses i bilaga 2 kan ge råd om detta i sina respektive länder. Höga koncentrationer av antibiotika krävs för faecesprover och en vanlig blandning består av 10 000 enheter/ml penicillin, 10 mg/ml streptomycin, 0,25 mg/ml gentamycin och 5 000 enheter/ml mycostatin i fosfatbuffrad saltlösning (PBS). Dessa mängder kan minskas ner till fem gånger för vävnader och svabbprover från luftstrupe. För kontroll av klamydiaorganismer kan 50 mg/ml oxytetracyklin tillsättas. När mediet bereds är det absolut nödvändigt att kontrollera pH-värdet efter tillsats av antibiotika och justera det till pH 7,0-7,4.

KAPITEL 2

Isolering av virus

Virusisolering i embryonerade hönsägg

Supernatanten skall efter centrifugering inokuleras i mängder om 0,1-0,2 ml in i allantoiskaviteten i vart och ett av minst fyra embryonerade hönsägg som har varit inkuberade i åtta till tio dagar. Dessa ägg bör allra helst komma från en särskild patogenfri flock, men om detta inte är möjligt går det att använda ägg från en flock som har visats vara fri från antikroppar mot Newcastlesjukevirus.

▼B

De inokulerade äggen skall förvaras vid 37 °C och genomlysas dagligen. Ägg med döda eller döende embryon och alla ägg som är kvar sex dagar efter inokulationen skall efter hand kylas till 4 °C och allantois-amnionvätskorna skördas och testas på förekomst av hemagglutinerande aktivitet. Om ingen hemagglutination kan påvisas skall ovannämnda förfarande upprepas med outspädd allantois-amnionvätska som inokulationsmedel.

När hemagglutination påvisas skall förekomst av bakterier uteslutas genom odling. Finns det bakterier i vätskan skall denna passera ett 450 nm membranfilter, ytterligare antibiotika tillsättas och därefter inokuleras i embryonerade ägg enligt ovan.

KAPITEL 3

Differentialdiagnos

1. *Preliminär differentiering*

Avsikten är att alla hemagglutinerande virus skall skickas till det nationella laboratorium som anges i bilaga 2 för fullständig identifiering, karaktärisering och patogenicitetstester. Det är emellertid viktigt att tillfälliga bekämpningsåtgärder mot Newcastlesjukan sätts in så snart som möjligt för att begränsa virusets spridning och regionala laboratorier bör kunna identifiera Newcastlesjukans virus. Äggskördar med hemagglutinerande aktivitet skall därför undersökas i ett hemagglutinations-inhibitionstest enligt kapitel 5 och 6. Positiv inhibition, dvs. 2^4 eller mer, med polyklonalt antiserum som är specifikt för Newcastlesjukans virus och med en titer av minst 2^9 kan tjäna som en preliminär identifiering och föranleda inledande åtgärder.

2. *Bekräftande identifiering*

Det nationella laboratoriet skall utföra en fullständig differentialdiagnos av varje förekommande hemagglutinationerande agens. Newcastlesjukans virus skall på nytt fastställas genom inhibition i hemagglutinations-inhibitionstester med monospecifika kyckling-antisera. Intracerebrala patogenicitetsindextester enligt beskrivningen i kapitel 7 skall utföras på alla positiva isolat. Patogenicitetsindex som är högre än 0,7 tyder på förekomst av virus som kräver full insats av bekämpningsåtgärder.

Det har på senare tid visat sig att man vid typning av Newcastlesjukans virus, särskilt med hjälp av monoklonala antikroppar har kunnat gruppera stammar och isolat. Det finns i synnerhet några monoklonala antikroppar som är specifika för de vaccinstammar som används inom gemenskapens territorium och som kan utnyttjas i enkla hemagglutinations-inhibitionstester.

Eftersom levande vaccinstammar ofta kan isoleras från fjäderfä ger den snabba identifieringen vid det nationella laboratoriet enligt bilaga 2 uppenbara fördelar. För att göra det möjligt att bekräfta isolering av vaccinationsvirus bör gemenskapens referenslaboratorium enligt artikel 14 förse de nationella laboratorierna med monoklonala antikroppar av detta slag.

De nationella laboratorierna skall sända samtliga hemagglutinerande agenser till gemenskapens referenslaboratorium.

3. *Ytterligare typning och karakterisering av isolat*

Gemenskapens referenslaboratorium skall från de nationella laboratorierna erhålla alla hemagglutinerande virus för vidare antigenstudier och genetisk karakterisering för att i överensstämmelse med referenslaboratoriets funktioner och uppgifter möjliggöra en bättre förståelse av sjukdomens eller sjukdomarnas epizootiologi inom gemenskapen.

▼B

KAPITEL 4

Snabbtester för påvisande av virus och antikroppar mot Newcastlesjukans virus

I det följande lämnas en redogörelse för snabbtester för påvisande av Newcastlesjukans virus hos vaccinerade fåglar och påvisande av antikroppar hos ovaccinerade fåglar:

1. *Påvisande av Newcastlesjukans virus*

Flera snabbtester som direkt påvisar Newcastlesjukans antigener har tagits i bruk vid diagnostisering av infektioner hos vaccinerade fåglar. De hittills vanligaste är immunofluorescenstester på längdsnitt från luftstrupen och immunoperoxidastester på hjärnvävnad. Det finns ingen anledning betvivla att även andra direkta antigenpåvisande tester kan användas vid sådana virusinfektioner som Newcastlesjukan.

Nackdelen med sådana tester är att det är opraktiskt att undersöka alla de ställen hos vaccinerade fåglar där Newcastlesjukans virus skulle kunna replicera. Frånvaron av virus i luftstrupen utesluter exempelvis inte virusreplikation i tarmen. Ingen direkt metod för påvisandet rekommenderas för rutinmässig användning vid diagnostisering av Newcastlesjukan, även om sådana metoder under vissa omständigheter kan ha praktisk betydelse.

2. *Påvisande av antikroppar hos ovaccinerade fåglar*

De flesta laboratorier som sysslar med diagnostisering av Newcastlesjukan känner väl till hemagglutinations-inhibitionstestet och rekommendationen nedan hänför sig till detta test i fråga om mätning av antikroppar mot viruset. ELISA kan också med framgång användas för att påvisa antikroppar mot viruset. Om en ELISA önskas bli införd vid ett regionalt laboratorium bör metoden användas under tillsyn av det nationella laboratorium som anges i bilaga 2.

a) Prover

Blodprov tas på samtliga fåglar om flocken omfattar mindre än 20 fåglar och på 20 fåglar om flocken är större (oberoende av flockens storlek ger detta 99 % sannolikhet för att minst ett positivt serum kan påvisas om 25 % eller mer av flocken är positiv). Blodet skall koagulera varefter serum avskiljs för test.

b) Påvisande av antikroppar

Enskilda serumprover testas på förekomst av antikroppar mot Newcastlesjukans virus i standardtester för hemagglutinations-inhibition enligt beskrivningen i kapitel 6.

Det råder en viss oenighet i frågan om 4 eller 8 hemagglutinerande enheter skall användas i hemagglutinations-inhibitionstester. Det torde visa sig att båda kan användas och de nationella laboratorierna bör själva få välja. Dock kommer mängden antigen att påverka den nivå där serumet anses positivt — för 4 HAU anses ett serum positivt om det har en titer av 2^4 eller däröver, för 8 HAU anses ett serum positivt om det har en titer av 2^3 eller däröver.

KAPITEL 5

Hemagglutinationstest (HA-test)

Reagenser

1. Fosfatbuffrad isotonisk saltlösning (0,05 M) vid pH 7,0-7,4.

▼B

2. Röda blodkroppar (RBC) från minst tre specifikt patogenfria kycklingar (om sådana saknas kan blodet tas från fåglar som kontrolleras regelbundet och som har visat sig fria från antikroppar mot Newcastlesjukans virus) slås samman i en lika stor volym Alsevers lösning. Blodkropparna skall tvättas minst tre gånger i PBS före användningen. För testet rekommenderas en 1-procentig suspension (volym/volym) i PBS.

3. Som standardantigen representerande Newcastlesjukans virus rekommenderas virusstammen Ulster 2C.

Förfarande

a) Fyll 0,025 ml PBS i varje brunn i en mikrotiterplatta av plast med V-formad botten.

b) Placera 0,025 ml virussuspension (dvs. allantoisvätska) i den första brunnen.

c) Använd en mikrotitreringsutspädare och späd viruset genom tvåfaldsspädning (1:2 till 1:4096) tvärs över plattan.

d) Fyll ytterligare 0,025 ml PBS i varje brunn.

e) Tillsätt 0,025 ml 1 % röda blodkroppar i varje brunn.

f) Blanda med lätta slag och låt blandningen stå i 4 °C.

g) Avläs plattorna efter 30 — 40 minuter när de röda kontrollblodkropparna har sjunkit. Avläs genom att luta plattan och observera om de röda blodkropparna rinner tårformigt. Brunnar utan HA bör rinna med samma hastighet som kontrollblodkroppar utan virus.

h) HA-titern är den brunn med den högsta spädningen där blodkropparna fortfarande agglutinerar. Detta spädningssteg innehåller en HA-enhet (HAU). En mera noggrann metod för bestämning av HA-titern är att utföra HA-tester på virus från ett antal närliggande initialspädningar, dvs 1:3, 1:4, 1:5, 1:6 etc. Detta rekommenderas vid fastställande av antigeninnehållet i virusskördar som skall användas i hemagglutinations-inhibitionstester (kapitel 6).

KAPITEL 6

Hemagglutinations-inhibitionstest (HI-test)

Reagenser (se kapitel 5)

a) Fosfatbuffrad saltlösning (PBS).

b) Allantoisvätska som innehåller virus utspädd med PBS till 4 eller 8 HAU per 0,025 ml.

c) 1 % röda blodkroppar från kyckling.

d) Negativt kontrollserum från kyckling.

e) Positivt kontrollserum.

Förfarande

a) Fyll 0,025 ml PBS i alla brunnarna på en mikrotiterplatta av plast med V-formade brunnar.

b) Placera 0,025 ml serum i plattans första brunn.

c) Använd mikrotitreringsutspädare och späd serumet genom tvåfaldsspädning i resterande brunnar tvärs över plattan.

d) Tillsätt 0,025 ml utspädd allantoisvätska som innehåller 4 eller 8 HAU.

e) Blanda med lätta slag och placera plattan i 4 °C i minst 60 minuter eller i rumstemperatur i minst 30 minuter.

▼B

f) Tillsätt 0,025 ml 1 % röda blodkroppar i alla brunnar.

g) Blanda genom att slå lätt och placera plattan i 4 °C.

h) Plattorna avläses efter 30 — 40 minuter när de röda kontrollblodkropparna har sjunkit. Avläs genom att luta plattorna och se om de röda blodkropparna rinner tårformigt med samma hastighet som blodkontrollen (0,025 ml) och PBS (0,05 ml).

i) HI-titern är den brunn med den högsta spädningen av antiserum som ger fullständig inhibition av fyra eller åtta virusenheter (i varje test skall ingå en HA-titrering som bekräftar att det finns tillräckligt med HAU).

j) Värdet av resultaten är beroende av om man uppnår en titer som är lägre än 2^3 för 4 HAU eller 2^2 för 8 HAU med ett negativt kontrollserum och en titer som avviker högst ett spädningssteg från den kända titern på det positiva kontrollserumet.

KAPITEL 7

Intracerebralt patogenicitetsindex

1. Infektiös nyskördad allantoisvätska (HA-titern skall vara högre än 2^4) späds 1:10 i steril isotonisk saltlösning (antikroppar får inte användas).

2. 0,05 ml utspätt virus injiceras intracerebralt i var och en av 10 daggamla kycklingar (dvs. 24-40 timmar efter kläckningen). Kycklingarna skall komma från en specifikt patogenfri flock.

3. Fåglarna undersöks i 8 dagar med 24 timmars mellanrum.

4. Vid varje observation antecknas för varje fågel: normal (0), sjuk (1), död (2).

5. Anteckna resultat och beräkna index enligt exemplet:

Kliniska symptom	Dag efter inokulation (antal fåglar)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	Sammanlagt	resultat
Normal	10	4	0	0	0	0	0	0	14 × 0	= 0
Sjuk	0	6	10	4	0	0	0	0	20 × 1	= 20
Död	0	0	0	6	10	10	10	10	46 × 2	= 92
									Totalt = 112	

Index = medelresultat per fågel per observation = 112/80 = 1,4

KAPITEL 8

Bedömning av plaquebildningsförmågan

1. Det är vanligen bäst att använda ett antal olika virusspädningar för att säkerställa att antalet plaque på plattan är optimalt. Tiofaldiga spädningar upp till 10^{-7} i PBS bör räcka.

2. Konfluerande monolager av kycklingembryoceller eller en lämplig cellinje (exempelvis MDBK) bereds i petriskålar med 5 cm diameter.

3. 0,2 ml av varje virusspädning tillsätts var och en av två petriskålar och viruset får absorbera i 30 minuter.

▼B

4. Efter tvättning med PBS tre gånger täcks de infekterade cellerna med lämpligt medium som innehåller 1 % vikt/volym agar och antingen 0,01 mg/ml trypsin eller inget trypsin alls. Det är viktigt att inget serum tillsätts det överliggande mediet.

5. Efter 72 timmars inkubation vid 37 °C bör plaquen ha nått tillräcklig storlek. De syns bäst om man avlägsnar täckskiktet av agar och färgar cellagret med kristallviolett (0,5 % vikt/volym) i 25 % volym/volym etanol.

6. Alla virus bör ge klara plaque om de har inkuberats med trypsin i täckskiktet. Saknas trypsin i täckskiktet produceras plaque endast av virus som är virulenta för kycklingar.

▼M3

_____

▼M4

_____