II

(Besluiten waarvan de publicatie niet voorwaarde is voor de toepassing)

COMMISSIE

BESCHIKKING VAN DE COMMISSIE

van 4 augustus 2006

tot goedkeuring van een diagnosehandboek voor aviaire influenza overeenkomstig Richtlijn 2005/94/EG van de Raad

(Kennisgeving geschied onder nummer C(2006) 3477)

(Voor de EER relevante tekst)

(2006/437/EG)

DE COMMISSIE VAN DE EUROPESE GEMEENSCHAPPEN,

Gelet op Richtlijn 2005/94/EG van de Raad van 20 december 2005 betreffende communautaire maatregelen ter bestrijding van aviaire influenza en tot intrekking van Richtlijn 92/40/EEG [1], en met name op artikel 50, lid 1, tweede alinea,

Overwegende hetgeen volgt:

(1) Richtlijn 2005/94/EG bevat een aantal preventieve maatregelen inzake het toezicht op en de vroegtijdige detectie van aviaire influenza en geeft aan welke bestrijdingsmaatregelen minimaal genomen moeten worden bij een uitbraak van aviaire influenza bij pluimvee en andere in gevangenschap levende vogels.

(2) Er moeten op het niveau van de Gemeenschap diagnostische procedures, bemonsteringsprocedures en criteria voor de evaluatie van de uitslagen van laboratoriumtests ter bevestiging van een uitbraak van aviaire influenza worden vastgelegd.

(3) In bijlage VII bij Richtlijn 2005/94/EG zijn de taken en bevoegdheden van het communautaire referentielaboratorium voor aviaire influenza vastgesteld om in overleg met de Commissie de in de lidstaten toegepaste methoden voor de diagnose van deze ziekte te coördineren. Die taken en bevoegdheden omvatten de organisatie van periodieke vergelijkende tests en de levering van standaardreagentia in de hele Gemeenschap.

(4) Recentelijk zijn laboratoriumtests ontwikkeld waarmee aviaire influenza snel kan worden gediagnosticeerd.

(5) Dankzij de ervaring die de afgelopen jaren met de bestrijding van aviaire influenza is opgedaan, kon worden bepaald welke bemonsteringsprocedures en criteria voor de evaluatie van de uitslagen van laboratoriumtests het meest geschikt zijn om in uiteenlopende situaties de juiste diagnose van deze ziekte te stellen.

(6) De in deze beschikking vervatte maatregelen zijn in overeenstemming met het advies van het Permanent Comité voor de voedselketen en de diergezondheid,

HEEFT DE VOLGENDE BESCHIKKING GEGEVEN:

Artikel 1

Het in Richtlijn 2005/94/EG bedoelde diagnosehandboek, dat in de bijlage bij deze beschikking is opgenomen, wordt goedgekeurd.

Artikel 2

De lidstaten gebruiken het diagnosehandboek vanaf de datum waarop zij Richtlijn 2005/94/EG hebben omgezet of, als dat eerder is, vanaf 1 juli 2007.

[1] PB L 10 van 14.1.2006, blz. 16.

Artikel 3

Deze beschikking is gericht tot de lidstaten.

Gedaan te Brussel, op 4 augustus 2006.

Voor de Commissie
Markos KYPRIANOU
Lid van de Commissie

BIJLAGE

DIAGNOSEHANDBOEK VOOR AVIAIRE INFLUENZA

HOOFDSTUK I

Inleiding, doelstellingen en definities

1. Om te garanderen dat bij de diagnose van aviaire influenza (AI) in de Gemeenschap uniforme procedures worden toegepast, bevat dit handboek:

   a) richtsnoeren en minimumvoorschriften voor diagnostische procedures, bemonstering en criteria voor de evaluatie van de uitslagen van laboratoriumtests voor een juiste diagnose van AI;

   b) de voor de diagnose van AI te gebruiken laboratoriumtests en de voor de genetische typering van isolaten van het AI-virus te gebruiken laboratoriumtechnieken;

   c) de minimale bioveiligheidseisen en kwaliteitsnormen voor diagnostische laboratoria en voor het vervoer van monsters.

2. Dit diagnosehandboek is bedoeld voor de autoriteiten die verantwoordelijk zijn voor de bestrijding van AI. Daarom gaat het hoofdzakelijk over de principes en toepassingen van laboratoriumtests en de evaluatie van de resultaten daarvan, alsmede laboratoriumtechnieken.

3. Voor de toepassing van dit diagnosehandboek geldt naast de definities in artikel 2 van Richtlijn 2005/94/EG de volgende definitie:

   „diagnostisch monster": dierlijk materiaal, eventueel ook een heel karkas maar geen besmette levende dieren, dat voor diagnose- of onderzoeksdoeleinden wordt vervoerd.

4. AI bij pluimvee en andere in gevangenschap levende vogels wordt bevestigd als onder toepassing van de in dit handboek beschreven procedures, bemonsteringsmethoden en criteria voor de evaluatie van de uitslagen van laboratoriumtests voldaan is aan een of meer van de onder a), b) en c) vermelde criteria:

   a) aantoning van infectieus virus, antigeen of specifiek genetisch materiaal in monsters van weefsel, organen, bloed of excreta van pluimvee of andere vogels;

   b) waarneming van klinische symptomen en postmortemlaesies bij die dieren;

   c) aantoning van een specifieke antilichaamrespons in bloedmonsters van die dieren.

5. Besmetting van zoogdieren met van vogels afkomstig influenza A-virus dat hoogpathogeen is, dan wel laagpathogeen maar van subtype H5 of H7, wordt bevestigd als voldaan is aan minstens een van de onder a) en b) vermelde criteria:

   a) detectie van infectieus AI-virus, antigeen of specifiek genetisch materiaal in monsters van weefsel, organen, bloed of excreta van zoogdieren;

   b) aantoning van een specifieke antilichaamrespons op AI in bloedmonsters van zoogdieren.

6. De procedures, bemonsteringsmethoden en criteria voor de evaluatie van de uitslagen van laboratoriumtests:

   a) zijn de in dit diagnosehandboek vermelde, of

   b) zijn door de bevoegde autoriteit erkend, mits:

      i) aan de hand van een door het communautaire referentielaboratorium voor aviaire influenza (hierna „het communautaire referentielaboratorium" genoemd) georganiseerde vergelijkende test is aangetoond dat de gevoeligheid en specificiteit van de erkende laboratoriumtests toereikend zijn, of

      ii) indien het communautaire referentielaboratorium voor een bepaald type laboratoriumtest geen evaluatie heeft gehouden, de gevoeligheid en specificiteit van de erkende laboratoriumtest gevalideerd zijn door het nationale referentielaboratorium, zodat de laboratoriumtest geschikt is voor het doel waarvoor hij wordt gebruikt; de resultaten van die validering moeten ter beoordeling aan het communautaire referentielaboratorium worden voorgelegd.

HOOFDSTUK II

Beschrijving van AI met speciale aandacht voor de differentiële diagnose

1. **Etiologie en virulentie**

AI is een uiterst besmettelijke virusinfectie, die wordt veroorzaakt door virussen van de familie *Orthomyxoviridae*, geslacht *influenza A*-virus. Influenza A-virussen zijn voor zover bekend de enige orthomyxovirussen waarmee vogels besmet kunnen raken. Gebleken is dat veel vogelsoorten gevoelig zijn voor infectie met influenza A-virussen; watervogels vormen een belangrijk reservoir van deze virussen, maar verreweg de meeste isolaten hiervan vertoonden een geringe pathogeniteit bij kippen en kalkoenen, de uit economisch oogpunt belangrijkste dieren die voor deze ziekte gevoelig zijn.

De verschillende influenza A-virussen hebben antigeen verwante kerneiwitten en antigeen verwante matrixeiwitten; zij worden in subtypes ingedeeld afhankelijk van de antigene verwantschap van de oppervlakteglycoproteïnen hemagglutinine (HA) en neuraminidase (NA). Tot dusver zijn 16 HA-subtypes (H1–H16) en 9 NA-subtypes (N1–N9) onderscheiden. Elk influenza A-virus heeft één HA- en één NA-antigeen en blijkbaar kunnen alle combinaties voorkomen.

Influenza A-virussen worden in twee groepen onderverdeeld op grond van hun vermogen om bij gevoelig pluimvee ziekte te veroorzaken:

a) **hoogpathogene aviaire-influenzavirussen (HPAI)**, die zeer ernstige ziekte veroorzaken, gekenmerkt door een gegeneraliseerde infectie van het besmette pluimvee met een sterfte die tot 100 % van het koppel kan oplopen, en

b) **laagpathogene aviaire-influenzavirussen (LPAI)**, die een milde, in hoofdzaak respiratoire aandoening bij pluimvee veroorzaken, tenzij de ziekteverschijnselen worden verergerd door co-infecties of andere factoren.

Wilde vogels, en dan met name trekkende watervogels, spelen een grote rol als reservoir voor het influenza A-virus, getuige de isolatie van vrijwel alle mogelijke combinaties van HA- en NA-subtypes bij deze dieren. In de regel worden bij wilde vogels alleen LPAI-virussen aangetroffen, tenzij er overdracht van HPAI van besmet pluimvee naar wilde vogels heeft plaatsgevonden.

Naar alle waarschijnlijkheid vindt de insleep van AI-virussen in pluimveebedrijven primair plaats als gevolg van direct of indirect contact met wilde vogels.

Dergelijke LPAI-virussen uit een wild reservoir kunnen onder gedomesticeerd pluimvee onopgemerkt circuleren, aangezien de klinische symptomen vaak gering zijn of geheel ontbreken.

Nadat het virus bij pluimvee is geïntroduceerd, kunnen LPAI-stammen van subtype H5 en H7 muteren in HPAI-stammen. Alleen virussen van subtype H5 en H7 kunnen voor zover bekend HPAI veroorzaken.

De mutatie van LPAI- naar HPAI-virus kan via diverse mechanismen verlopen, maar welke factoren hierbij een rol spelen is niet bekend. Soms heeft de mutatie kennelijk al snel na de insleep door wilde vogels op de primaire locatie plaatsgevonden, terwijl in andere gevallen het LPAI-virus maandenlang onder het pluimvee heeft gecirculeerd voordat de mutatie optrad. Het is daarom onmogelijk om te voorspellen of, en zo ja wanneer, die mutatie zich zal voordoen. Wel kan redelijkerwijs worden aangenomen dat de kans op mutatie in HPAI groter wordt naarmate het LPAI-virus langer onder het pluimvee aanwezig blijft.

De incubatietijd is moeilijk te schatten en hangt vermoedelijk af van de virusstam en de gastheer; meestal wordt een periode van vijf à zes dagen genoemd, maar in de praktijk kan dit vermoedelijk uiteenlopen van enkele uren tot circa een week.

2. **Klinische verschijnselen bij vogels na besmetting met HPAI-virus**

De klinische verschijnselen lopen sterk uiteen en hangen onder meer af van de virulentie van het virus, de diersoort, leeftijd en geslacht van het dier, eventueel aanwezige andere ziekten en de omgeving.

In een vroeg stadium kan er sprake zijn van eetlustgebrek en een verminderde wateropname en is de sterfte relatief gering. De ziekte kan echter ook plotseling in een koppel uitbreken, waarbij een groot aantal dieren sterft zonder voorafgaande verschijnselen of met slechts minimale tekenen van depressie, eetlustgebrek, een ruw verenpak en koorts. Naarmate de dieren langer overleven, zijn de klinische verschijnselen gewoonlijk uitgesprokener. Hoe snel de symptomen zich ontwikkelen, hangt af van het virus, de gastheer, de initiële infectiedosis en het houderijsysteem. In legbatterijen en buitenhouderijen verspreidt het virus zich langzamer dan in vleeskuikenstallen.

Kippen die met het HPAI-virus besmet zijn, leggen soms eerst windeieren, maar stoppen al gauw met leggen. Zieke dieren zitten of staan vaak in een semi-comateuze toestand met hun kop tegen de grond. De kammen en lellen zijn cyanotisch en gezwollen, met aan de uiteinden soms petechiën en ecchymose. Vaak hebben de dieren een overvloedige, waterige diarree en zijn ze extreem dorstig. De ademhaling kan zwaar gaan en soms is er overvloedige traanvorming. De naakte huiddelen kunnen bloedingen vertonen. De sterfte in het koppel ligt tussen 50 en 100 %.

Bij vleeskuikens zijn de symptomen van HPAI vaak minder uitgesproken dan bij ander pluimvee en bestaan ze doorgaans uit ernstige depressie en eetlustgebrek; soms is een plotseling verhoogde sterfte het eerste zichtbare teken. Oedeem aan het kop- en nekgebied en neurologische tekenen zoals torticollis en ataxie kunnen ook voorkomen.

HPAI bij kalkoenen lijkt op die bij kippen, maar sommige HPAI-virussen zijn bij kalkoenen blijkbaar virulenter en andere juist minder virulent.

Ganzen die met HPAI besmet zijn, vertonen soortgelijke tekenen van depressie, eetlustgebrek en diarree als legkippen; verder zijn vaak de sinussen gezwollen. Bij jongere dieren kunnen neurologische verschijnselen optreden.

Bij eenden kan de besmetting met HPAI zonder klinische symptomen verlopen, maar bij sommige stammen zijn dezelfde verschijnselen waargenomen als bij ganzen en was er enige sterfte.

Bij struisvogels kunnen HPAI- en LPAI-besmettingen zonder klinische tekenen verlopen. Bij uitbraken van HPAI, zoals in Italië in 1999/2000, bleken parelhoenders en Japanse kwartels gevoelig te zijn voor infecties, met soortgelijke symptomen en sterfte als bij kippen en kalkoenen. Er zijn echter ook experimentele studies verricht waarbij deze dieren tegen bepaalde HPAI-stammen resistent bleken te zijn. Voor alle vogels geldt dat de aanwezigheid van antilichamen tegen hetzelfde H-subtype, ongeacht of die door vaccinatie of door natuurlijke infectie ontstaan zijn, erop kan duiden dat besmetting met het HPAI-virus geen manifeste klinische symptomen veroorzaakt.

3. **Postmortemlaesies bij vogels na besmetting met HPAI-virus**

In geval van peracute sterfte zijn er soms minimale macroscopische laesies (dehydratatie en congestie van de ingewanden en spieren).

Als de dieren na een langere periode van ziekte sterven, vertonen zij overal op het lichaam petechiën en ecchymose, en vooral in larynx, trachea, proventriculus en het epicardiale vet en op de sereuze oppervlakken naast het sternum. Er is uitgebreid subcutaan oedeem, met name rond de kop en de hakken. Het karkas kan gedehydrateerd zijn. Milt, lever, nieren en longen kunnen gele of grijze necrotische foci vertonen. De luchtzak kan een exsudaat bevatten. De milt kan vergroot en hemorragisch zijn.

Histologisch wordt AI gekenmerkt door vaatafwijkingen met als gevolg oedeem, bloedingen en perivasculaire cuffing, met name in myocard, milt, longen, hersenen, pancreas en lellen. Er zijn necrotische foci in de longen, lever en nieren. In de hersenen kunnen gliosis, vasculaire proliferatie en neuronale degeneratie optreden.

4. **Differentiële diagnose**

In de differentiële diagnose van HPAI moeten met name de volgende aandoeningen worden betrokken:

a) andere ziekten die een plotselinge hoge sterfte veroorzaken, zoals:

   i) Newcastle disease;

   ii) infectieuze laryngotracheïtis;

iii) eendenpest;

iv) acute vergiftigingen;

b) andere ziekten die zwelling van de kammen en lellen veroorzaken, zoals:

i) acute vogelcholera en andere septikemische ziekten;

ii) bacteriële cellulitis van kam en lellen.

5. **Klinische verschijnselen bij vogels na besmetting met LPAI-virussen**

De ernst van de door LPAI-virussen veroorzaakte ziekte hangt sterk af van:

a) de virusstam;

b) de diersoort en de leeftijd van het dier;

c) de immuunstatus van het dier tegen het virus en met name de aanwezigheid van andere ziekteverwekkers, zoals:

i) *Pasteurella* spp.;

ii) Newcastle diseasevirussen (met inbegrip van vaccinstammen);

iii) aviair pneumovirus, infectieuze-bronchitisvirus;

iv) *E. coli*;

v) *Mycoplasma* spp.;

d) immunodeficiëntie;

e) omgevingsfactoren, (zoals een te hoge ammoniakconcentratie, stof, hoge of lage temperaturen).

Aan de ene kant van de schaal veroorzaakt de ziekte geen of slechts geringe klinische verschijnselen, zoals lichte ademhalingsstoornissen of eiproductieproblemen bij legkippen. Aan de andere kant kunnen infecties met LPAI-virussen gepaard gaan met ernstige klinische symptomen van de ziekte, vooral bij kalkoenen, doorgaans bestaande uit een reutelende ademhaling, hoesten, zwelling van de infraorbitale sinussen en koorts, met eetlustgebrek en een hoge sterfte.

LPAI kan worden verward met veel ziekten die luchtweg- of darmsymptomen veroorzaken, of daardoor worden gecompliceerd. Er moet aan AI worden gedacht indien onder pluimvee ziekte uitbreekt die niet verdwijnt wanneer preventieve en therapeutische maatregelen tegen andere ziekten worden genomen.

6. **Klinische verschijnselen bij in gevangenschap levende vogels**

De klinische verschijnselen kunnen sterk uiteenlopen, net als bij pluimvee, van nauwelijks waarneembaar tot ernstige ziekteverschijnselen met een hoge sterfte.

Over het algemeen verspreidt de infectie zich onder in gevangenschap levende vogels langzamer doordat verschillende vogelsoorten met uiteenlopende gevoeligheid worden gehouden, de mate van virusuitscheiding varieert en de overdracht vaak relatief langzaam verloopt als gevolg van de geringe contacten en de relatief lage bezettingsgraad.

HOOFDSTUK III

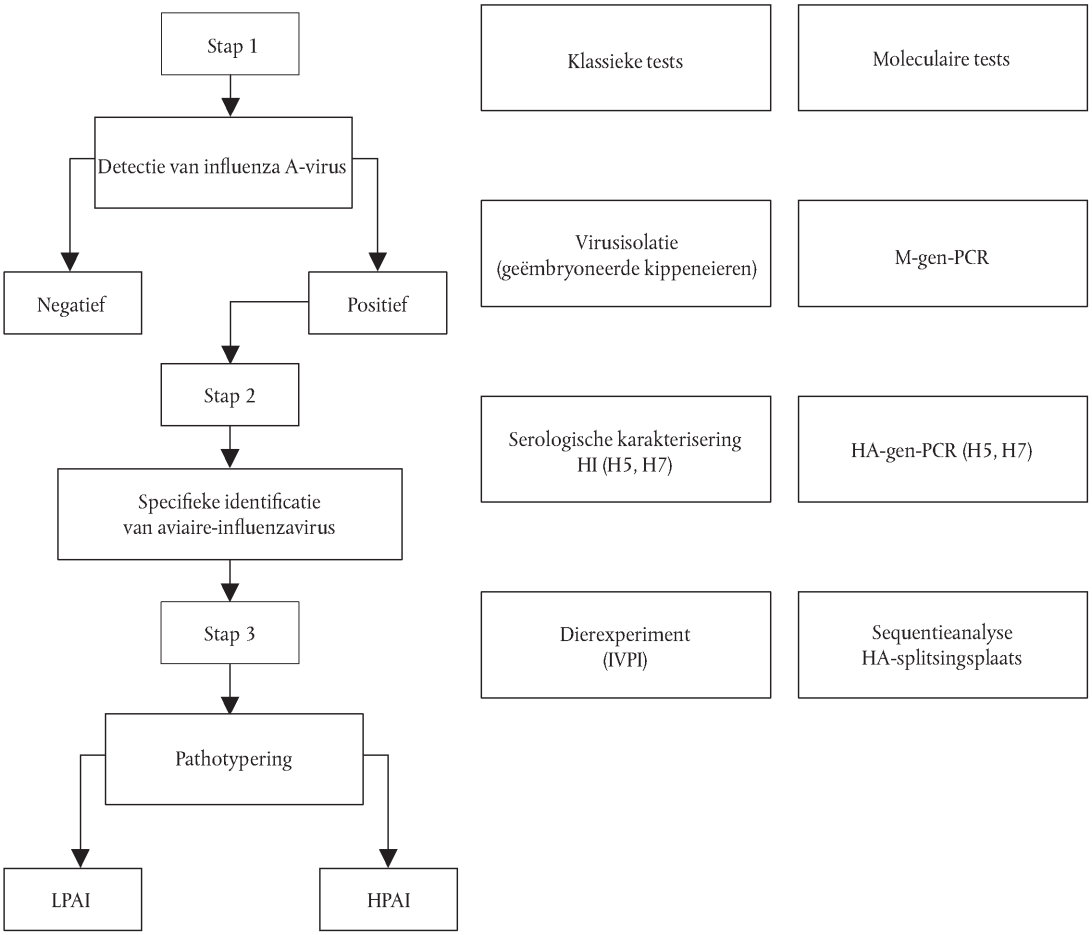
Richtsnoeren bij een vermoeden van AI op een bedrijf

Gezien de variatie in klinische verschijnselen die zowel bij HPAI als bij LPAI optreedt, kunnen geen vastomlijnde criteria voor een vermoedelijke uitbraak worden gegeven. Een plotselinge hoge sterfte onder pluimvee, al dan niet met de bijbehorende klinische verschijnselen zoals beschreven in hoofdstuk II, moet worden onderzocht door monsters in te sturen voor laboratoriumonderzoek; als er echter geen hoge sterfte optreedt, is het lastiger de aanwezigheid van AI te vermoeden of uit te sluiten.

Omdat een snelle diagnose van HPAI of LPAI, veroorzaakt door subtype H5 of H7, van het grootste belang is met het oog op een snelle bestrijding en uitroeiing, moet altijd aan AI worden gedacht in de differentiële diagnose van ademhalingsmoeilijkheden, eiproductieproblemen en een verhoogde sterfte onder pluimvee, en moeten de nodige monsters voor laboratoriumonderzoek worden ingestuurd.

Figuur

Schematisch overzicht van de diagnosestappen ter bevestiging van AI



HOOFDSTUK IV

Algemene procedures voor het verzamelen en het vervoeren van monsters

1. **Richtlijn 2005/94/EG en het diagnosehandboek**

Wanneer in Richtlijn 2005/94/EG naar het diagnosehandboek wordt verwezen, moeten de in dit hoofdstuk beschreven procedures voor onderzoeken, bemonstering en bewaking worden gevolgd.

2. **Te volgen procedures bij een vermoedelijke uitbraak van AI**

Als de officiële dierenarts een klinisch vermoeden heeft van een uitbraak van AI, of de uitslagen van een van de laboratoriumtests op die ziekte niet negatief zijn, moet de bevoegde autoriteit ervoor zorgen dat overeenkomstig artikel 7 van Richtlijn 2005/94/EG een onderzoek zoals beschreven in dit hoofdstuk wordt uitgevoerd en naar behoren wordt afgerond voordat de aanwezigheid van de ziekte wordt uitgesloten.

3. **Interpretatie van de uitslagen van het virologisch onderzoek**

De bevoegde autoriteit mag ervan uitgaan dat de aanwezigheid van het AI-virus kan worden uitgesloten als overeenkomstig dit hoofdstuk een voldoende aantal zieke of dode dieren en trachea-/orofarynxswabs of cloacaswabs zijn ingestuurd met het oog op de opsporing van het virus of het genoom ervan, en daarbij negatieve resultaten zijn verkregen bij tests volgens een van de in hoofdstuk V of VI aangegeven virusdetectiemethoden of door de bevoegde autoriteit overeenkomstig punt 6, onder b), van hoofdstuk I toegestane methoden.

4. **Standaardset monsters voor virologisch of serologisch laboratoriumonderzoek**

Voor het onderzoeken van een bedrijf dat vermoedelijk met het AI-virus besmet is, moet de onder a) en b) beschreven standaardset monsters voor virologisch of serologisch onderzoek (hierna „de standaardmonsters" genoemd) worden genomen en direct voor virologisch en serologisch laboratoriumonderzoek worden ingestuurd.

a) De standaardset monsters voor virologisch onderzoek bestaat uit:

   i) ten minste vijf zieke/dode vogels, indien die er zijn, en/of

   ii) ten minste 20 trachea-/orofarynxswabs en 20 cloacaswabs.

   De karkassen moeten afkomstig zijn van dieren die recent zijn gestorven of van ernstig zieke of stervende dieren die op humane wijze gedood zijn.

   De swabs worden genomen bij het onder a) genoemde aantal dieren of bij alle dieren op het verdachte bedrijf als dat er minder zijn. Bij voorkeur worden dieren bemonsterd die klinische ziektesymptomen vertonen.

   De cloacaswabs moeten met feces bedekt zijn (idealiter 1 g). Als het om wat voor reden dan ook niet uitvoerbaar is om cloacaswabs bij levende dieren af te nemen, kunnen zorgvuldig verzamelde verse fecesmonsters worden gebruikt.

   Trachea-/orofarynxswabs kunnen vaak het handigst uit de mondholte worden afgenomen.

   Zodra de groeikarakteristieken van het virus bekend zijn, kan de bevoegde autoriteit besluiten hetzij trachea-/orofarynxswabs, hetzij cloacaswabs af te nemen in plaats van allebei, afhankelijk van het feit of het virus zich beter in de ademhalingswegen dan wel in het maagdarmkanaal vermeerdert, waarbij ook de diersoort in aanmerking wordt genomen.

b) De standaardset monsters voor serologisch onderzoek bestaat uit minimaal 20 bloedmonsters.

   De monsters worden genomen bij het onder b) genoemde aantal dieren of bij alle dieren op het bedrijf als dat er minder zijn. Bij voorkeur worden dieren bemonsterd die ziek of weer hersteld lijken te zijn.

   De bevoegde autoriteit kan besluiten dat niet alle standaardmonsters hoeven te worden genomen maar slechts een deel daarvan.

5. **Vervoer van de monsters**

De monsters moeten met de nodige zorg opgeslagen en voor onderzoek naar het laboratorium vervoerd worden.

De swabs worden onmiddellijk op ijs of met bevroren gelpacks gekoeld en zo snel mogelijk naar het laboratorium gestuurd. De monsters mogen niet worden bevroren, tenzij dat absoluut noodzakelijk is. Als de monsters niet gegarandeerd binnen 24 uur naar het laboratorium kunnen worden vervoerd, moeten zij onmiddellijk worden bevroren en opgeslagen en later op droogijs worden vervoerd.

De swabs moeten niet alleen worden gekoeld, maar ook bij 4 °C in een antibiotisch of een specifiek virustransportmedium worden ondergedompeld. Is zo'n medium niet beschikbaar, dan moeten de swabs weer in hun huls gedaan worden en droog naar het laboratorium worden gestuurd.

Bij de opslag en het vervoer van de monsters kunnen tal van factoren een rol spelen; daarom moet de wijze van vervoer op de aard van de monsters afgestemd zijn.

6. **Antibiotisch medium**

Het in punt 5 bedoelde antibiotische medium moet gebaseerd zijn op een fosfaatgebufferde zoutoplossing (pH 7,0-7,4 na toevoeging van de antibiotica).

Media op basis van eiwitten, zoals brain heart infusion of trisgebufferde tryptosebouillon kunnen het virus extra stabiliteit geven, vooral tijdens het vervoer. De gebruikte antibiotica en de concentraties daarvan kunnen al naar de plaatselijke omstandigheden en beschikbaarheid variëren.

Voor fecesmonsters kunnen erg hoge antibioticaconcentraties nodig zijn, bijvoorbeeld 10 000 IE/ml penicilline, 10 mg/ml streptomycine, 0,25 mg/ml gentamycine en 5 000 IE/ml nystatine. Voor weefsels en tracheaswabs kunnen die concentraties uiterlijk tot een vijfde van de vermelde waarden worden teruggebracht.

Moet ook *Chlamydophila* onder controle gehouden worden, dan wordt nog 0,05-0,1 mg/ml oxytetracycline toegevoegd.

7. **Brain heart infusion-medium**

De oplossing wordt in water bereid en bevat 15 % (m/V) brain heart infusion-bouillonpoeder; vervolgens wordt gesteriliseerd door 15 minuten autoclaveren bij 121 °C.

Na de sterilisatie worden de volgende antibiotica toegevoegd: 10 000 IE/ml penicilline G, 20 µg amfotericine B en 1 000 µg/ml gentamycine. Het medium kan maximaal twee maanden bij 4 °C worden bewaard.

8. **In verband met de bepalingen van Richtlijn 2005/94/EG te volgen procedures**

8.A. Vermoedelijke uitbraken

8.1. *Artikel 7, lid 1 — Maatregelen op bedrijven met vermoedelijke uitbraak*

Wanneer een officiële dierenarts een bedrijf inspecteert waar een uitbraak wordt vermoed, moeten de volgende maatregelen worden genomen:

a) controle van de met betrekking tot de productie en de gezondheid op het bedrijf geregistreerde gegevens, indien die beschikbaar zijn. De dagelijkse sterfte en de dagelijkse eiproductie, alsmede de voeder- en/of wateropname vanaf één week voor de datum waarop de klinische symptomen van AI zijn verschenen tot en met de dag waarop het bedrijf door de officiële dierenarts wordt geïnspecteerd, worden in het inspectieverslag van de officiële dierenarts vermeld;

b) een klinische inspectie in elke productie-eenheid, waarbij de klinische voorgeschiedenis wordt geëvalueerd en het pluimvee of de andere in gevangenschap levende vogels, met name dieren die ziek lijken te zijn, klinisch worden onderzocht;

c) tenzij de bevoegde autoriteit op grond van de overeenkomstig a) en b) verrichte klinische inspectie constateert dat een vermoedelijke uitbraak kan worden uitgesloten, worden in elke productie-eenheid de standaardmonsters genomen;

d) ongeacht negatieve testuitslagen bij de standaardmonsters en met inachtneming van plaatselijke factoren moet het pluimvee in elke productie-eenheid klinisch worden geïnspecteerd voordat de officiële bewaking kan worden opgeheven.

8.2. *Artikel 10, lid 3 — Aanvullende maatregelen op grond van het epizoötiologisch onderzoek*

In elke productie-eenheid worden standaardmonsters genomen van het gedode pluimvee of de gedode andere in gevangenschap levende vogels.

8.B. Hoogpathogene aviaire influenza (HPAI)

8.3. *Artikel 11, lid 4 — Maatregelen voor pluimvee uit eieren die zijn verzameld op bedrijven waar uitbraken zijn bevestigd*

Wanneer een officiële dierenarts een bedrijf inspecteert met pluimvee dat is uitgekomen uit eieren die gedurende de incubatietijd zijn verzameld op een bedrijf waar HPAI is bevestigd, moeten de volgende maatregelen worden genomen:

a) controle van de met betrekking tot de productie en de gezondheid op het bedrijf geregistreerde gegevens. De dagelijkse sterfte en de dagelijkse voeder- en/of wateropname, indien beschikbaar, vanaf één week voor de datum waarop de klinische symptomen van HPAI zijn verschenen tot en met de dag waarop het bedrijf door de officiële dierenarts wordt geïnspecteerd, worden in het inspectieverslag van de officiële dierenarts vermeld;

b) een klinische inspectie in elke productie-eenheid, waarbij het pluimvee, met name dieren die ziek lijken te zijn of in groei achterblijven, klinisch wordt onderzocht;

c) de standaardmonsters moeten worden genomen bij pluimvee van twee tot drie weken oud;

d) de officiële bewaking van het bedrijf kan worden opgeheven als het pluimvee ouder dan 21 dagen klinisch is onderzocht en de testuitslagen van de standaardmonsters negatief zijn.

8.4. *Artikel 13, lid 2, onder b) — Afwijkingen voor bepaalde bedrijven*

Wanneer een officiële dierenarts een bedrijf inspecteert waarvoor een afwijking van artikel 11, lid 2, eerste alinea, van Richtlijn 2005/94/EG is toegestaan, moeten de volgende maatregelen worden genomen:

a) controle van de met betrekking tot de productie en de gezondheid op het bedrijf geregistreerde gegevens, indien die beschikbaar zijn;

b) een klinische inspectie in elke productie-eenheid, waarbij de klinische voorgeschiedenis wordt geëvalueerd en het pluimvee of de andere in gevangenschap levende vogels, met name dieren die ziek lijken te zijn, klinisch worden onderzocht;

c) in plaats van de standaardmonsters worden 21 dagen na de laatste positieve constatering van HPAI van elke productie-eenheid en vervolgens om de 21 dagen de volgende monsters genomen voor laboratoriumonderzoek:

   i) monsters van al het dode pluimvee of alle dode andere in gevangenschap levende vogels die ten tijde van de bemonstering aanwezig zijn;

   ii) indien het uitvoerbaar is, trachea-/orofarynxswabs en cloacaswabs van ten minste 60 stuks pluimvee of andere in gevangenschap levende vogels of van al die dieren indien er minder dan 60 op het bedrijf zijn, of, als het gaat om kleine, exotische vogels die niet gewend zijn om vastgepakt te worden of om vogels waarvan het vastpakken gevaar voor mensen zou opleveren, verse fecesmonsters.

   De bevoegde autoriteit kan echter op basis van een risicobeoordeling afwijkingen van de onder i) en ii) vermelde monstergrootte toestaan;

d) de onder c) bedoelde bemonstering en de op die monsters uitgevoerde laboratoriumtests worden voortgezet totdat twee achtereenvolgende laboratoriumuitslagen, met een tussentijd van minimaal 21 dagen, negatief zijn.

8.5. *Artikel 15, leden 1 en 3 — Maatregelen op contactbedrijven*

Wanneer een officiële dierenarts een contactbedrijf inspecteert, worden de volgende maatregelen genomen:

a) controle van de met betrekking tot de productie en de gezondheid op het bedrijf geregistreerde gegevens, indien die beschikbaar zijn; de dagelijkse sterfte en de dagelijkse voeder- en/of wateropname, indien beschikbaar, vanaf één week voor de datum waarop het contact met het vermoedelijk met AI besmette koppel heeft plaatsgevonden tot en met de dag waarop het bedrijf door de officiële dierenarts wordt geïnspecteerd, worden in het inspectieverslag van de officiële dierenarts vermeld;

b) een klinische inspectie in elke productie-eenheid, waarbij de klinische voorgeschiedenis wordt geëvalueerd en het pluimvee of de andere in gevangenschap levende vogels, met name dieren die ziek lijken te zijn, klinisch worden onderzocht;

c) indien er klinische symptomen bij het pluimvee of de andere in gevangenschap levende vogels zijn, of aanwijzingen voor een verhoogde dagelijkse sterfte (meer dan driemaal de normale sterfte in het koppel), een daling van de dagelijkse eiproductie (meer dan 5 %) of een daling in de dagelijkse voeder- en of wateropname (meer dan 5 %), moeten onmiddellijk van elke productie-eenheid de standaardmonsters worden genomen;

d) indien er geen symptomen als bedoeld onder b) en c) zijn, worden de standaardmonsters 21 dagen na het laatste vermoedelijke contact met een besmet bedrijf genomen, of wanneer het pluimvee of de andere in gevangenschap levende vogels worden gedood.

8.6. *Artikel 18, onder b) en c) — Inventarisatie en inspecties door de officiële dierenarts en bewaking op bedrijven in het beschermingsgebied*

Wanneer een officiële dierenarts een commercieel bedrijf inspecteert, moeten de volgende maatregelen worden genomen:

a) controle van de met betrekking tot de productie en de gezondheid op het bedrijf geregistreerde gegevens. Indien er aanwijzingen zijn voor een verhoogde dagelijkse sterfte (meer dan driemaal de normale sterfte in het koppel), een daling van de dagelijkse eiproductie (meer dan 5 %) of een daling in de dagelijkse voeder- en of wateropname (meer dan 5 %), worden van elke productie-eenheid de standaardmonsters genomen;

b) een klinische inspectie in elke productie-eenheid, waarbij de klinische voorgeschiedenis wordt geëvalueerd en het pluimvee of de andere in gevangenschap levende vogels, met name dieren die ziek lijken te zijn, klinisch worden onderzocht;

c) als het gaat om een diersoort die naar verwachting geen duidelijke klinische ziektesymptomen zal vertonen, of om gevaccineerde dieren, kan de bevoegde autoriteit op grond van een risicobeoordeling besluiten dat van elke productie-eenheid de standaardmonsters moeten worden genomen;

d) op grond van een risicobeoordeling moet de bevoegde autoriteit besluiten of verdere officiële bewaking door klinische onderzoeken en bemonstering voor laboratoriumonderzoek in specifieke bedrijven of compartimenten of bij bepaalde productietypes noodzakelijk is.

8.7. *Artikel 19, onder f) — Maatregelen op bedrijven in beschermingsgebieden*

Wanneer een officiële dierenarts een bedrijf inspecteert waar een verhoogde ziekte of sterfte of een verandering in de productiecijfers is gemeld, moeten de volgende maatregelen worden genomen:

a) controle van de met betrekking tot de productie en de gezondheid op het bedrijf geregistreerde gegevens. Indien er aanwijzingen zijn voor een verhoogde dagelijkse sterfte (meer dan driemaal de normale sterfte in het koppel), een daling van de dagelijkse eiproductie (meer dan 5 %) of een daling in de dagelijkse voeder- en of wateropname (meer dan 5 %), moeten van elke productie-eenheid de standaardmonsters worden genomen;

b) een klinische inspectie in elke productie-eenheid, waarbij de klinische voorgeschiedenis wordt geëvalueerd en het pluimvee of de andere in gevangenschap levende vogels, met name dieren die ziek lijken te zijn, klinisch worden onderzocht.

8.8. *Artikel 23, lid 1, onder b) — Afwijkingen voor het rechtstreekse vervoer van pluimvee voor onmiddellijke slacht*

Wanneer een officiële dierenarts een bedrijf inspecteert waarvoor een afwijking van artikel 22 van Richtlijn 2005/94/EG is toegestaan, moeten de volgende maatregelen worden genomen:

a) controle van de met betrekking tot de productie en de gezondheid op het bedrijf geregistreerde gegevens;

b) een klinische inspectie in elke productie-eenheid, waarbij de klinische voorgeschiedenis wordt geëvalueerd en het pluimvee, met name dieren die ziek lijken te zijn, binnen 24 uur voor vertrek klinisch wordt onderzocht;

c) op grond van een risicobeoordeling door de bevoegde autoriteit worden in plaats van de standaardmonsters binnen 48 uur voor vertrek ten minste 60 trachea-/orofarynxswabs en/of 60 cloacaswabs genomen bij het pluimvee uit elke productie-eenheid die naar de slacht gaat.

8.9. *Artikel 25, lid 1, onder b) — Afwijkingen voor het rechtstreekse vervoer van legrijp pluimvee*

Wanneer een officiële dierenarts voorafgaand aan het rechtstreekse vervoer van legrijp pluimvee een bedrijf inspecteert waarvoor een afwijking van artikel 22 is toegestaan, worden de volgende maatregelen genomen:

a) controle van de met betrekking tot de productie en de gezondheid op het bedrijf geregistreerde gegevens;

b) een klinische inspectie in elke productie-eenheid, waarbij de klinische voorgeschiedenis wordt geëvalueerd en het pluimvee, met name dieren die ziek lijken te zijn, binnen 24 uur voor vertrek klinisch wordt onderzocht;

c) op grond van een risicobeoordeling door de bevoegde autoriteit worden in plaats van de standaardmonsters binnen 48 uur voor vertrek ten minste 60 trachea-/orofarynxswabs en/of 60 cloacaswabs genomen bij het pluimvee uit elke productie-eenheid die zal worden vervoerd.

8.10. *Artikel 26, lid 1, onder a) — Afwijking voor het rechtstreekse vervoer van broed- en consumptie-eieren*

Wanneer een officiële dierenarts voorafgaand aan het rechtstreekse vervoer van broedeieren een ouderbedrijf inspecteert waarvoor een afwijking van artikel 22 is toegestaan, moeten de volgende maatregelen worden genomen:

a) controle van de met betrekking tot de productie en de gezondheid op het bedrijf geregistreerde gegevens;

b) tweewekelijks klinisch onderzoek in elke productie-eenheid;

c) nemen van standaardmonsters van elke productie-eenheid.

8.11. *Artikel 29, lid 1 — Duur van de maatregelen*

De maatregelen voor het beschermingsgebied overeenkomstig hoofdstuk IV, afdeling 3, van Richtlijn 2005/94/EG mogen niet eerder dan 21 dagen na de voorlopige reiniging en ontsmetting van de besmette bedrijven worden opgeheven, mits:

a) alle commerciële bedrijven in het beschermingsgebied door een officiële dierenarts zijn onderzocht en alle controles, klinische inspecties en laboratoriumtests, zoals aangegeven in punt 8.6, onder a), b) en c), en punt 8.7, negatief waren;

b) alle geïdentificeerde niet-commerciële bedrijven in het beschermingsgebied door een officiële dierenarts zijn geïnspecteerd, waarbij noch het klinische onderzoek, noch de uitslagen van de uitgevoerde laboratoriumtests aanleiding geven tot een vermoeden van AI-besmetting;

c) alle verdere officiële bewakingsmaatregelen overeenkomstig punt 8.6, onder d), negatieve resultaten hebben opgeleverd.

8.12. *Artikel 30, onder g) — Maatregelen in de toezichtsgebieden*

Wanneer een officiële dierenarts een bedrijf inspecteert waar een verhoogde ziekte of sterfte of een verandering in de productiecijfers is gemeld, moeten de volgende maatregelen worden genomen:

a) controle van de met betrekking tot de productie en de gezondheid op het bedrijf geregistreerde gegevens;

b) een klinische inspectie in elke productie-eenheid, waarbij de klinische voorgeschiedenis wordt geëvalueerd en het pluimvee of de andere in gevangenschap levende vogels, met name dieren die ziek lijken te zijn, klinisch worden onderzocht;

c) nemen van standaardmonsters van elke productie-eenheid.

8.13. *Artikel 35 — Onderzoek naar de vermoedelijke aanwezigheid van HPAI in slachthuizen en in vervoermiddelen*

Wanneer een officiële dierenarts een bedrijf van herkomst van dieren in slachthuizen of vervoermiddelen inspecteert, moeten de volgende maatregelen worden genomen:

a) controle van de met betrekking tot de productie en de gezondheid op het bedrijf geregistreerde gegevens, indien die beschikbaar zijn;

b) een klinische inspectie in elke productie-eenheid, waarbij de klinische voorgeschiedenis wordt geëvalueerd en het pluimvee of de andere in gevangenschap levende vogels worden onderzocht na overleg met de officiële dierenarts van het slachthuis, die informatie moet verstrekken over vorige inspectiegegevens en de resultaten van ante- en postmortemkeuringen;

c) tenzij de bevoegde autoriteit op grond van het overeenkomstig a) en b) verrichte veterinaire onderzoek constateert dat de vermoedelijke aanwezigheid van HPAI kan worden uitgesloten, worden in elke productie-eenheid de standaardmonsters genomen;

d) naast de standaardmonsters worden monsters van ten minste vijf zieke, dode of geslachte dieren in het slachthuis met pathologische bevindingen voor laboratoriumonderzoek ingestuurd.

8.14. *Artikel 36, lid 1 — Maatregelen in slachthuizen*

Als het in punt 8.13 bedoelde onderzoek is uitgevoerd, de uitslagen van de laboratoriumtests negatief zijn en er geen klinisch vermoeden is dat HPAI op het bedrijf van herkomst en in het slachthuis aanwezig is, kan het officiële toezicht worden opgeheven.

8.15. *Artikel 37, leden 1 en 2 — Maatregelen in grensinspectieposten en vervoermiddelen*

8.15.1. Wanneer een officiële dierenarts in isolatie gehouden pluimvee of andere in gevangenschap gehouden vogels inspecteert, afkomstig uit een grensinspectiepost of een vervoermiddel wegens een vermoeden of bevestiging van HPAI, moeten de volgende maatregelen worden genomen:

a) controle van de beschikbare documenten en gegevens;

b) een klinisch onderzoek van de in isolatie gehouden dieren en een klinische inspectie van verder nog aanwezig(e) pluimvee of andere in gevangenschap levende vogels, met name dieren die ziek lijken te zijn;

c) er worden standaardmonsters genomen van pluimvee of andere in gevangenschap levende vogels uit verschillende transportkratten of -kooien.

8.15.2. Wanneer een officiële dierenarts een geïdentificeerd bedrijf van herkomst inspecteert ingeval het pluimvee of de andere in gevangenschap levende vogels worden geslacht, moeten de volgende maatregelen worden genomen:

a) controle van de met betrekking tot de productie en de gezondheid op het bedrijf geregistreerde gegevens, indien die beschikbaar zijn;

b) een klinische inspectie in elke productie-eenheid, waarbij de klinische voorgeschiedenis wordt geëvalueerd en het pluimvee of de andere in gevangenschap levende vogels worden onderzocht na overleg met de officiële dierenarts van het slachthuis, die informatie moet verstrekken over vorige inspectiegegevens en de resultaten van ante- en postmortemkeuringen;

c) tenzij de bevoegde autoriteit op grond van het overeenkomstig a) en b) verrichte veterinaire onderzoek constateert dat de vermoedelijke aanwezigheid van HPAI kan worden uitgesloten, worden in elke productie-eenheid de standaardmonsters genomen;

d) naast de onder c) bedoelde standaardmonsters worden monsters van ten minste vijf zieke, dode of geslachte dieren in het slachthuis met pathologische bevindingen voor laboratoriumonderzoek ingestuurd;

e) als de uitslagen van het laboratoriumonderzoek op de onder c) en d) bedoelde monsters negatief zijn en er geen klinisch vermoeden is dat HPAI op het bedrijf van herkomst en in het slachthuis aanwezig is, kan het officiële toezicht worden opgeheven.

8.C. Laagpathogene aviaire influenza (LPAI)

8.16. *Artikel 39, lid 6, onder b) en h) — Maatregelen op bedrijven met bevestigde uitbraak van LPAI*

Wanneer een officiële dierenarts een bedrijf inspecteert voordat pluimvee naar een slachthuis wordt vervoerd, of een bedrijf waar pluimvee is dat al is uitgekomen uit eieren die gedurende de incubatietijd zijn verzameld, moeten de volgende maatregelen worden genomen:

a) controle van de met betrekking tot de productie en de gezondheid op het bedrijf geregistreerde gegevens;

b) een klinische inspectie in elke productie-eenheid, waarbij de klinische voorgeschiedenis wordt geëvalueerd en het pluimvee of de andere in gevangenschap levende vogels klinisch worden onderzocht;

c) binnen 48 uur voor vertrek van het pluimvee worden de standaardmonsters genomen van elke productie-eenheid die naar de slacht gaat;

d) in elke productie-eenheid worden de standaardmonsters genomen van pluimvee dat al is uitgekomen uit eieren die gedurende de incubatietijd zijn verzameld.

8.17. *Artikel 40, lid 2, onder b) — Afwijking voor bepaalde bedrijven van maatregelen die in geval van een uitbraak moeten worden genomen*

Wanneer een officiële dierenarts een bedrijf inspecteert waarvoor een afwijking van artikel 39, lid 2, en lid 5, onder b), van Richtlijn 2005/94/EG is toegestaan, moeten de volgende maatregelen worden genomen:

a) controle van de met betrekking tot de productie en de gezondheid op het bedrijf geregistreerde gegevens, indien die beschikbaar zijn;

b) op gezette tijden een klinische inspectie in elke productie-eenheid, waarbij de klinische voorgeschiedenis wordt geëvalueerd en het pluimvee of de andere in gevangenschap levende vogels, met name dieren die ziek lijken te zijn, klinisch worden onderzocht;

c) in plaats van de standaardmonsters worden 21 dagen na de laatste positieve constatering van LPAI van elke productie-eenheid en vervolgens om de 21 dagen de volgende monsters genomen voor laboratoriumonderzoek:

i) monsters van alle dode pluimvee of andere in gevangenschap levende vogels die ten tijde van de bemonstering aanwezig zijn;

ii) trachea-/orofarynxswabs en cloacaswabs van ten minste 60 stuks pluimvee of andere in gevangenschap levende vogels of van al die dieren indien er minder dan 60 op het bedrijf zijn, of, als het gaat om kleine, exotische vogels die niet gewend zijn om vastgepakt te worden of om vogels waarvan het vastpakken gevaar voor mensen zou opleveren, verse fecesmonsters.

De bevoegde autoriteit kan echter op basis van een risicobeoordeling afwijkingen van het bepaalde onder i) en ii) toestaan;

d) de onder c) bedoelde bemonstering en de op die monsters uitgevoerde laboratoriumtests worden voortgezet totdat twee achtereenvolgende laboratoriumuitslagen, met een tussentijd van minimaal 21 dagen, negatief zijn.

8.18. *Artikel 42, leden 1 en 3 — Maatregelen op contactbedrijven*

Wanneer een officiële dierenarts een contactbedrijf inspecteert, moeten de volgende maatregelen worden genomen:

a) controle van de met betrekking tot de productie en de gezondheid op het contactbedrijf geregistreerde gegevens, indien die beschikbaar zijn;

b) een klinische inspectie in elke productie-eenheid, waarbij de klinische voorgeschiedenis wordt geëvalueerd en het pluimvee of de andere in gevangenschap levende vogels, met name dieren die ziek lijken te zijn, klinisch worden onderzocht;

c) de standaardmonsters worden genomen in elke productie-eenheid of wanneer het pluimvee of de andere in gevangenschap levende vogels worden gedood.

8.19. *Artikel 44, lid 1, onder b) — Maatregelen in beperkingsgebieden*

Wanneer een officiële dierenarts een commercieel bedrijf in een beperkingsgebied inspecteert, moeten de volgende maatregelen worden genomen:

a) controle van de met betrekking tot de productie en de gezondheid op het bedrijf geregistreerde gegevens;

b) een klinische inspectie in elke productie-eenheid, waarbij de klinische voorgeschiedenis wordt geëvalueerd en het pluimvee of de andere in gevangenschap levende vogels, met name dieren die ziek lijken te zijn, klinisch worden onderzocht;

c) nemen van standaardmonsters van elke productie-eenheid;

d) op grond van een risicobeoordeling moet de bevoegde autoriteit besluiten of verdere officiële bewaking door klinische inspecties en bemonstering voor laboratoriumonderzoek in specifieke bedrijven of compartimenten of bij bepaalde productietypes noodzakelijk is.

8.20. *Artikel 45, lid 1, onder a) en b) — Duur van de maatregelen*

De maatregelen voor het beperkingsgebied overeenkomstig hoofdstuk V, afdeling 3, van Richtlijn 2005/94/EG mogen niet eerder dan 21 dagen na de voorlopige reiniging en ontsmetting in aansluiting op de ruiming van de besmette bedrijven of niet eerder dan 42 dagen na de datum waarop LPAI bevestigd is, worden opgeheven, mits:

a) alle commerciële bedrijven in het beperkingsgebied door een officiële dierenarts zijn geïnspecteerd en alle laboratoriumtests op de in punt 8.13, onder c) en d), bedoelde monsters uitgevoerd zijn en de resultaten daarvan beschikbaar zijn;

b) de resultaten van alle verdere klinische onderzoeken en laboratoriumtests, eventueel ook bij niet-commerciële bedrijven ter bepaling van het risico van verspreiding van LPAI, beschikbaar zijn;

c) de bevoegde autoriteit op grond van een risicobeoordeling met inachtneming van de epizoötiologische situatie en de resultaten van de onder a) en b) bedoelde laboratoriumtests heeft geconstateerd dat het risico van verspreiding van LPAI te verwaarlozen is; die beoordeling kan tot de conclusie leiden dat de beperkingen kunnen worden opgeheven als de serologische resultaten positief zijn en de virologische negatief.

8.D. Maatregelen ter voorkoming van de overdracht van aviaire-influenzavirussen op andere diersoorten

8.21. *Artikel 47, leden 1 en 6 — Laboratoriumtests en andere maatregelen inzake varkens en andere diersoorten*

Wanneer een officiële dierenarts na bevestiging van AI een bedrijf inspecteert waar varkens worden gehouden, moeten de volgende maatregelen worden genomen:

a) controle van de met betrekking tot de productie en de gezondheid op het bedrijf geregistreerde gegevens, indien die beschikbaar zijn;

b) een klinische inspectie in elke productie-eenheid, waarbij de klinische voorgeschiedenis wordt geëvalueerd en de varkens, met name dieren die ziek lijken te zijn, klinisch worden onderzocht;

c) vóór of op de dag waarop het besmette pluimvee of de besmette andere in gevangenschap levende vogels worden geruimd, worden neus-/orofarynxswabs genomen van ten minste 60 varkens van elke productie-eenheid of van alle varkens als er minder dan 60 varkens in de productie-eenheid zijn. Twee à vier weken na de ruiming worden ten minste 60 bloedmonsters van de varkens genomen. De bemonstering gebeurt zodanig dat van elke groep varkens die rechtstreeks met elkaar in contact komen ten minste één monster wordt genomen;

d) het verplaatsen van varkens naar andere bedrijven kan worden toegestaan als de testuitslagen van ten minste 60 neus-/orofarynxswabs en 60 bloedmonsters die 14 dagen na de datum waarop de aanwezigheid van AI is geconstateerd van varkens uit elke productie-eenheid zijn genomen, negatief zijn.

Het verplaatsen van varkens naar een slachthuis kan worden toegestaan als de testuitslagen van ten minste 60 neus-/orofarynxswabs die 14 dagen na de datum waarop de aanwezigheid van AI geconstateerd is van varkens uit elke productie-eenheid zijn genomen, negatief zijn.

In het geval van onduidelijke of positieve laboratoriumuitslagen worden de nodige nadere onderzoeken verricht om besmetting met of overdracht van AI bij de varkens uit te sluiten;

e) indien de officiële dierenarts vermoedt dat andere gedomesticeerde dieren op de bedrijven, met name dieren met gebleken gevoeligheid voor besmetting met AI-virussen van de subtypes H5 en H7, in contact gekomen kunnen zijn met het besmette pluimvee of de besmette andere in gevangenschap levende vogels, moeten monsters voor laboratoriumtests worden genomen.

8.E. Herbevolking

8.22. *Artikel 49, lid 3, onder b) en c) — Herbevolking van bedrijven*

Wanneer een officiële dierenarts een commercieel bedrijf inspecteert dat is herbevolkt, moeten de volgende maatregelen worden genomen:

a) controle van de met betrekking tot de productie en de gezondheid op het bedrijf geregistreerde gegevens;

b) een klinische inspectie in elke productie-eenheid, waarbij de klinische voorgeschiedenis wordt geëvalueerd en het pluimvee of de andere in gevangenschap levende vogels, met name dieren die ziek lijken te zijn, klinisch worden onderzocht;

c) in plaats van de standaardmonsters moeten in elke productie-eenheid de volgende monsters worden genomen:

i) ten minste 20 bloedmonsters zodra het pluimvee op het bedrijf geplaatst is, behalve als het gaat om eendagskuikens; eventueel kan die bemonstering op het bedrijf van herkomst van het pluimvee worden uitgevoerd voordat het naar het te herbevolken bedrijf wordt verplaatst;

ii) monsters van dood pluimvee of swabs van de karkassen daarvan, van maximaal 10 dode dieren per week gedurende 21 dagen vanaf de dag van herbevolking;

d) als het bedrijf voordien met HPAI besmet was, worden indien van toepassing ook 20 trachea-/orofarynxswabs en 20 cloacaswabs genomen van watervogels (eenden/ganzen) in elke productie-eenheid, in de laatste week van de periode van 21 dagen vanaf de dag van herbevolking;

e) indien het bedrijf voordien met LPAI besmet was, worden in elke productie-eenheid 20 trachea-/orofarynxswabs en 20 cloacaswabs, alsmede 20 bloedmonsters genomen.

8.F. Vaccinatie

8.23. *Artikel 56, lid 2, onder i) — Preventieve vaccinatie van pluimvee en andere in gevangenschap levende vogels*

Bij het gevaccineerde pluimvee of de gevaccineerde andere in gevangenschap levende vogels worden laboratoriumtests uitgevoerd overeenkomstig hoofdstuk IX van Richtlijn 2005/94/EG met behulp van erkende DIVA-tests, indien het veldvirus bekend is.

Indien verklikkerdieren gebruikt worden, moeten die in elk gevaccineerd koppel aanwezig zijn, klinisch geïnspecteerd worden en met de hemagglutinatieremmingstest (HAR) worden getest. Daartoe worden ten minste elke 60 dagen 20 bloedmonsters van de niet-gevaccineerde verklikkerdieren op elk gevaccineerd bedrijf genomen.

8.24. *Bijlage IX — Voorschriften inzake verplaatsingen van pluimvee of andere in gevangenschap levende vogels en pluimveeproducten in het geval van noodvaccinatie*

De verplaatsing van levend(e) pluimvee en andere in gevangenschap levende vogels en van eieren daarvan moet onder strikte controle plaatsvinden om het risico van verdere verspreiding van AI tot een minimum te beperken.

Daartoe worden aan het begin van een noodvaccinatiecampagne dezelfde controlemaatregelen toegepast ten aanzien van het vervoer van levend(e) pluimvee en andere in gevangenschap levende vogels en van eieren daarvan om het risico van een verdere verspreiding van de AI-besmetting binnen en naar buiten het vaccinatiegebied tot een minimum te beperken.

a) Vóór het eerste vervoer van broed- en consumptie-eieren binnen en uit het vaccinatiegebied en daarna ten minste elke 30 dagen moet de officiële dierenarts de volgende maatregelen nemen:

   i) een klinische inspectie van ongevaccineerde ouder- of legdieren in elke productie-eenheid, waarbij de klinische voorgeschiedenis wordt geëvalueerd en het pluimvee, met name dieren die ziek lijken te zijn, klinisch worden onderzocht; de standaardmonsters worden van pluimvee in elke productie-eenheid genomen, of

   ii) een klinische inspectie van gevaccineerde ouder- of legdieren in elke productie-eenheid, waarbij de klinische voorgeschiedenis wordt geëvalueerd en de verklikkerdieren in die koppels klinisch worden onderzocht; de standaardmonsters worden van de verklikkerdieren genomen.

b) Met het oog op de verplaatsing van levend(e) gevaccineerd(e) pluimvee of andere in gevangenschap levende vogels naar andere bedrijven, of van levend gevaccineerd pluimvee binnen en uit het vaccinatiegebied, moet de officiële dierenarts de volgende maatregelen nemen:

   i) controle van de met betrekking tot de productie en de gezondheid op het bedrijf geregistreerde gegevens;

   ii) een klinische inspectie in elke productie-eenheid, waarbij de klinische voorgeschiedenis wordt geëvalueerd en het pluimvee of de andere in gevangenschap levende vogels binnen 72 uur voor vertrek klinisch worden onderzocht, met bijzondere aandacht voor de verklikkerdieren;

   iii) indien de resultaten van de controles en klinische inspecties en onderzoeken als bedoeld onder i) en ii) niet bevredigend zijn, worden bij de verklikkerdieren de standaardmonsters genomen; zijn die resultaten wel bevredigend, dan worden de volgende monsters genomen:

      — gevaccineerd(e) pluimvee of andere in gevangenschap levende vogels: ten minste 20 trachea-/orofarynxswabs en 20 cloacaswabs alsmede 20 bloedmonsters voor een geschikte DIVA-test, ten minste 72 uur vóór vertrek, en

      — verklikkerdieren: 20 trachea-/orofarynxswabs en 20 cloacaswabs alsmede 20 bloedmonsters voor serologisch onderzoek met de HAR-test, vóór vertrek.

HOOFDSTUK V

Diagnostische virologische tests en evaluatie van de resultaten

1. Toen er nog geen moleculaire tests beschikbaar waren, werd isolatie van het virus door inoculatie van geëmbryoneerde kippeneieren beschouwd als veruit de gevoeligste diagnostische test op AI, die essentieel was om dat virus vervolgens te identificeren en te karakteriseren. Deze testmethode wordt in dit hoofdstuk nader beschreven.

2. **Monstervoorbereiding**

Als de monsters droog zijn ingezonden, worden zij in een voldoende hoeveelheid antibiotisch medium ondergedompeld. De monsters kunnen per vijf worden samengevoegd, mits zij afkomstig zijn van dezelfde diersoort en epidemiologische eenheid en op hetzelfde tijdstip zijn genomen.

Aan het laboratorium gezonden karkassen worden aan een postmortemonderzoek onderworpen, waarbij monsters van de volgende organen worden genomen: feces of darminhoud, hersenweefsel, trachea, longen, lever, milt en andere duidelijk aangetaste organen. Die organen en weefsels mogen worden samengevoegd, met uitzondering van het fecale materiaal, dat apart moet worden behandeld.

Monsters van feces en organen moeten worden gehomogeniseerd (in een laboratoriummixer of met stamper en vijzel en steriel zand) in een antibiotisch medium zodat een 10-20 %-ige (m/V) suspensie in het medium ontstaat.

De ondergedompelde swabs en de suspensies worden gedurende ongeveer twee uur op omgevingstemperatuur (of gedurende een langere tijd op 4 °C) gehouden en daarna door middel van centrifugeren (bijvoorbeeld 800-1 000 g gedurende 10 minuten) geklaard.

3. **Virusisolatie op geëmbryoneerde kippeneieren**

Bij ten minste vier geëmbryoneerde kippeneieren die gedurende negen tot elf dagen zijn geïncubeerd, wordt telkens 0,1-0,2 ml van het geklaarde supernatans in de allantoïsholte geïnoculeerd. Idealiter worden hiervoor eieren genomen van een koppel dat vrij is van specifieke pathogenen (SPF), maar als dat niet gaat mogen eieren worden gebruikt van een koppel dat vrij van antilichamen tegen AI (serum antibody negative — SAN) gebleken is.

De geïnoculeerde eieren worden bij 37 °C bewaard en dagelijks geschouwd. Eieren waarin bij het schouwen dode of stervende embryo's worden opgemerkt en alle eieren die op de zesde dag na inoculatie nog overblijven, worden gekoeld tot 4 °C en het allantoïs- of amnionvocht daarvan wordt getest op hemagglutinatie. Als geen hemagglutinatie wordt waargenomen, wordt de hierboven beschreven procedure herhaald met onverdund allantoïs- of amnionvocht als inoculum. Indien wel hemagglutinatie wordt geconstateerd, moet de aanwezigheid van bacteriën door middel van kweek worden uitgesloten. Als er bacteriën aanwezig zijn, kan de vloeistof over een membraanfilter van 450 nm worden gefiltreerd, waarna nog eens antibiotica worden toegevoegd en de vloeistof zoals hierboven beschreven in geëmbryoneerde eieren wordt geïnoculeerd.

Om de diagnose te bespoedigen hebben sommige laboratoria twee passages van drie dagen of passages van twee en vier dagen toegepast, waarmee zij vergelijkbare resultaten kregen als met twee passages van zes dagen, maar dit is nog niet volledig geëvalueerd.

Bij positieve vloeistoffen moet nagegaan worden of zij vrij van bacteriën zijn. Als er bacteriën aanwezig zijn, kunnen de vloeistoffen over een membraanfilter van 450 nm worden gefiltreerd of worden gecentrifugeerd om de bacteriën te verwijderen, waarna nogmaals antibiotica worden toegevoegd en de vloeistof weer in de eieren wordt geïnoculeerd.

4. **Differentiële diagnose**

a) Eerste differentiatie

Aangezien het van belang is dat bestrijdingsmaatregelen ter beperking van de verspreiding van het AI-virus zo snel mogelijk worden genomen, moet elk nationaal referentielaboratorium dat een hemagglutinerend virus geïsoleerd heeft, kunnen bepalen of het gaat om een influenza A-virus van subtype H5 of H7 of Newcastle disease-virus. Met de hemagglutinerende vloeistoffen moet een hemagglutinatieremmingstest als beschreven in hoofdstuk IX worden uitgevoerd. Positieve remming, zoals een titer die binnen 2-3 $\log_2$ van een positieve controle ligt, met polyklonale antisera die specifiek zijn voor het subtype H5 of H7 van influenza A, kan dienen als eerste identificatie op basis waarvan tijdelijke bestrijdingsmaatregelen kunnen worden genomen.

b) Bevestiging van de identificatie

Aangezien bij elke influenzavirus zestien hemagglutininesubtypes en negen neuraminidasesubtypes voorkomen, telkens met varianten, is het ondoenlijk en uit kostenoogpunt niet verantwoord dat elk nationaal referentielaboratorium de nodige antisera bewaart voor een volledige subtype-identificatie van de influenzavirusisolaten. Wel moet elk nationaal referentielaboratorium ten minste:

i) bevestigen dat het isolaat een influenza A-virus is, met behulp van een dubbele immunodiffusietest voor het aantonen van groepsantigenen;

ii) nagaan of het isolaat van subtype H5 of H7 is, in welk geval de bestrijdingsmaatregelen voor LPAI van subtype H5 en H7 genomen moeten worden;

iii) onmiddellijk alle HPAI- en alle H5- en H7-isolaten naar het communautaire referentielaboratorium opsturen met het oog op bevestiging en volledige karakterisering, tenzij hiervan overeenkomstig punt d) mag worden afgeweken.

Daarnaast is het wenselijk dat de laboratoria beschikken over voorzieningen om:

iv) bij zes weken oude kuikens een intraveneuze pathogeniteitsindextest uit te voeren als beschreven in hoofdstuk VII. Een intraveneuze pathogeniteitsindex van meer dan 1,2 duidt op de aanwezigheid van een virus waarvoor de bestrijdingsmaatregelen voor HPAI in hun totaliteit toegepast moeten worden.

De nationale referentielaboratoria moeten ook overwegen expertise en apparatuur beschikbaar te hebben voor sequentieanalyse van het hemagglutinine-gen om na te gaan of er al dan niet meerdere basische aminozuren rond de splitsingsplaats van het hemagglutinine-precursoreiwit voorkomen bij LPAI H5- of H7-virussen. Hoewel het communautaire referentielaboratorium pathogeniteitstests met hoge prioriteit uitvoert, in het kader van de in bijlage VII, punt 2, onder b), bij Richtlijn 2005/94/EG genoemde taken, zal deze viruskarakterisering op nationaal niveau de diagnose en — bij een positieve uitslag — de volledige toepassing van de bestrijdingsmaatregelen voor HPAI sterk bespoedigen.

c) Nadere typering en karakterisering van isolaten

De nationale laboratoria dienen alle hemagglutinerende virussen aan het communautaire referentielaboratorium toe te zenden voor verder onderzoek op hun antigene en genetische eigenschappen, teneinde de epizoötiologische kennis van de ziekte(n) in de Gemeenschap te bevorderen in het kader van de taken en bevoegdheden van het communautaire referentielaboratorium zoals aangegeven in bijlage VII bij Richtlijn 2005/94/EG.

Naast deze taken en bevoegdheden moet het communautaire referentielaboratorium bij alle ontvangen influenzavirussen een volledige antigeentypering uitvoeren. Voor H5- en H7-virussen waarvan de intraveneuze pathogeniteitsindex niet groter is dan 1,2 moet ook onmiddellijk een sequentieanalyse van het hemagglutinine-gen worden uitgevoerd om na te gaan of er rond de splitsingsplaats van het hemagglutinine-precursoreiwit meerdere basische aminozuren voorkomen; het nationale referentielaboratorium en de bevoegde autoriteit in het land van herkomst moeten zodra de uitslagen beschikbaar zijn hiervan in kennis gesteld worden, zodat de bestrijdingsmaatregelen voor HPAI in hun totaliteit kunnen worden toegepast.

d) Gezien de wisselende epizoötiologische situatie ten aanzien van HPAI/LPAI kunnen laboratoria die een volledige, snelle viruskarakterisering kunnen uitvoeren, met de Commissie en het communautaire referentielaboratorium overeenkomen dat zij na bestudering van de gegevens slechts een deel van de virussen hoeven in te sturen, waarbij het communautaire referentielaboratorium een keuze maakt. Dit mag alleen worden toegestaan als het nationale referentielaboratorium in staat is om de gegevens snel te verkrijgen en aan het communautaire referentielaboratorium door te geven.

HOOFDSTUK VI

Moleculaire tests en evaluatie van de resultaten daarvan

Met de huidige definitie van HPAI kunnen virulentiefactoren op moleculair niveau geïdentificeerd worden en kunnen moleculaire technieken worden toegepast voor de diagnose van AI. Deze technieken zijn onlangs verder ontwikkeld zodat AI-virus uit klinische monsters van geïnfecteerde vogels rechtstreeks gedetecteerd en gekarakteriseerd kan worden. Toepassing van conventionele RT-PCR-technieken met de juiste primers op klinische monsters kan leiden tot snelle detectie en subtypebepaling (ten minste H5 en H7) en levert een PCR-amplicon dat kan worden gebruikt voor sequentieanalyse; een en ander is van groot belang gebleken omdat hiermee na detectie en viruskarakterisering van primair besmette bedrijven volgende uitbraken snel geïdentificeerd kunnen worden. Door middel van „real time" single-step RT-PCR met primer/fluorogene probe-systemen (rRT-PCR) kan de diagnose nog sneller en gevoeliger gesteld worden, met detectie van AI-virussen en bepaling van het subtype H5 of H7 in klinische monsters.

Een belangrijk probleem met RT-PCR- en rRT-PCR-methoden is dat tot op heden verschillende laboratoria verschillende methoden hebben ontwikkeld; hoewel daar op zichzelf niets op tegen is, zijn die methoden niet gevalideerd of met grote aantallen monsters in verschillende laboratoria beproefd. Het communautaire referentielaboratorium en bepaalde nationale referentielaboratoria hebben zich over dit probleem gebogen in het kader van een door de Gemeenschap gefinancierd project (EU AVIFLU) voor het opstellen van geratificeerde protocollen voor conventionele RT-PCR en rRT-PCR die andere nationale referentielaboratoria zouden kunnen overnemen. Indien bij de testparameters (bv. duur van de cyclus, verwarm-/koelsnelheid) afgeweken wordt van de in de protocollen vermelde waarden, moet worden aangetoond dat dit voor het doel geschikt is voordat deze parameters overeenkomstig hoofdstuk I, punt 6 van dit handboek mogen worden gebruikt.

De door het communautaire referentielaboratorium toegepaste standaardprotocollen voor de moleculaire tests en de evaluatie daarvan zijn te vinden op de volgende website:

http://www.defra.gov.uk/corporate/vla/science/science-viral-ai-reflab.htm

HOOFDSTUK VII

In-vivopathogeniteitstest en evaluatie van de resultaten daarvan

De virulentie van uit vogels geïsoleerde influenza A-virussen voor kuikens moet worden bepaald met behulp van de intraveneuze pathogeniteitsindextest (IVPI), die als volgt wordt uitgevoerd:

a) vers besmettelijk allantoïsvocht met een HA-titer > 1/16 (> 2^4 of > $\log_2$ 4 als de reciproke waarde wordt aangegeven) uit de eerste beschikbare passage, bij voorkeur uit de eerste isolatie zonder selectie, wordt tot 1/10 verdund in een steriele, isotone zoutoplossing;

b) 0,1 ml verdund virus wordt intraveneus geïnjecteerd in tien SPF- of SAN-kuikens van zes weken oud;

c) de dieren worden gedurende tien dagen om de 24 uur onderzocht. Bij iedere waarneming wordt voor elk dier de volgende score genoteerd: 0 (normaal), 1 (ziek), 2 (ernstig ziek) of 3 (dood). Het onderscheid tussen zieke en ernstig zieke dieren berust op een subjectief klinisch oordeel.

„Zieke" dieren vertonen in de regel één van de volgende symptomen, „ernstig zieke" dieren meer dan één: ademhalingsstoornissen, depressie, diarree, cyanose van onbeschermde huid of lellen, oedeem van kop en/of aangezicht, neurologische symptomen. Voor dode dieren wordt bij alle volgende dagelijkse waarnemingen een score van 3 gerekend.

Als de dieren te ziek zijn om te eten of te drinken, moeten zij om welzijnsredenen op humane wijze gedood worden en bij de volgende waarneming als dood aangemerkt worden aangezien zij anders ook binnen 24 uur zouden sterven. Deze aanpak is voor accreditatie-instanties aanvaardbaar;

d) de IVPI is de gemiddelde score per dier per waarneming gedurende de periode van tien dagen. Een index van 3,00 betekent dat alle dieren binnen 24 uur zijn gestorven en een index van 0,00 geeft aan dat geen van de dieren gedurende de waarnemingsperiode van tien dagen klinische symptomen heeft vertoond.

Een eenvoudige methode voor het vastleggen van de resultaten en het berekenen van de index wordt hieronder geïllustreerd.

Klinische symptomen	Dagen na inoculatie										Totale score
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Normaal	10	2	0	0	0	0	0	0	0	0	12 x 0 = 0
Ziek	0	4	2	0	0	0	0	0	0	0	6 x 1 = 6
Ernstig ziek	0	2	2	2	0	0	0	0	0	0	6 x 2 = 12
Dood	0	2	6	8	10	10	10	10	10	10	76 x 3 = 228
											Totaal = 246

NB:

Waarneming van 10 dieren gedurende 10 dagen = 100 waarnemingen

Index = het gemiddelde van de totale score per dier en per waarneming = 246/100 = 2,46

Elk influenza A-virus, ongeacht het subtype, dat in een IVPI-test een waarde groter dan 1,2 oplevert, wordt als HPAI-virus beschouwd.

HOOFDSTUK VIII

Serologische tests en evaluatie van de resultaten daarvan

Om uit te maken of influenza A-virus aanwezig is, wordt bij voorkeur de aanwezigheid aangetoond van de kerneiwit- of matrixantigenen die alle influenza A-virussen gemeen hebben.

Dit kan worden gedaan met behulp van een dubbele immunodiffusietest met geconcentreerde viruspreparaten of met extracten van geïnfecteerde chorion-allantoïsmembranen.

De voorkeursmethoden voor serologische tests op antilichamen van het AI-virus zijn de hemagglutinatie- en de hemagglutinatieremmingstest (HA- resp. HAR-test).

Hoofdstuk 2.7.12 van het Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals van de Werelddiergezondheidsorganisatie (OIE) bevat uitvoerige informatie over de laboratoriumtechnieken en de evaluatie van de resultaten.

De door het communautaire referentielaboratorium toegepaste standaardprotocollen voor serologische tests en de evaluatie van de resultaten zijn te vinden op de volgende website:

http://www.defra.gov.uk/corporate/vla/science/science-viral-ai-reflab.htm

HOOFDSTUK IX

Bewaking na vaccinatie

1. **Richtlijn 2005/94/EG en het diagnosehandboek**

Noodvaccinatie en preventieve vaccinatie is onder bepaalde voorwaarden toegestaan volgens hoofdstuk IX, afdelingen 2 en 3, van Richtlijn 2005/94/EG. Een van die voorwaarden is dat gebruik wordt gemaakt van een DIVA-strategie (Differentiating Infected from Vaccinated Animals).

De vaccinatie heeft als doel besmetting en verdere verspreiding van het virus tussen koppels te voorkomen. Het is onomstotelijk gebleken dat als gevolg van vaccinatie meer virus nodig is om dieren te besmetten, terwijl de virusuitscheiding afneemt. Bij gevaccineerde dieren treden geen klinische verschijnselen meer op, maar als zij kunstmatig geïnfecteerd worden, kunnen zij het virus nog wel uitscheiden. HPAI-virussen van subtype H5 en H7 kunnen dus enige tijd onopgemerkt in een niet volledig immuun koppel circuleren, net als LPAI-virussen in een ongevaccineerd koppel. Er moet dus een mogelijkheid zijn om virus-positieve gevaccineerde koppels op te sporen die met veldvirus besmet zijn, zodat andere bestrijdingsmaatregelen (bv. ruimen) kunnen worden uitgevoerd.

2. **Inzet van verklikkerdieren voor infectiebewaking**

Een eenvoudige methode op koppelniveau is de regelmatige controle van verklikkerdieren die in elk gevaccineerd koppel aanwezig zijn; hieraan zijn echter enkele praktische problemen verbonden, met name het terugvinden van de verklikkerdieren in grote koppels. Het is van belang dat de verklikkerdieren met de gevaccineerde dieren in aanraking komen.

3. **DIVA-laboratoriumtest voor infectiebewaking**

In plaats van, of naast de inzet van verklikkerdieren kunnen de gevaccineerde dieren zelf op veldbesmetting worden getest met behulp van DIVA-laboratoriumtests. Er zijn de laatste jaren verscheidene testmethoden ontwikkeld waarmee blootstelling aan veldvirus van gevaccineerde dieren kan worden opgespoord. Een daarvan, die in de praktijk toepasbaar is gebleken, is het gebruik van een vaccin met een virus met hetzelfde hemagglutininesubtype (H) maar een ander neuraminadasesubtype (N) dan het heersende veldvirus. Antilichamen tegen de N van het veldvirus fungeren dan als natuurlijke infectiemarkers.

Deze methode is in Italië gevolgd nadat het LPAI H7N1-virus daar in 2000 weer de kop opstak. Als aanvulling op de rechtstreekse bestrijdingsmaatregelen is een DIVA-strategie toegepast met een vaccin met H7N3 om een H7N1-veldinfectie tegen te gaan. Het onderscheid tussen gevaccineerde en natuurlijk besmette dieren werd gemaakt met behulp van een serologische test om specifieke anti-N1-antilichamen aan te tonen. Dezelfde strategie werd in Italië in 2002-2003 gevolgd bij de bestrijding van LPAI van subtype H7N3, nu met een H7N1-vaccin en een specifieke serologische test op antilichamen tegen N3. In beide gevallen kon het veldvirus door vaccinatie in combinatie met ruiming aan de hand van deze DIVA-strategie worden uitgeroeid.

Deze methode wordt problematisch als er een veldvirus opduikt met hetzelfde N-antigeen als het bestaande veldvirus maar een ander H-subtype dan H5 of H7, of als er al subtypes met dezelfde N-antigenen in het veld circuleren. Met name van eenden is bekend dat zij dragers van meer dan één subtype kunnen zijn. Ook moest er een geschikte test worden ontwikkeld voor routinebewaking van koppels op anti-neuraminidaseantilichamen. In Italië is een „ad hoc" serologische test op basis van een indirecte immunofluorescentietest ontwikkeld en gebruikt, met als antigeen N-eiwitten die zijn verkregen met behulp van baculovirus-recombinanten. Deze methode zal gemakkelijker en op ruimere schaal kunnen worden toegepast als er een Elisa-test wordt ontwikkeld.

Wanneer vaccins met alleen HA, zoals recombinante-vectorvaccins, worden gebruikt, kunnen klassieke AGID-tests of Elisa-tests op basis van kerneiwitten, niet-structurele eiwitten of matrixeiwitten worden ingezet om besmetting van gevaccineerde dieren aan te tonen.

Voor geïnactiveerde vaccins is een test beschreven waarmee antilichamen tegen het niet-structurele viruseiwit kunnen worden aangetoond die alleen aangemaakt worden bij een natuurlijke besmetting. Deze methode moet nog in het veld gevalideerd worden, maar heeft als beperking dat bij natuurlijke besmetting van een koppel met een influenzavirus van welk subtype dan ook antilichamen worden aangemaakt tegen het niet-structurele eiwit.

Wanneer snelle, gevoelige virusdetectiemethoden worden ontwikkeld, en dan met name methoden die zich lenen voor automatisering, zoals realtime RT-PCR, kunnen die worden ingezet om gevaccineerde dieren eenvoudig, regelmatig en op grote schaal te testen op de aanwezigheid van veldvirus. Opsporing van het agens blijft echter beperkt tot een kort tijdsinterval gedurende de acute fase van de besmetting en er kan niet mee worden aangetoond dat een koppel in het verleden niet met het virus in aanraking geweest is. Deze methode leent zich het best voor het testen van gevaccineerde dieren voordat zij worden verplaatst, om aan te tonen dat zij vrij zijn van een actieve infectie.

Met de eerstekeuzemethoden moet een zodanig aantal monsters worden getest dat een prevalentie van AI-virusbesmetting van meer dan 15 % in een koppel met een betrouwbaarheid van 95 % kan worden uitgesloten.

HOOFDSTUK X

Diagnosestrategieën voor AI

Zoals aangegeven in bijlage IV bij Richtlijn 2005/94/EG worden beslissingen om maatregelen in bepaalde gebieden of op contactbedrijven te nemen en de strekking van die maatregelen in hoge mate bepaald door de grootte van het risico. Zo zullen ook de voor bevestiging van de ziekte benodigde diagnostische gegevens moeten worden beschouwd in het licht van de situatie, de omvang van het gevaar en de mate van risico. De veterinaire autoriteiten moeten hun beslissingen baseren op diagnostische gegevens en een afweging van het belang van een snelle bestrijding en uitroeiing van de ziekte tegen de eventuele gevolgen van een foute diagnose. Daarbij moeten tal van factoren van het moment in aanmerking genomen worden, maar bepaalde situaties kunnen van tevoren worden aangegeven.

Ziektesituatie	Potentieel probleem	Diagnostische criteria
Geen specifieke tekenen, geen officieel vermoeden	Geïsoleerd bedrijf	Snelle detectie op basis van M-gen-RT-PCR. Differentiële diagnose zoals vereist.
Primaire vermoedelijke uitbraak	Geïsoleerd bedrijf	Volledige diagnostische tests, virusisolatie en -karakterisering.
Primaire vermoedelijke uitbraak	Bedrijf in gebied met hoge pluimveedichtheid	Volledige diagnostische tests, virusisolatie en -karakterisering, maar vooral snelle detectie- en karakteriseringsmethoden, met name methoden op basis van RT-PCR en sequentieanalyse ([1]).
Tweede en latere vermoedelijke uitbraken	Geïsoleerde bedrijven met een epidemiologisch verband met de primaire vermoedelijke uitbraak	Vooral snelle detectie- en karakteriseringsmethoden, met name methoden op basis van RT-PCR en sequentieanalyse ([1]).
Tweede en latere vermoedelijke uitbraken	Bedrijven in gebied met hoge pluimveedichtheid met veel epidemiologische verbanden	Gebruik van snelle detectiemethoden die zo spoedig mogelijk uitsluitsel geven over de aanwezigheid van een AI-virus ([1]).
Groot aantal vermoedelijke uitbraken of snelle verspreiding van de ziekte (ondanks bewaking)	Zonder snel ingrijpen zal de ziekte zich onbeheersbaar verspreiden	Gebruik van snelle detectiemethoden die zo spoedig mogelijk uitsluitsel geven over de aanwezigheid van een AI-virus ([1]), of beoordeling van klinische symptomen ([1]).

([1]) Hiervoor is volledige bemonstering nodig, waarbij de monsters voor latere evaluatie worden bewaard.

HOOFDSTUK XI

Diagnose van besmetting met AI-virussen bij varkens en andere zoogdieren

1. **AI bij varkens**

Varkens worden gemakkelijk door AI-virussen besmet; de virusvermeerdering blijft daarbij meestal tamelijk beperkt, maar toch bestaat de kans dat de ziekte van besmette varkens wordt overgedragen naar pluimvee en andere gevoelige dieren. Tot op heden is in het veld niet aangetoond dat besmette varkens AI-virussen van subtype H5 en H7 overdragen.

Uit de ervaring met de uitbraak in Nederland in 2003 is gebleken dat met H7N7 besmette varkens geen klinische symptomen vertonen die aan de H7N7-infectie kunnen worden toegeschreven. Verder is tot dusver kennelijk geen melding gemaakt van zieke varkens tijdens de uitbraak van H5N1 in Azië en elders.

Daarom kan niet altijd worden afgegaan op de klinische symptomen om na te gaan of varkens besmet zijn; wel kunnen klinische verschijnselen optreden na infectie van varkens met andere van vogels afkomstige influenzavirussen wanneer een virus zich aan de gastheer heeft aangepast. De diagnose van AI-infecties bij varkens komt grotendeels overeen met de diagnose bij vogels en gebeurt aan de hand van virusisolatie, moleculaire technieken en aantoning van specifieke antilichamen met behulp van hemagglutinatieremmingstests. Er zijn echter enkele verschillen en geen van de tests is volledig gevalideerd om bij varkens besmetting met AI-virussen te bevestigen.

2. **Monsters voor virusisolatie**

AI-infecties bij varkens blijven meestal beperkt tot de ademhalingswegen; er moeten dus weefselmonsters van de ademhalingswegen worden genomen en zo nodig orofarynx- of neusswabs, bij voorkeur bij varkens die symptomen van de ziekte vertonen. Deze monsters en swabs kunnen worden verwerkt voor virusisolatie of moleculaire detectie van het virus met dezelfde technieken als eerder voor monsters van vogels zijn beschreven. Bij PCR-technieken moeten echter de juiste controles worden gebruikt om ervoor te zorgen dat de amplificatie niet wordt geremd door stoffen die in de monsters van varkens aanwezig zijn.

3. **Inoculatie en incubatie van eieren**

Om zoogdierinfluenzavirussen in negen tot elf dagen oude geëmbryoneerde kippeneieren te isoleren wordt elk ei gewoonlijk via de allantoïsholte in de amnionholte geïnoculeerd. Wanneer echter bij het testen van varkens die met het AI-virus in aanraking gekomen zijn het virus weinig kans gekregen heeft om zich aan te passen, is inoculatie in de allantoïsholte waarschijnlijk voldoende.

Evenzo is de aanbevolen incubatietemperatuur voor het isoleren van influenza A-virussen van zoogdieren 35 °C, maar heeft een temperatuur van 37 °C geen nadelige gevolgen voor de isolatie van slecht aan varkens aangepaste virussen.

4. **Testen op specifieke antilichamen met HAR-tests**

Virusisolatie en moleculaire detectie zijn waarschijnlijk de gevoeligste methoden om na te gaan of varkens met het AI-virus besmet zijn. Er zijn echter bij varkens serologische reacties waargenomen zonder dat het virus geïsoleerd of aangetoond kon worden. HAR-tests met varkensserum moeten enigszins aangepast worden ten opzichte van de in hoofdstuk VIII besproken tests met serum van vogels.

Een bekend probleem is dat varkensserum in HAR-tests vaak niet-specifieke remming vertoont en om dat tegen te gaan moet elk serum worden behandeld met een receptorvernietigend enzym (RDE). Dit moet als volgt gebeuren:

a) Voeg aan 100 µl varkens-antiserum 400 µl RDE (vooraf bepaalde werkverdunning) toe en meng grondig.

b) Incubeer 1 uur bij 37 °C.

c) Incubeer vervolgens 30 minuten bij 56 °C.

d) Koel de monsters minstens 15 minuten bij 4 °C.

e) Voeg 10 µl van 30 % (V/V packed cells) rode bloedcellen van kuikens toe en meng grondig.

f) Incubeer bij 4 °C tot de volgende dag. Is het absoluut noodzakelijk om de monsters dezelfde dag nog te gebruiken, incubeer dan 1 uur bij 37 °C en centrifugeer vijf minuten bij 300 g.

Vervolgens wordt het behandelde serum gebruikt in HAR-tests zoals in punt […] is beschreven voor sera van vogels, met een initiële verdunning van 1:10. Er moet een reeks varkenssera met bekende seronegatieve status ten aanzien van AI worden gebruikt om de specificiteit van de HAR-test voor de te gebruiken virusstam te bepalen (zie het gebruik van van de uitbraak afkomstige virusstammen voor serologisch onderzoek in hoofdstuk VIII). Tijdens de uitbraak in Nederland in 2003 werden bij HAR-tests op varkensserum dat onafhankelijk van de uitbraak was verzameld tot 2,6 % niet-specifieke reactoren gevonden.

5. **Bemonstering van varkens**

Vooral op bedrijven waar zowel varkens als kippen worden gehouden, door elkaar of in aparte stallen, lopen varkens het risico rechtstreeks of indirect door contact met pluimvee of pluimveeproducten met AI besmet te raken. Om die besmetting uit te sluiten moeten orofarynx- of neusswabs en bloedmonsters worden genomen volgens de in hoofdstuk IV, punt 8.21, beschreven methoden. De monsters moeten worden afgenomen bij varkens die klinische symptomen van de ziekte vertonen. Als zij geen klinische symptomen vertonen, worden de monsters aselect uit alle afdelingen van de stal genomen. De swabs moeten worden getest met behulp van snelle moleculaire tests en/of virusisolatie, indien het laboratorium daartoe in staat is. De RT-PCR moet naar behoren gevalideerd zijn en voor influenza A-virussen minstens even gevoelig zijn als virusisolatie op eieren.

Twee à vier weken na het ruimen van het met AI besmette pluimvee worden ten minste 60 bloedmonsters genomen van varkens, en wel zodanig dat ten minste enkele monsters worden genomen van groepen varkens die rechtstreeks met elkaar in contact komen. De monsters worden getest met behulp van de HAR-test, waarbij virus wordt gebruikt dat van de uitbraak bij het pluimvee is verkregen. In dezelfde test moeten zowel monsters uit de acute als uit de herstelfase worden getest. Positieve monsters kunnen worden bevestigd met behulp van virusneutralisatie en/of Western blot-analyses.

Wanneer een of meer monsters positief getest worden, moet een epidemiologisch onderzoek op alle varkensbedrijven in het beschermingsgebied worden uitgevoerd, ongeacht of het gemengde bedrijven zijn of niet.

6. **AI-virussen bij andere zoogdieren dan varkens**

Er moet onderzoek worden gedaan bij andere zoogdieren dan varkens die voor AI gevoelig zijn, waaronder katten. Het testen van katten op HPAI H5N1 moet als volgt gebeuren:

Macroscopische pathologische laesies als gevolg van virusreplicatie ontstaan met name in longen en lever, zodat monsters voor virologisch onderzoek bij voorkeur van deze organen van dode dieren moeten worden genomen. Bij levende dieren moeten bij voorkeur trachea-/orofarynxswabs worden genomen om het virus aan te tonen. Daarnaast kunnen nog fecesswabs worden genomen.

Bloedmonsters voor HAR-tests moeten gedurende 30 minuten tot 56 °C worden verwarmd; behandeling met RDE is niet nodig.

HOOFDSTUK XII

Minimumveiligheidsvoorschriften voor het vervoer van monsters

1. Voor het vervoer van monsters waarin pathogenen aanwezig zijn of vermoed worden, gelden strenge nationale en internationale voorschriften, die steeds moeten worden nageleefd. Virusisolaten worden niet ingedeeld als diagnostische monsters maar moeten volgens internationale normen worden verpakt.

De instructies van dit hoofdstuk gelden voor vervoer door de lucht, maar voor vervoer over land of zee moet een soortgelijke verpakking worden gebruikt.

2. **Verpakking van diagnostische monsters voor vervoer**

Diagnostische monsters die overeenkomstig de voorschriften van de IATA worden vervoerd, krijgen al naar het geval VN-nummer 2814, 2900 of 3373.

De verzender, niet het transportbedrijf, is verantwoordelijk voor de zending tot deze de geadresseerde bereikt.

3. **Primaire verpakking**

a) Primaire houders moeten waterdicht zijn; schroefdoppen moeten met parafilm of plakband worden afgedicht of er moeten andere voorzorgen worden genomen.

b) Meerdere primaire houders moeten afzonderlijk worden verpakt om breuk te voorkomen.

c) Bij het bepalen van het volume van de te verzenden diagnostische monsters moeten de virustransportmedia worden meegerekend.

d) Primaire houders mogen niet meer dan 500 ml of 500 g bevatten.

De primaire houder bevat uitsluitend het diagnostische monster.

4. **Secundaire verpakking**

a) De secundaire verpakking moet voldoende absorberend materiaal bevatten om de totale inhoud van alle primaire houders te absorberen in geval van lekkage of beschadiging.

b) De secundaire verpakking moet voldoen aan de IATA-verpakkingsvoorschriften voor diagnostische monsters, met inbegrip van de valproef van 1,2 m. De verpakkingsvoorschriften voor infectieuze stoffen (IATA-verpakkingsinstructie 602) zijn strenger dan die voor diagnostische monsters en kunnen daarom worden gevolgd.

c) De verpakking van infectieuze stoffen moet de voorgeschreven markering dragen (met „UN" in een cirkel), bijvoorbeeld:

„UN 4G/CLASS 6.2/99/GB/2450"

d) De secundaire verpakking moet waterdicht zijn. De bij de secundaire verpakking behorende instructies van de fabrikant van de verpakking of gemachtigde derde moeten worden gevolgd.

e) De kleinste totale buitenafmeting van de secundaire verpakking moet ten minste 100 mm zijn.

f) De secundaire verpakking moet groot genoeg zijn voor de vervoersdocumenten, zoals de luchtvrachtbrief.

5. **Buitenverpakking**

a) De buitenverpakking mag niet meer dan 4 l of 4 kg bevatten.

b) Zo nodig wordt de secundaire verpakking omgeven door droogijs of nat ijs. Bij gebruik van droogijs moet de verpakking zodanig zijn dat het kooldioxide kan ontsnappen, zodat er geen drukopbouw plaatsvindt waardoor de verpakking zou kunnen stukgaan. Bij gebruik van nat ijs moet de verpakking lekdicht zijn.

Op elke verpakking en op de luchtvrachtbrief moet exact de volgende vermelding staan:

„UN 3373 DIAGNOSTIC SPECIMEN
PACKED IN COMPLIANCE WITH
IATA PACKING INSTRUCTION 650"

c) Tussen de secundaire verpakking en de buitenverpakking moet zich een gedetailleerde lijst van de inhoud bevinden.

d) De buitenverpakking moet in een gesloten plastic zak worden gedaan ter bescherming tegen vocht.

e) Een afzendersverklaring („Shipper's Declaration for Dangerous Goods") is niet vereist.

HOOFDSTUK XIII

Toezending van virussen en monsters aan het communautaire referentielaboratorium

1. De aan het communautaire referentielaboratorium te zenden monsters moeten voldoen aan de aanbevelingen voor het vervoer van gevaarlijke pathogenen in de Gemeenschap en aan de geldende wet- en regelgeving van het Verenigd Koninkrijk.

Deze in dit hoofdstuk gegeven instructies moeten worden gevolgd.

2. **Toezending van virussen en ander materiaal aan het communautaire referentielaboratorium**

a) Al het materiaal moet volgens de instructies van dit hoofdstuk worden verpakt.

b) Op de buitenverpakking moet de volgende vermelding worden aangebracht:

„ANIMAL PATHOGEN — PACKAGE ONLY TO BE OPENED AT THE AVIAN VIROLOGY SECTION, VLA, WEYBRIDGE. IMPORTATION AUTHORISED BY LICENCE NUMBER ....*..... ISSUED UNDER THE IMPORTATION OF ANIMAL PATHOGENS ORDER."

c) Voor het „licence number" moet worden ingevuld:

i) voor AI-virussen: „**AHZ/2232/2002/5***"

ii) voor weefsels en ander materiaal: „**AHZ/2074C/2004/3***"

Aangezien deze nummers van tijd tot tijd worden gewijzigd, moeten de laboratoria er bij het verzenden van monsters op letten dat zij de juiste nummers invullen.

d) Het pakket moet worden gericht aan:

Avian Virology
VLA Weybridge,
New Haw, Addlestone,
Surrey KT15 3NB
United Kingdom

e) Bij het pakket moet een brief worden gevoegd waarin zo veel mogelijk gegevens over de isolaten worden vermeld, zoals diersoort en leeftijd, gebied/land van isolatie, klinische voorgeschiedenis.

f) De pakketten moet per luchtpost of luchtvracht worden verstuurd.

Bij verzending per luchtvracht moet het nummer van de luchtvrachtbrief vóór aankomst per fax, telefoon of e-mail aan het communautaire referentielaboratorium worden doorgegeven.

Op per luchtvracht verzonden pakketten moet het volgende duidelijk worden aangegeven:

„**CARE OF TRANSGLOBAL**" ter bespoediging van de afhandeling op het vliegveld.

Contactpersonen in het communautaire referentielaboratorium

Ian H. Brown, directeur van het referentielaboratorium
tel. (44) 1932 357 339;
fax. (44) 1932 357 239;
e-mail i.h.brown@vla.defra.gsi.gov.uk

Ruth Manvell, hoofd referentielaboratorium
tel. (44) 1932 357736 of +44 1932 357708
fax. (44) 1932 357856
e-mail r.manvell@vla.defra.gsi.gov.uk

HOOFDSTUK XIV

Minimumveiligheidsvoorschriften voor diagnostische laboratoria voor AI

1. De veiligheidsvoorschriften voor diagnostische laboratoria die met AI-virussen werken, moet zowel gericht zijn op inperking van de virussen omdat zij een bedreiging voor de diergezondheid vormen, als op de bescherming van personen in (en buiten) het laboratorium tegen de risico's van zoönoses.

In de Gemeenschap zijn de minimale veiligheidsvoorschriften voor laboratoria in een aantal richtlijnen vastgelegd. Daarnaast zijn er bijbehorende Europese normen (EN) waarin de operationele aspecten worden behandeld. Voor het functioneren van laboratoria voor diagnostische doeleinden zijn er nadere voorschriften (EN), bv. voor goede laboratoriumpraktijken.

2. **Communautaire richtlijnen betreffende laboratoria**

Richtlijn 89/391/EEG van de Raad van 12 juni 1989 betreffende de tenuitvoerlegging van maatregelen ter bevordering van de verbetering van de veiligheid en de gezondheid van de werknemers op het werk (PB L 183 van 29.6.1989, blz. 1).

Richtlijn 90/679/EEG van de Raad van 26 november 1990 betreffende de bescherming van de werknemers tegen de risico's van blootstelling aan biologische agentia op het werk (zevende bijzondere richtlijn in de zin van artikel 16, lid 1, van Richtlijn 89/391/EEG) (PB L 374 van 31.12.1990, blz. 1).

Als voor de diagnose gebruik wordt gemaakt van de polymerasekettingreactie (PCR) en het klonen van PCR-producten tot een bacterieel plasmide dat wordt vermeerderd, bijvoorbeeld met het oog op DNA-sequentieanalyse, gelden naast de bovengenoemde richtlijnen de volgende richtlijn en Europese normen:

Richtlijn 90/219/EEG van de Raad van 23 april 1990 inzake het ingeperkte gebruik van genetisch gemodificeerde micro-organismen (PB L 117 van 8.5.1990, blz. 1).

3. Naast de communautaire richtlijnen moeten de volgende Europese normen worden erkend:

EN 12128 Biotechnologie — Laboratoria voor onderzoek, ontwikkeling en analyse — Veiligheidsniveaus voor microbiologische laboratoria, risicogebieden, localiteiten, en technische veiligheidseisen.

EN 12738 Biotechnologie — Laboratoria voor onderzoek, ontwikkeling en analyse — Leidraad voor de huisvesting van dieren ingeënt met micro-organismen in experimenten.

EN 12740 Biotechnologie — Laboratoria voor onderzoek, ontwikkeling en analyse — Leidraad voor de behandeling, de inactivering en de beproeving van afval.

EN 12741 Biotechnologie — Laboratoria voor onderzoek, ontwikkeling en analyse — Leidraad voor het werken in biotechnologische laboratoria.

Voor het beheer en bedrijf van een laboratorium gelden de volgende voorschriften:

4. **Voorschriften voor laboratoria (inperkingsniveau 1 tot en met 4)**

Richtlijn 2000/54/EG van het Europees Parlement en de Raad van 18 september 2000 betreffende de bescherming van de werknemers tegen de risico's van blootstelling aan biologische agentia op het werk (zevende bijzondere richtlijn in de zin van artikel 16, lid 1, van Richtlijn 89/391/EEG) (PB L 262 van 17.10.2000, blz. 21), Richtlijn 90/219/EEG en de Europese normen EN 12128, EN 12740 en EN 12741.

Inperkingsmaatregelen	Inperkingsniveau			
	1	2	3	4
Laboratoriumruimte: isolatie	nee	ja	ja	ja
Laboratoria door deuren gescheiden	nee	ja	ja	ja
Aanwezigheid van een kijkvenster of iets dergelijks in de ruimten zodat men kan zien wat er binnen gebeurt	facultatief	facultatief	facultatief	ja
Voorzieningen voor het wassen van de handen	ja	ja	ja	ja
Voorzieningen voor het ontsmetten van de handen	facultatief	ja	ja	ja
Beperkte toegang	nee	ja	ja	ja
Specifieke maatregelen om verspreiding van aerosols tegen te gaan	nee	ja zo veel mogelijk beperken	ja voorkomen	ja voorkomen
Biorisicoteken op de deur	nee	ja	ja	ja
Douche	nee	nee	facultatief	ja
Oogdouche	ja	ja	ja	ja
Laboratorium: hermetisch afsluitbaar met het oog op fumigatie	nee	nee	ja	ja
Oppervlakken bestand tegen water, zuren, basen, oplosmiddelen, desinfectiemiddelen en ontsmettingsmiddelen en gemakkelijk schoon te maken	ja (werktafels)	ja (werktafels)	ja (werktafels, vloeren)	ja (werktafels, vloeren)
Toegang tot laboratorium via luchtsluis	nee	nee	facultatief	ja
Onderdruk ten opzichte van de druk in de directe omgeving	nee	nee	facultatief	ja
HEPA-filtratie van de af- en aangevoerde lucht in het laboratorium	nee	nee	ja (afgevoerde lucht)	ja
Autoclaaf	op de locatie	in het gebouw	en suite	in het laboratorium: doorgeefautoclaaf

Inperkingsmaatregelen	Inperkingsniveau			
	1	2	3	4
Beschermende kleding	geschikte beschermende kleding	geschikte beschermende kleding	geschikte beschermende kleding en (facultatief) schoeisel	compleet van kleding wisselen
Handschoenen	nee	facultatief	ja	ja
Doeltreffende controle van vectoren (bv. knaagdieren en insecten)	facultatief	ja	ja	ja
Veilige opslag van biologische agentia	ja	ja	ja	ja
Uitrusting mag het laboratorium niet verlaten	nee	nee	aanbevolen	ja

Verder zijn er Europese normen voor het beheer en de organisatie van laboratoria.

Ook zijn er nog andere nationale en internationale voorschriften en aanbevelingen. De WHO heeft de derde uitgave van haar Laboratory Biosafety Manual op internet gezet:

http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/WHO_CDS_CSR_LYO_2004_11/en/

5. **Inperkingsmaatregelen in verband met de diergezondheid**

De veterinaire autoriteiten van de lidstaten moeten voorschriften vaststellen voor de inperking van AI-virussen, met name HPAI, maar ook alle AI-virussen van subtype H5 en H7. Hoofdstuk 1.4.5 van de Terrestrial Animal Health Code 2005 van de Werelddiergezondheidsorganisatie (OIE) bevat enige aanwijzingen hiervoor; HPAI wordt beschouwd als pathogeen van OIE Containment Group 4.

De voorschriften voor het omgaan met AI-virussen worden echter vastgesteld door de veterinaire autoriteiten van de lidstaten.

De door het communautaire referentielaboratorium toegepaste minimale veiligheidsvoorschriften (nationale regelgeving van het Verenigd Koninkrijk) kunnen worden geraadpleegd op de volgende website:

http://www.defra.gov.uk/corporate/vla/science/science-viral-ai-reflab.htm

6. **Inperkingsmaatregelen in verband met de volksgezondheid**

Laboratoria die met AI-virussen werken, moeten zich er voortdurend van bewust zijn dat dit, althans in potentie, humane pathogenen zijn; het laboratorium moet zodanig georganiseerd zijn dat besmetting van het personeel vermeden wordt en het virus niet uit het laboratorium kan ontsnappen.

Richtsnoeren voor het omgaan met monsters die vermoedelijk of met zekerheid AI A-virus bevatten, zijn te vinden op de website van de Wereldgezondheidsorganisatie (WHO):

http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/handlingspecimens/en/