Dokument ten służy wyłącznie do celów dokumentacyjnych i instytucje nie ponoszą żadnej odpowiedzialności za jego zawartość

►**B**

DYREKTYWA RADY 92/40/EWG

z dnia 19 maja 1992 r.

wprowadzająca wspólnotowe środki zwalczania influenzy drobiu

(Dz.U. L 167 z 22.6.1992, str. 1)

zmienione przez:

		Dziennik Urzędowy		
		nr	strona	data
►**M1**	Rozporządzenie rady (WE) NR 806/2003 z dnia 14 kwietnia 2003 r.	L 122	1	16.5.2003

zmienione przez:

►**A1**	Akt Przystąpienia Austrii, Szwecji i Finlandii	C 241	21	29.8.1994
►**A2**	Akt dotyczący warunków przystąpienia Republiki Czeskiej, Republiki Estońskiej, Republiki Cypryjskiej, Republiki Łotewskiej, Republiki Litewskiej, Republiki Węgierskiej, Republiki Malty, Rzeczypospolitej Polskiej, Republiki Słowenii i Republiki Słowackiej oraz dostosowań w Traktatach stanowiących podstawę Unii Europejskiej	L 236	33	23.9.2003

▼B

DYREKTYWA RADY 92/40/EWG

z dnia 19 maja 1992 r.

wprowadzająca wspólnotowe środki zwalczania influenzy drobiu

RADA WSPÓLNOT EUROPEJSKICH,

uwzględniając Traktat ustanawiający Europejską Wspólnotę Gospodarczą, w szczególności jego art. 43,

uwzględniając wniosek Komisji ([1]),

uwzględniając opinię Parlamentu Europejskiego ([2]),

uwzględniając opinię Komitetu Ekonomiczno-Społecznego ([3]),

a także mając na uwadze, co następuje:

wykaz drobiu znajduje się w załączniku II do Traktatu; obrót drobiem stanowi ważne źródło dochodu ludności rolniczej;

istnieje potrzeba przyjęcia na poziomie wspólnotowym środków zwalczania podejmowanych w przypadku ogniska influenzy drobiu o wysokiej patogenności, wywołanej przez posiadającego specyficzne właściwości wirusa influenzy określanego poniżej jako influenza drobiu, w celu zapewnienia rozwoju krajowego sektora drobiu przyczynienia się do ochrony zdrowia zwierząt w krajach Wspólnoty;

ognisko influenzy drobiu może szybko przyjąć proporcje epizootii, powodującej wysoką śmiertelność, i w rezultacie doprowadzić do nagłego obniżenia rentowności gospodarki rolnej lub drobiowej jako całości;

należy podjąć działania gdy tylko pojawi się podejrzenie wystąpienia choroby, aby umożliwić podjęcie natychmiastowych i skutecznych środków zwalczania, kiedy obecność choroby zostanie potwierdzona;

konieczne jest jak najszybsze zapobieganie rozszerzaniu się choroby, gdy tylko powstanie jej ognisko, poprzez ścisłe monitorowanie przepływu zwierząt oraz stosowania produktów, które mogą być skażone, a gdzie to właściwe — poprzez szczepienia;

rozpoznanie choroby musi być przeprowadzone pod nadzorem wyznaczonych laboratoriów diagnostycznych, których praca koordynowana jest przez laboratorium referencyjne Wspólnoty;

wspólne środki mające na celu zwalczanie influenzy drobiu tworzą podstawę utrzymywania jednolitego standardu zdrowia zwierząt;

artykuł 3 decyzji Rady 90/424/EWG z dnia 26 czerwca 1990 r. w sprawie wydatków w dziedzinie weterynarii ([4]) stosuje się w przypadku pojawienia się ognisk influenzy drobiu;

właściwe jest, aby zadanie podjęcia koniecznych środków powierzyć Komisji,

PRZYJMUJE NINIEJSZĄ DYREKTYWĘ:

Artykuł 1

Niniejsza dyrektywa określa wspólnotowe środki zwalczania, które mają być stosowane w razie ogniska influenzy drobiu bez uszczerbku dla przepisów wspólnotowych regulujących handel wewnątrzwspólnotowy.

Niniejsza dyrektywa nie ma zastosowania w przypadku wystąpienia influenzy drobiu u innych ptaków; w takim przypadku zainteresowane Państwo Członkowskie powiadamia Komisję o wszystkich podjętych środkach.

([1]) Dz.U. C 231 z 5.9.1991, str. 4.
([2]) Dz.U. C 326 z 16.12.1991, str. 242.
([3]) Dz.U C 79 z 30.3.1992, str. 8.
([4]) Dz.U. L 224 z 18.8.1990, str. 19. Decyzja zmieniona decyzją 91/133/EWG (Dz.U. L 66 z 13.3.1991, str. 81).

▼B

Artykuł 2

Do celów niniejszej dyrektywy definicje podane w art. 2 dyrektywy Rady 90/539/EWG z dnia 15 października 1990 r. w sprawie warunków zdrowotnych zwierząt regulujących handel wewnątrzwspólnotowy i przywóz z państw trzecich drobiu i jaj wylęgowych ([1]) stosuje się odpowiednio.

Stosuje się również następujące definicje:

a) „drób zakażony" oznacza wszelki drób:

   — u którego obecność influenzy drobiu została w rozumieniu załącznika I oficjalnie potwierdzona badaniem wykonanym przez zatwierdzone laboratorium diagnostyczne, lub

   — w przypadku drugiego lub kolejnych ognisk, w których wystąpiły objawy kliniczne lub zmiany pośmiertelne zgodne z influenzą drobiu;

b) „drób podejrzany o zakażenie" oznacza drób wykazujący takie objawy kliniczne lub zmiany pośmiertne które słusznie nasuwają podejrzenie influenzy drobiu lub wszelki drób, u którego wykazano obecność podtypów H5 i H7 wirusa influenzy A;

c) „drób podejrzany o zarażenie" oznacza drób, który mógł mieć pośredni lub bezpośredni kontakt z wirusem influenzy drobiu lub podtypami H5 i H7 wirusa influenzy A;

d) „właściwy organ" oznacza właściwy organ w rozumieniu art. 2 ust. 6 dyrektywy 90/425/EWG ([2]);

e) „urzędowy lekarz weterynarii" oznacza lekarza weterynarii wyznaczonego przez właściwy organ.

Artykuł 3

Państwa Członkowskie zapewniają obowiązkowe i natychmiastowe powiadomienie właściwego organu o podejrzeniu obecności influenzy drobiu.

Artykuł 4

1. Jeżeli istnieje podejrzenie, że drób w gospodarstwie jest zakażony lub zarażony influenzą drobiu, Państwa Członkowskie zapewnią niezwłocznie wszczęcie przez urzędowego lekarza weterynarii dochodzenia z urzędu w celu potwierdzenia lub wykluczenia obecności danej choroby, w szczególności pobrania przez niego próbek niezbędnych do badania laboratoryjnego.

2. Gdy tylko podejrzenie zakażenia zostaje zgłoszone, właściwy organ ustanawia urzędowy nadzór nad danym gospodarstwem i nakazuje w szczególności, aby:

a) stworzyć rejestr dla wszystkich kategorii drobiu w gospodarstwie, pokazujący w odniesieniu do wszystkich kategorii drobiu liczbę drobiu, który padł, który wykazywał objawy kliniczne lub nie wykazywał objawów w ogóle. Rejestr powinien obejmować drób padły lub narodzony w przeciągu całego okresu podejrzenia o chorobę. Zarejestrowane dane powinny być na bieżąco uzupełniane i przekazywane na żądanie lub kontrolowane w czasie każdej wizyty;

b) cały drób w gospodarstwie trzymany był w swoich pomieszczeniach mieszkalnych lub ograniczony w innym miejscu, gdzie może być oddzielony i bez kontaktu z innym drobiem;

c) żaden drób nie przybywał do gospodarstwa ani go nie opuszczał;

d) wszelkie przemieszczanie

   — osób, innych zwierząt oraz pojazdów do i z gospodarstwa,

([1]) Dz.U. L 303 z 31.10.1990, str. 6. Dyrektywa ostatnio zmieniona dyrektywą 91/496/EWG (Dz.U. L 268 z 24.9.1991, str. 56).

([2]) Dyrektywa Rady 90/425/EWG z dnia 26 czerwca 1990 r. (Dz.U. L 224 z 18.8.1990, str. 29); ostatnio zmieniona dyrektywą 91/496/EWG (Dz.U. L 268 z 24.9.1991, str. 56).

▼B

— mięsa drobiowego lub tuszek drobiowych, paszy dla zwierząt, narzędzi, odpadów, łajna, obornika ściółki lub wszystkich innych rzeczy mogących przenosić influenzę drobiu podlegało zatwierdzeniu przez właściwy organ;

e) jaja opuszczały gospodarstwo, z wyjątkiem jaj które są wysyłane bezpośrednio do zakładu zatwierdzonego do produkcji i/lub przetwarzania produktów jajczarskich na mocy art. 6 ust. 1 dyrektywy 89/437/EWG ([1]), oraz były przewożone za zezwoleniem przyznanym przez właściwy organ. Zezwolenie takie powinno spełniać wymogi określone w załączniku I;

f) zastosować właściwe środki dezynfekujące przed wejściami i wyjściami z kurników, jak również na terenie samego gospodarstwa;

g) przeprowadzić dochodzenie epizootyczne zgodnie z art. 7.

3. Do czasu wprowadzenia w życie środków urzędowych ustanowionych w ust. 5, właściciel lub opiekun drobiu podejrzewanego o chorobę podejmie wszelkie właściwe działania w celu zapewnienia zgodności z ust. 2, z wyjątkiem jego lit. g).

4. Właściwy organ może zastosować każdy ze środków przewidzianych w ust. 2 wobec innych gospodarstw, jeżeli ich położenie, ukształtowanie lub kontakty z gospodarstwem, w którym podejrzewa się obecność choroby uzasadniają podejrzenie co do możliwości zarażenia.

5. Środki określone w ust. 1 i 2 nie zostaną wycofane, dopóki podejrzenie występowania choroby nie zostanie wykluczone przez urzędowego lekarza weterynarii.

Artykuł 5

1. W momencie oficjalnego potwierdzenia przypadku influenzy drobiu w gospodarstwie, Państwa Członkowskie zagwarantują, że właściwy organ wymaga oprócz środków wymienionych w art. 4 ust. 2 podjęcie następujących środków:

a) cały drób na fermie należy bezzwłocznie ubić na miejscu. Wszystkie sztuki padłe i ubite, jak również wszystkie jaja, należy zniszczyć. Działania te należy wykonać w taki sposób, aby ograniczyć niebezpieczeństwo rozprzestrzenienia się choroby;

b) wszelkie substancje lub odpady, takie jak pasza dla zwierząt, ściółka lub obornik, które mogły ulec zarażeniu, należy zniszczyć lub w odpowiednio zagospodarować. To zagospodarowanie należy przeprowadzić zgodnie z instrukcjami urzędowego lekarza weterynarii, aby zapewnić zniszczenie wirusa influenzy drobiu;

c) w przypadku drobiu pochodzącego z gospodarstwa, w którym dokonano uboju w przypuszczalnym okresie inkubacji choroby mięso pochodzące z tego drobiu podlega zniszczeniu bez względu na to, gdzie się znajduje;

d) jaja wylęgowe zniesione w przypuszczalnym okresie inkubacji, które zostały przeniesione z gospodarstwa, należy wyszukać i zniszczyć; natomiast drób, który się dopiero wylągł z jaj, podlega urzędowemu nadzorowi; jaja spożywcze zniesione w przypuszczalnym okresie inkubacji przeniesione z gospodarstwa należy wyszukać i zniszczyć bez względu na to, gdzie się znajdują, jeżeli nie były uprzednio właściwie zdezynfekowane;

e) po przeprowadzeniu działań wymienionych w lit. a i b budynki, w których mieścił się drób, ich otoczenie, pojazdy używane do przewozu i cały sprzęt, który mógł ulec zarażeniu, należy wyczyścić i zdezynfekować zgodnie z przepisami art. 11;

f) przez okres co najmniej 21 dni po przeprowadzeniu działań wymienionych w lit. e) nie wolno ponownie wprowadzać drobiu do gospodarstwa;

g) zgodnie z przepisami art. 7 należy przeprowadzić badanie epizootyczne.

([1]) Dz.U. L 212 z 22.7.1989, str. 87. Dyrektywa zmieniona dyrektywą 89/662/EWG (Dz.U. L 395 z 30.12.1989, str. 13).

▼B

2. Właściwe władze mogą rozszerzyć stosowanie środków przewidzianych w ust. 1 na inne sąsiednie gospodarstwa, jeżeli ich położenie, ukształtowanie lub kontakty z gospodarstwem, w którym potwierdzone zostało występowanie choroby, uzasadniają podejrzenie co do możliwości zarażenia.

Artykuł 6

W przypadku gospodarstw składających się z dwóch lub większej liczby oddzielnych stad właściwy organ może, zgodnie z kryteriami ustanowionymi przez Komisję na podstawie procedury przewidzianej w art. 21, przyznać uchylenie od wymogów art. 5 ust. 1 w stosunku do zdrowych stad w zakażonym gospodarstwie, pod warunkiem że urzędowy lekarz weterynarii, który potwierdzi, że działania przeprowadzane są tak, że stada są całkowicie odizolowane, zarówno w zakresie pomieszczeń, jak również opieki i karmienia, a więc tak, aby wirus nie mógł szerzyć się z jednego stada do drugiego.

Artykuł 7

1. Przedmiotem dochodzenia epizootycznego jest:

— czas trwania influenzy drobiu w gospodarstwie,

— możliwe źródło influenzy drobiu w danym gospodarstwie oraz identyfikacja innych gospodarstw, w których jest drób zakażony lub zarażony z tego źródła,

— przepływ osób, drobiu i innych zwierząt, pojazdów, jaj, mięsa i tuszek drobiu oraz narzędzi i substancji za pośrednictwem, których wirus influenzy drobiu mógłby być przeniesiony z danego gospodarstwa.

2. Należy powołać jednostkę kryzysową w celu zapewnienia pełnej koordynacji wszystkich środków niezbędnych do zapewnienia w miarę możliwości najszybszego zwalczenia influenzy drobiu oraz dla przeprowadzenia dochodzenia epidemiologicznego.

Przepisy ogólne dotyczące krajowych i wspólnotowych jednostek kryzysowych zostaną ustanowione przez Radę, stanowiącą kwalifikowaną większością na wniosek Komisji.

Artykuł 8

1. W przypadku gdy urzędowy lekarz weterynarii ma powód, aby podejrzewać, że w jakimś gospodarstwie drób może być zarażony w wyniku przepływu ludzi, zwierząt, pojazdów lub w inny sposób, wówczas takie gospodarstwo zostanie objęte urzędową kontrolą zgodnie z ust. 2.

2. Celem urzędowej kontroli jest niezwłoczne wykrycie jakiegokolwiek podejrzenia influenzy drobiu, policzenie drobiu oraz monitorowanie jego przepływu, a w uzasadnionych przypadkach podjęcie działań przewidzianych w ust. 3.

3. Kiedy gospodarstwo jest poddane urzędowej kontroli zgodnie z ust. 1 i 2, właściwy organ wprowadza całkowity zakaz usuwania drobiu z gospodarstwa, z wyjątkiem transportu bezpośrednio do rzeźni, gdzie pod urzędowym nadzorem dokonywany jest niezwłoczny ubój. Przed wydaniem takiego zezwolenia urzędowy lekarz weterynarii musi przeprowadzić badanie kliniczne wszystkich sztuk drobiu celem wykluczenia przypadków influenzy drobiu w gospodarstwie. Ograniczenia przepływu określone w niniejszym artykule nałożone są na okres 21 dni, licząc od daty ostatniego potencjalnego zarażenia; jednakże takie ograniczenia muszą być stosowane przez okres co najmniej 7 dni.

4. Wówczas gdy warunki na to pozwolą, właściwe władze mogą ograniczyć środki przewidziane w niniejszym artykule jedynie do części gospodarstwa i znajdującego się w nim drobiu, pod warunkiem że drób był przetrzymywany, traktowany i karmiony w całkowicie oddzielonym pomieszczeniu przez osobny personel.

▼B

Artykuł 9

1. Po oficjalnym potwierdzeniu rozpoznania influenzy drobiu Państwa Członkowskie zagwarantują, że właściwe władze ustanowią wokół zakażonego gospodarstwa strefę ochronną, o minimalnym promieniu trzech kilometrów, która zawrze się w strefie nadzorowanej o minimalnym promieniu 10 kilometrów. Ustanowienie stref musi uwzględniać czynniki geograficzne, administracyjne, ekologiczne i epizootyczne odnoszące się do influenzy drobiu oraz monitorowanych obiektów.

2. Środki stosowane w strefie ochronnej obejmują:

a) określenie wszystkich gospodarstw posiadających drób w obrębie tej strefy;

b) okresowe wizyty we wszystkich gospodarstwach posiadających drób, badanie kliniczne tego drobiu oraz jeżeli jest to konieczne, zbieranie próbek do badań laboratoryjnych; rejestr wizyt oraz wyników badań;

c) przetrzymywanie wszystkich sztuk drobiu w ich pomieszczeniach mieszkalnych lub w innych miejscach umożliwiających odizolowanie;

d) zastosowanie właściwych środków dezynfekujących przy wejściach i wyjściach z gospodarstwa;

e) kontrola przepływu osób zajmujących się drobiem, tuszkami drobiowymi, jajami oraz pojazdów przewożących drób, tuszki i jaja w obrębie strefy; w zasadzie wszelki transport drobiu jest zakazany, z wyjątkiem przewozu tranzytowego drogami głównymi lub koleją;

f) zakaz usuwania drobiu i jaj wylęgowych z gospodarstwa, w którym się znajdują, chyba że właściwe władze zatwierdziły transport:

   i) drobiu do natychmiastowego uboju w rzeźni, najlepiej jeżeli ulokowanej na terenie zakażonym, a gdy nie jest to możliwe — to w rzeźni znajdującej się poza terenem zakażonym, ale wyznaczonej przez właściwe władze. Specjalny znak jakości zdrowotnej przewidziany w art. 5 ust. 1 dyrektywy 91/494/EWG [1] należy stosować do tego mięsa drobiowego;

   ii) jednodniowych piskląt lub młodych niosek w gospodarstwie znajdującym w obrębie strefy nadzorowanej, gdzie nie ma żadnego innego drobiu. Gospodarstwo to musi być objęte urzędową kontrolą przewidzianą w art. 8 ust. 2;

   iii) jaj wylęgowych do wylęgarni wyznaczonych przez właściwy organ. Jaja przed wysyłką musza być zdezynfekowane. Przepływy dozwolone w i), ii) oraz iii) muszą zostać wykonane bezpośrednio i pod urzędową kontrolą. Takie przepływy mogą być zatwierdzone tylko po tym, jak urzędowy lekarz weterynarii przeprowadzi inspekcję zdrowotną gospodarstwa. Używane środki transportu muszą zostać oczyszczone i zdezynfekowane tak przed, jak i po transporcie.

g) zakaz usuwania i rozprzestrzeniania ściółki oraz obornika drobiowego bez zezwolenia;

h) zakaz organizowania targów jarmarków, wystaw oraz innych imprez gromadzących drób lub inne gatunki ptaków.

3. Środki stosowane w obrębie strefy ochronnej są utrzymywane przez okres co najmniej 21 dni, licząc od daty przeprowadzenia czyszczenia i dezynfekcji zakażonego gospodarstwa zgodnie z art. 11. Strefa ochronna wówczas stanie się częścią strefy nadzorowanej.

4. Środki stosowane w obrębie strefy nadzorowanej obejmują:

a) identyfikację wszystkich gospodarstw zajmujących się drobiem w obrębie tej strefy;

b) kontrolę przepływu drobiu i jaj wylęgowych;

---

[1] Dz.U. L 268 z 24.9.1991, str. 35.

▼B

c) zakaz przepływu drobiu poza strefę przez okres pierwszych 15 dni, z wyjątkiem przepływów bezpośrednich do rzeźni znajdującej się poza strefą nadzorowaną wyznaczoną przez właściwy organ. Specjalny znak jakości zdrowotnej przewidziany w art. 3 dyrektywy 91/494/EWG należy stosować do tego mięsa drobiowego;

d) zakaz przepływu jaj wylęgowych poza strefę nadzorowania, chyba że do wylęgarni wyznaczonej przez właściwy organ. Przed wysyłką jaja, jak również ich opakowania, muszą zostać zdezynfekowane;

e) zakaz przepływów poza strefę zużytej ściółki i obornika drobiowego;

f) zakaz organizowania targów, jarmarków i wystaw lub innych imprez gromadzących drób i inne gatunki ptaków;

g) bez uszczerbku dla przepisów lit. a) i b) — zakaz transportu drobiu, z wyjątkiem przewozu tranzytowego drogami głównymi lub koleją.

5. Środki stosowane w obrębie strefy nadzorowania utrzymywane są przez okres co najmniej 30 dni po przeprowadzeniu czynności wstępnego czyszczenia i dezynfekcji na terenie zakażonego gospodarstwa zgodnie z art. 11.

6. Jeżeli strefy znajdują się na terytorium więcej niż jednego Państwa Członkowskiego, właściwe władze zainteresowanych Państw Członkowskich będą współpracować w ustanawianiu stref wymienionych w ust. 1. Jednak w przypadku gdy jest to konieczne, strefa ochronna i strefa nadzorowania zostaną ustanowione zgodnie z procedura przewidzianą w art. 21.

Artykuł 10

Państwa Członkowskie zagwarantują, że:

a) właściwe władze określą ustalenia pozwalające im przedstawić przebieg przepływu jaj i drobiu;

b) właściciel lub posiadacz drobiu zobowiązany jest dostarczać na każde wezwanie właściwych władz informacje dotyczące drobiu i jaj wwożonych do gospodarstwa i wywożonych z gospodarstwa;

c) wszystkie osoby trudniące się zarobkowym transportem lub wprowadzaniem do obrotu drobiu i jaju zobowiązane są do dostarczania właściwym władzom informacji dotyczących przepływów drobiu i jaj, które zostały przez nie przetransportowane lub wprowadzone do obrotu oraz podania wszystkich szczegółów dotyczących takiej informacji.

Artykuł 11

Państwa Członkowskie zagwarantują, że:

a) środki dezynfekujące i ich koncentraty są urzędowo zatwierdzone przez właściwe władze;

b) czynności czyszczenia i dezynfekowania zostaną przeprowadzone pod urzędowym nadzorem i zgodnie z:

   i) poleceniami przekazanymi przez urzędowego lekarza weterynarii;

   ii) procedurami czyszczenia i dezynfekowania zakażonego gospodarstwa, jak ustanowiono w załączniku II.

Artykuł 12

Pobieranie próbek do badań laboratoryjnych oraz analiza laboratoryjna, mające na celu wykrycie wirusa influenzy drobiu, zostaną przeprowadzone zgodnie z załącznikiem III.

Artykuł 13

Państwa Członkowskie zapewnią, aby właściwe władze zastosowały wszelkie niezbędne środki w celu poinformowania wszystkich osób przebywających w obrębie strefy ochronnej i strefy nadzorowanej o wprowadzonych ograniczeniach oraz podejmą właściwe uzgodnienia celem odpowiedniego wprowadzenia w życie tych środków.

▼B

Artykuł 14

1. Państwa Członkowskie zapewnią, aby w każdym Państwie Członkowskim zostało wyznaczone:

a) laboratorium krajowe, w którym sprzęt i wykwalifikowany personel będzie w stanie określić patogenność wydzielonych szczepów wirusa influenzy, zgodnie z załącznikiem III rozdział 7, oraz identyfikację podtypów H5 i H7 wirusów influenzy A;

b) laboratorium krajowe, w którym będą testowane odczynniki przeznaczone do stosowania w laboratoriach regionalnych;

c) krajowy instytut lub laboratorium, w którym kontrolowane będą dopuszczone do stosowania szczepionki, w celu stwierdzenia zgodności z warunkami ustanowionymi w zezwoleniu na handel.

2. Krajowe laboratoria, wymienione w załączniku IV, będą odpowiedzialne za koordynację norm i metod diagnozy, wykorzystania odczynników i testowania szczepionek.

3. Krajowe laboratoria, wymienione w załączniku IV, będą odpowiedzialne za koordynację norm i metod diagnostycznych ustanowionych przez każde laboratorium diagnostyczne influenzy drobiu na w obrębie danego Państwa Członkowskiego. W tym celu:

a) mogą one dostarczać odczynniki diagnostyczne laboratoriom krajowym;

b) kontrolują jakość wszystkich odczynników diagnostycznych stosowanych w Państwie Członkowskim;

c) będą okresowo prowadziły testy porównawcze;

d) będą przechowywały wydzielone szczepy wirusów influenzy drobiu z potwierdzonych przypadków chorobowych na terenie Państwa Członkowskiego;

e) zapewnią potwierdzenie wyników pozytywnych uzyskanych w regionalnych laboratoriach diagnostycznych.

4. Krajowe laboratoria, wymienione w załączniku IV, będą w kontakcie z laboratorium referencyjnym Wspólnoty, określonym w art. 15.

Artykuł 15

O laboratorium referencyjnym Wspólnoty dla influenzy drobiu jest mowa w załączniku V. Bez uszczerbku dla przepisów decyzji 90/424/EWG, w szczególności jej art. 28, uprawnienia oraz obowiązki są takie, jak zostały określone w wyżej wymienionym załączniku.

Artykuł 16

Prowadzenie szczepień przeciwko influenzie drobiu szczepionkami zatwierdzonymi przez właściwy organ może stanowić jedynie uzupełnienie do środków zwalczania podejmowanych, kiedy wystąpi choroba, oraz zgodnie z następującymi przepisami:

a) decyzję o wprowadzeniu szczepień w celu uzupełnienia środków zwalczania podejmie Komisja we współpracy z zainteresowanym Państwem Członkowskim, stanowiąc zgodnie z procedurą przewidzianą w art. 21. Decyzja ta musi przede wszystkim uwzględniać:

   — koncentrację drobiu w obszarze zagrożonym,

   — właściwości i skład każdej ze stosowanych szczepionek,

   — procedury nadzoru dystrybucji, składowania i stosowania szczepionek,

   — gatunki i kategorie drobiu, który jest objęty szczepieniem,

   — obszary, na których prowadzone będą szczepienia.

   Jednakże na zasadzie odstępstwa od pierwszego akapitu decyzja o wprowadzeniu szczepień interwencyjnych na wokół ogniska choroby może zostać podjęta przez zainteresowane Państwo Członkowskie po uprzednim powiadomieniu Komisji, pod warunkiem że nie zostaną

▼B

naruszone podstawowe interesy Wspólnoty. Decyzja taka natychmiast zostanie ponownie przeanalizowana przez Stały Komitet Weterynaryjny, zgodnie z procedurą przewidzianą w art. 21;

b) w przypadku gdy Państwo Członkowskie jest upoważnione, zgodnie z lit. a), do przeprowadzenia szczepień interwencyjnych na ograniczonej części swojego terytorium, to status pozostałej części tego terytorium nie zostanie zmieniony, przy zapewnieniu, że przepisy dotyczące zakazu przepływu zwierząt zaszczepionych zostaną utrzymane w mocy przez okres ustalony zgodnie z procedurą ustanowioną w art. 21.

Artykuł 17

1. Każde Państwo Członkowskie sporządza plan interwencyjny, określający specyficzne środki krajowe, jakie zostaną wprowadzone w przypadku powstania ogniska influenzy drobiu.

Plan ten zezwala na dostęp do pomieszczeń, sprzętu, personelu i innych odpowiednich materiałów niezbędnych do szybkiego i sprawnego zwalczenia ogniska choroby.

2. Kryteria jakie należy zastosować przy sporządzaniu takiego planu, zostały ustanowione w załączniku VI.

3. Plan opracowany zgodnie z kryteriami wymienionymi w załączniku VI zostaje przedłożony Komisji najpóźniej sześć miesięcy po wejściu w życie niniejszej dyrektywy.

4. Komisja zbada plany w celu ustalenia, czy umożliwiają one osiągnięcie pożądanego celu i przedstawią zainteresowanemu Państwu Członkowskiemu propozycje wymaganych poprawek, w szczególności aby zapewnić ich zgodność z planami innych Państw Członkowskich.

Komisja zatwierdzi plany, w razie konieczności z poprawkami, zgodnie z procedurą ustanowioną w art. 21.

W zależności od rozwoju sytuacji plany w dalszym ciągu mogą być zmieniane lub uzupełniane, zgodnie z tą samą procedurą.

Artykuł 18

Eksperci Komisji mogą, we współpracy z właściwymi władzami, w zakresie niezbędnym do zapewnienia jednolitego stosowania niniejszej dyrektywy dokonywać kontroli na miejscu. W tym celu mogą oni sprawdzić reprezentatywny procent zakładów, aby stwierdzić, czy właściwe władze sprawdzają, czy zakłady te spełniają wymagania niniejszej dyrektywy. Komisja poinformuje Państwa Członkowskie o wyniku przeprowadzonych kontroli.

Państwo Członkowskie, na którego terytorium przeprowadzana jest kontrola, udziela ekspertom wszelkiej niezbędnej pomocy w wypełnianiu ich obowiązków.

Przepisy ogólne wprowadzenia niniejszego artykułu zostaną określone zgodnie z procedurą określoną w art. 21.

Artykuł 19

Szczegółowe warunki regulujące finansowy udział Wspólnoty w środkach związanych ze stosowaniem niniejszej dyrektywy zostały ustanowione w decyzji 90/424/EWG.

Artykuł 20

Rada, stanowiąc większością kwalifikowaną, na wniosek Komisji wniesie, w razie potrzeby, poprawki do załączników, w szczególności w celu uwzględnienia zmian w badaniach naukowych i metodach diagnostycznych.

▼**M1**

Artykuł 21

1. Komisję wspomaga Stały Komitet ds. Łańcucha Pokarmowego i Zdrowia Zwierząt, ustanowiony na mocy art. 58 rozporządzenia (WE) nr 178/2002 ([1]).

2. W przypadku odniesienia do niniejszego artykułu stosuje się art. 5 i 7 decyzji 1999/468/WE ([2]).

Termin określony w art. 5 ust. 6 decyzji 1999/468/WE ustala się na trzy miesiące.

3. Komitet uchwala swój regulamin wewnętrzny.

▼**B**

Artykuł 22

Państwa Członkowskie wprowadzają w życie przepisy ustawowe, wykonawcze i administracyjne niezbędne do wykonania niniejszej dyrektywy najpóźniej do dnia 1 stycznia 1993 r. Niezwłocznie powiadamiają o tym Komisję.

Przepisy przyjęte przez Państwa Członkowskie zawierają odniesienie do niniejszej dyrektywy lub odniesienie to towarzyszy ich urzędowej publikacji. Metody dokonywania takiego odniesienia określane są przez Państwa Członkowskie

Artykuł 23

Niniejsza dyrektywa skierowana jest do Państw Członkowskich.

([1]) Dz.U. L 31 z 1.2.2002, str. 1.
([2]) Dz.U. L 184 z 17.7.1999, str. 23.

▼B

ZAŁĄCZNIK I

POZWOLENIE NA WYCOFANIE JAJ Z GOSPODARSTWA Z ZASTRZEŻENIEM WARUNKÓW ART. 4 UST. 2 LIT. e) NINIEJSZEJ DYREKTYWY

Pozwolenie wydane przez właściwe władze na transport jaj z zagrożonego gospodarstwa z zastrzeżeniem przepisów art. 4 ust. 2 lit. e) do zakładu zatwierdzonego do produkcji i przetwarzania produktów jajczarskich zgodnie z przepisami art. 6 ust. 1 dyrektywy 89/437/EWG, zwanego dalej zakładem wyznaczonym, musi spełniać następujące warunki:

1. w celu usunięcia jaj z zagrożonego zakładu muszą one:
   a) spełniać wymogi ustanowione w Załączniku do dyrektywy 89/437/EWG rozdział IV;
   b) zostać przesłane z zagrożonego zakładu to zakładu wyznaczonego; każda przesyłka przed wysyłką musi zostać opieczętowana przez urzędowego lekarza weterynarii z zagrożonego gospodarstwa i musi pozostać opieczętowana podczas transportu do zakładu wyznaczonego;
2. urzędowy lekarz weterynarii zagrożonego gospodarstwa informuje właściwe władze o wyznaczonym zakładzie, do którego ma zamiar wysłać jaja;
3. właściwe władze odpowiedzialne za wyznaczony zakład zapewnią, że:
   a) jaja określone w pkt 1 lit. b) będą trzymane oddzielnie od innych jaj od czasu przybycia do czasu ich przetworzenia;
   b) skorupki jaj są uznane za substancje wysokiego ryzyka zgodnie z art. 2 ust. 2 dyrektywy 90/667/EWG ([1]) i zostaną potraktowane zgodnie z wymogami rozdziału II tej dyrektywy;
   c) materiał opakowania, pojazdy używane do transportu jaj określone w pkt 1 lit. b) oraz wszystkie zabudowania, z którymi jaja wchodziły w kontakt, są oczyszczone i zdezynfekowane w taki sposób, aby zniszczyć wszystkie wirusy influenzy drobiu;
   d) urzędowy lekarz weterynarii zagrożonego gospodarstwa jest informowany o wszystkich przesyłkach przetworzonych jaj.

([1]) Dz.U. L 363 z 27.12.1990, str. 51.

▼B

ZAŁĄCZNIK II

PROCEDURA CZYSZCZENIA I DEZYNFEKOWANIA ZAKAŻONEGO GOSPODARSTWA

I. **Wstępne czyszczenie i dezynfekowanie**

a) Możliwie jak najszybciej po usunięciu w celu zniszczenia tuszek drobiu wszystkie części zabudowań, w których przebywał drób, jak również części innych budynków, podwórza itp. które zostały zarażone w czasie uboju lub badań pośmiertnych, należy spryskać środkami odkażającymi zatwierdzonymi do stosowania zgodnie z przepisami art. 11 niniejszej dyrektywy.

b) Jakiekolwiek tkanki drobiu lub jaj, które mogłyby zarazić budynki, podwórza, narzędzia itp., należy dokładnie pozbierać i usunąć razem z tuszkami drobiu.

c) Użyty środek dezynfekcyjny powinien pozostawać na powierzchni co najmniej 24 godziny.

II. **Końcowe czyszczenie i dezynfekowanie**

a) Tłuszcz i brud znajdujący się na powierzchni należy usunąć stosując środki odtłuszczające i obmyć wodą.

b) Po obmyciu wodą, jak zostało to opisane w lit. a), należy zastosować spryskiwanie środkiem odkażającym.

c) Po upływie siedmiu dni we wszystkich budynkach należy zastosować środki odtłuszczające, następnie spłukać zimną wodą i spryskać środkiem odkażającym i jeszcze raz spłukać wodą.

d) Zużytą ściółkę i obornik poddać odkażeniu taką metodą, która zapewni zabicie wirusa. Taka metoda musi polegać na zastosowaniu jednej z poniżej podanych czynności:

i) spalenie lub poddanie działaniu pary o temperaturze 70 °C;

ii) zakopanie na taką głębokość, aby robactwo i dzikie ptaki nie miały dostępu;

iii) układanie w stosy zwilżane (jeśli jest to wskazane w celu ułatwienia fermentacji), przykrycie w celu zapewnienia utrzymywania wewnątrz temperatury 20 °C przez okres 42 dni, jak również zabezpieczeniu przed dostępem robactwa i dzikich ptaków.

▼B

ZAŁĄCZNIK III

PROCEDURY DIAGNOSTYCZNE MAJĄCE NA CELU POTWIERDZENIE CHOROBY ORAZ DIAGNOSTYKA RÓŻNICOWA INFLUENZY DROBIU

Poniżej podane metody izolacji i określania właściwości wirusów influenzy drobiu należy uznać za główne wytyczne i minimum jakie należy uwzględnić w diagnostyce tej choroby.

Do celów procedury diagnostycznej mającej na celu potwierdzenie, jak i diagnostykę różnicową, influenzy drobiu została przyjęta następująca definicja choroby:

„Influenza drobiu" oznacza zakażenie drobiu wywołane wirusem influenzy A, charakteryzującym się u 6-tygodniowych kurcząt wskaźnikiem dożylnej zjadliwości wirusa powyżej 1,2 lub jakimkolwiek zakażeniem podtypami H5 i H7 wirusów influenzy drobiu A, dla których sekwencjonowanie nukleotydów wykazuje obecność licznych aminokwasów zasadowych w miejscu rozszczepienia hemaglutyniny.

ROZDZIAŁ 1

Pobieranie próbek oraz ich przygotowanie

1. *Próbki*

   Wymazy z kloaki (lub fekalia) oraz wymazy z tchawicy chorych ptaków; fekalia lub zawartość jelit, tkanka mózgowa, tchawica, płuca, wątroba, śledziona lub inne w sposób oczywisty narażone organy świeżo padłych ptaków.

2. *Przygotowanie próbek*

   Organy i tkanki wymienione w ust. 1 mogą być gromadzone, ale istotne jest osobne przygotowanie fekaliów. Wymazy należy umieścić w pełnym zanurzeniu w roztworze antybiotyku. Próbki kału i organy powinny być homogenizowane (w zamkniętym mieszadle lub przy użyciu tłuczka i moździerza z dodatkiem wyjałowionego piasku) w roztworze antybiotyku, tworząc zawiesinę 10—20 % części wagowych/objętość w tym roztworze. Zawiesinę taką należy pozostawić w temperaturze pokojowej przez okres 2 godzin (lub w temperaturze 4 °C przez dłuższy okres czasu), a następnie wyklarować przez odwirowanie (np. 800—1 000 x g przez 10 minut).

3. *Roztwór antybiotyku*

   Różne laboratoria stosują z powodzeniem rozmaite receptury przyrządzania roztworów antybiotyku, a laboratoria krajowe będą mogły udzielać rad w poszczególnych krajach. Do obróbki materiału fekaliów wymagane jest przyrządzenie roztworów zawierających duże stężenie antybiotyków, a typowa mieszanina powinna mieć następujący skład: 10 000 jm/ml penicyliny, 10 mg/ml streptomycyny, 0,25 mg gentamycyny i 5 000 jm/ml mycostatyny w PBS. Poziom antybiotyków może zostać pięciokrotnie obniżony w przypadku przygotowania roztworów przeznaczonych do traktowania tkanek i wymazów z tchawicy. W celu wyeliminowania chlamydii należy do roztworu dodać oksytetracykliny w dawce 50 mg/ml. W trakcie przygotowywania roztworu należy kontrolować pH, a po dodaniu antybiotyków i ustabilizować je na poziomie 7,0— 7,4.

ROZDZIAŁ 2

Wydzielenie wirusa

Wydzielenie wirusa na zarodkach kurzych

Sklarowany supernatant w dawce 0,1-0,2 ml należy wprowadzić do worka omoczniowego czterech zarodków kurzych, które były inkubowane przez okres 8 do 10 dni. Byłoby idealnie, gdyby zarodki kurze pochodziły ze stad wolnych od patogenu, ale gdy jest to niemożliwe, można zastosować jaja pochodzące ze stad, których kury nie mają przeciwciał dla influenzy drobiu. Inokulowane jaja są trzymane w temperaturze 37 °C i codziennie oglądane są pod specjalną lampą. Jaja z obumarłymi lub obumierającymi zarodkami oraz pozostałe jaja w 6 dni po inokulacji należy schłodzić do temperatury 4 °C, a płyn omoczniowo-owodniowy zbadać testem hemaglutynacji. W przypadku niestwierdzenia hemaglutynacji powyższe postępowanie powtarzamy, stosując jako inokulum nierozcieńczony płyn omoczniowo-owodniowy.

▼B

W przypadku wykazania hemaglutynacji należy wykluczyć obecność bakterii, zakażając podłoże bakteriologiczne. Kiedy stwierdzimy obecność bakterii, taki płyn trzeba przefiltrować przez filtr o porach 450 nm, dodać antybiotyki, a następnie, jak to zostało powyżej opisane, inokulować.

ROZDZIAŁ 3

Diagnostyka różnicowa

1. *Różnicowanie wstępne*

   Z uwagi na to, by środki zwalczania mające na celu ograniczanie rozprzestrzeniania się wirusa zostały jak najszybciej wprowadzone w życie, każde laboratorium regionalne powinno być w stanie wydzielić jakiekolwiek wirusy hemaglutynizujące, takie jak podtypy H5 i H7 wirusa influenzy oraz wirus choroby rzekomego pomoru drobiu. Płyny hemaglutynujące powinny zostać użyte do wykonania testu zahamowania hemaglutynacji (HI) w sposób jaki został opisany w rozdziałach 5 i 6. Hamowanie dodatnie, tzn. 2^4 lub wyższe, uzyskane przy zastosowaniu swoistych antysurowic poliklonalnych w stosunku do podtypów H5 i H7 wirusa influenzy A oraz o mianie przynajmniej 2^9, może stanowić wstępną identyfikację dającą podstawę do wprowadzenia tymczasowych środków zwalczania.

2. *Potwierdzenie identyfikacji wirusa*

   Ponieważ istnieje 13 podtypów hemaglutynujących, dziewięć podtypów zawierających neuraminidazę oraz liczne odmiany wirusów influenzy, nie jest możliwe ani z punktu widzenia praktycznego, ani finansowego, aby każde krajowe laboratorium przechowywało antysurowice pozwalające na pełne antygenowe różnicowanie wydzielonych szczepów. Jednak każde krajowe laboratorium powinno:

   i) potwierdzić, że dany wydzielony szczep badany testem podwójnej hemaglutynacji pozwalającej określić antygeny grupowe jest wirusem influenzy A, jak zostało to opisane w rozdziale 9 (immunofluorescencja lub test ELISA mogą zostać zastosowane przez krajowe laboratorium);

   ii) ustalić, czy mamy do czynienia z podtypem H5 czy H7;

   iii) wykonać test określający wskaźnik dożylnej zjadliwości wirusa na 6-tygodniowych kurczętach, jak jest to opisane w rozdziale 7. Wskaźnik dożylnej zjadliwości wirusa, którego wartość przekracza 1,2, świadczy o obecności wirusa i pociąga za sobą wprowadzenie wszystkich środków zwalczania (jest wskazane, aby laboratoria krajowe przeprowadziły również badania określające, czy wydzielony szczep jest zdolny tworzyć zarazę w hodowlach komórkowych, jak jest to omówione w rozdziale 8).

   Laboratoria krajowe zobowiązane są niezwłocznie przesłać wydzielone podtypy H5 i H7 wirusa influenzy drobiu do laboratorium referencyjnego Wspólnoty celem określenia całkowitej ich charakterystyki.

3. *Dalsze opisanie i scharakteryzowanie wydzielonych szczepów*

   Laboratorium referencyjne Wspólnoty powinno otrzymać z krajowych laboratoriów wszystkie hemaglutynujące szczepy wirusa w celu dokonania dalszych badań antygenowych i genetycznych, co umożliwi lepsze zrozumienie zjawisk epizootycznych schorzenia/schorzeń) na terenie państw Wspólnoty Europejskiej, wypełniając w ten sposób zadania i obowiązki laboratorium referencyjnego.

   Oprócz tych obowiązków laboratorium referencyjne Wspólnoty w pełni określi typy antygenowe wszystkich otrzymanych wydzielonych szczepów wirusa. W przypadku wirusów H5 i H7, których wskaźnik dożylnej zjadliwości wirusa jest niższy niż 1,2, należy przeprowadzić badanie sekwencjonowania nukleotydów genu hemaglutyninowego w celu określenia czy występują lub nie liczne podstawowe aminokwasy zasadowe w miejscu rozszczepienia białka hemaglutyninowego.

ROZDZIAŁ 4

Test serologiczny na przeciwciała influenzy drobiu

1. Podczas programów zwalczania choroby, kiedy podtyp H wirusa został już określony bądź używając jako antygenu wirusa homologicznego, test serologiczny pozwalający na stwierdzenie zakażenia może być przeprowadzony przy użyciu odczynu zahamowania hemaglutynacji opisanego w rozdziałach 5 i 6.

   Jeżeli nie wykazano podtypu hemaglutynującego wirusów influenzy A, to możemy wówczas stwierdzić ich obecność na podstawie wykrywania obecności przeciwciał stanowiących reakcję na swoiste antygeny grupowe.

▼B

W tym celu można wykonać test podwójnej immunodyfuzji (opisany w rozdziale 9) lub test ELISA (jednak z testem ELISA może być problem, gdyż istnieje swoistość reakcji gospodarza i jest ona uzależniona od wykazania immunoglobulin gospodarza). Ptactwo wodne badane testem podwójnej immunodyfuzji rzadko daje pozytywne wyniki, chyba że znany jest podtyp wirusa, i dlatego prawdopodobnie jedynym praktycznie wykonalnym jest określenie obecności przeciwciał podtypów H5 i H7.

2. a) *Próbki*

Od wszystkich ptaków należy pobrać próbki krwi, jeżeli wielkość stada nie przekracza 20 sztuk, i od 20 sztuk ptaków, gdy liczebność stada jest większa (daje to prawdopodobieństwo rzędu 99 % wykrycia przynajmniej jednej dodatniej surowicy, kiedy 25 % lub więcej jest pozytywna, bez względu na wielkość stada).

b) *Badanie na obecność przeciwciał*

Pojedyncze próbki surowicy krwi należy przebadać na możliwość hamowania hemaglutynacji wirusa influenzy w trakcie wykonywania standartowych testów hamowania hemaglutynacji, jak zostało to określone w rozdziale 6.

Pozostaje rzeczą dyskusyjną, czy do wykonania testu H1 należy użyć 4 czy 8 jednostek hemaglutyniny. Ponieważ w obu przypadkach test jest ważny, to ustalenie dawki hemaglutyniny należy pozostawić do rozważenia laboratoriom krajowym.

Jednakże w przypadku antygenu sytuacja jest inna i ma on wpływ na poziom, na jakim dana surowica uznawana jest za dodatnią — przy zastosowaniu 4 jednostek hemaglutyniny za surowicę dodatnią uznajemy każdą, która osiągnie miano 2^4 lub wyższe, a w stosunku do 8 jednostek hemaglutyniny za surowicę dodatnią uznajemy każdą, która osiąga miano 2^3 lub wyższe.

ROZDZIAŁ 5

Test hemaglutynacji (HA)

Odczynniki

1. Izotoniczny roztwór zbuforowany przy użyciu fosforanu (0,05 M) o pH 7,0—7,4.

2. Krwinki czerwone pochodzące od trzech kurcząt ze stada wolnego od patogenu (jeżeli jest to niemożliwe, to można zastosować krew od ptaków, u których regularnie badana jest ona na obecność przeciwciał influenzy drobiu) i zmieszane z równą objętością płynu Alsevera jako roztworu. Przed użyciem krwinki należy trzykrotnie przepłukać w PBS. Do innego testu polecane jest zastosowanie 1 % zawiesiny (krwinki opłaszczone v/v) w PBS.

3. Laboratorium referencyjne Wspólnoty dostarczy lub zaleci wirusy H5 i H7 charakteryzujące się niską zjadliwością do stosowania jako antygeny standartowe.

Procedura

1. Dawkować po 0,025 ml PBS do każdego otworku w plastikowej płytce do mikrometody (należy używać płytek, których otworki mają w przekroju kształt litery V).

2. Umieścić po 0,025 ml zawiesiny wirusa (np. płynu omoczniowego) w pierwszym otworku.

3. Używać mikropipety do wykonania dwukrotnych rozcieńczeń (od 1:2, do 1:4 096) w poprzek płytki.

4. Dawkować następne 0,025 ml PBS do każdego otworka.

5. Dodać po 0,025 ml 1 % rozcieńczenia czerwonych krwinek do każdego otworka.

6. Wymieszać delikatnie wstrząsając, a następnie umieścić w temperaturze + 4 °C.

7. Odczytu dokonujemy po upływie 30—40 minut po opadnięciu krwinek czerwonych w kontrolach. Odczytywanie polega na obserwacji przechylonej płytki i stwierdzeniu lub nie czerwonych krwinek w kształcie kropli. Otworki niewykazujące hemaglutynacji (HA) powinny być płynne, tak samo jak w otworkach kontroli komórek niezawierających wirusa.

8. Miano HA jest to takie najwyższe rozcieńczenie, które wywołuje aglutynację czerwonych krwinek. Takie rozcieńczenie można uznać za zawierające jedną jednostkę HA (HAU). W celu dokładniejszego określenia miana HA należy test zahamowania hemaglutynacji wykonać używając wirusa o dokładniej-

▼B

szych początkowych rozcieńczeniach np. 1:3, 1:4, 1:5, 1:6 itd. Ta metoda zalecana jest do dokładnego przygotowania antygenu stosowanego do testu zahamowania hemaglutynacji (rozdział 6).

ROZDZIAŁ 6

Test zahamowania hemaglutynacji (HI)

Odczynniki:

1. Roztwór buforu fosforanowego (PBS)

2. Wirus zawierający płyn omoczniowy rozcieńczony w PBS tak, aby zawierał 4 lub 8 jednostek hemaglutynujących (HAU) w 0,025 ml.

3. 1-procentowa zawiesina kurczęcych krwinek czerwonych.

4. Negatywna surowica kontrolna kurczęcia.

5. Pozytywna surowica kontrolna.

Procedura

1. Dawkować po 0,025 ml PBS do każdego otworka na plastikowej płytce do mikrometody (przekrój otworków w kształcie litery V).

2. Umieścić po 0,025 ml surowicy w pierwszym rzędzie otworków na płytce.

3. Używając mikropipety, wykonać dwukrotne rozcieńczenia surowicy w poprzek płytki.

4. Dodać 0,025 ml rozcieńczonego płynu omoczniowego zawierającego 4 lub 8 jednostek hemaglutynujących (HAU).

5. Wymieszać potrząsając płytką i umieścić ją w temperaturze 4 °C na okres minimum 60 minut lub na 30 minut w temperaturze pokojowej.

6. Dodać do wszystkich otworków po 0,025 ml 1 % krwinek czerwonych.

7. Wymieszać delikatnie wstrząsając i umieścić w temperaturze 4 °C.

8. Odczytu dokonujemy po upływie 30-40 minut, kiedy w otworkach kontrolnych opadną krwinki czerwone. Odczytywanie polega na obserwacji pochylonej płytki i stwierdzeniu lub nie czerwonych krwinek w kształcie kropli, w takim samym nasileniu jak w otworkach kontrolnych zawierających wyłącznie krwinki czerwone (0,025 ml) i PBS (0,05 ml).

9. Miano zahamowania hemaglutynacji HI jest to najwyższe rozcieńczenie antysurowicy wywołujące całkowite zahamowanie 4 lub 8 jednostek wirusa (do każdego testu HI należy wykonać miareczkowanie HA w celu potwierdzenia obecności wymaganej liczby jednostek hemaglutynujących).

10. Ważność wyników jest uzależniona od uzyskania miana poniżej 2^3 w przypadku 4 jednostek HAU i 2^2 w przypadku 8 jednostek HAU w kontrolnej surowicy negatywnej i miano jednego rozcieńczenia o znanym mianie kontrolnej surowicy pozytywnej.

ROZDZIAŁ 7

Wskaźnik dożylnej zjadliwości wirusa (IVPI)

1. Zakażony płyn omoczniowy pochodzący z możliwie najniższego pasażu, najlepiej z początkowej izolacji bez uprzedniej selekcji, należy rozcieńczyć 10^1 w jałowym izotonicznym roztworze soli.

2. 0,1 ml rozcieńczonego wirusa należy podać drogą dożylną 10 sześciotygodniowym kurczętom (należy wziąć kurczęta SPF).

3. Kurczęta poddawane są codziennemu badaniu klinicznemu przez okres 10 dni.

4. W trakcie każdego badania kurczęta mogą być uznane za: zdrowe (0), chore (1), bardzo chore (2) lub padłe (3).

5. Zanotować wyniki i obliczyć indeks, tak jak zostało to pokazane na poniższym przykładzie.

▼B

Objawy kliniczne	Dni po zakażeniu										Razem
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Zdrowe	10	2	0	0	0	0	0	0	0	0	12 × 0 = 0
Chore	0	4	2	0	0	0	0	0	0	0	6 × 1 = 6
Bardzo chore (*)	0	2	2	2	0	0	0	0	0	0	6 × 2 = 12
Padłe	0	2	6	8	10	10	10	10	10	10	76 × 3 = 228
											Razem = 246

$$\text{Indeks} = \text{sredni wynik na badanego ptaka} = \frac{246}{100} = 2{,}46$$

(*) badanie kliniczne jest subiektywne, ale najczęściej dotyczyć będzie ptaków wykazujących więcej niż jeden z poniżej wymienionych objawów: objawy ze strony układu oddechowego, osłabienie, biegunka, sinienie widocznych partii skóry lub dzwonków, obrzęk głowy, objawy nerwowe

ROZDZIAŁ 8

Ocena zdolności tworzenia łysinek

1. Najlepiej jest użyć szeregu rozcieńczeń wirusa, aby w ten sposób zapewnić optymalną liczbę łysinek na płytce. W zupełności wystarczą dziesięciokrotne rozcieńczenia do 10^{-7} w PBS.

2. Zlewająca się jednowarstwowa hodowla komórek zarodków kurzych lub odpowiednia stała linia komórkowa (np. komórki z nerek bydła) powinna zostać przygotowana na 5-centymetrowych płytkach Petriego.

3. 0,2 ml każdego rozcieńczenia wirusa należy dodać do każdej z dwóch płytek Petriego, a następnie adsorbować przez okres 30 minut.

4. Po trzykrotnym przepłukaniu PBS-em zakażoną hodowlę komórkową zalewamy odpowiednim, zawierającym 1 % agaru i 0,01 mg/ml trypsyny lub bez trypsyny. Nie należy w żadnym przypadku dodawać surowicy do roztworu.

5. Po 72-godzinnej inkubacji w temperaturze 37 °C łysinki powinny osiągnąć odpowiednią wielkość. Będą one jeszcze lepiej widoczne, gdy zdejmiemy agar i zabarwimy jednowarstwową hodowlę komórek przy użyciu fioletu krystalicznego (0,5 %) w 25 % v/v roztworze alkoholu etylowego.

6. Wszystkie wirusy powinny tworzyć jasne łysinki po inkubacji w płynie zawierającym trypsynę. Kiedy nie ma trypsyny, wówczas łysinki tworzone są przez wirusy zjadliwe dla kurcząt.

ROZDZIAŁ 9

Podwójna immunodyfuzja

Najlepszą metodą wykazania obecności wirusa influenzy A jest stwierdzenie nukleokapsydu lub antygenów macierzystych, które posiadają wszystkie wirusy influenzy A. Można je najczęściej wykazać odczynem podwójnej immunodyfuzji z użyciem skoncentrowanego wirusa lub wyciągów z zakażonych błon kosmówkowo-omoczniowych.

Przygotowanie odpowiednio skoncentrowanego wirusa można wykonać poprzez ultrawirowanie płynów kosmówkowo-omoczniowych oraz rozbicie wirusa celem uwolnienia wewnętrznego nukleokapsydu oraz antygenów macierzystych, używając detergentu sarkozyny sodowo-lauriolowej. Można również przeprowadzić precypitację kwasem, dodając 1N HCl do zakażonego płynu omoczniowego w ten sposób, aby uzyskać końcowe pH 3,5-4,0, następnie schłodzić do temperatury 0 °C przez jedną godzinę, a w końcu odwirować przy 1 000 g przez 10 minut.

Supernatant można wyrzucić, a precypitat, w którym jest wirus, należy zawiesić w minimalnej objętości buforu glicynowo-sarkozynowego (1 % sarkozyny sodowo-lauriolowej zbuforowanej do pH 9,0 przy użyciu 0,5M glicyny. Tak przygotowany materiał zawiera nukleokapsyd, jak również antygeny macierzyste.

Beard (1970) opisał metodę przygotowania antygenu zawierającego dużą koncentrację nukleokapsydu z błon kosmówkowo-omoczniowych pobranych z zakażonych jaj. Metoda ta polega na: pobraniu błon kosmówkowo-omoczniowych zakażonych hemaglutyninopozytywnych jaj, roztarciu lub zhomogenizowaniu błon,

▼B

trzykrotnym zamrożeniu oraz rozmrożeniu oraz wirowaniu przy 1 000 g przez 10 minut. Osad należy wyrzucić, a supernatant poddać działaniu 0,1-procentowej formaliny, uzyskując w ten sposób antygen.

Którykolwiek z tych dwóch antygenów może być użyty do wykonania odczynu podwójnej immunodyfuzji przy użyciu 1 % agarozy lub agaru, żeli zawierających 8,0 % chlorku sodu i zbuforowanych 0,1M buforem fosforanowym do pH 7,2. Obecność wirusa influenzy A wykazujemy wystąpieniem linii precypitacyjnych wytworzonych przez antygen i znaną surowicę pozytywną w stosunku do znanej pozytywnej antysurowicy zlewających się i tworzących linię identyczności.

▼B

ZAŁĄCZNIK IV

WYKAZ KRAJOWYCH LABORATORIÓW ZAJMUJĄCYCH SIĘ INFLUENZĄ DROBIU

Belgia	Institut national de recherches vétérinaires, Groeselenberg 99, B-1180 Brussels
Dania	National Veterinary Laboratory, Poultry Disease Division, Hangoevej 2, DK-8200 Aarhus N
Niemcy	Institut für Kleintierzucht der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft, Braunschweig-Voelkenrode, Postfach 280, D-3100 Celle
Francja	Centre national d'études vétérinaires et alimentaires — Laboratoire central de recherches avicoles et porcines, BP 53, F-22440 Ploufragan
Grecja	Ινστιτούτο Λοιμωδών και Παρασιτικών Νοσημάτων 66, 26ης Οκτωβρίου, GR-54627 Θεσσαλονίκη Institute of Infections and Parasitological Diseases, 66, 26th October Street, 54627 Thessaloniki
Irlandia	Veterinary Research Laboratory, Abbotstown, Castleknock, Dublin 15
Włochy	Instituto Patologie Aviaire, Facoltà di Medicina Veterinaria, Univesità di Napoli, via Aniezzo, Falcone 394, I-80127 Napoli F Delpino 1
Luksemburg	Institut national de recherches vétérinaires, Groeseleneberg 99, B-1180 Brussels
Niderlandy	Centraal Diergeneeskundig Instituut, Vestiging Virologie, Houtribweg 39, NL-8221 RA Lelystad
Portugalia	Laboratório Nacional de Investigação Veterinária (LNIV), Estrada de Benfica 701, P-1500 Lisbon
Hiszpania	Centro Nacional de Referencia para la Peste Aviar es el Laboratorio Nacional de Sanidad y Producción Animal de Barcelona, Zona Franca Circunvalación-Tramo 6, Esquina Calle 3, Barcelona
Zjednoczone Królestwo	Central Veterinary Laboratory, New Haw, UK-Weybridge, Surrey KT15 3NB
▼A1	
Austria	Bundesanstalt für Virusseuchenbekämpfung bei Haustieren, Wien-Hetzzendorf
Finlandia	Eläinlääkintä-ja elintarvikelaitos, Helsinki/ Anstalten för veterinärmedicin och livsmedel, Helsingfors
Szwecja	Statens veterinärmedicinska anstalt, Uppsala
▼A2	
Republika Czeska	Státní veterinární ústav Praha, Sídlištní 24/136, 165 03 Praha 6
Estonia	Veterinaar- ja Toidulaboratoorium, Väike-Paala 3, 11415 Tallinn
Cypr	Εργαστήριο Αναφοράς για τις Ασθένειες των Ζώων, Κτηνιατρικές Υπηρεσίες, 1417 Λευκωσία(National Reference Laboratory for Animal Health Veterinary Services, CY-1417 Nicosia)
Łotwa	Valsts veterinārmedicīnas diagnostikas centrs, Lejupes iela 3, LV-1076 Rīga
Litwa	Nacionalinė veterinarijos laboratorija, J. Kairiūkščio g. 10, LT-2021 Vilnius
Węgry	Országos Állategészségügyi Intézet (OÁI), Pf. 2., Tábornok u. 2., HU-1581 Budapest
Malta	Istituto Zooprofilatico Sperimentale delle Venezie, Padova, Italien

▼A2

Polska	Laboratorium Zakładu Chorób Drobiu Państwowego Instytutu Weterynaryjnego, Al. Partyzantów 57, PL-24-100 Puławy
Słowenia	Nacionalni veterinarski inštitut, Gerbičeva 60, SI-1000 Ljubljana
Słowacja	Štátny veterinárny ústav, Pod dráhami 918, SK-96086 Zvolen

▼B

ZAŁĄCZNIK V

LABORATORIUM REFERENCYJNE WSPÓLNOTY ZAJMUJĄCE SIĘ INFLUENZĄ DROBIU

Nazwa laboratorium

Central Veterinary Laboratory
New Haw,
UK-Weybridge,
Surrey KT 15 3NB,
Zjednoczone Królestwo

Laboratorium referencyjne WE ma następujące zadania i obowiązki:

1. koordynowanie w porozumieniu z Komisją Unii Europejskiej zastosowanych metod diagnostyki influenzy drobiu w Państwach Członkowskich, w szczególności poprzez:
   a) określanie rodzajów, przechowywania i dostarczania szczepów wirusa influenzy drobiu do prowadzenia badań serologicznych oraz przygotowywania antysurowic;
   b) dostarczenie standardowych surowic i innych odczynników wzorcowych krajowym laboratoriom referencyjnym w celu dokonania normalizacji badań i odczynników jakie będą stosowane w Państwach Członkowskich;
   c) tworzenie i gromadzenie banku szczepów i izolatów wirusów influenzy drobiu;
   d) okresowe organizowanie porównawczych badań diagnostycznych na poziomie wspólnotowym;
   e) gromadzenie i zestawienie danych i informacji o stosowanych metodach diagnostycznych oraz wyników testów przeprowadzanych we Wspólnocie;
   f) określanie właściwości wydzielonych szczepów wirusów influenzy drobiu przy użyciu najnowszych dostępnych metod w celu lepszego zrozumienia epizootiologii influenzy drobiu, jak również by mieć wgląd w epizootiologię wirusa, a głównie w bardzo patogenne i potencjalnie patogenne jego szczepy;
   g) bieżące nadzorowanie rozwoju związanego ze zwalczaniem, zapobieganiem i epizootiologią influenzy drobiu na całym świecie;
   h) posiadanie odpowiedniego doświadczenia w dziedzinie wirusa influenzy drobiu, jak i innych pokrewnych wirusów w celu przeprowadzenia szybkiej diagnostyki różnicowej;
   i) posiadanie odpowiedniego poziomu wiedzy w zakresie przygotowywania i stosowania immunopreparatów weterynaryjnych w zapobieganiu i zwalczaniu influenzy drobiu;
2. czynny udział w rozpoznawaniu ognisk grypy ptaków na terenie Państw Członkowskich poprzez otrzymywanie wydzielonych szczepów wirusa do potwierdzenia diagnostyki, charakterystyki i badań epizootycznych. Laboratorium powinno w szczególności umieć wykonać analizę sekwencji nukleotydów w celu określenia sekwencji wyprowadzonych aminokwasów zasadowych w miejsce rozszczepienia cząsteczki hemaglutyniny podtypów H5 lub H7 wirusów influenzy drobiu.
3. ułatwianie szkolenia i dokształcania specjalistów w zakresie diagnostyki laboratoryjnej w celu jej harmonizacji na terenie Wspólnoty.

▼B

ZAŁĄCZNIK VI

KRYTERIA JAKIE POWINIEN SPEŁNIAĆ PLAN INTERWENCYJNY

Plany interwencyjne spełniają co najmniej następujące kryteria:

1. utworzenie centrum kryzysowego na szczeblu krajowym, które koordynowało będzie wszystkie działania mające na celu zwalczenie choroby w danym Państwie Członkowskim;
2. należy sporządzić wykaz lokalnych centrów kontroli, zapewniając im odpowiednie środki do koordynowania zwalczania choroby na szczeblu lokalnym;
3. należy przygotować szczegółową informację dotyczącą personelu zajmującego się stosowaniem środków zwalczania choroby, jego umiejętności i zakresu obowiązków;
4. każde lokalne centrum zwalczania choroby musi mieć zapewnioną możliwość szybkiego skontaktowania się z osobami/organizacjami, które są bezpośrednio lub pośrednio zaangażowane w działania związane z ogniskiem choroby;
5. należy zapewnić odpowiednie materiały i sprzęt, tak aby można było w odpowiedni sposób przeprowadzić działania zwalczania choroby;
6. należy opracować szczegółowe instrukcje dotyczące przeprowadzenia działań w przypadkach podejrzenia lub potwierdzenia zakażenia lub zarażenia, zapewniając jednocześnie odpowiednie środki usuwania zwłok;
7. należy opracować programy szkoleń w celu rozwijania umiejętności personelu w zakresie zwalczania chorób i procedur administracyjnych;
8. laboratoria diagnostyczne muszą dysponować wyposażeniem do przeprowadzenia badań pośmiertnych, konieczną zdolnością dokonywania badań serologicznych, histologicznych itd., jak również być w ciągłej gotowości do postawienia szybkiej diagnozy. Należy również zapewnić możliwość szybkiego przesyłania materiałów do badań;
9. należy dokładnie określić zapotrzebowanie na szczepionki przeciwko influenzie drobiu, jakie będzie wymagane w przypadku podjęcia szczepień interwencyjnych;
10. należy zapewnić niezbędne zabezpieczenia prawne w celu wprowadzenia w życie planów interwencyjnych.