

II

(Nicht veröffentlichungsbedürftige Rechtsakte)

KOMMISSION

ENTSCHEIDUNG DER KOMMISSION

vom 4. August 2006

über die Genehmigung eines Handbuchs zur Diagnose der Aviären Influenza gemäß der Richtlinie 2005/94/EG des Rates

(Bekannt gegeben unter Aktenzeichen K(2006) 3477)

(Text von Bedeutung für den EWR)

(2006/437/EG)

DIE KOMMISSION DER EUROPÄISCHEN GEMEINSCHAFTEN —

gestützt auf die Richtlinie 2005/94/EG des Rates vom 20. Dezember 2005 mit Gemeinschaftsmaßnahmen zur Bekämpfung der Aviären Influenza und zur Aufhebung der Richtlinie 92/40/EWG⁽¹⁾, insbesondere auf Artikel 50 Absatz 1 Unterabsatz 2,

in Erwägung nachstehender Gründe:

- (1) Die Richtlinie 2005/94/EG sieht bestimmte Vorbeugungsmaßnahmen hinsichtlich der Überwachung und Früherkennung der Aviären Influenza sowie Mindestbekämpfungsmaßnahmen vor, die bei Ausbruch der Aviären Influenza bei Geflügel oder in Gefangenschaft gehaltenen Vögeln anderer Spezies durchzuführen sind.
- (2) Diagnoseverfahren, Vorschriften für die Entnahme von Proben sowie Kriterien für die Bewertung der Ergebnisse von Laboranalysen zur Bestätigung eines Verdachts auf Aviäre Influenza müssen auf Gemeinschaftsebene festgelegt werden.
- (3) In Anhang VII zur Richtlinie 2005/94/EG sind die Funktionen und Aufgaben des Gemeinschaftlichen Referenzlabors für Aviäre Influenza festgelegt, das in Absprache mit der Kommission die in den Mitgliedstaaten angewandten Methoden zur Diagnose dieser Krankheit koordiniert. Zu den genannten Funktionen und Aufgaben gehören auch die regelmäßige Durchführung von Tests zum Vergleich der Diagnoseverfahren und die Abgabe von Standardreagenzien auf Gemeinschaftsebene.

(4) Vor kurzem wurden Labortests entwickelt, die eine Schnellanalyse der Aviären Influenza ermöglichen.

(5) Anhand der Erfahrungen, die in den vergangenen Jahren bei der Bekämpfung der Aviären Influenza erzielt wurden, konnten Probenahmeverfahren und Kriterien für die Auswertung von Laborbefunden festgelegt werden, die für unterschiedliche Situationen eine gezielte Seuchendiagnose gewährleisten.

(6) Die in dieser Entscheidung vorgesehenen Maßnahmen entsprechen der Stellungnahme des Ständigen Ausschusses für die Lebensmittelkette und Tiergesundheit —

HAT FOLGENDE ENTSCHEIDUNG ERLASSEN:

Artikel 1

Das in der Richtlinie 2005/94/EG vorgesehene und im Anhang zu dieser Entscheidung beschriebene Diagnosehandbuch wird genehmigt.

Artikel 2

Die Mitgliedstaaten verwenden das Diagnosehandbuch ab dem Zeitpunkt der Umsetzung der Richtlinie 2005/94/EG in innerstaatliches Recht oder ab dem 1. Juli 2007; maßgebend ist das frühere Datum.

⁽¹⁾ ABl. L 10 vom 14.1.2006, S. 16.

Artikel 3

Diese Entscheidung ist an die Mitgliedstaaten gerichtet.

Brüssel, den 4. August 2006

Für die Kommission
Markos KYPRIANOU
Mitglied der Kommission

ANHANG

HANDBUCH ZUR DIAGNOSE DER AVIÄREN INFLUENZA

KAPITEL I

Einführung, Ziele und Definitionen

1. Damit die Diagnose der Aviären Influenza (AI) innerhalb der Gemeinschaft nach einheitlichen Methoden erfolgt, umfasst dieses Diagnosehandbuch Folgendes:
 - a) Leitlinien und Mindestanforderungen bezüglich Diagnosemethoden, Probenahmeverfahren und Kriterien für die Auswertung von Laborbefunden zur gezielten Diagnose der AI;
 - b) die Laboranalyseverfahren zur Diagnose der Aviären Influenza und die Labortechniken für die genetische Typisierung von Virusisolaten der Aviären Influenza;
 - c) Mindestanforderungen an die Biosicherheit und Qualitätsstandards, die von den Diagnoselaboratorien und beim Transport von Proben einzuhalten sind.
2. Dieses Diagnosehandbuch richtet sich an die Behörden, die für die Bekämpfung der Aviären Influenza verantwortlich zeichnen. Deshalb werden darin in erster Linie die Prinzipien und die Anwendung der Laboranalyseverfahren, die Auswertung der entsprechenden Befunde sowie Labortechniken behandelt.
3. Für die Zwecke dieses Diagnosehandbuchs gilt — zusätzlich zu den Definitionen in Artikel 2 der Richtlinie 2005/94/EG — folgende Definition:

Der Ausdruck „Probe für Diagnosezwecke“ bezeichnet jede Art tierischen Materials, einschließlich eines kompletten Tierkörpers, das für Diagnose- oder Forschungszwecke transportiert wird, jedoch mit Ausnahme infizierter lebender Tiere.
4. Die Bestätigung der Aviären Influenza bei Geflügel und in Gefangenschaft gehaltenen Vögeln anderer Spezies muss gemäß den im vorliegenden Diagnosehandbuch beschriebenen Verfahren, Vorschriften für die Probenahme und Kriterien für die Bewertung der Ergebnisse von Laboranalysen erfolgen und sich auf eines oder mehrere der unter a, b und c genannten Kriterien stützen:
 - a) Nachweis von infektiösen Viren, von antigenem oder spezifischem genetischem Material in Gewebe-, Organ-, Blut- oder Exkrementproben von Geflügel oder Vögeln anderer Spezies;
 - b) Feststellung klinischer Symptome der Krankheit oder entsprechender postmortaler Läsionen bei diesen Vögeln;
 - c) Nachweis einer spezifischen Antikörperreaktion in Blutproben dieser Vögel.
5. Die Bestätigung einer Infektion von Säugetieren mit einem Influenza-A-Virus aviären Ursprungs, der entweder hoch pathogen oder aber niedrig pathogen vom Subtyp H5 oder H7 ist, muss auf einem oder mehreren der unter a oder b genannten Kriterien basieren:
 - a) Nachweis von infektiösen aviären Influenzaviren, von antigenem oder spezifischem genetischem Material in Gewebe-, Organ-, Blut- oder Exkrementproben von Säugetieren;
 - b) Nachweis einer spezifischen Antikörperreaktion auf Aviäre Influenza in Blutproben von Säugetieren.
6. Es gelten die Verfahren, Vorschriften für die Probenahme und Kriterien für die Auswertung von Laborbefunden, die
 - a) im vorliegenden Diagnosehandbuch beschrieben sind oder
 - b) von der zuständigen Behörde zugelassen wurden, vorausgesetzt dass
 - i) die zugelassenen Laboruntersuchungen mittels eines vom Gemeinschaftlichen Referenzlabor für Aviäre Influenza organisierten Vergleichstests in Bezug auf Sensitivität und Spezifität als wirksam nachgewiesen wurden oder
 - ii) falls für eine spezifische Art von Laboruntersuchung keine derartige Bewertung vom Gemeinschaftlichen Referenzlabor organisiert wurde, die zugelassenen Laboruntersuchungen vom nationalen Referenzlabor in Bezug auf Sensitivität und Spezifität validiert wurden, so dass die betreffenden Laboruntersuchungen zweckgeeignet sind; die Ergebnisse einer solchen Validierung sind dem Gemeinschaftlichen Referenzlabor zur Prüfung vorzulegen.

KAPITEL II

Beschreibung der Aviären Influenza mit Schwerpunkt auf der Differenzialdiagnose**1. Ätiologie und Virulenz**

Bei der Aviären Influenza handelt es sich um eine hoch ansteckende Virenerkrankung, die durch Viren der Familie *Orthomyxoviridae*, Gattung *Influenzavirus A*, verursacht wird. Influenza-A-Viren sind die einzigen Orthomyxoviren, die bekanntermaßen Vögel infizieren können. Zahlreiche Vogelarten sind nachweislich anfällig für Influenza-A-Viren. Ein bedeutendes Reservoir für solche Viren bilden Wasservögel, doch die überwältigende Mehrheit der nachgewiesenen Isolate war niedrig pathogen und wurde bei Hühnern und Truthühnern festgestellt, denen unter den Vögeln, die durch die Seuche gefährdet sind, die wirtschaftlich größte Relevanz zukommt.

Influenza-A-Viren weisen antigenetisch verwandte Nukleoproteine und antigenetisch verwandte Matrixproteine auf, werden jedoch aufgrund der antigenetischen Verwandtschaft der Oberflächenglykoproteine Hämagglutinin (HA) und Neuraminidase (NA) in Subtypen eingeteilt. Zurzeit sind 16 HA-Subtypen (H1 — H16) und 9 NA-Subtypen (N1 — N9) identifiziert. Jedes Influenza-A-Virus besitzt ein HA- und ein NA-Antigen, und zwar anscheinend in beliebiger Kombination.

Influenza-A-Viren werden anhand ihrer Fähigkeit, die Krankheit in anfälligem Geflügel auszulösen, wie folgt in zwei Gruppen unterteilt:

- a) **hoch pathogene aviäre Influenzaviren (HPAI)**; diese verursachen eine äußerst schwere Krankheit, die durch eine allgemeine Infektion des betroffenen Geflügels und eine sehr hohe Bestandssterblichkeit charakterisiert ist (bis zu 100 %);
- b) **niedrig pathogene aviäre Influenzaviren (NPAI)**; diese verursachen bei Geflügel eine harmlose Erkrankung, die in erster Linie die Atemwege betrifft, sofern keine Verschärfung durch Koinfektionen oder andere Faktoren eintritt.

Wildvögel, vor allem Wasserzugvögel, spielen als Reservoire für das Influenza-A-Virus eine wichtige Rolle, wie durch die Isolation nahezu aller möglichen Kombinationen von HA- und NA-Subtypen aus Wildvögeln nachgewiesen wurde. Generell werden in Wildvögeln, außer im Fall eines Übergreifens von HPAI von infiziertem Geflügel, ausschließlich NPAI-Viren festgestellt.

Die primäre Einschleppung aviärer Influenzaviren in Geflügelbetriebe ist aller Wahrscheinlichkeit nach auf mittelbaren oder unmittelbaren Kontakt mit Wildvögeln zurückzuführen.

Es besteht die Möglichkeit, dass sich solche von einem Wildwirt übertragenen NPAI-Viren bei Hausgeflügel unentdeckt verbreiten, da entsprechende klinische Symptome häufig harmlos sind oder gänzlich fehlen.

Nach dem Übergreifen auf Geflügel können NPAI-Virenstämme der Subtypen H5 und H7 zu HPAI-Stämmen mutieren. Bislang wurden ausschließlich Viren der Subtypen H5 und H7 als Auslöser von HPAI nachgewiesen.

Es scheint zwar, dass mehrere Mechanismen für die Mutation des NPAI-Virus zum HPAI-Virus verantwortlich sein können, doch die Faktoren, die diese Mutation bewirken, sind nicht bekannt. In einigen Fällen hat die Mutation anscheinend am ersten Ort des Auftretens nach dem Übergreifen von Wildvögeln innerhalb kurzer Zeit stattgefunden, wohingegen sich in anderen Fällen das NPAI-Virus über Monate hinweg in Geflügel weiterverbreitet hat, bevor es dann mutierte. Deshalb ist es unmöglich, vorherzusagen, ob und — wenn ja — wann eine solche Mutation stattfindet. Allerdings besteht Grund zu der Annahme, dass die Wahrscheinlichkeit einer Mutation zum HPAI-Virus umso größer ist, je weiter NPAI-Viren in Geflügel verbreitet sind.

Die Inkubationszeit ist schwierig zu bestimmen und variiert wahrscheinlich je nach Virenstamm und Wirt; in der Regel wird sie mit fünf bis sechs Tagen angegeben, doch für einzelne Vögel liegt sie vermutlich zwischen einigen Stunden und etwa sieben Tagen.

2. Klinische Symptome bei Vögeln, die mit dem HPAI-Virus infiziert sind

Die klinischen Symptome variieren erheblich und werden von verschiedenen Faktoren beeinflusst, wie zum Beispiel Virulenz des betreffenden Virus, betroffene Spezies, Alter, Geschlecht, gleichzeitig vorhandene Krankheiten und Umgebung.

Zu den frühzeitigen Symptomen können eine verringerte Futter- und/oder Wasseraufnahme sowie eine relativ niedrige Sterblichkeit gehören. Andererseits kann die Krankheit jedoch auch ganz plötzlich in einem Bestand auftreten, wobei unter Umständen zahlreiche Vögel ohne vorherige Krankheitssymptome oder mit nur minimalen Anzeichen in Form von reduzierter Aktivität, verringerter Futteraufnahme, zerrupften Federn und Fieber verenden. Generell sind die klinischen Symptome umso ausgeprägter, je länger die Vögel überleben. Die Dauer der Entwicklung von Symptomen ist abhängig vom Virus, vom Wirt und von der ursprünglichen Infektionsdosis in Verbindung mit dem Haltungssystem. Das Virus breitet sich unter Vögeln in Käfig- oder Freilandhaltung langsamer aus als in Mastgeflügelställen.

Mit dem HPAI-Virus infizierte Hennen legen möglicherweise zunächst weichschalige Eier und stellen dann die Legetätigkeit gänzlich ein. Erkrankte Vögel sitzen oder stehen häufig in halbkomatösem Zustand, wobei ihr Kopf den Boden berührt. Kämme und Kehllappen sind zyanotisch und ödematös und können an den Spitzen petechiale Blutungen oder ecchymatöse Hämorrhagien aufweisen. Häufig haben die Vögel starke, wässrige Diarrhö und sind übermäßig durstig. Die Atmung kann angestrengt und der Tränenfluss übermäßig sein. Unbefederte Hautareale können Hämorrhagien aufweisen. Die Bestandssterblichkeit variiert von 50 bis 100 %.

In Mastgeflügel sind die HPAI-Symptome häufig weniger offensichtlich als in anderem Geflügel, wobei es sich in der Regel um auffällige Inaktivität und verringerte Futteraufnahme handelt; die erste festzustellende Abnormalität kann ein starker Anstieg der Sterblichkeit sein. Außerdem können sich Ödeme an Kopf und Hals sowie neurologische Symptome wie Torticollis und Ataxie zeigen.

Die Symptome von HPAI sind bei Truthühnern ähnlich wie bei Hausgeflügel, doch scheinen einige HPAI-Viren bei Truthühnern virulenter, andere hingegen weniger virulent zu sein.

Bei mit dem HPAI-Virus infizierten Gänsen sind die Symptome in Form von Inaktivität, mangelnder Futteraufnahme und Diarrhö ähnlich denen bei Gänsen in Legebeständen, allerdings häufig in Verbindung mit geschwollenen Sinus. Bei jüngeren Vögeln können auch neurologische Symptome auftreten.

Mit dem HPAI-Virus infizierte Enten zeigen unter Umständen keinerlei klinische Symptome, doch wurde gemeldet, dass einige Virenstämme ähnliche Symptome wie bei Gänsen verursachen, verbunden mit einer gewissen Sterblichkeit.

Bei HPAI- und NPAI-Infektionen von Straußenvögeln sind unter Umständen keine klinischen Symptome erkennbar. Bei Ausbrüchen von HPAI, wie beispielsweise 1999/2000 in Italien, wurde festgestellt, dass Perlhühner und japanische Wachteln eine Infektionsanfälligkeit zeigten, wobei Symptome und Sterblichkeit ähnlich seien wie beim Auftreten der Krankheit bei Hühnern oder Truthühnern. Einigen experimentellen Untersuchungen zufolge sind jedoch Wachteln gegen bestimmte HPAI-Virenstämme resistent. Für alle Vögel gilt: Die Präsenz von Antikörpern gegen denselben H-Subtyp — unabhängig davon, ob durch Impfung oder eine natürliche Infektion hervorgerufen — kann dazu führen, dass bei einer Infektion mit dem HPAI-Virus keine erkennbaren klinischen Symptome auftreten.

3. Sektionsbefunde bei Vögeln, die mit dem HPAI-Virus infiziert waren

Vögel, die perakut verenden, weisen möglicherweise nur geringfügige makroskopische Läsionen in Form von Dehydratation und verlegten Eingeweiden und Muskeln auf.

Bei Vögeln, die nach langem klinischem Verlauf verenden, sind Petechien und ecchymatöse Hämorrhagien am ganzen Körper nachweisbar, insbesondere an Larynx, Luftröhre, Drüsenmagen und epikardialem Fettgewebe sowie den Teilen der Serosa, die neben dem Brustbein liegen. Es finden sich großflächige subkutane Ödeme, hauptsächlich um den Kopf und an den Läufen. Der Tierkörper kann dehydriert sein. Milz, Leber, Nieren und Lungen können gelbe oder graue nekrotische Herde aufweisen. Die Luftsäcke können ein Exsudat enthalten. Die Milz kann vergrößert und hämorrhagisch sein.

Histologisch charakterisiert wird die Aviäre Influenza durch Blutgefäßstörungen, die Ödeme, Hämorrhagien und perivaskuläre Entzündungen hervorrufen, vor allem in Herzmuskel, Milz, Lungen, Gehirn, Bauchspeicheldrüse und Kehllappen. Lungen, Leber und Nieren weisen nekrotische Herde auf. Im Gehirn können Gliose, vaskuläre Proliferation und neurale Degeneration auftreten.

4. Differenzialdiagnose

Bei der Differenzialdiagnose von HPAI sind insbesondere folgende Krankheiten zu berücksichtigen:

- a) andere Krankheiten, die eine plötzliche hohe Sterblichkeit zur Folge haben, wie zum Beispiel
 - i) Newcastle-Krankheit,
 - ii) infektiöse Laryngotracheitis,

- iii) Entenpest,
- iv) akute Vergiftungen;
- b) andere Erkrankungen, die zu einem Anschwellen der Kämme und Kehllappen führen, etwa
 - i) akute Geflügelcholera und andere septikämische Erkrankungen,
 - ii) bakterielle Cellulitis der Kämme und Kehllappen.

5. Klinische Symptome bei Vögeln, die mit dem NPAI-Virus infiziert sind

Die Schwere der von NPAI-Viren verursachten Krankheit wird größtenteils durch folgende Faktoren beeinflusst:

- a) Virenstamm,
- b) Spezies und Alter des Wirtes,
- c) Grad der Immunität des Wirtes gegen das Virus und insbesondere die Präsenz anderer Krankheitserreger, wie zum Beispiel
 - i) *Pasteurella* spp.,
 - ii) Viren der Newcastle-Krankheit (einschließlich Impfstämmen),
 - iii) aviäres Pneumovirus, Virus der infektiösen Bronchitis,
 - iv) *E. coli*,
 - v) *Mycoplasma* spp.,
- d) Vorliegen einer Immunschwäche,
- e) Umweltfaktoren (z. B. Überschuss an Ammoniak, Staub, Hitze oder Kälte).

Im einen Extremfall können die klinischen Krankheitssymptome nicht sichtbar oder geringfügig sein, in Form von harmlosen Atemproblemen oder Problemen bei der Legetätigkeit. Im anderen Extremfall können Infektionen mit dem NPAI-Virus mit gravierenden klinischen Krankheitssymptomen einhergehen, insbesondere bei Truthühnern; dabei handelt es sich in der Regel um rasselnde Atmung, Husten, Anschwellen des infraorbitalen Sinus und Fieber in Verbindung mit reduzierter Futteraufnahme und hoher Sterblichkeit.

NPAI kann mit zahlreichen Krankheiten, bei denen sich respiratorische oder enterale Symptome zeigen, verwechselt oder durch diese kompliziert werden. Bei jedem Krankheitsausbruch unter Geflügel, der trotz Anwendung präventiver und therapeutischer Maßnahmen gegen andere Krankheiten andauert, muss von Aviärer Influenza ausgegangen werden.

6. Klinische Symptome bei Vögeln, die in Gefangenschaft gehalten werden

Das Spektrum der klinischen Symptome kann sehr breit sein und wie bei Geflügel von nicht erkennbaren bis hin zu gravierenden Krankheitsanzeichen mit hoher Sterblichkeit variieren.

Generell breitet sich die Infektion in einem Bestand in Gefangenschaft gehaltener Vögel langsamer aus; zurückzuführen ist dies auf die Vielzahl der gehaltenen Spezies mit unterschiedlicher Anfälligkeit, die ungleichmäßige Ausscheidung des Virus und eine häufig relativ langsame Übertragung infolge geringer Kontaktraten und verhältnismäßig geringer Bestandsdichten.

KAPITEL III

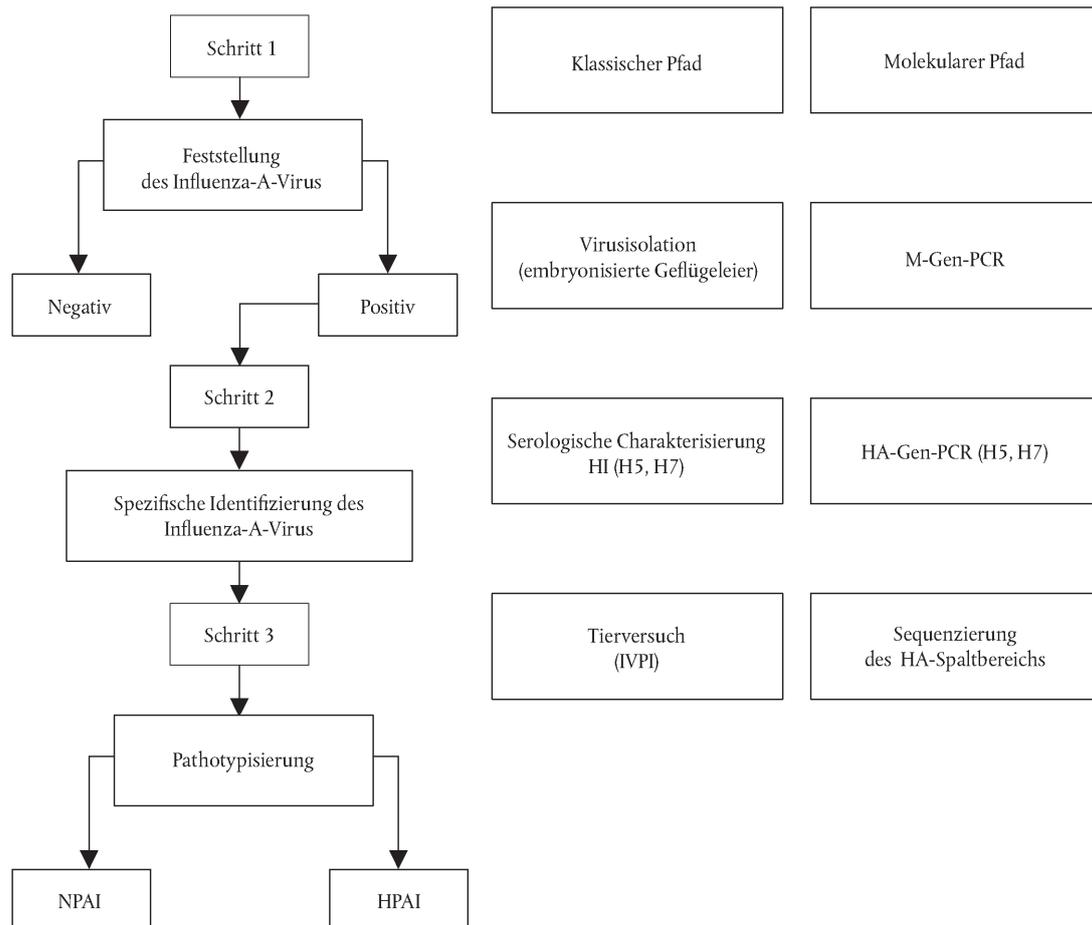
Leitlinien für den Fall eines Verdachts auf Aviäre Influenza in einem Betrieb

Die Variabilität der klinischen Symptome von HPAI und NPAI hat zur Folge, dass keine klaren Leitlinien für den Fall des Verdachts auf einen Ausbruch gegeben werden können. Bei einer plötzlich auftretenden hohen Sterblichkeit in Geflügelbeständen mit oder ohne die in Kapitel II beschriebenen klinischen Symptome sind Proben einzureichen und im Labor zu untersuchen; liegt jedoch keine hohe Sterblichkeitsrate vor, so ist es schwieriger, den Verdacht auf Aviäre Influenza zu bestätigen oder zu entkräften.

Da bei HPAI oder NPAI aufgrund einer Infektion mit den Subtypen H5 und H7 eine schnelle Diagnose äußerst wichtig ist, um die frühzeitige Bekämpfung und Tilgung der Krankheit zu ermöglichen, muss Aviäre Influenza bei der Differenzialdiagnose von Atemproblemen oder Problemen bei der Legetätigkeit sowie von erhöhter Sterblichkeit in Geflügelbeständen stets in Betracht gezogen werden, und entsprechende Proben für Laboruntersuchungen sind einzureichen.

Abbildung

Schematischer Überblick über die Diagnoseschritte zur Bestätigung von Aviärer Influenza



KAPITEL IV

Allgemeine Verfahren für die Entnahme und Beförderung von Proben

1. Richtlinie 2005/94/EG und Diagnosehandbuch

Sofern die Richtlinie 2005/94/EG auf das Diagnosehandbuch verweist, sind die in diesem Kapitel des Diagnosehandbuchs beschriebenen Untersuchungen, Probenahmen und Überwachungsverfahren obligatorisch.

2. Anzuwendende Verfahren im Fall eines Verdachts auf Aviäre Influenza

Wenn der amtliche Tierarzt einen klinischen Verdacht auf Aviäre Influenza hat oder aber die Ergebnisse einer einschlägigen Laboruntersuchung nicht negativ sind, hat die zuständige Behörde sicherzustellen, dass im Einklang mit Artikel 7 der Richtlinie 2005/94/EG vor einem Ausschluss dieser Krankheit eine Untersuchung nach Maßgabe dieses Kapitels des Diagnosehandbuchs durchgeführt und mit zufrieden stellendem Ergebnis abgeschlossen wird.

3. Interpretation der virologischen Untersuchung

Die zuständige Behörde kann einen Ausbruch der Aviären Influenza ausschließen, wenn eine aussagekräftige Zahl der erkrankten oder toten Vögel und Luftröhren-/Oropharynxabstriche oder Kloakenabstriche nach Maßgabe dieses Kapitels zur Untersuchung auf dieses Virus oder sein Genom übersandt wurden und die Untersuchung mittels eines der in Kapitel V oder VI genannten oder von der zuständigen Behörde nach Kapitel I Nummer 6 Buchstabe b zugelassenen spezifischen Virusnachweisverfahrens negative Befunde erbracht hat.

4. Standardsatz an Proben für virologische oder serologische Laboruntersuchungen

Die Untersuchung eines Betriebs, bei dem der Verdacht auf Aviäre Influenza besteht, hat in der Form zu erfolgen, dass der Standardsatz an Proben für die virologische oder serologische Untersuchung gemäß a und b („Standardproben“) genommen und direkt für die virologischen und serologischen Laboruntersuchungen übersandt wird.

a) Der Standardsatz an Proben für die virologische Untersuchung ist wie folgt definiert:

- i) mindestens fünf kranke/tote Vögel, falls vorhanden, und/oder
- ii) mindestens 20 Luftröhren-/Oropharynxabstriche und 20 Kloakenabstriche

Tierkörper müssen von erst kurz zuvor verendeten oder schwer erkrankten bzw. verendenden Vögeln stammen, die vom Menschen getötet wurden.

Abstriche sind der unter a genannten Zahl von Vögeln oder, wenn es sich um einen kleineren Bestand handelt, allen Vögeln in dem untersuchten Betrieb zu entnehmen. Vögel, die klinische Krankheitssymptome aufweisen, müssen gezielt in die Probenahme einbezogen werden.

Die Kloakenabstriche müssen ausreichend mit Fäzes bedeckt sein (im Optimalfall 1 g). Sollte die Entnahme von Kloakenproben aus lebenden Vögeln nicht möglich sein, können stattdessen sorgfältig gesammelte frische Fäkalproben übersandt werden.

Die Entnahme von Luftröhren-/Oropharynxabstrichen aus der Wangentasche erweist sich häufig als am besten praktikierbar.

Sobald die Wachstumseigenschaften des Virus bekannt sind, kann die zuständige Behörde entscheiden, entweder Luftröhren-/Oropharynxabstriche oder Kloakenabstriche anstatt beidem zu untersuchen, abhängig davon, ob sich das Virus besser im Atmungs- oder im Verdauungstrakt repliziert und um welche Spezies es sich handelt.

b) Der Standardsatz an Proben für die serologische Untersuchung umfasst mindestens 20 Blutproben.

Proben sind der unter b genannten Zahl von Vögeln oder, wenn es sich um einen kleineren Bestand handelt, allen Vögeln in dem untersuchten Betrieb zu entnehmen. Vögel, die krank erscheinen oder sich anscheinend wieder erholt haben, müssen gezielt in die Probenahme einbezogen werden.

Die zuständige Behörde kann entscheiden, dass nicht der komplette Standardsatz an Proben entnommen werden muss, sondern ein bestimmter Teil an Standardproben ausreicht.

5. Beförderung der Proben

Bei der Lagerung von Proben und deren Beförderung ins Testlabor ist besondere Sorgfalt geboten.

Die Abstriche müssen sofort auf Eis oder mit Gefriergelpackungen gekühlt und schnellstmöglich in das Labor gebracht werden. Falls nicht unbedingt erforderlich, sollten die Proben nicht eingefroren werden. Ist nicht gewährleistet, dass die Beförderung ins Labor innerhalb von 24 Stunden erfolgt, müssen die Proben sofort eingefroren, gelagert und dann auf Trockeneis befördert werden.

Zusätzlich — und nicht alternativ zur Kühlung — sind die Abstriche in ein antibiotisches oder spezifisches Virustransportmedium mit einer Temperatur von 4 °C zu geben, so dass sie von diesem vollständig bedeckt sind. Ist kein solches Medium vorhanden, müssen die Abstriche wieder in ihr Behältnis gegeben und in trockenem Zustand an das Labor zur Untersuchung übersandt werden.

Die Lagerung und die Beförderung von Proben können durch eine Vielzahl von Faktoren beeinflusst werden, weshalb eine zweckgeignete Beförderungsmethode zu wählen ist.

6. Antibiotisches Medium

Das antibiotische Medium, auf das in Nummer 5 Bezug genommen wird, muss auf einer phosphatgepufferten Salzlösung mit einem pH-Wert von 7,0 bis 7,4 (gemessen nach der Antibiotikazugabe) basieren.

Medien auf Proteinbasis, zum Beispiel Herz-Hirn-Nährboden oder Tris-gepufferter Tryptose-Agar, können dem Virus, insbesondere während der Beförderung, zusätzliche Stabilität verleihen. Die eingesetzten Antibiotika und ihre Konzentrate können, je nach lokalen Faktoren und Verfügbarkeit, variieren.

Für Fäkalproben können sehr hohe Dosen Antibiotika erforderlich sein; geeignet sind 10 000 IE/ml Penicillin, 10 mg/ml Streptomycin, 0,25 mg/ml Gentamycin und 5 000 IE/ml Nystatin. Für Gewebe und Luftröhrenabstriche können diese Mengen bis auf ein Fünftel verringert werden.

Soll auch eine Kontrolle auf Chlamydophila vorgenommen werden, sind 0,05—0,1 mg/ml Oxytetracyclin beizufügen.

7. **Medium auf der Basis eines Herz-Hirn-Nährbodens**

Es ist eine wässrige Lösung mit 15 Vol.-% Herz-Hirn-Nährbodenpulver — vor dem Sterilisieren — herzustellen (durch Autoklavieren bei 121 °C/15 min).

Die nachstehenden Sterilisationsantibiotika sind wie folgt beizugeben: 10 000 IE/ml Penicillin G, 20 µg Amphotericin B und 1 000 µg/ml Gentamycin. Die Medien können bei einer Temperatur von 4 °C bis zu zwei Monate lang gelagert werden.

8. **Gemäß den einschlägigen Bestimmungen der Richtlinie 2005/94/EG anzuwendende Verfahren**

8.A. Verdacht auf Seuchenausbruch

8.1. *Artikel 7 Absatz 1 — Maßnahmen in Betrieben mit Seuchenverdacht*

Inspeziert ein amtlicher Tierarzt einen seuchenverdächtigen Betrieb, so sind folgende Maßnahmen durchzuführen:

- a) Überprüfung der Produktionsbücher und tiergesundheitslichen Aufzeichnungen des Betriebs, soweit vorhanden. Die täglichen Mortalitäts- und Eierproduktionsdaten sowie die täglichen Futter- und/oder Wasseraufnahmedaten für den Zeitraum ab einer Woche vor dem ersten Auftreten klinischer Symptome der Aviären Influenza bis zum Datum der Betriebsinspektion durch den amtlichen Tierarzt sind von diesem im Inspektionsbericht zu dokumentieren;
- b) klinische Inspektion jeder Produktionseinheit, einschließlich einer Bewertung ihrer klinischen Vorgeschichte sowie klinischer Untersuchungen des Geflügels oder der in Gefangenschaft gehaltenen Vögel anderer Spezies, insbesondere krank erscheinender Vögel;
- c) wenn die zuständige Behörde den Seuchenverdacht nicht mit Sicherheit auf der Grundlage der klinischen Inspektion gemäß a und b ausschließen kann, sind die Standardproben aus jeder Produktionseinheit zu entnehmen;
- d) unabhängig von negativen Befunden der Untersuchung von Standardproben und unter Berücksichtigung lokaler Faktoren muss eine klinische Inspektion des Geflügels in jeder Produktionseinheit erfolgen, bevor die amtliche Überwachung aufgehoben werden kann.

8.2. *Artikel 10 Absatz 3 — Zusätzliche Maßnahmen infolge einer epidemiologischen Untersuchung*

In jeder Produktionseinheit sind Standardproben aus getötetem Geflügel oder getöteten in Gefangenschaft gehaltenen Vögeln anderer Spezies zu entnehmen.

8.B. Hoch pathogene Aviäre Influenza (HPAI)

8.3. *Artikel 11 Absatz 4 — Maßnahmen in Bezug auf Geflügel aus Eiern, die aus Betrieben abgeholt wurden, für die der Seuchenverdacht bestätigt wurde*

Inspeziert ein amtlicher Tierarzt einen Betrieb mit Geflügel aus Eiern, die während der Inkubationszeit aus einem Betrieb abgeholt wurden, für den der Verdacht auf HPAI bestätigt wurde, so sind folgende Maßnahmen durchzuführen:

- a) Überprüfung der Produktionsbücher und tiergesundheitslichen Aufzeichnungen des Betriebs. Die täglichen Mortalitätsdaten sowie die täglichen Futter- und/oder Wasseraufnahmedaten, soweit vorhanden, für den Zeitraum ab einer Woche vor dem ersten Auftreten klinischer Symptome von HPAI bis zum Datum der Betriebsinspektion durch den amtlichen Tierarzt sind von diesem im Inspektionsbericht zu dokumentieren;

- b) klinische Inspektion jeder Produktionseinheit und klinische Untersuchung des Geflügels, insbesondere solcher Vögel, die krank erscheinen oder nicht erwartungsgemäß wachsen;
- c) die Standardproben sind zwei bis drei Wochen altem Geflügel zu entnehmen;
- d) die amtliche Überwachung des Betriebs kann aufgehoben werden, wenn eine klinische Untersuchung von mehr als 21 Tage altem Geflügel durchgeführt wurde und die Untersuchungsergebnisse der Standardproben negativ sind.

8.4. *Artikel 13 Absatz 2 Buchstabe b — Ausnahmen für bestimmte Betriebe*

Inspiziert ein amtlicher Tierarzt einen Betrieb, dem eine Ausnahme von den Maßnahmen gemäß Artikel 11 Absatz 2 Unterabsatz 1 der Richtlinie 2005/94/EG gewährt wurde, so sind folgende Maßnahmen durchzuführen:

- a) Überprüfung der Produktionsbücher und tiergesundheitslichen Aufzeichnungen des Betriebs, soweit vorhanden;
- b) klinische Inspektion jeder Produktionseinheit, einschließlich einer Bewertung ihrer klinischen Vorgeschichte sowie klinischer Untersuchungen des Geflügels oder der in Gefangenschaft gehaltenen Vögel anderer Spezies, insbesondere krank erscheinender Vögel;
- c) anstatt der Standardproben müssen aus jeder Produktionseinheit 21 Tage nach dem letzten positiven HPAI-Befund und dann alle 21 Tage folgende Proben für die Laboruntersuchung entnommen werden:
 - i) Proben des zum Zeitpunkt der Probenahme vorhandenen toten Geflügels oder der toten in Gefangenschaft gehaltenen Vögel anderer Spezies;
 - ii) soweit möglich, Luftröhren-/Oropharynxabstriche und Kloakenabstriche von mindestens 60 Hühnern oder in Gefangenschaft gehaltenen Vögeln anderer Spezies bzw. von sämtlichen Hühnern oder in Gefangenschaft gehaltenen Vögeln anderer Spezies, wenn der Bestand des fraglichen Betriebs weniger als 60 Vögel umfasst. Handelt es sich um kleine, exotische Vögel, die den Kontakt mit Menschen nicht gewohnt sind oder deren Handhabung für den Menschen gefährlich wäre, so sind frische Fäkalproben zu sammeln.

Die zuständige Behörde kann jedoch auf der Grundlage des Ergebnisses einer Risikobewertung Ausnahmen von dem unter Ziffer i und ii genannten Probenumfang gewähren;

- d) die unter c genannten Probenahmen und Laboruntersuchungen sind so lang fortzusetzen, bis zwei aufeinander folgende negative Laborbefunde vorliegen, deren zeitlicher Abstand mindestens 21 Tage betragen muss.

8.5. *Artikel 15 Absätze 1 und 3 — Maßnahmen in Kontaktbetrieben*

Inspiziert ein amtlicher Tierarzt einen Kontaktbetrieb, so sind folgende Maßnahmen durchzuführen:

- a) Überprüfung der Produktionsbücher und tiergesundheitslichen Aufzeichnungen des Betriebs, soweit vorhanden. Die täglichen Mortalitätsdaten sowie die täglichen Futter- und/oder Wasseraufnahmedaten sind, soweit vorhanden, für den Zeitraum ab einer Woche vor dem Kontakt mit dem Bestand, bei dem ein Verdacht auf Aviäre Influenza besteht, bis zum Datum der Betriebsinspektion durch den amtlichen Tierarzt von diesem im Inspektionsbericht zu dokumentieren;
- b) klinische Inspektion jeder Produktionseinheit, einschließlich einer Bewertung ihrer klinischen Vorgeschichte sowie klinischer Untersuchungen des Geflügels oder der in Gefangenschaft gehaltenen Vögel anderer Spezies, insbesondere krank erscheinender Vögel;
- c) zeigen sich bei Geflügel oder in Gefangenschaft gehaltenen Vögeln anderer Spezies klinische Symptome oder Anzeichen für einen Anstieg der täglichen Sterblichkeitsrate (> dreifache normale Sterblichkeitsrate des Bestands) oder eine Abnahme der täglichen Eierproduktion (> 5 %) oder einen Rückgang der täglichen Futter- und/oder Wasseraufnahme (> 5 %), so sind unverzüglich aus jeder Produktionseinheit die Standardproben zu entnehmen;
- d) zeigen sich keine der unter b und c genannten Symptome, so sind die Standardproben 21 Tage nach dem mutmaßlich letzten Kontakt mit einem infizierten Betrieb oder bei der Tötung des Geflügels bzw. der in Gefangenschaft gehaltenen Vögel anderer Spezies zu entnehmen.

8.6. *Artikel 18 Buchstaben b und c — Zählung, Betriebsbesichtigungen durch den amtlichen Tierarzt und Überwachung in Betrieben innerhalb der Schutzzone*

Inspiziert ein amtlicher Tierarzt eine gewerbliche Haltung, so sind folgende Maßnahmen durchzuführen:

- a) Überprüfung der Produktionsbücher und tiergesundheitslichen Aufzeichnungen des Betriebs. Zeigen sich Anzeichen für einen Anstieg der täglichen Sterblichkeitsrate (> dreifache normale Sterblichkeitsrate des Bestands) oder eine Abnahme der täglichen Eierproduktion (> 5 %) oder einen Rückgang der täglichen Futter- und/oder Wasseraufnahme (> 5 %), so sind aus jeder Produktionseinheit die Standardproben zu entnehmen;
- b) klinische Inspektion jeder Produktionseinheit, einschließlich Bewertung ihrer klinischen Vorgeschichte sowie klinischer Untersuchungen des Geflügels und der in Gefangenschaft gehaltenen Vögel anderer Spezies, insbesondere krank erscheinender Vögel;

- c) handelt es sich um eine Spezies von Geflügel oder anderen in Gefangenschaft gehaltenen Vögeln, bei denen keine ausgeprägten klinischen Krankheitssymptome zu erwarten sind, oder um geimpfte Vögel, kann die zuständige Behörde auf der Grundlage des Ergebnisses einer Risikobewertung entscheiden, dass die Standardproben aus jeder Produktionseinheit zu entnehmen sind;
- d) die zuständige Behörde muss auf der Grundlage des Ergebnisses einer Risikobewertung über eine zusätzliche amtliche Überwachung in Form von klinischen Inspektionen und Probenahmen für Laboruntersuchungen in ausgewählten Haltungen, Kompartimenten oder Produktionsarten entscheiden.

8.7. Artikel 19 Buchstabe f — Maßnahmen in Betrieben innerhalb von Schutzzonen

Inspiziert ein amtlicher Tierarzt einen Betrieb, der einen Anstieg der Morbiditäts- und/oder Mortalitätsrate oder Veränderungen bei der Produktion gemeldet hat, so sind folgende Maßnahmen durchzuführen:

- a) Überprüfung der Produktionsbücher und tiergesundheitlichen Aufzeichnungen des Betriebs. Zeigen sich Anzeichen für einen Anstieg der täglichen Sterblichkeitsrate (> dreifache normale Sterblichkeitsrate des Bestands) oder eine Abnahme der täglichen Eierproduktion (> 5 %) oder einen Rückgang der täglichen Futter- und/oder Wasseraufnahme (> 5 %), so sind aus jeder Produktionseinheit die Standardproben zu entnehmen;
- b) klinische Inspektion jeder Produktionseinheit, einschließlich Bewertung ihrer klinischen Vorgeschichte sowie klinischer Untersuchungen des Geflügels oder der in Gefangenschaft gehaltenen Vögel anderer Spezies, insbesondere krank erscheinender Vögel.

8.8. Artikel 23 Buchstabe b — Ausnahmen für Direktbeförderungen von Geflügel zur unverzüglichen Schlachtung

Inspiziert ein amtlicher Tierarzt einen Betrieb, dem eine Ausnahme von den Maßnahmen gemäß Artikel 22 der Richtlinie 2005/94/EG gewährt wurde, so sind folgende Maßnahmen durchzuführen:

- a) Überprüfung der Produktionsbücher und tiergesundheitlichen Aufzeichnungen des Betriebs;
- b) klinische Inspektion jeder Produktionseinheit, einschließlich einer Bewertung ihrer klinischen Vorgeschichte sowie klinischer Untersuchungen des Geflügels, insbesondere krank erscheinender Vögel, und zwar innerhalb von 24 Stunden vor der Abholung des Geflügels;
- c) auf der Grundlage des Ergebnisses einer Risikobewertung durch die zuständige Behörde und anstelle der Standardproben sind mindestens 60 Luftröhren-/Oropharynxabstriche und/oder 60 Kloakenabstriche aus zu schlachtendem Geflügel jeder Produktionseinheit zu entnehmen, und zwar innerhalb von 48 Stunden vor der Abholung des Geflügels.

8.9. Artikel 25 Buchstabe b — Ausnahmen für Direktbeförderungen von Junglegehennen

Inspiziert ein amtlicher Tierarzt einen Betrieb, dem eine Ausnahme von den Maßnahmen gemäß Artikel 22 vor der Direktbeförderung von Junglegehennen gewährt wurde, so sind folgende Maßnahmen durchzuführen:

- a) Überprüfung der Produktionsbücher und tiergesundheitlichen Aufzeichnungen des Betriebs;
- b) klinische Inspektion jeder Produktionseinheit, einschließlich einer Bewertung ihrer klinischen Vorgeschichte sowie klinischer Untersuchungen des Geflügels, insbesondere solcher Vögel, die krank erscheinen, und zwar innerhalb von 24 Stunden vor der Abholung des Geflügels;
- c) auf der Grundlage des Ergebnisses einer Risikobewertung durch die zuständige Behörde und anstelle der Standardproben sind mindestens 60 Luftröhren-/Oropharynxabstriche und/oder Kloakenabstriche aus zu beförderndem Geflügel jeder Produktionseinheit zu entnehmen, und zwar innerhalb von 48 Stunden vor der Abholung des Geflügels.

8.10. Artikel 26 Absatz 1 Buchstabe a — Ausnahmen für Direktbeförderungen von Brut- und Konsumeiern

Inspiziert ein amtlicher Tierarzt eine Elterntierhaltung, der eine Ausnahme von den Maßnahmen gemäß Artikel 22 vor der Direktbeförderung von Bruteiern gewährt wurde, so sind folgende Maßnahmen durchzuführen:

- a) Überprüfung der Produktionsbücher und tiergesundheitlichen Aufzeichnungen des Betriebs;
- b) klinische Inspektion jeder Produktionseinheit alle 15 Tage;
- c) die Standardproben sind jeder Produktionseinheit zu entnehmen.

8.11. *Artikel 29 Absatz 1 — Dauer der Maßnahmen*

Die gemäß Kapitel IV Abschnitt 3 der Richtlinie 2005/94/EG für die Schutzzone vorgesehenen Maßnahmen sind frühestens 21 Tage nach dem Zeitpunkt des Abschlusses der Grobreinigung und der ersten Desinfektion des Seuchenbetriebs aufzuheben, vorausgesetzt dass

- a) alle gewerblichen Haltungen innerhalb der Schutzzone von einem amtlichen Tierarzt inspiziert wurden und dass sämtliche Tests, klinische Inspektionen und Laboruntersuchungen gemäß Nummer 8.6 Buchstaben a, b und c sowie Nummer 8.7 Negativbefunde ergeben haben;
- b) alle identifizierten nichtgewerblichen Haltungen innerhalb der Schutzzone von einem amtlichen Tierarzt inspiziert wurden und dass weder die klinische Untersuchung noch die Befunde der durchgeführten Laboruntersuchungen einen Verdacht auf Aviäre Influenza begründen;
- c) durchgeführte Maßnahmen zur zusätzlichen amtlichen Überwachung gemäß Nummer 8.6 Buchstabe d Negativbefunde ergeben haben.

8.12. *Artikel 30 Buchstabe g — Maßnahmen in Überwachungszonen*

Inspiziert ein amtlicher Tierarzt einen Betrieb, der einen Anstieg der Morbiditäts- und/oder Mortalitätsrate oder Veränderungen bei der Produktion gemeldet hat, so sind folgende Maßnahmen durchzuführen:

- a) Überprüfung der Produktionsbücher und tiergesundheitlichen Aufzeichnungen des Betriebs;
- b) klinische Inspektion jeder Produktionseinheit, einschließlich einer Bewertung ihrer klinischen Vorgeschichte sowie klinischer Untersuchungen des Geflügels oder der in Gefangenschaft gehaltenen Vögel anderer Spezies, insbesondere krank erscheinender Vögel;
- c) die Standardproben sind jeder Produktionseinheit zu entnehmen.

8.13. *Artikel 35 — Untersuchung von HPAI-Verdachtsfällen in Schlachthöfen und Transportmitteln*

Inspiziert ein amtlicher Tierarzt einen Herkunftsbetrieb von Vögeln aufgrund eines Verdachts in Schlachthöfen oder Transportmitteln, so sind folgende Maßnahmen durchzuführen:

- a) Überprüfung der Produktionsbücher und tiergesundheitlichen Aufzeichnungen des Betriebs, soweit vorhanden;
- b) klinische Inspektion jeder Produktionseinheit, einschließlich einer Bewertung ihrer klinischen Vorgeschichte sowie klinischer Untersuchungen des Geflügels oder der in Gefangenschaft gehaltenen Vögel anderer Spezies, wobei der amtliche Tierarzt des Schlachthofs zu konsultieren ist, der Angaben zu etwaigen vorangegangenen Inspektionen und Ergebnissen von Schlachtier- und Schlachtkörperuntersuchungen übermitteln muss;
- c) wenn die zuständige Behörde den Verdacht auf HPAI nicht mit Sicherheit auf der Grundlage der tierärztlichen Untersuchung gemäß a und b ausschließen kann, sind die Standardproben aus jeder Produktionseinheit zu entnehmen;
- d) zusätzlich zu den Standardproben sind Proben von mindestens fünf erkrankten, toten oder im Schlachthof geschlachteten Vögeln mit pathologischen Befunden für Laboruntersuchungen zu übersenden.

8.14. *Artikel 36 Absatz 1 — Maßnahmen in Schlachthöfen*

Nach Abschluss der Untersuchungen gemäß Nummer 8.13 und unter der Voraussetzung, dass die Laboruntersuchungen Negativbefunde ergeben haben und kein klinischer Verdacht auf HPAI im Herkunftsbetrieb und im Schlachthof besteht, kann die amtliche Überwachung aufgehoben werden.

8.15. *Artikel 37 Absätze 1 und 2 — Maßnahmen in Grenzkontrollstellen oder Transportmitteln*

8.15.1. Inspiziert ein amtlicher Tierarzt in völliger Isolation befindliche Hühner oder in Gefangenschaft gehaltene Vögel anderer Spezies, die aufgrund eines HPAI-Verdachts oder einer HPAI-Bestätigung aus Grenzkontrollstellen oder Transportmitteln verbracht wurden, so sind folgende Maßnahmen durchzuführen:

- a) Überprüfung der einschlägigen Unterlagen und Protokolle, soweit vorhanden;
- b) klinische Untersuchung dieser in völliger Isolation befindlichen Hühner oder in Gefangenschaft gehaltenen Vögel anderer Spezies sowie klinische Inspektion sämtlicher Hühner oder in Gefangenschaft gehaltener Vögel anderer Spezies, insbesondere krank erscheinender Vögel;
- c) die Standardproben sind Hühnern oder in Gefangenschaft gehaltenen Vögeln anderer Spezies zu entnehmen, die sich in verschiedenen Transportkisten oder -käfigen befinden.

8.15.2. Inspiziert ein amtlicher Tierarzt einen identifizierten Herkunftsbetrieb geschlachteter Hühner oder geschlachteter in Gefangenschaft gehaltener Vögel anderer Spezies, so sind folgende Maßnahmen durchzuführen:

- a) Überprüfung der Produktionsbücher und tiergesundheitlichen Aufzeichnungen des Betriebs, soweit vorhanden;
- b) klinische Inspektion jeder Produktionseinheit, einschließlich Bewertung ihrer klinischen Vorgeschichte sowie klinischer Untersuchungen des Geflügels oder der in Gefangenschaft gehaltenen Vögel anderer Spezies, wobei der amtliche Tierarzt des Schlachthofs zu konsultieren ist, der Angaben zu etwaigen vorangegangenen Inspektionen und Ergebnissen von Schlachtier- und Schlachtkörperuntersuchungen übermitteln muss;
- c) wenn die zuständige Behörde den Verdacht auf HPAI nicht mit Sicherheit auf der Grundlage der tierärztlichen Untersuchung gemäß a und b ausschließen kann, sind die Standardproben aus jeder Produktionseinheit zu entnehmen;
- d) zusätzlich zu den unter c genannten Standardproben sind Proben von mindestens fünf erkrankten, toten oder im Schlachthof geschlachteten Vögeln mit pathologischen Befunden für Laboruntersuchungen zu übersenden;
- e) unter der Voraussetzung, dass die Laboruntersuchungen der unter c und d genannten Proben Negativbefunde ergeben haben und kein klinischer Verdacht auf HPAI im Herkunftsbetrieb und im Schlachthof besteht, kann die amtliche Überwachung aufgehoben werden.

8.C. Niedrig pathogene Aviäre Influenza (NPAI)

8.16. *Artikel 39 Absatz 6 Buchstaben b und h) — In Betrieben mit bestätigtem Ausbruch von NPAI durchzuführende Maßnahmen*

Inspiziert ein amtlicher Tierarzt einen Betrieb, bevor von dort Geflügel in einen Schlachthof befördert werden soll, oder einen Betrieb mit Geflügel aus Eiern, die bereits während der Inkubationszeit aus dem Betrieb abgeholt wurden, so sind folgende Maßnahmen durchzuführen:

- a) Überprüfung der Produktionsbücher und tiergesundheitlichen Aufzeichnungen des Betriebs;
- b) klinische Inspektion jeder Produktionseinheit, einschließlich einer Bewertung ihrer klinischen Vorgeschichte sowie klinischer Untersuchungen des Geflügels oder der in Gefangenschaft gehaltenen Vögel anderer Spezies;
- c) die Standardproben sind in jeder Produktionseinheit dem zur Schlachtung vorgesehenen Geflügel zu entnehmen, und zwar innerhalb von 48 Stunden vor ihrer Abholung;
- d) die Standardproben sind in jeder Produktionseinheit dem Geflügel aus Eiern, die bereits während der Inkubationszeit aus dem Betrieb abgeholt wurden, zu entnehmen.

8.17. *Artikel 40 Absatz 2 Buchstabe b — Ausnahmen für bestimmte Betriebe von den bei bestätigtem Seuchenausbruch vorgeschriebenen Maßnahmen*

Inspiziert ein amtlicher Tierarzt einen Betrieb, dem eine Ausnahme von den Maßnahmen gemäß Artikel 39 Absatz 2 und Absatz 5 Buchstabe b der Richtlinie 2005/94/EG gewährt wurde, so sind folgende Maßnahmen durchzuführen:

- a) Überprüfung der Produktionsbücher und tiergesundheitlichen Aufzeichnungen des Betriebs, soweit vorhanden;
- b) klinische Inspektion jeder Produktionseinheit in regelmäßigen Abständen, einschließlich einer Bewertung ihrer klinischen Vorgeschichte sowie klinischer Untersuchungen des Geflügels oder der in Gefangenschaft gehaltenen Vögel anderer Spezies, insbesondere krank erscheinender Vögel;
- c) anstatt der Standardproben müssen aus jeder Produktionseinheit 21 Tage nach dem letzten positiven NPAI-Befund und dann alle 21 Tage folgende Proben für die Laboruntersuchung entnommen werden:
 - i) Proben des zum Zeitpunkt der Probenahme vorhandenen toten Geflügels oder der toten in Gefangenschaft gehaltenen Vögel anderer Spezies;
 - ii) Luftröhren-/Oropharynxabstriche und Kloakenabstriche von 60 Hühnern und in Gefangenschaft gehaltenen Vögeln anderer Spezies bzw. von sämtlichen Hühnern und in Gefangenschaft gehaltenen Vögeln anderer Spezies, wenn der Bestand des fraglichen Betriebs weniger als 60 Vögel umfasst. Handelt es sich um kleine, exotische Vögel, die den Kontakt mit Menschen nicht gewohnt sind oder deren Handhabung für den Menschen gefährlich wäre, so sind frische Fäkalproben zu sammeln.

Die zuständige Behörde kann jedoch auf der Grundlage des Ergebnisses einer Risikobewertung Ausnahmen von dem unter Ziffer i und ii genannten Probenumfang gewähren;

- d) die unter c) genannten Probenahmen und Laboruntersuchungen sind so lang fortzusetzen, bis zwei aufeinander folgende negative Laborbefunde vorliegen, deren zeitlicher Abstand mindestens 21 Tage betragen muss.

8.18. *Artikel 42 Absätze 1 und 3 — Maßnahmen in Kontaktbetrieben*

Inspiziert ein amtlicher Tierarzt einen Kontaktbetrieb, so sind folgende Maßnahmen durchzuführen:

- a) Überprüfung der Produktionsbücher und tiergesundheitlichen Aufzeichnungen des Kontaktbetriebs, soweit vorhanden;
- b) klinische Inspektion jeder Produktionseinheit, einschließlich einer Bewertung ihrer klinischen Vorgeschichte sowie klinischer Untersuchungen des Geflügels oder der in Gefangenschaft gehaltenen Vögel anderer Spezies, insbesondere krank erscheinender Vögel;
- c) die Standardproben sind jeder Produktionseinheit oder bei der Tötung des Geflügels oder der in Gefangenschaft gehaltenen Vögel anderer Spezies zu entnehmen.

8.19. *Artikel 44 Absatz 1 Buchstabe b — Maßnahmen für das Restriktionsgebiet*

Inspiziert ein amtlicher Tierarzt eine gewerbliche Haltung in einem Restriktionsgebiet, so sind folgende Maßnahmen durchzuführen:

- a) Überprüfung der Produktionsbücher und tiergesundheitlichen Aufzeichnungen des Betriebs;
- b) klinische Inspektion jeder Produktionseinheit, einschließlich einer Bewertung ihrer klinischen Vorgeschichte sowie klinischer Untersuchungen des Geflügels oder der in Gefangenschaft gehaltenen Vögel anderer Spezies, insbesondere krank erscheinender Vögel;
- c) die Standardproben sind jeder Produktionseinheit zu entnehmen;
- d) die zuständige Behörde muss auf der Grundlage des Ergebnisses einer Risikobewertung über eine zusätzliche amtliche Überwachung in Form von klinischen Inspektionen und Probenahmen für Laboruntersuchungen in ausgewählten Haltungen, Kompartimenten oder Produktionsarten entscheiden.

8.20. *Artikel 45 Buchstaben a und b — Dauer der Maßnahmen*

Die nach Kapitel V Abschnitt 3 der Richtlinie 2005/94/EG geltenden Maßnahmen für das Restriktionsgebiet sind frühestens 21 Tage nach dem Zeitpunkt des Abschlusses der Grobreinigung und der ersten Desinfektion des Seuchenbetriebs im Anschluss an die Räumung des Betriebs oder frühestens 42 Tage nach dem Zeitpunkt der Bestätigung des Ausbruchs von NPAI aufzuheben, vorausgesetzt dass

- a) alle gewerblichen Haltungen innerhalb der Restriktionszone von einem amtlichen Tierarzt inspiziert wurden und dass sämtliche Laboruntersuchungen der unter Nummer 8.13 Buchstaben c und d genannten Proben durchgeführt wurden und verfügbar sind;
- b) die Ergebnisse etwaiger zusätzlicher klinischer Inspektionen und Laboruntersuchungen, in die zur Feststellung des Risikos einer NPAI-Ausbreitung auch nichtgewerbliche Haltungen einbezogen werden können, verfügbar sind;
- c) die zuständige Behörde auf der Grundlage des Ergebnisses einer Risikobewertung unter Berücksichtigung der epidemiologischen Situation und der Befunde der unter a) und b) genannten Laboruntersuchungen zu der Auffassung gelangt, dass das Risiko einer Ausbreitung von NPAI zu vernachlässigen ist. Im Fall positiver serologischer und negativer virologischer Befunde kann entschieden werden, dass die Beschränkungen aufzuheben sind.

8.D. *Maßnahmen zur Verhütung der Übertragung von Viren der Aviären Influenza auf andere Spezies*

8.21. *Artikel 47 Absätze 1 und 6 — Laboranalysen und andere Maßnahmen betreffend Schweine und andere Tiere*

Inspiziert ein amtlicher Tierarzt einen Schweinehaltungsbetrieb nach der Bestätigung des Verdachts auf Aviäre Influenza, so sind folgende Maßnahmen durchzuführen:

- a) Überprüfung der Produktionsbücher und tiergesundheitlichen Aufzeichnungen des Betriebs, soweit vorhanden;
- b) klinische Inspektion jeder Produktionseinheit, einschließlich einer Bewertung ihrer klinischen Vorgeschichte sowie klinischer Untersuchungen der Schweine, insbesondere krank erscheinender Tiere;
- c) vor oder an dem Tag der Keulung des infizierten Geflügels oder der in Gefangenschaft gehaltenen Vögel anderer Spezies sind Nasen-/Oropharynxabstriche von mindestens 60 Schweinen aus jeder Produktionseinheit bzw. von allen Schweinen, wenn die Produktionseinheit weniger als 60 Schweine umfasst, zu entnehmen. Zwei bis vier Wochen nach der Keulung müssen den Schweinen mindestens 60 Blutproben entnommen werden. Bei der Probenahme ist so vorzugehen, dass mindestens eine Probe von Schweinegruppen entnommen wird, die unmittelbaren Kontakt zueinander haben;

- d) die Beförderung von Schweinen in andere Betriebe kann genehmigt werden, wenn mindestens 60 Nasen-/Oropharynxabstriche und 60 Blutproben von Schweinen aus jeder Produktionseinheit 14 Tage nach der Bestätigung des Verdachts auf Aviäre Influenza negative Befunde erbracht haben.

Die Beförderung von Schweinen in einen Schlachthof kann genehmigt werden, wenn mindestens 60 Nasen-/Oropharynxabstriche aus jeder Produktionseinheit 14 Tage nach der Bestätigung des Verdachts auf Aviäre Influenza negative Befunde erbracht haben;

im Falle nicht eindeutiger oder positiver Laborergebnisse weitere Untersuchungen jeglicher Art, die zum Ausschluss einer Infektion oder Übertragung der Aviären Influenza unter Schweinen erforderlich sind;

- e) hat der amtliche Tierarzt einen Verdacht, dass andere Haussäugetiere in dem Betrieb, insbesondere solche mit hoher Anfälligkeit für eine Infektion mit aviären Influenzaviren der Subtypen H5 und H7, Kontakt mit dem infizierten Geflügel oder den infizierten in Gefangenschaft gehaltenen Vögeln anderer Spezies gehabt haben könnten, so müssen Proben für Laboruntersuchungen entnommen werden.

8.E. Wiederbelegung

8.22. Artikel 49 Absatz 3 Buchstaben b und c — Wiederbelegung von Betrieben

Inspiziert ein amtlicher Tierarzt eine gewerbliche Haltung, die wiederbelegt wurde, so sind folgende Maßnahmen durchzuführen:

- a) Überprüfung der Produktionsbücher und tiergesundheitlichen Aufzeichnungen des Betriebs;
- b) klinische Inspektion jeder Produktionseinheit, einschließlich einer Bewertung ihrer klinischen Vorgeschichte sowie klinischer Untersuchungen des Geflügels oder der in Gefangenschaft gehaltenen Vögel anderer Spezies, insbesondere krank erscheinender Vögel;
- c) anstatt der Standardproben müssen aus jeder Produktionseinheit folgende Proben entnommen werden:
- i) mindestens 20 Blutproben, sobald das Geflügel in den Betrieb verbracht worden ist, außer bei Eintagsküken; gegebenenfalls kann diese Probenahme im Herkunftsbetrieb des Geflügels vor dessen Beförderung in den wiederzubelegenden Betrieb erfolgen;
- ii) Proben toten Geflügels oder Abstriche aus den Tierkörpern von maximal 10 toten Vögeln pro Woche innerhalb der 21-Tage-Frist, die mit dem Tag der Wiederbelegung beginnt;
- d) lag in dem Betrieb eine HPAI-Infektion vor, sind gegebenenfalls zusätzlich 20 Luftröhren-/Oropharynxabstriche und 20 Kloakenabstriche von Wasservögeln (Enten/Gänse) jeder Produktionseinheit zu entnehmen, und zwar in der letzten Woche der 21-Tage-Frist, die mit dem Datum der Wiederbelegung beginnt;
- e) lag in dem Betrieb eine NPAI-Infektion vor, sind 20 Luftröhren-/Oropharynxabstriche, 20 Kloakenabstriche und 20 Blutproben aus jeder Produktionseinheit zu entnehmen.

8.F. Impfung

8.23. Artikel 56 Absatz 2 Buchstabe i — Präventive Impfung von Geflügel oder in Gefangenschaft gehaltenen Vögeln anderer Spezies

Das geimpfte Geflügel oder die geimpften in Gefangenschaft gehaltenen Vögel anderer Spezies sind Laboruntersuchungen gemäß Kapitel IX der Richtlinie 2005/94/EG zu unterziehen, wobei die zugelassenen DIVA-Verfahren anzuwenden sind, sofern das Feldvirus bekannt ist.

Werden Sentineltiere verwendet, so müssen diese in jedem geimpften Bestand eingesetzt, klinisch inspiziert und einem Hämagglutinationshemmungstest (HI-Test) unterzogen werden. Zu diesem Zweck sind den nicht geimpften Sentineltieren in jedem geimpften Betrieb mindestens alle 60 Tage 20 Blutproben zu entnehmen.

8.24. Anhang IX — Vorschriften für die Verbringung von Geflügel oder in Gefangenschaft gehaltenen Vögeln anderer Spezies und Geflügelerzeugnissen im Falle der Notimpfung

Bei der Beförderung von lebendem Geflügel oder lebenden in Gefangenschaft gehaltenen Vögeln anderer Spezies sowie deren Eiern sind strikte Überwachungsmaßnahmen anzuwenden, um das Risiko einer Weiterverbreitung der Aviären Influenza zu minimieren.

Zu Beginn einer Notimpfkampagne müssen bei der Beförderung von lebendem Geflügel oder lebenden in Gefangenschaft gehaltenen Vögeln anderer Spezies sowie deren Eiern dieselben Überwachungsmaßnahmen angewandt werden, um das Risiko einer Weiterverbreitung der Aviären Influenza inner- und außerhalb des Impfgebietes zu minimieren.

- a) Vor der ersten Beförderung von Brut- und Konsumeiern innerhalb des Impfgebietes und aus diesem hinaus sowie anschließend mindestens alle 30 Tage hat der amtliche Tierarzt folgende Maßnahmen durchzuführen:
 - i) klinische Inspektion nicht geimpfter Eltern- oder Legebestände in jeder Produktionseinheit, einschließlich Bewertung ihrer klinischen Vorgeschichte sowie klinischer Untersuchungen des Geflügels, insbesondere krank erscheinender Tiere; die Standardproben sind Geflügel jeder Produktionseinheit zu entnehmen, oder
 - ii) klinische Inspektion geimpfter Eltern- oder Legebestände in jeder Produktionseinheit, einschließlich einer Bewertung ihrer klinischen Vorgeschichte sowie klinischer Untersuchungen der Sentineltiere in diesen Beständen; die Standardproben sind diesen Sentineltieren zu entnehmen.
- b) Für die Beförderung von lebendem Geflügel oder lebenden in Gefangenschaft gehaltenen Vögeln anderer Spezies in andere Betriebe oder für die Beförderung von lebendem geimpftem Geflügel innerhalb des Impfgebietes und aus diesem hinaus hat der amtliche Tierarzt folgende Maßnahmen durchzuführen:
 - i) Überprüfung der Produktionsbücher und tiergesundheitlichen Aufzeichnungen des Betriebs;
 - ii) klinische Inspektion jeder Produktionseinheit, einschließlich Bewertung ihrer klinischen Vorgeschichte sowie klinischer Untersuchungen des Geflügels oder der in Gefangenschaft gehaltenen Vögel anderer Spezies, innerhalb von 72 Stunden vor der Abholung und unter besonderer Berücksichtigung der Sentineltiere;
 - iii) sind die Ergebnisse der Überprüfungen, der klinischen Inspektion und der Untersuchungen nach den Vorgaben unter i und ii) nicht zufrieden stellend, müssen den Sentineltieren die Standardproben entnommen werden; sind diese Ergebnisse jedoch zufrieden stellend, müssen Proben wie folgt entnommen werden:
 - geimpftem Geflügel oder geimpften in Gefangenschaft gehaltenen Vögeln anderer Spezies: mindestens 20 Luftröhren-/Oropharynxabstriche, 20 Kloakenabstriche und 20 Blutproben zur Anwendung eines geeigneten DIVA-Verfahrens innerhalb von 72 Stunden vor der Abholung, sowie
 - Sentineltiere: 20 Luftröhren-/Oropharynxabstriche, 20 Kloakenabstriche und 20 Blutproben für die serologische Untersuchung mittels eines Hämagglutinationshemmungstests vor der Abholung.

KAPITEL V

Diagnostische virologische Tests und Ergebnisbewertung

1. Bis zur Entwicklung von Molekultests wurde die Virusisolierung durch die Beimpfung embryonierter Hühnereier als bei weitem aussagekräftigster diagnostischer Test auf Aviäre Influenza und als grundlegend für die anschließende Identifizierung und Charakterisierung des Infektionsvirus erachtet. Die wichtigsten Schritte werden in diesem Kapitel erläutert.
2. **Behandlung von Probenmaterial**

„Trocken“ eingereicherte Abstriche sind so in ein antibiotisches Medium einzutauchen, dass sie von diesem vollständig bedeckt werden. Proben können in Chargen zu jeweils fünf Stück gepoolt werden, sofern sie von derselben Spezies und derselben epidemiologischen Einheit stammen sowie zum selben Zeitpunkt entnommen wurden.

Die an das Labor übersandten Tierkörper sind einer Schlachtkörperuntersuchung zu unterziehen, wobei Proben aus folgenden Organen entnommen werden müssen: Fäzes oder Darminhalt, Hirngewebe, Luftröhre, Lungen, Leber, Milz oder andere eindeutig infizierte Organe. Diese Organe und Gewebe können gepoolt werden, doch Fäkalmaterial ist unbedingt gesondert zu behandeln.

Fäkalproben und Organe müssen in antibiotischem Medium (im geschlossenen Blender oder unter Verwendung von Stößel und Mörser und sterilem Sand) homogenisiert und zu 10 bis 20 Vol.-% suspendiert werden.

Die eingetauchten Abstriche und Suspensionen sind für rund 2 Stunden bei Umgebungstemperatur (bei 4 °C entsprechend länger) stehen zu lassen und danach durch Zentrifugieren zu klären (z. B. 800-1 000 g 10 Minuten lang).

3. Virusisolierung in embryonierten Hühnereiern

Die Allantoishöhlen von mindestens vier embryonierten Eiern, die neun bis elf Tage vorbebrütet wurden, werden mit 0,1-0,2 ml des geklärten Überstands beimpft. Im Idealfall sollten diese Eier aus einer spezifiziert pathogenfreien Herde stammen; ansonsten können auch Eier aus einem Bestand verwendet werden, der nachweislich frei von Antikörpern gegen Aviäre Influenza (negativer Test auf Serumantikörper — SAN) ist.

Die beimpften Eier sind bei 37 aufzubewahren und täglich zu durchleuchten. Eier mit toten bzw. absterbenden Embryonen sowie alle anderen Eier sind sechs Tage nach der Beimpfung auf 4 abzukühlen und die Allantois-/Amnionflüssigkeiten auf Hämagglutination zu untersuchen. Lässt sich keine Hämagglutination feststellen, muss dieses Verfahren mit unverdünnter Allantois-/Amnionflüssigkeit als Inokulum wiederholt werden. Wird Hämagglutination festgestellt, so ist im Kulturverfahren zu prüfen, ob eine Bakterienkontamination vorliegt. Sind Bakterien vorhanden, so können die Flüssigkeiten durch einen 450-nm-Membranfilter passiert und nach Zugabe weiterer Antibiotika in embryonierete Eier — wie oben beschrieben — inokuliert werden.

Um die Diagnose zu beschleunigen, haben einige Laboratorien zwei 3-Tages-Passagen oder 2-Tages- und 4-Tages-Passagen verwendet und mitgeteilt, dass die erzielten Ergebnisse mit zwei 6-Tages-Passagen vergleichbar seien, doch hierfür liegt noch keine umfassende Bewertung vor.

Positive Flüssigkeiten müssen auf Bakterienfreiheit getestet werden. Sind Bakterien vorhanden, können die Flüssigkeiten zur Entfernung der Bakterien durch einen 450-nm-Membranfilter passiert oder zentrifugiert und nach Zugabe weiterer Antibiotika wieder in Eiern passagiert werden.

4. Differenzialdiagnose

a) Vorläufige Differenzierung

Da es wesentlich ist, zur Eindämmung der Virusverbreitung möglichst schnell Bekämpfungsmaßnahmen durchzuführen, muss jedes nationale Referenzlabor, das ein hämagglutinierendes Virus isoliert hat, in der Lage sein, dieses als Influenza-A-Virus des Subtyps H5 bzw. H7 oder als NDV-Virus zu identifizieren. Die hämagglutinierenden Flüssigkeiten müssen Hämagglutinationshemmungstests nach Kapitel IX unterzogen werden. Eine positive Hemmung, wie zum Beispiel ein Titer, der nur um 2-3 log₁₀ von dem eines positiven Kontrollserums abweicht, mit den für die Subtypen H5 oder H7 des Influenza-A-Virus spezifischen polyklonalen Antisera, würde als vorläufiger Nachweis ausreichen und die Anordnung zwischenzeitlicher Bekämpfungsmaßnahmen rechtfertigen.

b) Bestätigungsnachweis

Da es 16 Hämagglutinin-Subtypen und 9 Neuraminidase-Subtypen von Influenza-Viren gibt, die ihrerseits variieren, ist es für die einzelnen nationalen Referenzlaboratorien weder praktikabel noch kostenwirksam, Antisera vorrätig zu halten, die eine vollständige Identifizierung der Subtypen von Influenza-Isolaten gestatten. Jedes nationale Referenzlabor muss jedoch zumindest

- i) mittels Doppeldiffusion zum Nachweis des Gruppenantigens das Isolat als Influenza-A-Virus bestätigen;
- ii) bestimmen, ob das Isolat vom Subtyp H5 bzw. H7 ist oder nicht, wobei eine positive Identifizierung die Durchführung der Maßnahmen zur Bekämpfung von NPAI der Subtypen H5 und H7 erfordert;
- iii) alle HPAI- sowie alle H5- und H7-Isolate unverzüglich dem Gemeinschaftlichen Referenzlabor zur Bestätigung und umfassenden Charakterisierung zuleiten, sofern keine Ausnahme gemäß Buchstabe d gilt.

Darüber hinaus ist es wünschenswert, in Laboren mit entsprechender Ausstattung

- iv) einen intravenösen Pathogenitätstest gemäß Kapitel VII an sechs Wochen alten Hühnern durchführen. Durch einen intravenösen Pathogenitätsindex von 1,2 oder mehr wird das Virus nachgewiesen, und die Maßnahmen zur Bekämpfung von HPAI sind somit vollständig durchzuführen.

Zudem müssen die nationalen Referenzlaboratorien das nötige Fachwissen und die Ausrüstung für eine Nukleotid-Sequenzanalyse bereitstellen, anhand deren untersucht werden kann, ob bei NPAI-Viren des Subtyps H5 oder H7 multiple basische Aminosäuren im Spaltbereich des Hämagglutinins vorhanden sind. Obwohl das Gemeinschaftliche Referenzlabor — im Rahmen seiner Aufgaben gemäß Anhang VII Nummer 2 Buchstabe b der Richtlinie 2005/94/EG — mit hoher Priorität den Pathogenitätsindex ermitteln wird, verkürzt sich durch eine solche Viruscharakterisierung auf nationaler Ebene der Diagnosezeitraum erheblich, und im Falle eines positiven Befunds auch der Zeitraum für die vollständige Durchführung der HPAI-Bekämpfungsmaßnahmen.

c) Weitere Typendifferenzierung und Charakterisierung von Isolaten

Die nationalen Referenzlaboratorien müssen alle hämagglutinierenden Viren an das Gemeinschaftliche Referenzlabor übermitteln, das diese weiteren Antigen- und Genstudien unterzieht, um entsprechend den Befugnissen und Aufgaben des gemeinschaftlichen Referenzlabors gemäß Anhang VII der Richtlinie 2005/94/EG weitere Erkenntnisse über den Seuchenverlauf in der Gemeinschaft zu gewinnen.

Darüber hinaus obliegt dem Gemeinschaftlichen Referenzlabor die umfassende Antigentypisierung aller eingegangenen Influenzaviren. Bei Viren des Subtyps H5 bzw. H7, deren intravenöser Pathogenitätsindex nicht über 1,2 liegt, ist im Rahmen einer Nukleotid-Sequenzanalyse des Hämagglutinins ferner unverzüglich zu bestimmen, ob im Spaltbereich des Hämagglutininproteins multiple basische Aminosäuren vorhanden sind. Sobald die Ergebnisse vorliegen, sind das nationale Referenzlabor und die zuständige Behörde des Herkunftslands zu informieren, damit umfassende HPAI-Bekämpfungsmaßnahmen durchgeführt werden können.

d) In Anbetracht der sich ändernden epidemiologischen Situation in Bezug auf HPAI/NPAI können Labore, die über umfassende Kapazitäten für eine rasche Viruscharakterisierung verfügen, unter Umständen mit der Kommission und dem Gemeinschaftlichen Referenzlabor eine Ausnahmeregelung dahin gehend vereinbaren, dass sie nach Sichtung der Daten einen Teilsatz der betreffenden Viren einreichen, wobei das Gemeinschaftliche Referenzlabor eine aussagekräftige Auswahl trifft. Eine solche Ausnahme ist nur dann zulässig, wenn das nationale Referenzlabor die betreffenden Daten schnell erzeugen und dem Gemeinschaftlichen Referenzlabor zur Verfügung stellen kann.

KAPITEL VI

Molekulartests und Ergebnisbewertung

Die derzeitige Definition von HPAI gestattet die molekulare Identifizierung von Virulenzfaktoren und bestätigt die Anwendung von Molekular-techniken bei der Diagnose der Aviären Influenza. In jüngster Zeit gab es Entwicklungen bei deren Einsatz zur Feststellung und Charakterisierung des Influenza-A-Virus unmittelbar aus klinischen Proben infizierter Vögel. Bei klinischen Proben könnten konventionelle RT-PCR-Methoden mit den richtig definierten Primern eine schnelle Feststellung und Identifizierung des Subtyps (zumindest H5 und H7) ermöglichen, in Verbindung mit einem PCR-Fragment, das bei der Nukleotid-Sequenzanalyse eingesetzt werden könnte; diese haben nachweislich große Bedeutung für die rasche Ermittlung von weiteren Ausbrüchen nach erfolgter Ermittlung des Betriebs, in dem die Primärfektion stattfand, und Charakterisierung des Virus. „Echtzeit“-Einzelschritt-RT-PCR-Methoden, bei denen Primer/Fluorogensondensysteme (rRT-PCR) eingesetzt werden, erlauben sogar eine noch schnellere und genauere Diagnose und somit den Nachweis von AI-Viren und die Bestimmung des Subtyps H5 oder H7 in klinischen Proben.

Bei den RT-PCR- und rRT-PCR-Systemen stellt sich das Problem, dass verschiedene Labore bislang verschiedene Systeme entwickelt haben, die zwar durchaus zulässig sind, die jedoch noch nicht validiert oder in verschiedenen Laboren an einer großen Zahl von Proben getestet worden sind. Das Gemeinschaftliche Referenzlabor und bestimmte nationale Referenzlaboratorien haben sich im Rahmen eines von der Gemeinschaft finanzierten Projekts (EU AVIFLU) darum bemüht, ratifizierte Protokolle für konventionelle RT-PCR und rRT-PCR zu erstellen, die von anderen nationalen Referenzlaboratorien übernommen werden könnten. Wenn Testparameter wie Zyklus- und Anlaufzeiten von den Empfehlungen der spezifischen Protokolle abweichen, so muss ihre Eignung gemäß Kapitel I Nummer 6 dieses Diagnosehandbuchs nachgewiesen werden.

Die vom Gemeinschaftlichen Referenzlabor angewandten Standardprotokolle für diese molekularen Tests und deren Evaluierung sind auf folgender Website zu finden:

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

KAPITEL VII

In-vivo-Pathogenitätstest und Ergebnisbewertung

Die Virulenz der aus Vögeln isolierten Influenza-A-Viren für Hühner muss anhand des intravenösen Pathogenitätstests beurteilt werden, der wie folgt zu erstellen ist:

- frische infizierte Allantois-Flüssigkeit mit einem HA-Titer $> 1/16$ ($> 2^4$ oder, als Reziprokwert ausgedrückt, $> \log_2 4$) der niedrigsten verfügbaren Passage, möglichst aus erster Isolierung ohne Selektion, 1:10 in steriler isotonischer Kochsalzlösung verdünnen;
- 0,1 ml verdünnten Virus intravenös in jeweils zehn 6 Wochen alte Hühner (spezifiziert pathogenfreie oder negativ auf Serumantikörper getestete Tiere) injizieren;

- c) die Tiere über einen Zeitraum von zehn Tagen in 24-Stunden-Abständen untersuchen; dabei jeweils wie folgt bewerten: normal (0), krank (1), schwerkrank (2) bzw. tot (3). Bei der Bewertung „krank“ und „schwerkrank“ handelt es sich um einen subjektiven klinischen Befund.

In der Regel weisen „kranke“ Vögel eines und „schwerkranke“ mehr als eines der folgenden Symptome auf: Atembeschwerden, Depressionen, Diarrhö, Zyanose an bloßer Haut oder Kehllappen, Ödeme an Gesicht und/oder Kopf, Nervosität. Tote Vögel sind bei jeder der nach ihrem Tod noch vorzunehmenden täglichen Untersuchungen mit „3“ zu bewerten.

Sind Vögel zu krank für die Futter- oder Wasseraufnahme, müssen sie aus Gründen des Tierschutzes unter Verhinderung vermeidbaren Leids getötet und bei der nächsten Untersuchung als tot bewertet werden, da sie ohne menschliches Eingreifen innerhalb von 24 Stunden verenden würden. Dieser Ansatz wird von den Akkreditierungsbehörden gebilligt;

- d) der intravenöse Pathogenitätsindex gibt den Durchschnittswert je Tier und Prüfung über den Zeitraum von zehn Tagen an. Ein Index von 3,00 drückt aus, dass alle Vögel innerhalb von 24 Stunden verendet sind, und ein Index von 0,00 drückt aus, dass während des Untersuchungszeitraums von zehn Tagen kein Vogel ein klinisches Symptom zeigte.

Das nachstehende Beispiel beschreibt eine einfache Methode zur Protokollierung und Berechnung der Indizes:

Klinische Symptome	Tag nach der Beimpfung										Insgesambewertung
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Normal	10	2	0	0	0	0	0	0	0	0	$12 \times 0 = 0$
Krank	0	4	2	0	0	0	0	0	0	0	$6 \times 1 = 6$
Schwerkrank	0	2	2	2	0	0	0	0	0	0	$6 \times 2 = 12$
Tot	0	2	6	8	10	10	10	10	10	10	$76 \times 3 = 228$
											Insgesamt = 246

Anmerkung:

10 Vögel 10 Tage lang untersucht = 100 Untersuchungen.

Index = Durchschnittswert je Tier und Prüfung = $246/100 = 2,46$.

Jedes Influenza-A-Virus, gleich welchen Subtyps, mit einem intravenösen Pathogenitätsindex von über 1,2 ist als HPAI-Virus einzustufen.

KAPITEL VIII

Serologische Untersuchung und Ergebnisbewertung

Das Influenza-A-Virus wird vorzugsweise anhand der Nukleoprotein- oder Matrix-Antigene nachgewiesen, die allen Influenza-A-Viren gemeinsam sind.

Dazu können Immundoppeldiffusions-Tests durchgeführt werden, die entweder konzentrierte Viruspräparate oder Extrakte von infizierter Chorioallantoismembran (CAM) voraussetzen.

Zur serologischen Untersuchung auf Antikörper gegen das aviäre Influenzavirus werden vorzugsweise der Hämagglutinationstest (HA-Test) und der Hämagglutinationshemmungstest (HI-Test) eingesetzt.

Kapitel 2.7.12 des Handbuchs mit Normenempfehlungen zu Diagnosemethoden und Vakzinen für Landtiere („Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals“) des Internationalen Tierseuchenamtes enthält ausführliche Informationen über Labortechniken und die Ergebnisbewertung.

Die Standardprotokolle für die serologische Untersuchung und die Vorgehensweise des Gemeinschaftlichen Referenzlabors bei der Bewertung der Ergebnisse finden sich auf folgender Website:

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

KAPITEL IX

Überwachungssysteme in Verbindung mit der Impfung

1. Richtlinie 2005/94/EG und Diagnosehandbuch

Nach der Richtlinie 2005/94/EG Kapitel IX Abschnitte 2 und 3 (Diagnosehandbuch) dürfen unter bestimmten Voraussetzungen Notimpfungen und präventive Impfungen durchgeführt werden. Zu diesen Voraussetzungen gehört unter anderem, dass eine DIVA-Strategie (Differenzierung zwischen infizierten und geimpften Tieren) angewandt wird.

Die Impfung muss darauf abzielen, die Infektion und eine anschließende Ausbreitung des Virus zwischen einzelnen Beständen zu verhindern. Es ist zweifelsfrei nachgewiesen, dass durch Impfungen die Virenmenge, deren es für eine Infektion der Vögel bedarf, erhöht und die Menge der ausgeschiedenen Viren reduziert wird. Allerdings können geimpfte Vögel, obwohl sie keine klinischen Symptome mehr entwickeln, das Virus dennoch weiterverbreiten. Somit könnten sich HPAI-Viren des Subtyps H5 und H7 über einen gewissen Zeitraum unbemerkt innerhalb eines Bestands mit suboptimaler Immunität in der gleichen Weise verbreiten, wie dies bei NPAI-Viren in einem nicht geimpften Bestand der Fall ist. Aus diesem Grund muss es möglich sein, viruspositive geimpfte Bestände, die sich mit dem Feldvirus infiziert haben, zu identifizieren, damit andere Bekämpfungsmaßnahmen, zum Beispiel Keulung, ergriffen werden können.

2. Verwendung von Sentineltieren zur Überwachung der Infektion

Eine einfache Methode auf Bestandsebene ist die regelmäßige Überwachung nicht geimpfter Sentineltiere, die in jedem geimpften Bestand belassen werden, doch dieser Ansatz birgt einige praktische Probleme, so vor allem die Identifizierung der Sentineltiere in großen Beständen. Außerdem muss der Kontakt zwischen den Sentineltieren und den geimpften Vögeln gewährleistet sein.

3. DIVA-Laboruntersuchung zur Überwachung der Infektion

Alternativ oder zusätzlich können auch die geimpften Vögel selbst Expositionsversuchen in Form von DIVA-Laboruntersuchungen unterzogen werden. In den letzten Jahren wurden mehrere Testsysteme entwickelt, anhand deren auch der Grad der Gefährdung geimpfter Vögel festgestellt werden kann. Eine Methode, die sich als praktikabel erwiesen hat, ist die Verwendung eines Impfstoffs mit einem Virus, das denselben Hämagglutinin-Subtyp wie das betreffende Feldvirus, aber einen anderen Neuraminidase-Subtyp als dieses aufweist. Die Antikörper gegen die Neuraminidase (N) des Feldvirus agieren als natürliche Infektionsmarker.

Das System wurde in Italien nach dem erneuten Auftreten des LPAI-H7N1-Virus im Jahr 2000 verwendet. Zur Ergänzung unmittelbarer Kontrollmaßnahmen wurde eine DIVA-Strategie umgesetzt, und zwar unter Verwendung eines Impfstoffs, der H7N3 enthielt, um so eine H7N1-Feldinfektion zu bekämpfen. Geimpfte und feldvirusexponierte Vögel wurden im Rahmen eines serologischen Tests differenziert, um spezifische Anti-N1-Antikörper nachzuweisen. Dieselbe Strategie wurde im Zeitraum 2002–2003 in Italien bei der Kontrolle der durch H7N3 ausgelösten LPAI eingesetzt, in diesem Fall mit einem H7N1-Impfstoff und einem serologischen Test zum Nachweis spezieller Antikörper gegen N3. In beiden Fällen konnte das Feldvirus durch Impfung bei gleichzeitiger Keulung im Rahmen dieser DIVA-Strategie ausgerottet werden.

Probleme stellen sich bei diesem System dann, wenn ein Feldvirus auftaucht, das dasselbe N-Antigen besitzt wie das vorhandene Feldvirus, jedoch zu einem anderen H-Subtyp als H5 oder H7 gehört, oder wenn Subtypen mit demselben N-Antigen bereits im Feld zirkulieren. Besonders Enten sind als Träger von mehr als einem Subtyp bekannt. Ferner musste ein geeigneter Test für die Routineüberwachung der Bestände im Hinblick auf Anti-Neuraminidase-Antikörper entwickelt werden. In Italien wurde ein serologischer „Ad-hoc“-Test entwickelt und eingesetzt, der auf einem indirekten Immunofluoreszenztest basiert, wobei als Antigen aus Baculovirus-Rekombinanten gewonnene N-Proteine verwendet wurden. Diese Methode könnte nach Entwicklung eines ELISA-Tests öfter und leichter angewandt werden.

Die Verwendung von Impfstoffen, die nur HA enthalten — wie rekombinante Vektorimpfstoffe — ermöglicht klassische AGID-Tests oder ELISA-Tests, die auf Kerneiweiß, Nichtstrukturprotein oder Matrixproteinen basieren, zum Nachweis von Infektionen bei geimpften Vögeln.

Für inaktivierte Impfstoffe wurde ein Test zum Nachweis von Antikörpern gegen die Nichtstruktur-Virusproteine beschrieben, die nur während einer natürlichen Infektion entstehen. Ein solches System muss noch im Feld validiert werden, sein Nutzen ist jedoch dadurch eingeschränkt, dass jede natürliche Infektion eines Bestands mit einem Influenza-Virus unabhängig vom Subtyp zur Produktion von Antikörpern gegen das Nichtstrukturprotein führt.

Im Fall der Entwicklung schneller und empfindlicher Methoden zum Nachweis des Virus, insbesondere von automatisierbaren Methoden wie Echtzeit-RT-PCR, könnten diese für einfache, umfangreiche und regelmäßige Tests geimpfter Vögel auf die Präsenz eines Feldvirus genutzt werden. Der Nachweis von Erregern wird jedoch auf ein kurzes Zeitfenster in der akuten Infektionsphase beschränkt sein und lässt nicht den Schluss zu, dass ein Bestand in der Vergangenheit nicht mit dem Virus in Berührung gekommen ist. Dieser Ansatz eignet sich am besten dafür, geimpfte Vögel vor einer Verbringung zu testen und so die Abwesenheit einer aktiven Infektion nachzuweisen.

Mit dem gewählten System müssen so viele Proben getestet werden, dass eine Prävalenz einer Infektion mit dem AI-Virus von über 15 % mit einem Vertrauensniveau von 95 % ausgeschlossen werden kann.

KAPITEL X

Strategien der AI-Diagnose

Gemäß Anhang IV der Richtlinie 2005/94/EG können die Entscheidungen über die Anwendung von Maßnahmen in bestimmten Gebieten oder Kontaktbetrieben inhaltlich und bezüglich der Strenge der Sanktionen je nach dem Ausmaß der Gefährdung sehr unterschiedlich ausfallen. Auch die erforderliche diagnostische Bestätigung des Seuchenausbruchs muss im Verhältnis zu den gegebenen Umständen, dem Ausmaß der Gefährdung und dem Risikograd stehen. Die Veterinärbehörden müssen bei ihren Entscheidungen bezüglich der Diagnosestrategie das Interesse an einer raschen Kontrolle und Ausrottung der Seuche gegen die Gefahr einer fehlerhaften Diagnose abwägen. Dabei sind viele Faktoren zu berücksichtigen, jedoch sind bestimmte Situationen vorhersehbar.

Seuchensituation	Mögliches Problem	Diagnostische Kriterien
Keine speziellen Anzeichen, kein offizieller Verdacht	Isolierter Betrieb	Durchführung eines Schnellnachweises auf der Grundlage von M-Gen-RT-PCR. Gegebenenfalls Differenzialdiagnose
Erster Ausbruchsverdacht	Isolierter Betrieb	Durchführung umfassender Diagnosetests, Virusisolierung und -charakterisierung
Erster Ausbruchsverdacht	Betrieb in Gebiet mit hoher Geflügelbesatzdichte	Durchführung umfassender Diagnosetests, Virusisolierung und -charakterisierung, jedoch in erster Linie mit schnellen Nachweis- und Charakterisierungsmethoden, insbesondere den auf RT-PCR und Sequenzierung beruhenden Methoden ⁽¹⁾
Zweiter Ausbruchsverdacht und folgende Verdachtsfälle	Isolierte Betriebe, die epidemiologisch mit einem primären Verdachtsfall in Zusammenhang stehen	In erster Linie Anwendung schneller Nachweis- und Charakterisierungsmethoden, insbesondere von auf RT-PCR und Sequenzierung beruhenden Methoden ⁽¹⁾
Zweiter Ausbruchsverdacht und folgende Verdachtsfälle	Betriebe in einem Gebiet mit hoher Geflügelbesatzdichte oder mit vielen epidemiologischen Kontakten	Anwendung schneller Nachweismethoden, mit denen sich die Präsenz des AI-Virus möglichst rasch nachweisen lässt ⁽¹⁾
Mehrere Verdachtsfälle oder schnelle Ausbreitung der Seuche (trotz Überwachung)	Rasches Eingreifen, da sich die Seuche sonst unkontrolliert verbreiten kann	Anwendung schneller Nachweismethoden, mit denen sich die Präsenz des AI-Virus möglichst rasch nachweisen lässt, oder Nachweis anhand klinischer Symptome ⁽¹⁾

⁽¹⁾ Hierfür sind umfassende Probenahmen erforderlich. Die Proben sollten für eine spätere Beurteilung gelagert werden.

KAPITEL XI

Diagnose einer Infektion mit AI-Viren bei Schweinen und anderen Säugetieren**1. AI bei Schweinen**

Bei Schweinen kommt es leicht zu einer Infektion mit AI-Viren. Obgleich diese sich in den meisten Fällen nur eingeschränkt vermehren, besteht die Möglichkeit, dass infizierte Schweine die Seuche auf Geflügel und andere empfängliche Tiere übertragen. Bislang ist eine Übertragung von AI-Viren der Subtypen H5 und H7 durch Schweine jedoch nicht belegt.

Während des Ausbruchs im Jahr 2003 in den Niederlanden wurde festgestellt, dass H7N7-infizierte Schweine keine klinischen Symptome zeigten, die der H7N7-Infektion hätten zugeschrieben werden können. Darüber hinaus ist während des H5N1-Ausbruchs in Asien oder andernorts nichts über erkrankte Schweine bekannt geworden.

Ob Schweine infiziert sind, lässt sich deshalb nicht anhand der klinischen Symptome bestimmen, obgleich das klinische Erscheinungsbild durch eine Infektion von Schweinen mit anderen Influenzaviren aviären Ursprungs ausgelöst werden kann, wenn sich ein Virus dem Wirt angepasst hat. Die Diagnose von AI-Virus-Infektionen bei Schweinen entspricht im Wesentlichen der Diagnose bei Vögeln und beruht auf Virusisolierung, molekularen Techniken und dem Nachweis spezifischer Antikörper mit Hämagglutinationshemmungstests. Es gibt jedoch bestimmte Unterschiede, so dass keiner dieser Tests in vollem Umfang für die Verwendung bei Schweinen zur Bestätigung einer Infektion mit AI-Viren validiert ist.

2. Proben für die Virusisolierung

AI-Virus-Infektionen sind bei Schweinen in der Regel auf die Atemwege beschränkt, so dass für Proben Gewebe aus den Atemwegen entnommen und gegebenenfalls Oropharyngeal- oder Nasenabstriche gemacht werden müssen, am besten bei Schweinen, die Symptome der Seuche aufweisen. Diese Proben und Abstriche können für die Zwecke der Virusisolierung oder des molekularen Nachweises des Virus verarbeitet werden, und zwar unter Verwendung derselben Techniken, die oben für Probenahmen bei Vögeln beschrieben wurden. Bei der Verwendung von PCR-Techniken sind jedoch angemessene Kontrollen erforderlich, damit gewährleistet ist, dass die Amplifikation nicht durch Substanzen in den Proben von Schweinen gehemmt wird.

3. Beimpfung und Inkubation von Eiern

Zur Isolierung der Influenzaviren von Säugetieren in 9 bis 11 Tage alten embryonierten Hühnereiern wird normalerweise jedes Ei über die Allantoishöhlen in die Amnionhöhle beimpft. Bei Tests an Schweinen, die mit AI-Viren in Kontakt gekommen sind, ist jedoch zu beachten, dass in Fällen, in denen das Virus wenig Anpassungschancen hatte, eine Beimpfung der Allantoishöhlen wahrscheinlich ausreichen wird.

Entsprechend wird für die Isolierung von Säugetier-Influenza-A-Viren in der Regel eine Temperatur von 35 °C empfohlen, doch auch hier gilt bei schlecht an Schweine angepassten Viren, dass eine Temperatur von 37 °C die Virusisolierung nicht beeinträchtigt.

4. Test auf spezifische Antikörper in HI-Tests

Die empfindlichsten Methoden für die Feststellung einer AI-Virus-Infektion bei Schweinen dürften die Virusisolierung oder der molekulare Nachweis sein. Serologische Reaktionen bei Schweinen konnten jedoch auch in Fällen festgestellt werden, in denen kein Virus isoliert oder nachgewiesen wurde. Für HI-Tests mit Schweineseren müssen die in Kapitel VIII beschriebenen Tests für Geflügelseren abgewandelt werden.

Schweineseren sind bekannt für ihre Eigenschaft der nichtspezifischen Hemmung in HI-Tests. Damit es nicht dazu kommt, muss jede Serumprobe mit einem Rezeptor behandelt werden, der Enzyme zerstört (RDE). Es ist folgende Methode anzuwenden:

- a) 100 µl Schweine-Antiserum werden 400 µl RDE (vorbestimmte Arbeitsverdünnung) hinzugefügt und kräftig geschüttelt.
- b) Eine Stunde bei 37 °C inkubieren.
- c) Dann 30 Minuten bei 56 °C inkubieren.
- d) Proben mindestens 15 Minuten lang bei 4 °C abkühlen.
- e) 10 µl von 30 % (V/V packed cells) rote Blutzellen von Küken hinzufügen und kräftig schütteln.
- f) Über Nacht bei 4 °C inkubieren. Wenn die Proben am selben Tag noch verwendet werden müssen, können sie auch bei 37 °C eine Stunde lang inkubiert und fünf Minuten lang bei 300 g zentrifugiert werden.

Das behandelte Serum wird dann in HI-Tests verwendet, wie sie in Nummer [...] für Geflügelseren beschrieben wurden; die Anfangsverdünnung ist 1:10. Zur Beurteilung der Spezifität des HI-Tests für den zu verwendenden Virusstamm muss eine Reihe von Schweineseren mit bekanntem seronegativem Status in Bezug auf AI herangezogen werden (siehe Verwendung von aus einem Ausbruch gewonnenen Virusstämmen für serologische Untersuchungen, Kapitel VIII). Während des Ausbruchs in den Niederlanden im Jahr 2003 wurden im HI-Test mit unabhängig vom Ausbruch gesammelten Schweineseren bis zu 2,6 % nichtspezifische Reaktoren nachgewiesen.

5. Probenahmen bei Schweinen

Besonders in Betrieben, in denen Schweine und Geflügel entweder zusammen oder in getrennten Ställen gehalten werden, besteht die Gefahr, dass sich Schweine unmittelbar oder mittelbar durch den Kontakt mit Geflügel oder Geflügelerzeugnissen mit AI infizieren. Soll eine Infektion ausgeschlossen werden, so müssen gemäß dem in Kapitel IV Nummer 8.21 beschriebenen Verfahren Oropharyngeal- oder Nasenabstriche und Blutproben entnommen werden. Die Proben sind von Schweinen zu nehmen, die klinische Symptome der Seuche zeigen. Sind jedoch keine klinischen Symptome erkennbar, so können Proben nach dem Zufallsprinzip in allen Teilen des Stalls genommen werden. Sofern dies im Labor möglich ist, sind die Abstriche schnellen molekularen Tests und/oder einer Virusisolierung zu unterziehen. Die RT-PCR muss ordnungsgemäß validiert worden sein und für Influenza-A-Viren mindestens ebenso empfindlich sein wie eine Virusisolierung in Eiern.

Zwei bis vier Wochen nach der Keulung des mit AI infizierten Geflügels müssen mindestens 60 Blutproben von Schweinen genommen werden, und zwar so, dass wenigstens einige Proben aus Gruppen von Schweinen stammen, die unmittelbar Kontakt zueinander haben. Die Proben sind einem HI-Test mit Viren zu unterziehen, die aus einem Ausbruch bei Geflügel stammen. Proben aus der akuten und der Konvaleszenz-Phase sind gleichzeitig zu testen. Positive Proben können durch eine Virusneutralisierung und/oder Western-Blot-Analysen bestätigt werden.

Wird auch nur eine Probe positiv getestet, so sind alle Schweinehaltungsbetriebe, die sich innerhalb der Schutzzone befinden, einer epidemiologischen Untersuchung zu unterziehen, und zwar unabhängig davon, ob es sich um gemischte Betriebe handelt oder nicht.

6. AI-Viren bei anderen Säugetieren als Schweinen

Auch andere für AI empfängliche Säugetiere als Schweine, darunter Katzen, müssen untersucht werden. Tests an Katzen zum Nachweis insbesondere von HPAI H5N1 sind wie folgt durchzuführen:

Erhebliche krankhafte Veränderungen infolge einer Virusvermehrung finden sich vor allem in Lunge und Leber, so dass Proben für virologische Untersuchungen vorzugsweise aus diesen Organen toter Tiere zu entnehmen sind. Bei lebenden Tieren werden für den Virusnachweis am besten Luftröhren-/Oropharyngealabstriche genommen. Zusätzlich können getrennt Kotabstriche gemacht werden.

Sollen Blutproben HI-Tests unterzogen werden, so ist eine 30-minütige Hitzebehandlung bei 56 °C erforderlich; eine RDE-Behandlung ist nicht nötig.

KAPITEL XII

Mindestsicherheitsanforderungen an den Transport von Proben

1. Der Transport von Proben, die Erreger enthalten oder enthalten könnten, unterliegt strengen nationalen und internationalen Vorschriften, die stets einzuhalten sind. Virusisolate werden nicht als diagnostische Proben eingestuft, müssen aber gemäß den internationalen Normen verpackt werden.

Die Anweisungen in diesem Kapitel beziehen sich auf Lufttransporte, jedoch sind Proben, die auf dem Land- oder Seeweg transportiert werden, ähnlich zu verpacken.

2. Verpackung diagnostischer Proben für den Transport

Diagnostische Proben, die gemäß den IATA-Vorschriften transportiert werden, erhalten die UN-Identifizierungsnummer 2814, 2900 oder 3373.

Bis der Empfänger das Paket erhält, haftet der Versender und nicht das Transportunternehmen.

3. Erstverpackung

- a) Das Primärgefäß muss wasserdicht sein. So sind z. B. Schraubverschlüsse mit Parafilm oder Klebeband oder Ähnlichem zu versiegeln.
- b) Mehrere Primärgefäße sind einzeln einzuwickeln, damit sie nicht zerbrechen.
- c) Bei der Bestimmung des Umfangs der zu versendenden diagnostischen Proben ist zu berücksichtigen, welches Transportmittel benutzt wird.
- d) Primärgefäße dürfen nicht mehr als 500 ml oder 500 g enthalten.

Der gesamte Inhalt des Primärgefäßes bildet die diagnostische Probe.

4. Zweitverpackung

- a) Der zweite Behälter muss so viel absorbierendes Material enthalten, dass im Fall einer Undichtigkeit oder Beschädigung der Inhalt sämtlicher Primärgefäße absorbiert werden kann.
- b) Die Zweitverpackung muss den IATA-Verpackungsvorschriften für diagnostische Proben entsprechen; dazu gehört auch die Durchführung der 1,2-Meter-Fallprüfung. Da die Vorschriften für die Verpackung ansteckungsgefährlicher Stoffe (IATA-Verpackungsanweisung 602) strenger sind als diejenigen für diagnostische Proben, können diese ebenfalls angewandt werden.

- c) Die Verpackung ansteckungsgefährlicher Stoffe muss die vorgeschriebene Kennzeichnung aufweisen (die Buchstaben „UN“ müssen eingekreist sein), z. B.:

„UN 4G/CLASS 6.2/99/GB/2450“

- d) Die Zweitverpackung muss wasserdicht sein. Die dazugehörigen Anweisungen des Herstellers der Verpackung oder sonstiger Berechtigter sind zu befolgen.
- e) Die kleinste äußere Gesamtabmessung der Zweitverpackung muss mindestens 100 mm betragen.
- f) Die Zweitverpackung muss groß genug sein, so dass Versandunterlagen wie z. B. ein Luftfrachtbrief beigefügt werden können.

5. Äußere Verpackung

- a) Die äußere Verpackung darf nicht mehr als 4 l oder 4 kg enthalten.
- b) Falls erforderlich, ist die Zweitverpackung in Trocken- oder Schmelzeis zu packen. Bei Verwendung von Trocken- oder Schmelzeis muss die Verpackung das Entweichen von Kohlendioxid ermöglichen und gewährleisten, dass sich kein Druck aufbauen kann, der zu einem Bersten der Verpackung führen könnte. Bei Verwendung von Schmelzeis muss die Verpackung lecksicher sein.

Jede Verpackung und der Luftfrachtbrief müssen wörtlich folgende Aufschrift tragen:

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

- c) Eine detaillierte Auflistung des Inhalts muss zwischen der zweiten Verpackung und der Außenverpackung enthalten sein.
- d) Zum Schutz vor Feuchtigkeit ist die äußere Verpackung in einen verschlossenen Kunststoffbeutel zu packen.
- e) Der Versender braucht keine Erklärung über gefährliche Güter abzugeben.

KAPITEL XIII

Versendung von Viren und Proben an das Gemeinschaftliche Referenzlabor

1. Die Proben, die an das Gemeinschaftliche Referenzlabor geschickt werden, müssen den Empfehlungen für den Transport gefährlicher Erreger innerhalb der Gemeinschaft und den geltenden Rechtsvorschriften im Vereinigten Königreich entsprechen.

Die Anweisungen in diesem Kapitel sind zu befolgen.

2. **Versendung von Viren oder sonstigem Material an das Gemeinschaftliche Referenzlabor**

- a) Jegliches Material muss unter Beachtung der Anweisungen in diesem Kapitel verpackt werden.
- b) Die Außenverpackung ist wie folgt zu kennzeichnen:

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

- c) Es ist eine der folgenden Lizenznummern einzufügen:
- i) für AI-Viren: „AHZ/2232/2002/5*“
- ii) für Gewebe und sonstiges Material: „AHZ/2074C/2004/3*“

Da sich die Lizenznummer gelegentlich ändert, müssen sich die Labore, die Proben versenden, vor der Versendung vergewissern, dass sie die richtigen Nummern verwenden.

d) Die Sendung ist an folgende Anschrift zu adressieren:

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

e) Der Sendung ist ein Schreiben beizufügen, das möglichst umfassende Angaben zu den Isolaten enthält, wie z. B. Spezies und Alter, Gebiet/Land der Isolierung, Anamnese.

f) Die Sendungen sind per Luftpost oder Luftfracht zu verschicken.

Werden Sendungen per Luftfracht verschickt, so ist die Nummer des Luftfrachtbriefs dem Gemeinschaftlichen Referenzlabor vor Eintreffen des Materials per Fax, Telefon oder E-Mail mitzuteilen.

Sendungen, die per Luftfracht verschickt werden, müssen eindeutig wie folgt gekennzeichnet sein:

„CARE OF TRANSGLOBAL“ zur Gewährleistung einer raschen Abfertigung am Flughafen.

Ansprechpartner im Gemeinschaftlichen Referenzlabor

Ian H. Brown, Direktor des Referenzlabors
Durchwahl Tel.: (44-1932) 35 73 39
Durchwahl Fax: (44-1932) 35 72 39
E-Mail: i.h.brown@vla.defra.gsi.gov.uk

Ruth Manvell, Leiterin des Referenzlabors
Durchwahl Tel.: (44-1932) 35 77 36 oder (44-1932) 35 77 08
Durchwahl Fax: (44-1932) 35 78 56
E-Mail: r.manvell@vla.defra.gsi.gov.uk

KAPITEL XIV

Mindestsicherheitsanforderungen an AI-Diagnoselabore

1. Die Sicherheitsanforderungen an Diagnoselabore, in denen mit AI-Viren gearbeitet wird, dienen sowohl der Eindämmung der von den Viren ausgehenden Gefahr für die Tiergesundheit als auch dem Schutz derjenigen, die im Labor (und außerhalb) arbeiten, vor einem Zoonoserisiko.

In der Gemeinschaft finden sich die Mindestsicherheitsanforderungen in mehreren Richtlinien. Operationelle Aspekte sind in entsprechenden Europäischen Normen (EN) geregelt. Für die Diagnostik von Laboren gibt es weitere Regelungen (EN), z. B. zur guten Laborpraxis.

2. Für Labore relevante Gemeinschaftsrichtlinien

Richtlinie 89/391/EWG des Rates vom 12. Juni 1989 über die Durchführung von Maßnahmen zur Verbesserung der Sicherheit und des Gesundheitsschutzes der Arbeitnehmer bei der Arbeit (ABl. L 183 vom 29.6.1989, S. 1)

Richtlinie 90/679/EWG des Rates vom 26. November 1990 über den Schutz der Arbeitnehmer gegen Gefährdung durch biologische Arbeitsstoffe bei der Arbeit (Siebte Einzelrichtlinie im Sinne von Artikel 16 Absatz 1 der Richtlinie 89/391/EWG) (ABl. L 374 vom 31.12.1990, S. 1)

Wird bei der Diagnose auf die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) und das Klonen von PCR-Produkten in ein bakterielles Plasmid zurückgegriffen, das z. B. für die Zwecke der DNA-Sequenzierung vermehrt wird, so sind außer den beiden vorgenannten Richtlinien auch noch die folgende Richtlinie und Europäische Normen (EN) anwendbar:

Richtlinie 90/219/EWG des Rates vom 23. April 1990 über die Anwendung genetisch veränderter Mikroorganismen in geschlossenen Systemen (ABl. L 117 vom 8.5.1990, S. 1)

3. Neben den Gemeinschaftsrichtlinien sind folgende Europäische Normen (EN) zu beachten:

EN 12128 Biotechnik. Laboratorien für Forschung, Entwicklung und Analyse — Sicherheitsstufen mikrobiologischer Laboratorien, Gefahrenbereich, Räumlichkeiten und technische Sicherheitsanforderungen

EN 12738 Biotechnik. Laboratorien für Forschung, Entwicklung und Analyse — Leitfaden für die Einschließung von Tieren, die im Rahmen von Experimenten mit Mikroorganismen beimpft werden

EN 12740 Biotechnik. Laboratorien für Forschung, Entwicklung und Analyse — Leitfaden für die Behandlung, Inaktivierung und Prüfung von Abfällen

EN 12741 Biotechnik. Laboratorien für Forschung, Entwicklung und Analyse — Leitfaden für biotechnologische Laborpraxis

Für Betrieb und Management eines Laboratoriums gelten die folgenden Bedingungen:

4. Anforderungen an Laboratorien (Einschlussgrade 1 bis 4)

Richtlinie 2000/54/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 18. September 2000 über den Schutz der Arbeitnehmer gegen Gefährdung durch biologische Arbeitsstoffe bei der Arbeit (Siebte Einzelrichtlinie im Sinne von Artikel 16 Absatz 1 der Richtlinie 89/391/EWG) (ABl. L 262 vom 17.10.2000, S. 21), Richtlinie 90/219/EWG und Europäischen Normen EN 12128, EN 12740, EN 12741.

Einschließungsmaßnahmen	Einschlussgrad			
	1	2	3	4
Laborbereich: Abschirmung	Nein	Ja	Ja	Ja
Trennung der Labore durch Türen	Nein	Ja	Ja	Ja
Vorhandensein eines Fensters, durch das die im Raum befindlichen Personen beobachtet werden können	Fakultativ	Fakultativ	Fakultativ	Ja
Das Personal muss sich die Hände waschen können	Ja	Ja	Ja	Ja
Vorhandensein von Desinfektionseinrichtungen (Hände)	Fakultativ	Ja	Ja	Ja
Eingeschränkter Zugang	Nein	Ja	Ja	Ja
Konkrete Maßnahmen zur Aerosolkontrolle	Nein	Ja Minimierung	Ja Verhinderung	Ja Verhinderung
Symbol für Biogefährdung	Nein	Ja	Ja	Ja
Dusche	Nein	Nein	Fakultativ	Ja
Augenspülung	Ja	Ja	Ja	Ja
Laboratorium: Abdichtung zwecks Begasung möglich	Nein	Nein	Ja	Ja
Gegenüber Wasser, Säuren, Laugen, Lösungs-, Desinfektions- und Dekontaminationsmitteln resistente und leicht zu reinigende Oberflächen	Ja (Arbeitsbank)	Ja (Arbeitsbank)	Ja (Arbeitsbank, Boden)	Ja (Arbeitsbank, Boden)
Zugang zum Labor über eine Luftschleuse	Nein	Nein	Fakultativ	Ja
Unterdruck im Vergleich zur unmittelbaren Umgebung	Nein	Nein	Fakultativ	Ja
Zuluft und Abluft zum Labor sollten HEPA-gefiltert werden	Nein	Nein	Ja (Abluft)	Ja
Autoklav	Innerhalb der Anlage	Innerhalb des Gebäudes	Innerhalb des Laborbereichs	Innerhalb des Labors, beidseitiger Zugriff

Einschließungsmaßnahmen	Einschlussgrad			
	1	2	3	4
Schutzkleidung	Geeignete Schutzkleidung	Geeignete Schutzkleidung	Geeignete Schutzkleidung (Schuhe fakultativ)	Vollständiger Kleidungswechsel
Handschuhe	Nein	Fakultativ	Ja	Ja
Wirksame Überwachung von Überträgern (z. B. von Nagetieren und Insekten)	Fakultativ	Ja	Ja	Ja
Sichere Aufbewahrung biologischer Arbeitsstoffe	Ja	Ja	Ja	Ja
Ausrüstung muss im Labor verbleiben	Nein	Nein	Empfohlen	Ja

Es gibt noch weitere Europäische Normen, die sich auf die Leitung und Organisation von Laboratorien beziehen.

Es gibt weitere nationale und internationale Regelungen und Empfehlungen, die zu beachten sind. Die WHO hat auf ihrer Website ein eigenes Handbuch zur Sicherheit von Laboratorien veröffentlicht:

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

5. Sicherheitsmaßnahmen in Bezug auf die Tiergesundheit

Die Veterinärbehörden der Mitgliedstaaten müssen Vorschriften für die Einschließung von AI-Viren (besonders HPAI, doch auch alle sonstigen AI-Viren der Subtypen H5 und H7) erlassen. Einige Empfehlungen dazu finden sich in Kapitel 1.4.5 des Gesundheitskodex für Landtiere 2005 des Internationalen Tierseuchenamts (OIE). HPAI gilt als Erreger der OIE-Sicherheitsstufe 4.

Regelungen in Bezug auf den Umgang mit AI-Viren werden jedoch von den Veterinärbehörden der Mitgliedstaaten erlassen.

Die Mindestsicherheitsanforderungen des Gemeinschaftlichen Referenzlabors, die sich aus den nationalen Vorschriften des Vereinigten Königreichs ergeben, sind auf folgender Website nachzulesen:

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

6. Sicherheitsmaßnahmen in Bezug auf die menschliche Gesundheit

Bei der Arbeit mit AI-Viren in Laboratorien ist stets zu beachten, dass diese Viren zumindest potenziell humanpathogene Erreger sind. Der Laborbetrieb muss also so organisiert sein, dass sich das Laborpersonal nicht infizieren kann und dass keine Viren aus dem Labor entweichen können.

Leitlinien für den Umgang mit Proben, bei denen der Verdacht besteht, dass sie AI-A-Viren enthalten, finden sich auf der Website der Weltgesundheitsorganisation (WHO):

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