

ENTSCHEIDUNG DER KOMMISSION

vom 2. Juni 1992

**über die Untersuchung von Geflügel auf Newcastle-Krankheit vor dem Versand
(Artikel 12 der Richtlinie 90/539/EWG des Rates)**

(92/340/EWG)

DIE KOMMISSION DER EUROPÄISCHEN
GEMEINSCHAFTEN —gestützt auf den Vertrag zur Gründung der Europäischen
Wirtschaftsgemeinschaft,gestützt auf die Richtlinie 90/539/EWG des Rates vom
15. Oktober 1990 über die tierseuchenrechtlichen Bedin-
gungen für den innergemeinschaftlichen Handel mit
Geflügel und Bruteiern und ihre Einfuhr aus Drittlän-
dern⁽¹⁾, zuletzt geändert durch die Richtlinie
91/496/EWG⁽²⁾, insbesondere auf Artikel 12 Absatz 1,

in Erwägung nachstehender Gründe :

Die Methoden für die Durchführung serologischer
Untersuchungen auf Newcastle-Krankheit und die Isolie-
rung des Virus der Newcastle-Krankheit müssen Einzel-
heiten über die Entnahme von Probematerial, das
Verfahren für die Durchführung der Untersuchungen und
die Interpretation der Untersuchungsergebnisse
einschließen.Die in dieser Entscheidung vorgesehenen Maßnahmen
entsprechen der Stellungnahme des Ständigen Veterinär-
ausschusses —

HAT FOLGENDE ENTSCHEIDUNG ERLASSEN :

*Artikel 1*Die repräsentativen serologischen Untersuchungen zum
Nachweis von Antikörpern der Newcastle-Krankheitgemäß Artikel 12 Absatz 1 Buchstabe c) dritter Gedan-
kenstrich der Richtlinie 90/539/EWG müssen den Anfor-
derungen des Anhangs I entsprechen.*Artikel 2*Die Untersuchung zur Isolierung des Virus der
Newcastle-Krankheit gemäß Artikel 12 Absatz 1
Buchstabe d) zweiter Gedankenstrich der Richtlinie
90/539/EWG muß den Anforderungen des Anhangs II
entsprechen.*Artikel 3*

Diese Entscheidung ist an alle Mitgliedstaaten gerichtet.

Brüssel, den 2. Juni 1992

Für die Kommission

Ray MAC SHARRY

Mitglied der Kommission⁽¹⁾ ABl. Nr. L 303 vom 31. 10. 1990, S. 6.⁽²⁾ ABl. Nr. L 268 vom 24. 9. 1991, S. 56.

*ANHANG I***Serologische Untersuchungen zum Nachweis von Antikörpern der Newcastle-Krankheit bei Geflügel****1. Blutproben**

Geflügel gemäß diesem Anhang muß Beständen entstammen, von denen die Blutproben von mindestens 60 Tieren entnommen wurden, die stichprobenartig ausgewählt und nach dem Haemagglutinations-Hemmungstest (HI-Test) gemäß dem Verfahren von Ziffer 2 untersucht worden sind.

2. Verfahren

- a) 0,025 ml gepufferte Salzlösung in alle (V-förmigen) Mulden eines Kunststoff-Mikrotitrators träufeln.
- b) 0,025 ml Serum in die erste Mulde geben.
- c) Mit einem Mikrotitrationsverdünner über das Testtablett verteilt zweifache Serumverdünnungen herstellen.
- d) 0,025 ml verdünnte Allantois-Flüssigkeit mit 4 bzw. 8 HAU zugeben.
- e) Durch Antippen mischen und Tablett für mindestens 60 Minuten bei 4 °C bzw. für mindestens 30 Minuten bei Raumtemperatur aufbewahren.
- f) 0,025 ml 1%ig suspendierte rote Blutkörperchen in alle Mulden geben.
- g) Durch Antippen mischen und bei 4 °C aufbewahren.
- h) Testtablett nach 30-40 Minuten, wenn sich die Kontrollzellen gesetzt haben, ablesen. Dazu Tablett leicht anheben und auf Vorliegen bzw. Fehlen einer tropfenförmigen Strömung achten. Die Strömungsrate sollte der in den Kontrollmulden entsprechen, die lediglich rote Blutkörperchen (0,025 ml) und gepufferte Kochsalzlösung (0,05 ml) enthalten.
- i) Als Hemmtiter gilt die höchste Antiserumverdünnung, die 4 bzw. 8 Viruseinheiten vollständig hemmt (jeder Test sollte zur Bestätigung der erforderlichen HAU eine Haemagglutinationstitrierung beinhalten).
- j) Die Zuverlässigkeit der Ergebnisse hängt ab von einem Titerergebnis von weniger als 2³ bei 4 HAU bzw. 2² bei 8 HAU bei negativem Kontrollserum und von einem Titerergebnis, das innerhalb einer Verdünnung des bekannten Titerwertes des positiven Kontrollserums liegt.

3. Interpretation der Untersuchungen

Das verwendete Antigen wird auf der Stufe angreifen, auf der ein Serum als positiv gilt: bei 4 HAU ist jedes Serum positiv, das ein Titerergebnis von 2⁴ oder mehr aufweist, bei 8 HAU ist jedes Serum positiv, das ein Titerergebnis von 2³ oder mehr aufweist.

ANHANG II

Isolierung des Virus der Newcastle-Krankheit (ND) von Schlachtgeflügel

Geflügel gemäß diesem Anhang muß Beständen entstammen, die auf den Virus der Newcastle-Krankheit mit negativem Ergebnis, d. h. ohne Isolierung eines Virus, nach folgendem Verfahren untersucht worden sind :

1. *Probematerial*

Es müssen mindestens 60 Proben einschließlich Kloakenabstriche (oder Fäzes) von jedem Bestand entnommen werden.

2. *Behandlung des Probenmaterials*

Es dürfen nicht mehr als 5 Proben gepoolt werden. Abstriche sollten ganz in ein antibiotisches Medium getaucht, Fäkalproben in antibiotischem Medium (im geschlossenen Blender oder unter Verwendung von Stößel und Mörser in sterilem Sand) homogenisiert und zu 10 bis 20 % w/v suspendiert werden. Die Suspensionen sind für rund 2 Stunden bei Raumtemperatur (bei 4 °C entsprechend länger) stehen zu lassen und danach durch Zentrifugieren zu klären (z. B. 800 bis 1 000 g für 10 Minuten).

Hohe Antibiotikakonzentrationen sind für Fäkalmaterial notwendig ; eine Standardmischung ist : 10 000 Einheiten/ml Penicillin, 10 mg/ml Streptomycin, 0,25 mg/ml Gentamycin und 5 000 Einheiten/ml Mycostatin in gepufferter Kochsalzlösung. Zur Vermeidung der Vermehrung von Chlamydia-Arten können 50 mg/ml Oxytetracyclin hinzugefügt werden. Bei der Herstellung des Mediums ist nach Zusatz der Antibiotika unbedingt der pH-Wert zu prüfen und auf 7,0-7,4 zu berichtigen.

3. *Virusisolierung in embryonierten Hühnereiern*

Die Allantoishöhlen von mindestens 4 embryonierten Eiern, die 8-10 Tage vorbebrütet wurden, werden mit 0,1-0,2 ml des geklärten flüssigen Überstands beimpft. Im Idealfall sollten diese Eier aus einem spezialisiert pathogenfreien Bestand stammen ; ansonsten können auch Eier aus einem Bestand verwendet werden, der nachweislich frei von NDV-Antikörpern ist. Die beimpften Eier werden bei 37 °C aufbewahrt und täglich durchleuchtet. Eier mit toten bzw. absterbenden Embryonen sowie alle anderen Eier sind 6 Tage nach der Beimpfung auf 4 °C abzukühlen und die Allantois-/Ammoniumflüssigkeiten auf Haemagglutination zu untersuchen. Läßt sich keine Haemagglutination feststellen, so wird das vorgenannte Verfahren mit unverdünnter Allantois-/Ammoniumflüssigkeit als Inokulum wiederholt.

Wird Haemagglutination festgestellt, so ist eine etwaige Bakterienkontamination im Kulturverfahren auszuschließen. Sind Bakterien vorhanden, so können die Flüssigkeiten durch einen 450-nm-Membranfilter passiert und nach Zugabe weiterer Antibiotika in embryonierte Eier inokuliert werden.