

Tento dokument slouží výhradně k informačním účelům a nemá žádný právní účinek. Orgány a instituce Evropské unie nenesou za jeho obsah žádnou odpovědnost. Závazná znění příslušných právních předpisů, včetně jejich právních východisek a odůvodnění, jsou zveřejněna v Úředním věstníku Evropské unie a jsou k dispozici v databázi EUR-Lex. Tato úřední znění jsou přímo dostupná přes odkazy uvedené v tomto dokumentu

► **B****SMĚRNICE RADY 92/66/EHS**

ze dne 14. července 1992,

kterou se zavádějí opatření Společenství pro tlumení newcastleské choroby

(Úř. věst. L 260, 5.9.1992, s. 1)

Ve znění:

		Úřední věstník		
		Č.	Strana	Datum
► <u>M1</u>	Nařízení Rady (ES) č. 806/2003 ze dne 14. dubna 2003	L 122	1	16.5.2003
► <u>M2</u>	Směrnice Rady 2006/104/ES ze dne 20. listopadu 2006	L 363	352	20.12.2006
► <u>M3</u>	Směrnice Rady 2008/73/ES ze dne 15. července 2008	L 219	40	14.8.2008
► <u>M4</u>	Směrnice Evropského parlamentu a Rady (EU) 2018/597 ze dne 18. dubna 2018	L 103	4	23.4.2018

Ve znění:

► <u>A1</u>	Akt o podmínkách přistoupení Rakouské republiky, Finské republiky a Švédského království a o úpravách smluv, na nichž je založena Evropská unie	C 241	21	29.8.1994
► <u>A2</u>	Akt o podmínkách přistoupení České republiky, Estonské republiky, Kyprské republiky, Lotyšské republiky, Litevské republiky, Maďarské republiky, Republiky Malta, Polské republiky, Republiky Slovinsko a Slovenské republiky a o úpravách smluv, na nichž je založena Evropská unie	L 236	33	23.9.2003

▼B**SMĚRNICE RADY 92/66/EHS****ze dne 14. července 1992,****kterou se zavádějí opatření Společenství pro tlumení newcastleské choroby***Článek 1*

Tato směrnice bez dotčení předpisů Společenství pro obchod uvnitř Společenství upravuje opatření Společenství pro tlumení při výskytu newcastleské choroby

- a) v drůbežářských hospodářstvích;
- b) u poštovních holubů a jiných ptáků držených v zajetí.

Tato směrnice se nepoužije při výskytu newcastleské choroby u volně žijících ptáků; v tomto případě však dotýčný členský stát Komisi sdělí opatření jím učiněná.

Článek 2

Ve smyslu této směrnice se v případě potřeby použijí definice pojmů článku 2 směrnice Rady 90/539/EHS ze dne 15. října 1990 o veterinárních podmínkách pro obchod s drůbeží a násadovými vejci uvnitř Společenství a jejich dovoz ze třetích zemí ⁽¹⁾.

Kromě toho se ve smyslu této směrnice rovněž rozumí:

- a) „nakaženou drůbeží“ drůbež,
 - u níž byla newcastleská choroba úředně potvrzena zkouškou schválenou laboratoří nebo
 - u níž – v případě druhotných nebo následných infekcí – existují klinické příznaky nebo posmrtné léze, které umožňují usuzovat na newcastleskou chorobu;
- b) „drůbeží podezřelou z infekce“ drůbež s klinickými příznaky nebo posmrtnými lézemi, které zakládají podezření na newcastleskou chorobu;
- c) „drůbeží podezřelou z kontaminace“ drůbež, která možná přímo či nepřímo přišla do styku s virem choroby;
- d) „kuchyňským odpadem“ odpad z kuchyní a restaurací nebo odpad z masného průmyslu;
- e) „příslušným orgánem“ příslušný orgán ve smyslu čl. 2 bod 6 směrnice 90/425/EHS ⁽²⁾;
- f) „úředním veterinárním lékařem“ veterinární lékař určený příslušným orgánem;

⁽¹⁾ Úř. věst. L 303, 31.10.1990, s. 6. Směrnice naposledy pozměněna směrnicí 91/496/EHS (Úř. věst. L 268, 24.9.1991, s. 56).

⁽²⁾ Směrnice Rady 90/425/EHS ze dne 26. června 1990 o veterinárních a zootechnických kontrolách v obchodu s některými živými zvířaty a produkty uvnitř Společenství s cílem dotvoření vnitřního trhu (Úř. věst. L 224, 18.8.1990, s. 29). Směrnice naposledy pozměněna směrnicí 91/496/EHS (Úř. věst. L 268, 24.9.1991, s. 56).

▼B

- g) „poštovními holuby“ holubi, kteří jsou nebo mají být přemístěni ze svého holubníku za účelem následného vypuštění, aby letěli ke svému holubníku nebo na jiné místo určení;
- h) „holubníkem“ zařízení sloužící k držení nebo chovu holubů.

Článek 3

Členské státy zajistí, aby příslušný orgán byl neprodleně informován o podezření na vypuknutí newcastleské choroby.

Článek 4

1. Nachází-li se v některém hospodářství drůbež, u níž existuje podezření z infekce nebo kontaminace newcastleskou chorobou, členské státy zajistí, aby úřední veterinární lékař neprodleně provedl úřední šetření, aby toto podezření potvrdil nebo vyvrátil; obzvláště odebere nebo zařídí odběr vzorků pro potřebná laboratorní vyšetření.
2. Bezprostředně po oznámení podezření příslušný orgán postaví hospodářství pod úřední dozor a zařídí obzvláště
 - a) aby bylo provedeno sčítání ve všech kategoriích drůbeže v hospodářství s udáním počtu uhynulých zvířat a počtu zvířat s příznaky a bez příznaků v každé kategorii. Toto sčítání je třeba udržovat v nejaktuálnějším stavu, aby byla podchycena všechna zvířata vylíhnuvší se nebo uhynulá v podezřelém období; tyto údaje je třeba na vyžádání předložit příslušnému orgánu a mohou být při každé kontrole přezkoumány;
 - b) aby veškerá drůbež hejna hospodářství byla držena buďto v normálních prostorech nebo na jiném místě umožňujícím oddělené držení bez kontaktu s jinou drůbeží;
 - c) aby bylo zakázáno přemísťování drůbeže z hospodářství a do hospodářství;
 - d) že musí být opatřeno povolení příslušného orgánu pro
 - každý provoz osob a vozidel a přemísťování jiných zvířat z hospodářství a do hospodářství,
 - přeprava masa a mrtvých těl drůbeže, krmiv, předmětů, odpadků, hnoje, podestýlky, močůvky a jiných materiálů, které mohou být kontaminovány a mohly by přenášet newcastleskou chorobu, z hospodářství a do hospodářství;
 - e) aby bylo zakázáno přemísťování vajec z hospodářství, s výjimkou vajec, která se bezprostředně přemísťují do zařízení podle čl. 6 odst. 1 směrnice 89/437/EHS ⁽¹⁾ schváleného pro produkci a/nebo zpracování vaječných produktů a přepravují podle povolení vystaveného příslušným orgánem v souladu s požadavky přílohy I;

⁽¹⁾ Směrnice Rady 89/437/EHS ze dne 20. června 1989 o hygienických a zdravotních otázkách výroby a uvádění na trh vaječných výrobků (Úř. věst. L 212, 22.7.1989, s. 87). Směrnice naposledy pozměněna směrnicí 89/662/EHS (Úř. věst. L 395, 30.12.1989, s. 13).

▼B

f) aby při vchodech a východech u prostor pro drůbež a hospodářských budov byly používány vhodné desinfekční prostředky;

g) bylo prováděno epizootologické vyšetření podle článku 7.

3. Do doby, než budou přijata úřední opatření podle odstavce 2, učiní majitel nebo chovatel drůbeže podezřelé z choroby všechna vhodná opatření, aby vyhověl předpisům odstavce 2 s výjimkou písmene g).

4. Příslušný orgán může použití opatření podle odstavce 2 rozšířit na jiná hospodářství, jestliže situace, uspořádání hospodářství nebo kontakty s hospodářstvím, kde existuje podezření z choroby, vzbuzují obavy z možnosti kontaminace.

5. Opatření podle odstavců 1 a 2 se zruší teprve tehdy, až podezření na newcastelskou chorobu bude vyvráceno úředním veterinárním lékařem.

Článek 5

1. Členské státy zajistí, aby příslušný orgán, jestliže byla v některém hospodářství úředně potvrzena newcastleská choroba, navíc k opatřením podle čl. 4 odst. 2 nařídil následující opatření:

a) neprodlené usmrcení veškeré drůbeže v hospodářství a neškodné zničení uhynulých a usmrčených zvířat a všech existujících vajec tak, aby bylo minimalizováno nebezpečí dalšího šíření choroby;

b) podle instrukcí úředního veterinárního lékaře neškodné zničení nebo odpovídající ošetření všech látek a odpadů, jako jsou krmiva, podestýlka a hnůj, které mohou být kontaminovány, přičemž ošetření musí skýtat záruku usmrcení případně přítomných virů newcastleské choroby;

c) pokud možno zjištění a neškodné zničení veškerého drůbežího masa pocházejícího z porážek v nakaženém hospodářství v době domnělé inkubační doby;

d) zjištění a neškodné zničení násadových vajec snesených v nakaženém hospodářství a dodaných z nakaženého hospodářství v době domnělé inkubační doby nebo úřední dozor nad kuřaty z těchto vajec již vylíhlými; pokud možno zjištění a neškodné zničení konzumních vajec snesených v nakaženém hospodářství a dodaných z nakaženého hospodářství v době domnělé inkubační doby, pokud nebyla předtím řádně desinfikována;

e) po provedení opatření podle písmen a) a b) čištění a desinfekce prostor použitých pro umístění drůbeže a jejich bezprostředního okolí, přepravních prostředků a všech ostatních předmětů a materiálů, které by mohly být kontaminovány, podle článku 11;

f) po provedení opatření podle písmene e) dodržení čekací lhůty nejméně 21 dnů před opětovným zavedením hejn;

g) provedení epizootologického vyšetření podle článku 7.

▼B

2. Příslušný orgán může použití opatření podle článku 1 rozšířit na sousední hospodářství, jestliže situace, uspořádání hospodářství nebo kontakty s hospodářstvím, kde byla choroba potvrzena, vzbuzují obavy z možné kontaminace.

3. Jestliže byl v drůbežím hejnu, které nevykazuje klinický příznak newcastleské choroby, izolován virový kmen newcastleské choroby s indexem intracerebrální patogenity (ICPI) vyšším než 0,7 a nižším než 1,2 a jestliže referenční laboratoř Společenství uvedená v článku 15 prokázala, že dotyčný virový izolát pochází z oslabené živé očkovací látky proti newcastleské chorobě, může příslušný orgán připustit výjimku z požadavků odstavce 1 písmena a) až f), pokud je dotyčné hospodářství na 30 dnů postaveno pod dozor; příslušný orgán přitom musí vyžadovat obzvláště aby

— se použil čl. 4 odst. 2 písm. a), b), d), e) a f),

— drůbež neopustila hospodářství, ledaže by byla přímou cestou přemísťována do jatek určených příslušným orgánem.

Příslušný orgán příslušný pro tato jatka je nutno uvědomit o úmyslu přemístit tam drůbež na porážku, a drůbež je nutno po příjezdu do jatek držet a porážet odděleně od ostatní drůbeže.

4. Čerstvé maso drůbeže uvedené v odstavci 3 musí nést označení zdravotní nezávadnosti podle čl. 5 odst. 1 směrnice 91/494/EHS.

5. Ustanovení odstavce 3 je třeba později se zohledněním pokroku vědeckého výzkumu přezkoumat ohledně přijetí harmonizovaných pravidel pro používání očkovacích látek proti newcastleské chorobě ve Společenství.

Článek 6

Pro nakažená hospodářství, v nichž je odděleně drženo dvě nebo více drůbežích hejn, může příslušný orgán pro zdravá hejna na základě kritérií stanovených Komisí postupem podle článku 25 připustit výjimky z požadavků podle čl. 5 odst. 1, pokud úřední veterinární lékař potvrdí, že tato hejna jsou umístěna, ošetřována a krmena dokonale odděleně, takže virus choroby nemůže být přenesen na jiná hejna.

Článek 7

1. Epizootologická šetření se vztahují na

— určení pravděpodobné doby výskytu choroby v hospodářství nebo holubníku,

— zjištění domnělého zdroje choroby v hospodářství nebo holubníku a zjištění dalších hospodářství nebo holubníků, jejichž hejna drůbeže, holubů nebo jiných ptáků chovaných v zajetí se rovněž mohlanakazit nebo nakazit z tohoto zdroje,

▼B

— přemísťování osob a vozidel, drůbeže, holubů, jiných ptáků drženských v zajetí a jiných zvířat, vajec, masa a mrtvých těl drůbeže, jakož i předmětů a materiálů, kterými býval mohl být virus choroby zavlečen do nebo z dotyčných hospodářství nebo holubníků.

2. Pro rozsáhlou koordinaci všech opatření pro zajištění co nejrychlejší eradikace newcastleské choroby a k provádění epizootologického šetření se zřídí krizové středisko.

Všeobecné předpisy pro zřizování národních krizových center a krizového centra Společenství ustanovuje Rada kvalifikovanou většinou na návrh Komise.

Článek 8

1. Má-li úřední veterinární lékař odůvodněné podezření, že se hejno drůbeže hospodářství nakazilo osobami, zvířaty, vozidly nebo z jiných zdrojů, postaví se hospodářství pod úřední dozor podle odstavce 2.

2. Úřední dozor slouží k neprodlenému vyjasnění podezření na chorobu, ke zjištění a kontrole přemísťování drůbeže a případně k zavedení opatření podle odstavce 3.

3. Je-li hospodářství pod úředním dozorem podle odstavců 1 a 2, zakáže příslušný orgán přemísťování drůbeže z tohoto hospodářství, ledaže by zvířata byla pod úředním dozorem dopravována k okamžité porážce na jatka. Tomuto povolení musí předcházet klinické vyšetření drůbeže úředním veterinárním lékařem, kterým se prokázalo, že dotyčné hospodářství je prosté newcastleské choroby. Omezení přemísťování, stanovené v tomto odstavci, se vyhláší na období 21 dnů od posledního možného dne kontaminace, nejméně však na sedm dnů.

4. Považuje-li příslušný orgán, že to podmínky dovolují, může opatření podle tohoto článku omezit na část hospodářství a drůbež v ní se nacházející, pokud je dotyčná drůbež umístěna dokonale odděleně a pečuje o ni a krmit ji příslušný personál.

5. Má-li úřední veterinární lékař odůvodněné podezření, že jsou poštovní holubi nebo holubník nakaženi virem newcastleské choroby, zařídí, aby holubník byl podroben omezením; k nim patří, že poštovní holubi po dobu 21 dnů nesmí opustit holubník.

Článek 9

1. Bezprostředně po úředním potvrzení newcastleské choroby u drůbeže členské státy zajistí, aby příslušný orgán vymezil uzavřené území kolem nakaženého hospodářství, sestávající z ochranného pásma s minimálním poloměrem 3 km a pásma dozoru s minimálním poloměrem 10 km. Přitom je třeba brát v úvahu zeměpisné, správní, ekologické a epizootologické faktory a kontrolní struktury mající souvislost s newcastleskou chorobou.

▼B

2. V ochranném pásmu se použijí tato opatření:
- a) zjištění všech hospodářství chovajících drůbež uvnitř pásma;
 - b) pravidelné kontrolní návštěvy ve všech hospodářstvích chovajících drůbež, klinická vyšetření drůbeže a případný odběr vzorků pro laboratorní vyšetření, jakož i zaznamenání kontrolních návštěv a výsledků kontrol;
 - c) uzavření drůbeže v chovných prostorách nebo na jiném místě umožňujícím oddělení zvířat;
 - d) použití vhodných desinfekčních prostředků na příjezdových cestách k hospodářstvím;
 - e) kontrola pohybu osob zacházejících s drůbeží, jatečnými těly drůbeže a vejci a provozu vozidel přepravujících drůbež, jatečná těla drůbeže a vejce uvnitř pásma; obecně je zakázána přeprava drůbeže – s výjimkou tranzitu po velkých dálkových silnicích a železničních tratích;
 - f) zákaz přemísťování drůbeže a násadových vajec z hospodářství, ledaže by příslušný orgán přemístění povolil přepravu
 - i) drůbeže k neprodlené porážce na jatkách ležících pokud možno v nakaženém pásmu nebo, pokud to není možné, v jiných jím jmenovaných jatkách mimo pásmo. Maso z takové porážky je třeba opatřit zvláštním označením zdravotní nezávadnosti podle čl. 5 odst. 1 směrnice 91/494/EHS ⁽¹⁾;
 - ii) jednodenních kuřat nebo dospívající plemenné drůbeže do hospodářství v pásmu dozoru, v němž se nenachází jiná drůbež. Členské státy, které nejsou schopny zajistit přemístění jednodenních kuřat nebo dospívající plemenné drůbeže do hospodářství v pásmu dozoru, však postupem podle článku 25 mohou nechat jmenovaná kuřata a jmenovanou drůbež přemístit do hospodářství mimo pásmo dozoru. Taková hospodářství je třeba umístit pod úřední kontrolu podle čl. 8 odst. 2;

násadových vajec do líhně určené příslušným orgánem, přičemž vejce a obaly je nutno před odesláním desinfikovat.

 - iii) Přemístění podle bodů i), ii) a iii) se musí dít přímou cestou pod úředním dozorem. Smí se povolit teprve po hygienické kontrole hospodářství úředním veterinárním lékařem. Použité přepravní prostředky je třeba před použitím a po použití očistit a desinfikovat;
- g) zákaz neoprávněné přepravy a rozmetávání stájového a tekutého hnoje;

⁽¹⁾ Směrnice Rady 91/494/EHS ze dne 26. června 1991 o veterinárních předpisech pro obchod s čerstvým drůbežím masem uvnitř Společenství a jeho dovoz ze třetích zemí (Úř. věst. L 268, 24.9.1991, s. 35).

▼B

h) zákaz výstav, trhů, přehlídek zvířat a ostatních hromadných akcí pro drůbež a jiné ptáky.

3. Opatření učiněná v ochranném pásmu se zruší nejdříve po uplynutí doby 21 dnů po prvním čištění a desinfekci nakaženého hospodářství podle článku 11. Poté se ochranné pásmo včlení do pásma dozoru.

4. V pásmu dozoru se použijí tato opatření:

a) zjištění všech hospodářství chovajících drůbež v daném pásmu;

b) kontrola přemísťování drůbeže a násadových vajec uvnitř pásma;

c) během období prvních 15 dnů zákaz přemísťování vajec z pásma, ledaže by drůbež byla přímou cestou dopravena na jatka mimo pásmo dozoru, určená příslušným orgánem. Maso z takové porážky je třeba opatřit zvláštním označením zdravotní nezávadnosti podle článku 5 směrnice 91/494/EHS;

d) zákaz přemísťování násadových vajec z pásma dozoru, ledaže by byla přemísťována do líhně určené příslušným orgánem. Před zasláním je nutno vejce a obaly desinfikovat;

e) zákaz přemísťování stájového a tekutého hnoje z pásma;

f) zákaz výstav, trhů, přehlídek zvířat a ostatních hromadných akcí pro drůbež a jiné ptáky;

g) bez dotčení opatření podle písmen a) a b) zákaz přepravy drůbeže uvnitř pásma s výjimkou tranzitu po velkých dálnkových silnicích a železničních tratích.

5. Opatření učiněná v pásmu dozoru se zruší nejdříve 30 dnů po prvním čištění a desinfekci nakaženého hospodářství podle článku 11.

6. Nachází-li se tato pásma na území několika členských států, spolupracují příslušné orgány dotyčných členských států při vymezování pásem určených v odstavci 1. Případně se ochranné pásmo a pásmo dozoru vymezí postupem podle článku 25.

7. Potvrdí-li se při epizootologickém vyšetření podle článku 7, že ohnisko je způsobeno infekcí, u které nedochází k šíření, lze snížit rozsah a trvání ochranného pásma a pásma dozoru postupem podle článku 25.

Článek 10

Členské státy zajistí, aby

a) příslušný orgán určil postup, pomocí něhož je kdykoliv možné vysledovat přemísťování drůbeže, vajec a ptáků chovaných v zajetí;

b) majitel nebo držitel drůbeže a/nebo poštovních holubů a/nebo v zajetí chovaných ptáků na vyžádání příslušného orgánu podal informaci o přírůstcích a úbytcích drůbeže, vajec a poštovních holubů ve svém hospodářství, jakož i o soutěžích nebo výstavách, jichž se poštovní holubi zúčastnili;

▼B

- c) osoby, které přepravují drůbež, vejce, poštovní holuby nebo ptáky chované v zajetí nebo s nimi obchodují, mohly příslušnému orgánu sdělit informace o přemísťování dopravovaných nebo obchodovaných zvířat a vajec, jakož i předkládat odpovídající doklady.

Článek 11

Členské státy zajistí, aby

- a) příslušný orgán úředně povolil desinfekční prostředky, kterých se má používat, a jejich koncentraci;
- b) čisticí a desinfekční práce probíhaly pod úředním dozorem
 - i) podle úředních veterinárních instrukcí;
 - ii) metodou čištění a desinfekce pro nakažená hospodářství podle přílohy II.

Článek 12

Pro odběr vzorků a laboratorní vyšetření ke zjištění viru newcastleské choroby se použijí ustanovení přílohy III.

Článek 13

Členské státy zajistí, aby příslušný orgán učinil potřebná účelná opatření k informování obyvatel ochranných pásem a pásem dozoru o platných omezeních a učinění všech opatření potřebných k prosazení těchto opatření.

Článek 14

1. Členské státy zajistí, aby v každém členském státě byla určena tato zařízení:
 - a) národní laboratoř, technicky a personálně vybavená tak, aby byla kdykoliv možná obsáhlá typová diferenciací viru choroby podle antigenních znaků a biologických vlastností a potvrzení výsledků regionálních diagnostických laboratoří;
 - b) národní laboratoř, v níž se testují činidla k použití v oblastních diagnostických laboratořích;
 - c) národní institut nebo laboratoř pro kontrolu účinnosti a stupně čistoty očkovacích látek, které se v dotyčném členském státě používají k profylaktickému očkování nebo které je třeba s ohledem na nouzová opatření držet v zásobě.

▼M3

2. Národní laboratoře uvedené v odstavci 1 jsou příslušné pro koordinaci norem a diagnostických metod, použití činidel a testování očkovacích látek.
3. Národní laboratoře uvedené v odstavci 1 jsou příslušné pro koordinaci norem a diagnostických metod používaných v jednotlivých diagnostických laboratořích pro newcastleskou chorobu v daném členském státě. Za tímto účelem:

▼ B

- a) mohou národním laboratorím poskytnout diagnostická činidla;
- b) kontrolují jakost všech diagnostických činidel používaných v dotyčném členském státě;
- c) organizují pravidelné provádění srovnávacích testů;
- d) drží v zásobě virové izoláty newcastleské choroby z potvrzených případů choroby dotyčného členského státu;
- e) potvrzují pozitivní výsledky regionálních diagnostických laboratoří.

▼ M3

4. Národní laboratoře uvedené v odstavci 1 spolupracují s referenční laboratoří Společenství uvedenou v článku 15.

5. Členské státy vedou aktuální seznamy národních laboratoří nebo institutů uvedených v odstavci 1 a zpřístupní je ostatním členským státům a veřejnosti.

Podrobná pravidla pro jednotné uplatňování tohoto odstavce mohou být přijata postupem podle čl. 25 odst. 2.

▼ M4*Článek 15*

1. Komise určí prostřednictvím prováděcích aktů referenční laboratoř Evropské unie pro newcastleskou chorobu. Tyto prováděcí akty se přijmou přezkumným postupem podle článku 25.

2. Referenční laboratoř Evropské unie pro newcastleskou chorobu má tyto úkoly a povinnosti:

- a) v konzultaci s Komisí koordinovat metody diagnostiky newcastleské choroby v členských státech, zejména těmito způsoby:
 - i) specifikace, uchovávání a poskytování kmenů viru newcastleské choroby pro sérologické testy a pro výrobu anti-sér;
 - ii) dodávání standardních sér a jiných referenčních činidel národním referenčním laboratorím pro standardizaci testů a činidel používaných členskými státy;
 - iii) vytvoření a uchovávání sbírky kmenů a izolátů viru newcastleské choroby;
 - iv) organizace pravidelných srovnávacích testů diagnostických postupů na úrovni Unie;
 - v) shromažďování a vyhodnocování údajů a informací o používaných diagnostických metodách a o výsledcích testů prováděných v Unii;
 - vi) charakterizování izolátů virů newcastleské choroby nejmodernějšími metodami pro získání rozsáhlých znalostí o epidemiologii newcastleské choroby;

▼M4

- vii) sledování vývoje v oblasti dozoru nad newcastleskou chorobou a související epidemiologie a prevence na celém světě;
 - viii) shromažďování odborných znalostí o viru newcastleské choroby a jiných relevantních virech pro umožnění rychlých diferenciálních diagnóz;
 - ix) získávání dokonalého know-how o přípravě a používání veterinárních imunologických preparátů k eradikaci a tlumení newcastleské choroby;
- b) aktivně pomáhat při zjišťování ohnisek newcastleské choroby v členských státech získáváním izolátů viru pro potvrzení diagnózy, určení typu viru a epidemiologické studie;
- c) podporovat odbornou přípravu nebo rekvalifikaci odborníků na laboratorní diagnostiku s cílem postupně harmonizovat diagnostické techniky v rámci celé Unie.

▼B*Článek 16*

1. Členské státy zajistí, aby
 - a) očkování proti newcastleské chorobě bylo možno provést úředně schválenými očkovacími látkami v rámci preventivních opatření nebo doplňkově k opatřením pro tlumení učiněným při vypuknutí choroby;
 - b) byly schváleny jen očkovací látky, pro něž příslušný orgán členského státu, ve kterém se očkovací látky používají, udělil povolení pro uvedení do oběhu.
2. Další kritéria pro použití očkovacích látek proti newcastleské chorobě lze stanovit postupem podle článku 25.

Článek 17

1. Členské státy, které provádějí dobrovolné nebo povinné profylaktické očkování proti newcastleské chorobě, sdělí toto Komisi a ostatním členským státům.
2. Sdělení podle odstavce 1 se týká obzvláště
 - charakteristik a složení použitých očkovacích látek,
 - předpisů pro kontrolu vydávání, skladování a použití očkovacích látek,
 - druhů a kategorií drůbeže, které mohou nebo musí být očkovány,
 - území, na kterých se může nebo musí očkovat,
 - důvodů, pro které bylo očkování provedeno.

▼B

3. Členské státy mohou stanovit vytvoření očkovacího programu pro poštovní holuby. V tomto případě mají informovat Komisi. Bez dotčení takového programu členské státy zajistí, aby pořadatelé soutěží a výstav učinili opatření potřebná k tomu, aby se soutěží nebo výstav účastnili pouze poštovní holubi, kteří byli očkovaní proti newcastleské chorobě.

4. Prováděcí pravidla k tomuto článku, obzvláště kritéria, která budou jejich základem, a případné odchylky podle nálezového statusu členských států se stanoví postupem podle článku 25.

Článek 18

1. Členské státy zajistí, aby příslušný orgán po potvrzení newcastleské choroby doplňkově k ostatním opatřením pro tlumení podle této směrnice provedl zeměpisné a časové vymezení, v rámci něhož jsou určité druhy drůbeže pod úředním dozorem neprodleně podrobeny systematickému očkování (nouzovému očkování). Členské státy, které provádějí nouzové očkování, informují Komisi a ostatní členské státy ve Stálém veterinárním výboru zřízeném rozhodnutím 68/361/EHS ⁽¹⁾ o výskytu choroby a programu nouzového očkování.

2. V případě jmenovaném v odstavci 1 je zakázáno očkování nebo přeočkování drůbeže v hospodářstvích podléhajících omezením podle článku 4.

3. V případě jmenovaném v odstavci 1 platí:

- a) druhy drůbeže určené pro očkování je třeba očkovat co nejdříve;
- b) všechna kuřata vylíhlá v hospodářstvích očkovacího pásma nebo všechna zvířata těchto druhů, přemístěná do těchto hospodářství, musí být očkovaná nebo již předtím očkovaná;
- c) během očkovací kampaně podle odstavce 1 nesmí žádná drůbež těchto druhů opustit hospodářství v očkovacím pásmu, ledaže by
 - jednodenní kuřata byla přemístěna do jiného hospodářství uvnitř očkovacího pásma, ve kterém musí být očkovaná,
 - drůbež byla přímou cestou přemístěna k bezprostřední porážce na jatkách uvnitř očkovacího pásma. Nachází-li se jatka mimo očkovací pásmo, smí se drůbež z hospodářství přemístit teprve poté, co úřední veterinární lékař provedl veterinární kontrolu hospodářství;

⁽¹⁾ Úř. věst. L 225, 18.10.1968, s. 23.

▼B

d) po ukončení očkovací kampaně podle písmene a) lze přemístění z očkovacího pásma povolit pro

- jednodenní kuřata určená pro výrobu masa ve výkrmně, pokud jsou očkována tam; dotyčné hospodářství je až do porážky drůbeže tam přijaté třeba postavit pod dozor,
- drůbež, která byla očkována před více než 21 dní a je určená k okamžité porážce,
- násadová vejce, pokud od očkování plemenného hejna uplynuly nejméně tři týdny a vejce a obaly byly před zasláním desinfikovány.

4. Opatření podle odstavce 3 písmen b) a d) zůstávají po ukončení očkovací kampaně podle odstavce 1 v platnosti po dobu tří měsíců; lze je prodloužit o jedno nebo více dalších tříměsíčních období.

5. Odchylně od odstavce 3 písmen a) a b) může příslušný orgán určitá drůbeží hejna zvláštní vědecké hodnoty vyjmout ze systematického očkování, pokud přijme potřebná opatření na ochranu zdraví a postaví tato hejna pod pravidelný sérologický dozor.

6. Komise sleduje vývoj výskytu choroby a v případě potřeby může postupem podle článku 25 rozhodnout o omezeních přemísťování a opatřeních na kontrolu očkování.

Článek 19

1. Je-li podezření, že se poštovní holubi nebo ptáci chovaní v zajetí nakazili newcastleskou chorobou, členské státy zajistí, aby úřední veterinární lékař neprodleně provedl úřední šetření, aby se toto podezření potvrdilo nebo vyvrátilo; zejména provede nebo nechá provést odběr vzorků pro potřebná laboratorní vyšetření.

2. Bezprostředně po oznámení podezření na chorobu postaví příslušný orgán holubník nebo hospodářství pod úřední dozor a obzvláště nařídí, že ani holubi nebo ptáci chovaní v zajetí, ani nic, co by mohlo přenést chorobu, nesmí být přemístěni z holubníku nebo hospodářství.

3. Opatření podle odstavců 1 a 2 se zruší teprve tehdy, až úřední veterinární lékař podezření na chorobu vyvrátí.

4. Pokud byl úředně potvrzen výskyt choroby, nařídí příslušný orgán zejména, aby

- a) opatření pro tlumení a eradikaci podle čl. 5 odst. 1 písm. a), b), e) a f) byla použita u poštovních holubů nebo ptáků chovaných v zajetí a u holubníků nebo hospodářství nakažených newcastleskou chorobou, nebo

▼ B

b) přinejmenším

- i) bylo zakázáno přemísťování holubů nebo ptáků chovaných v zajetí z holubníku nebo hospodářství po dobu nejméně 60 dnů po posledním výskytu klinických příznaků newcastleské choroby;
- ii) byly neškodně zničeny nebo ošetřeny všechny materiály nebo odpady, které by mohly být kontaminovány. Ošetření musí skýtat záruku, že během lhůty 60 dnů, jmenované v bodu i), budou zničeny všechny viry newcastleské choroby a všechny vzniklé odpady;

c) bylo provedeno epizootologické vyšetření podle článku 7.

▼ M4

5. V míře, která je nutná pro řádné uplatňování opatření stanovených v tomto článku, předloží členské státy Komisi v rámci Stálého výboru pro rostliny, zvířata, potraviny a krmiva informace o nálezové situaci a uplatněných opatřeních pro tlumení.

6. Komise může prostřednictvím prováděcích aktů stanovit pravidla týkající se informací, které mají členské státy předkládat Komisi, jak je stanoveno v odstavci 5 tohoto článku. Tyto prováděcí akty se přijmou přezkumným postupem podle článku 25.

▼ B*Článek 20*

1. Kuchyňské odpady z dopravních prostředků nasazených v přeshraničním styku, jako jsou lodě, pozemní přeprava a letadla, se nesmí zkrmovat drůbeží; kuchyňské odpady tohoto druhu je nutno sbírat a pod úředním dohledem neškodně zničit.

2. Zkrmování jiných kuchyňských odpadů než kuchyňských odpadů jmenovaných v odstavci 1 nebo drůbežího odpadu drůbeží se smí povolit pouze tehdy, pokud bude tepelným ošetřením ve vhodném zařízení zaručeno, že choroba se nemůže přenášet a virus je usmrcen.

3. V případě potřeby Komise postupem podle článku 25 stanoví prováděcí pravidla k odstavci 2.

▼ M4*Článek 21*

1. Každý členský stát vypracuje pohotovostní plán s opatřeními, která je na vnitrostátní úrovni třeba učinit v případě vypuknutí newcastleské choroby. Pohotovostní plán se podle potřeby aktualizuje, aby se zohlednil vývoj situace.

Pohotovostní plán musí umožňovat přístup k zařízení, vybavení, personálu a k veškerému dalšímu příslušnému materiálu nezbytnému k rychlé a účinné eradikaci newcastleské choroby. Musí obsahovat přesné údaje o množství očkovacích látek, které členské státy považují za potřebné pro nouzové očkování.

▼M4

2. Pohotovostní plány a veškeré jejich aktualizace se předloží Komisi.

3. Komise pohotovostní plány a veškeré jejich aktualizace přezkoumá s cílem určit, zda umožňují dosažení sledovaného cíle, a navrhne dotčenému členskému státu, aby případně provedl změny nutné zejména k zajištění slučitelnosti těchto plánů s plány ostatních členských států.

Pohotovostní plány a veškeré jejich aktualizace, v případě nutnosti pozměněné, Komise schválí v souladu s přezkumným postupem uvedeným v článku 25.

4. Komise může prostřednictvím prováděcích aktů stanovit kritéria, která mají členské státy pro vypracování pohotovostních plánů použít. Tyto prováděcí akty se přijmou přezkumným postupem podle článku 25.

▼B*Článek 22*

Znalci Komise mohou, pokud je to potřebné pro jednotné používání této směrnice, ve spolupráci s příslušnými orgány provádět kontroly na místě. Za tímto účelem mohou kontrolou reprezentativního počtu zařízení přezkoumat, zda příslušné orgány kontrolují, do jaké míry zařízení dodržují předpisy této směrnice. Komise informuje členské státy o výsledku provedených kontrol.

Členský stát, na jehož území se kontrola provádí, poskytuje znalcům potřebnou pomoc při plnění jejich úkolu.

Prováděcí pravidla k tomuto článku se stanoví postupem podle článku 25.

Článek 23

Podmínky finanční účasti Společenství na opatřeních vyplývajících z této směrnice jsou upraveny v rozhodnutí 90/424/EHS.

Článek 24

Pokud je to potřebné, Rada na návrh Komise kvalifikovanou většinou přílohy změní, obzvláště aby se zohlednily nové vyšetřovací a diagnostické metody.

▼M4*Článek 25*

1. Komisi je nápomocen Stálý výbor pro rostliny, zvířata, potraviny a krmiva zřízený čl. 58 odst. 1 nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 178/2002 ⁽¹⁾. Výborem se rozumí výbor ve smyslu nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 182/2011 ⁽²⁾.
2. Odkazuje-li se na tento článek, použije se článek 5 nařízení (EU) č. 182/2011.

▼B*Článek 26*

1. Členské státy uvedou v účinnost právní a správní předpisy nezbytné pro dosažení souladu s touto směrnicí nejpozději do 1. října 1993. Neprodleně o nich uvědomí Komisi.

Přijímají-li členské státy předpisy podle odstavce 1, musí v nich být učiněn odkaz na tuto směrnici nebo musí být takový odkaz učiněn při jejich úředním vyhlášení. Způsob, jakým má být tento odkaz učiněn, si určí členské státy.

2. Členské státy sdělí Komisi znění hlavních ustanovení vnitrostátních právních předpisů, které přijmou v oblasti působnosti této směrnice.

Článek 27

Tato směrnice je určena členským státům.

⁽¹⁾ Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 178/2002 ze dne 28. ledna 2002, kterým se stanoví obecné zásady a požadavky potravinového práva, zřizuje se Evropský úřad pro bezpečnost potravin a stanoví postupy týkající se bezpečnosti potravin (Úř. věst. L 31, 1.2.2002, s. 1).

⁽²⁾ Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 182/2011 ze dne 16. února 2011, kterým se stanoví pravidla a obecné zásady způsobu, jakým členské státy kontrolují Komisi při výkonu prováděcích pravomocí (Úř. věst. L 55, 28.2.2011, s. 13).



PŘÍLOHA I

**POVOLENÍ K PŘEMÍSTOVÁNÍ VAJEC Z HOSPODÁŘSTVÍ, PRO
KTERÉ PLATÍ PODMÍNKY ČL. 4 ODS. 2 PÍSM. e)**

Příslušným orgánem uděleného povolení k přepravě vajec z podezřelého hospodářství spadajícího pod čl. 4 odst. 2 písm. e) do hospodářství schváleného k výrobě a zpracování vaječných výrobků ve smyslu čl. 6 odst. 1 směrnice 89/437/EHS (dále jen „určené hospodářství“) je nutno dodržovat následující podmínky:

1. Aby mohla být přemístěna z hospodářství, musí vejce:
 - a) vyhovovat požadavkům kapitoly IV přílohy směrnice 89/437/EHS;
 - b) být přemístěna z podezřelého hospodářství přímo do určeného hospodářství; každou zásilku musí před přepravou zapečetit úřední veterinární lékař podezřelého hospodářství, a ta musí po celou dobu přepravy až do určeného hospodářství zůstat zapečetěná.
2. Úřední veterinární lékař podezřelého hospodářství musí informovat orgán příslušný pro určené hospodářství o úmyslu dodat tomuto hospodářství vejce.
3. Orgán příslušný pro určené hospodářství zajistí, aby
 - a) vejce ve smyslu bodu 1 písm. b) byla od doručení až do ošetření skladována odděleně od ostatních vajec;
 - b) skořápky těchto vajec byly považovány za vysoce rizikový materiál ve smyslu čl. 2 odst. 2 směrnice 90/667/EHS ⁽¹⁾ a byly ošetřeny podle požadavků kapitoly II této směrnice;
 - c) obalový materiál, vozidla použitá pro přepravu vajec ve smyslu bodu 1 písm. b) jakož i všechna místa, s nimiž vejce přišla do styku, byly očištěny a desinfikovány tak, aby byly všechny viry newcastleské choroby zničeny;
 - d) úřední veterinární lékař podezřelého hospodářství byl informován o zaslání ošetřených vajec.

⁽¹⁾ Směrnice Rady 90/667/EHS ze dne 27. listopadu 1990 o veterinárních pravidlech pro zneškodňování a zpracování živočišného odpadu, jeho uvádění na trh a pro ochranu před patogenními původci v krmivech živočišného původu, též z ryb, a o změně směrnice 90/425/EHS (Úř. věst. L 363, 27.12.1990, s. 51).

*PŘÍLOHA II***METODA OČISTY A DESINFEKCE NAKAŽENÝCH HOSPODÁŘSTVÍ****I. Předběžná očista a desinfekce**

- a) Ihned po odstranění mrtvých těl drůbeže k neškodnému zničení je chovné prostory a jiné části budov, dvory atd., které byly kontaminovány během porážky nebo prohlídky po porážce, desinfikovat vystřikáním prostředky povolenými podle článku 11.
- b) Tkáň drůbeže a vejce, které případně vedly ke kontaminaci budov, dvorů, předmětů atd., je třeba pečlivě odstranit a zlikvidovat spolu s mrtvými těly drůbeže.
- c) Použitý desinfekční prostředek musí na ošetřených plochách působit nejméně 24 hodin.

II. Závěrečná očista a desinfekce

- a) Všechny plochy je třeba odmašťujícím prostředkem zbavit zbytků mastnoty a opláchnout vodou.
- b) Po opláchnutí vodou podle písmene a) je třeba plochy znovu nastříkat desinfekčním prostředkem.
- c) Po sedmi dnech působení je třeba ošetřené plochy znovu odmastit, opláchnout vodou, nastříkat desinfekčním prostředkem a znovu opláchnout vodou.
- d) Hnůj a infekční podestýlku je třeba ošetřit tak, aby se viry usmrtily. Tento postup musí zahrnovat přinejmenším jedno z následujících opatření:
 - i) hnůj a infekční podestýlka se zpopelní nebo ošetří párou při teplotě 70 °C;
 - ii) zahrabou se tak hluboko, aby byly chráněny před hmyzem a volně žijícími ptáky;
 - iii) stohují a zvlhčí se (pokud je to nutné k usnadnění kvašení) a zakryjí pro udržení tepla, aby se dosáhlo teploty 20 °C, a udržují se zakryté 42 dnů tak, aby byly chráněny před hmyzem a volně žijícími ptáky.

▼B*PŘÍLOHA III***METODY PRO POTVRZENÍ A DIFERENCIÁLNÍ DIAGNOSTIKU
NEWCASTLESKÉ CHOROBY**

Níže uvedené metody izolování a charakterizování virů newcastleské choroby představují minimum pro diagnostiku choroby a jsou orientačního charakteru.

Virovým původcem newcastleské choroby je prototyp Paramyxoviridae. V současné době existuje devět sérologicky prokazatelných skupin paramyxovirů specifických pro drůbež, označovaných PMV-1 až PMV-9. Všechny viry jsou ve skupině PMV-1. Pro postupy k potvrzení diferenciální diagnózy newcastleské choroby platí následující definice:

Newcastleská choroba je infekční choroba drůbeže, způsobená paramyxovirovým kmenem 1 s intracerebrálním patogenním indexem vyšším než 0,7 u jednodenních kuřat.

KAPITOLA 1**Odběr a úprava vzorků****1. Materiál vzorků**

Výtěry z kloaky (nebo výkaly) a výtěry z průdušnice onemocnělých ptáků; výkaly nebo střevní obsah, mozková tkáň, průdušnice, plíce, játra, slezina a jiné jednoznačně nakažené orgány nedlouho uhynulých zvířat.

2. Ošetření vzorků

Orgány a tkáň jmenované v bodu 1 lze poolovat; pouze fekální materiál je bezpodmínečně nutno zpracovávat odděleně. Výtěry by měly být zcela ponořené v antibiotickém mediu, vzorky výkalů a orgány homogenizovány v antibiotickém mediu (v uzavřeném blenderu nebo s použitím moždíře a tlouku a sterilního písku) a suspendovány z 10 až 20 % w/v. Suspenze se nechají stát přibližně 2 hodiny při teplotě okolí (při 4 °C příslušně déle) a poté se odstředěním vyčirí (např. 800 – 1000 g po dobu 10 minut).

3. Antibiotické medium

Různé laboratoře úspěšně použily antibiotická media různého složení; poradit se lze u laboratoří podle přílohy IV. Pro fekální vzorky jsou antibiotika potřebná ve vysokých koncentracích; za typickou se považuje směs: 10000 jednotek/ml penicilinu, 10 mg/ml streptomycinu, 0,25 mg/ml gentamycinu a 5000 jednotek/ml mycostatinu ve fosfátem pufrovaném fyziologickém roztoku. Pro tkáň a výtěry z průdušnice lze toto množství snížit až na jednu pětinu. Proti chlamydiím lze přidat 50 mg/ml oxytetracyclinu. Při přípravě media je bezpodmínečně nutno zkontrolovat pH po přidání antibiotika a upravit je na 7,0 až 7,4.

KAPITOLA 2**Izolace viru***Izolace viru v embryonovaných kuřecích vejcích*

Alantoidový vak nejméně čtyř embryonovaných vajec předlíhlých 8 až 10 dnů se inokuluje 0,1 až 0,2 ml čířeného kapalného supernatantu. V ideálním případě by tato vejce měla pocházet z hejna specificky prostého patogenů; jinak lze použít i vejce z hejna prokazatelně prostého protilátek NDV. Inokulovaná vejce se uloží při 37 °C a denně se prosvěčují. Vejce s mrtvými nebo odumírajícími embryi

▼B

a všechna ostatní vejce se 6 dnů po naočkování zchladí na 4 °C a zkoumá se hemaglutinace alantoidní a amnionové tekutiny. Nejistí-li se žádná hemaglutinace, opakuje se výše jmenovaný postup s nefeděnou alantoidní nebo amnionovou tekutinou jako inokulem.

Zjistí-li se hemaglutinace, zkoumá se kultivací, zda se nejedná o bakteriální kontaminaci. Jsou-li přítomny bakterie, lze tekutiny nechat projít membránovým filtrem 450 nm a po přidání dalších antibiotik inokulovat do embryonovaných vajec, jak popsáno výše.

KAPITOLA 3

Diferenciální diagnostika**1. Předběžná diferenciac**

Všechny hemaglutinující viry musí být v národní laboratoři úplně identifikovány, charakterizovány a testovány na patogenitu. Je však důležité, aby se pro zamezení šíření mezitím a co nejdříve provedla opatření pro tlumení newcastleské choroby a aby i regionální laboratoře byly schopny identifikovat virus. Hemaglutinující tekutiny by proto měly být podrobeny hemaglutinačně inhibičnímu testu podle kapitol 5 a 6. Pozitivní inhibice, tzn. 2^4 nebo více, se specifickým polyklonálním antisérem proti viru, jehož titer jak známo činí nejméně 2^9 , by jako předběžný důkaz stačila a odůvodňovala by použití zatímních opatření pro tlumení.

2. Potvrzovací důkaz

Každého hemaglutinujícího původce by měla národní laboratoř podrobit úplné diferenciální diagnostice. Při ní by se znovu potvrdila existence viru newcastleské choroby hemaglutinačně inhibičním testem s monospecifickými kuřecími antiséry. U všech pozitivních izolátů by se měly provést testy intracerebrální patogenity podle kapitoly 7. Patogenní index vyšší než 0,7 umožňuje usuzovat na existenci viru choroby a opravňuje nařízení rozsáhlých opatření pro tlumení.

V důsledku nedávného vývoje v typové diferenciaci virů, obzvláště monoklonálních protilátkových technik, je nyní možná klasifikace kmenů a izolátů. Tak je obzvláště přístupno několik monoklonálních protilátek, které jsou typické pro očkovací kmeny používané ve Společenství a mohou být použity pro jednoduché hemaglutinačně inhibiční testy.

Jelikož živé očkovací kmeny lze často izolovat z živočišného materiálu (drůbeže), je jejich výhoda pro národní laboratoře (rychlý důkaz) nasnadě. Takové monoklonální protilátky by mohla referenční laboratoř Společenství získávat a předávat k potvrzení izolace očkovacího viru národním laboratořím.

Národní laboratoře by měly ze své strany referenční laboratoři Společenství dodávat všechny hemaglutinující původce choroby.

3. Další typové diferenciac a charakteristika izolátů

Všechny hemaglutinující viry obdržené z národních laboratoří podrobí referenční laboratoř Společenství dalším antigenovým a genovým testům, aby v souladu s úlohami a povinnostmi referenční laboratoře získala další poznatky o průběhu choroby ve Společenství.

▼ B

KAPITOLA 4

Rychlotesty ke zjištění virů a protilátek newcastleské choroby

Rychlotesty ke zjištění viru newcastleské choroby v očkováných ptácích a ke zjištění protilátek v neočkováných ptácích

1. *Zjišťování virů newcastleské choroby*

K diagnóze infekčních chorob u očkováných ptáků se používá několika rychlotestů, jimiž lze přímo zjistit antigeny newcastleské choroby. Nejběžnější jsou testy fluorescenčních protilátek na podélných řezech průdušnice a peroxidázových protilátek v mozku. Nepochybně lze v případě viru newcastleské choroby použít i jiné testy k přímému zjištění protilátek.

Nevýhodou takových testů však je, že je nemožné kontrolovat všechna potenciální replikační místa viru newcastleské choroby u očkováných ptáků, takže například při neprokazatelnosti virového materiálu v průdušnici nelze předem vyloučit replikaci viru ve vnitřnostech. Pro rutinní diagnostiku newcastleské choroby se nedoporučují metody pro přímé zjišťování, přesto však takové testy naprosto mohou ve zvláštních případech být užitečné.

2. *Zjišťování protilátek v neočkováných ptácích*

Většina laboratorí pověřených diagnostikou newcastleské choroby je seznámena s hemaglutinačně inhibičními testy. Následující doporučení se vztahují na tuto metodu měření virových protilátek, přestože je lze úspěšně zjišťovat i v rámci enzymatického imunitního testu (ELISA). V případě, že si některá regionální laboratoř bude přát použití testovací metody ELISA, se doporučuje přezkoušení testu národní laboratoří určenou v příloze IV.

e) *Vzorkový materiál*

U hejn s méně než 20 ptáky by se měly vzorky krve odebírat u všech zvířat, ve větších hejnech u 20 zvířat. (Je-li nejméně 25 % hejna pozitivních, zjistí se tímto způsobem, bez ohledu na velikost hejna, s více než 99 % pravděpodobností nejméně jedno pozitivní sérum). Po sražení krve se sérum odstraní k testování.

f) *Zkouška na protilátky*

U jednotlivých vzorků sér se v rámci standardních hemaglutinačně inhibičních testů podle kapitoly 6 zkoumá jejich schopnost inhibovat hemaglutinaci antigenem viru newcastleské choroby.

Je sporné, zda by se pro hemaglutinačně inhibiční test (test HI) mělo použít 4 nebo 8 hemaglutinových jednotek (HAU). Obojí by snad bylo myslitelné, takže rozhodnutí by se mělo přenechat národním laboratořím. Na použitém antigenu však závisí, odkdy určité sérum platí za pozitivní: při 4 HAU platí za pozitivní každé sérum s titrem 2^4 a více, při 8 HAU každé sérum s titrem 2^3 a více.

KAPITOLA 5

Hemaglutinační test (test HA)*Činidla*

1. Izotonický fyziologický roztok (PBS) fosfátem pufovaný na pH 7,0 až 7,4.

▼B

2. Červené krvinky odebrané od nejméně tří specificky patogenu prostých kuřat (není-li to možné, lze odebrat krev od ptáků, kteří byli pravidelně sledováni a prokazatelně jsou protilátek NDV) a poolovat ve stejném množství Alseverova roztoku. Krvinky se před použitím třikrát čistí fosfátem pufrovaným fyziologickým roztokem. Pro test se doporučuje 1 % suspenze (hodnota hematokritu v/v) ve fosfátem pufrovaném fyziologickém roztoku.
3. Jako standardní antigen se doporučuje kmen viru newcastleské choroby Ulster 2C.

Postup

- a) Do všech jamek (tvaru V) umělohmotné mikrotitrační destičky se nakape po 0,025 ml fosfátem pufrovaného fyziologického roztoku.
- b) Do první jamky se dá 0,025 ml virové suspenze (tzn. alantoidní tekutiny).
- c) Mikrotitračním ředicím roztokem se na celé destičce provede dvojitý ředění viru (1:2 až 1:4096).
- d) Do každé jamky se přikápně dalších 0,025 ml pufrovaného fyziologického roztoku.
- e) Do každé jamky se přidá 0,025 ml červených krvinek suspendovaných 1 %.
- f) Pořukáním se promísí a uchovávají při 4 °C.
- g) Destička se odečítá po 30 až 40 minutách, když se kontroly usadí. Destička se lehce nadzdvihne a zkontroluje se přítomnost nebo nepřítomnost stékání červených krvinek v kapkách. Jamky bez hemaglutinace by měly vykazovat stejné stékání jako kontrolní buňky prosté virů.
- h) Za hemaglutinační titr se považuje nejvyšší ředění, při kterém červené krvinky aglutinují, přičemž lze vycházet z toho, že toto ředění obsahuje 1 hemaglutinovanou jednotku (HAU). Pro přesnější stanovení hemaglutinačního titru se musí provést hemaglutinační testy virovým materiálem z těsně po sobě následujících počátečních ředění (tzn. 1:3, 1:4, 1:5, 1:6 atd.). Tento postup se doporučuje pro přesnou přípravu antigenového materiálu pro hemaglutinačně inhibiční testy (srov. kap. 6).

KAPITOLA 6**Hemaglutinačně inhibiční test (test HI)***Činidla (srov. kap. 5)*

- a) Fosfátem pufrovaný fyziologický roztok.
- b) Alantoidní tekutina obsahující virus, zředěná vždy 0,025 ml pufrovaného fyziologického roztoku na 4 nebo 8 hemaglutinační jednotky (HAU).
- c) 1 % suspendované červené krvinky (kuřecí).
- d) Negativní kontrolní kuřecí sérum.
- e) Pozitivní kontrolní sérum.

Postup

- a) Do všech jamek (tvaru V) umělohmotné mikrotitrační destičky se nakape po 0,025 ml fosfátem pufrovaného fyziologického roztoku.
- b) Do první jamky se dá 0,025 ml séra.
- c) Mikrotitračním ředicím roztokem se na celé destičce provede dvojitý ředění séra.
- d) Přidá se 0,025 ml zředěné alantoidní tekutiny se 4 nebo 8 HAU.
- e) Pořukáním se promísí a destička se uloží na nejméně 60 minut při 4 °C nebo na nejméně 30 minut při pokojové teplotě.

▼B

- f) Do všech jamek se dá 0,025 ml 1 % suspendovaných červených krvinek.
- g) Pořukáním se promísí a uchovává při 4 °C.
- h) Destičky se odečítají po 30 až 40 minutách, když se kontrolní buňky usadí. Destička se lehce nadzdvihne a pozoruje se přítomnost nebo nepřítomnost stékání červených krvinek v kapkách. Stékání by mělo odpovídat stékání kontrolních jamek obsahujících pouze červené krvinky (0,025 ml) a pufrovaný fyziologický roztok (0,05 ml).
- i) Za inhibiční titr se považuje nejvyšší ředění antiséra, které zcela inhibuje 4 nebo 8 virových jednotek. (Každý test by měl k potvrzení potřebných HAU obsahovat hemaglutinační titraci.)
- j) Spolehlivost výsledků závisí na výsledném titru méně než 2^3 při 4 HAU nebo 2^2 při 8 HAU u negativního kontrolního séra a na výsledném titru, jsoícím v rámci některého zředění známé hodnoty titru pozitivního séra.

KAPITOLA 7**Intracerebrální patogenní index (IPIC)**

- Infikovaná, čerstvě získaná alantoidní tekutina (s hemaglutinačním titrem vyšším než 2^4) se zředí v poměru 1:10 sterilním izotonickým fyziologickým roztokem (nesmí se přidávat žádná antibiotika).
- 10 jednodenních kuřat (tzn. > 24 hodin < 40 hodin po vylíhnutí) se intracerebrálně naočkují 0,05 ml ředění viru. Kuřata by měla pocházet z vajec z hejna specificky prostého patogenů.
- Zvířata se vyšetřují po dobu osmi dnů ve 24hodinových intervalech.
- Přitom se hodnotí takto: 0 = zdravé, 1 = nemocné, 2 = mrtvé.
- Výpočet indexu se ozřejmí na následujícím příkladu:

Klinické příznaky	dnů po očkování (počet zvířat)								celkem	hodnocení
	1	2	3	4	5	6	7	8		
zdravých	10	4	0	0	0	0	0	0	14 x 0	= 0
nemocných	0	6	10	4	0	0	0	0	20 x 1	= 20
mrtvých	0	0	0	6	10	10	10	10	46 x 2	= 92
									celkem = 112	

Podle toho je index – průměrná hodnota na ptáka a zkoušku – v tomto případě = $112/80 = 1,4$

KAPITOLA 8**Posouzení schopnosti tvorby plaků**

- Pro zajištění optimálního počtu plaků na destičce se doporučuje použít virovou ředící řadu. Desetinásobná ředění do 10^{-7} ve fosfátem pufrovaném fyziologickém roztoku by mohla stačit.
- Do Petriho misek průměru 5 cm se připraví konflující buněčné linie (buňky kuřecích embryí) nebo přiměřená buněčná linie (například hovězí ledvina Madin Darby).
- Vždy do dvou Petriho misek se přidá 0,2 ml ředění viru a virus se nechá 30 minut absorbovat.

▼ B

4. Po trojím čištění fosfátem pufovaným fyziologickým roztokem se nakažené buňky převrství vhodným médiem obsahujícím 1 % w/v agaru a případně 0,01 mg/ml trypsinu. Je třeba dbát na to, aby se ke kultivačnímu mediu nepřidávalo žádné sérum.
5. Po 72 hodinové inkubaci při 37 °C by plaky mohly být dostatečně velké. Nejlépe rozeznatelné jsou po odstranění převrstvujícího agaru a obarvení buněčné linie krystalovou violetí (0,5 % w/v) v 25 % v/v ethanolu.
6. Při inkubaci tryptinem v kultivačním mediu by všechny viry měly vytvářet zřetelně viditelné plaky. Neobsahuje-li převrstvení trypsin, tvoří plaky jen viry infikující kuřata.

▼ M3

▼ M4
