

ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΤΩΝ ΕΥΡΩΠΑΪΚΩΝ ΚΟΙΝΟΤΗΤΩΝ

ΚΟΜ(91) 304 τελικό

Βρυξέλλες, 30 Ιουλίου 1991

Πρόταση

ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΥ (ΕΟΚ) ΤΟΥ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟΥ

για τη θέσπιση κοινοτικών μέτρων σχετικά με τον έλεγχο
της γρίπης των ορνίθων

(υποβληθείσα από την Επιτροπή)

Η γρίπη των ορνίθων στην έντονα παθογόνα μορφή της είναι μία μεταδοτική και σοβαρή ασθένεια των πουλερικών. Προκαλείται από ιό ο οποίος ενδέχεται να παρουσιάσει ένα ευρύ φάσμα παθογενών και κλινικών συμπτωμάτων σε πτηνά που προσβάλλονται εύκολα από τον ιό. Η ασθένεια εμφανίζεται σε διάφορα σημεία της γης και ο ιός δύναται να μεταδοθεί από αποδημητικά πτηνά, και ιδίως από ορισμένα αποδημητικά είδη υδρόβιων πτηνών.

Στο άρθρο 19 της οδηγίας 90/539/ΕΟΚ του Συμβουλίου, της 15ης Οκτωβρίου 1990, σχετικά με τις συνθήκες υγειονομικού ελέγχου που διέπουν τις ενδοκοινοτικές συναλλαγές και τις εισαγωγές από τρίτες χώρες, πουλερικών και αυγών για επώαση⁽¹⁾, προβλέπεται η θέσπιση κανόνων ελέγχου για την καταπολέμηση της ψευδοπανώλης πριν από την 1η Ιουλίου 1991.

Τα μέτρα που προτείνονται έχουν ως στόχο την εξάλειψη και την πρόληψη της εξάπλωσης της γρίπης των ορνίθων σε περίπτωση που εμφανιστούν κρούσματα της ασθένειας. Τούτο θα πραγματοποιηθεί με τη μέθοδο της "εξόντωσης" σε συνδυασμό με ή χωρίς τη χρήση εμβολίου και με προσεκτικό έλεγχο των μετακινήσεων πουλερικών, προϊόντων πουλερικών, οχημάτων και οποιωνδήποτε άλλων ουσιών που ενδέχεται να μεταδώσουν τον ιό της γρίπης των ορνίθων. Τα μέτρα θα πρέπει να εφαρμόζονται εφόσον υπάρχουν υπόνοιες για εμφάνιση της γρίπης των ορνίθων, έτσι ώστε να καθίσταται δυνατή η άμεση και αποτελεσματική ανάληψη δράσης.

Για να διασφαλισθεί η ανάληψη της εν λόγω δράσης, η παρούσα πρόταση αφορά ορισμένες υποχρεώσεις των κρατών μελών οι οποίες περιλαμβάνουν :

- τη διεξαγωγή έρευνας για να επιβεβαιωθεί ή να αποκλεισθεί η εμφάνιση της γρίπης των ορνίθων εφόσον υπάρχουν υπόνοιες ότι έχουν μολυνθεί πουλερικά·
- την εποπτεία των εκμεταλλεύσεων και την απαγόρευση των μετακινήσεων από και προς τις εκμεταλλεύσεις κατά την περίοδο εποπτείας, εφόσον υπάρχουν υπόνοιες εμφάνισης της γρίπης των ορνίθων·
- τη θανάτωση και την καταστροφή μολυσμένων πτηνών εφόσον έχει διαπιστωθεί η εμφάνιση της γρίπης των ορνίθων·

(1) ΕΕ αριθ. L 303 της 31.10.1990, σ. 6

- τη διεξαγωγή εμπεριστατωμένης επιζωοτικής έρευνας εφόσον υπάρχουν υπόνοιες και έχει διαπιστωθεί η εμφάνιση της γρίπης των ορνίθων.
- την οριοθέτηση ζωνών προστασίας (3 km) και ζωνών εποπτείας (10 km) γύρω από τις μολυσμένες εκμεταλλεύσεις.
- τον καθορισμό των εργαστηρίων που παρέχουν την τεχνική βοήθεια που είναι απαραίτητη για την ορθή εφαρμογή των μέτρων ελέγχου της ασθένειας.
- την ενημέρωση της Επιτροπής σχετικά με τα προγράμματα εμβολιασμού.
- την κατάρτιση εκτάκτου σχεδίου.

- 2 bis -

πρόταση:

ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΥ (ΕΟΚ) ΤΟΥ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟΥ

για τη θέσπιση κοινοτικών μέτρων σχετικά με τον έλεγχο
της γρίππης των ορνίθων

ΤΟ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟ ΤΩΝ ΕΥΡΩΠΑΪΚΩΝ ΚΟΙΝΟΤΗΤΩΝ,

Έχοντας υπόψη :

τη συνθήκη για την ίδρυση της Ευρωπαϊκής Οικονομικής Κοινότητας και ιδίως τα άρθρα 43,

την πρόταση της Επιτροπής,

τη γνώμη του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου,

τη γνώμη της Οικονομικής και Κοινωνικής Επιτροπής,

Εκτιμώντας :

ότι τα πουλερικά περιλαμβάνονται στο παράρτημα ΙΙ της συνθήκης· ότι η εμπορία πουλερικών αποτελεί σημαντική πηγή εισοδήματος για τον αγροτικό πληθυσμό·

ότι είναι απαραίτητό να θεσπιστούν σε κοινοτική κλίμακα τὰ μέτρα ελέγχου που θα πρέπει να λαμβάνονται σε περίπτωση κρούσματος της έντονα παθογόνας μορφής γρίππης των ορνίθων, έτσι ώστε να διασφαλιστεί η ανάπτυξη του τομέα των πουλερικών και η συμβολή στην προστασία της υγείας των ζώων στην Κοινότητα·

ότι ένα κρούσμα της γρίππης των ορνίθων δύναται ταχύτατα να λάβει επιζωοτικό χαρακτήρα προκαλώντας θνησιμότητα και διαταραχές σε βαθμό που να κινδυνεύει ιδίως η αποδοτικότητα του συνόλου των εγκαταστάσεων εκτροφής πουλερικών·

ότι θα πρέπει να ληφθούν μέτρα αφότου υπάρξει η υποψία για την εμφάνιση της ασθένειας ώστε, όταν επιβεβαιωθεί, να δύναται να εφαρμόζονται άμεσα και αποτελεσματικά μέτρα ελέγχου·

ότι είναι απαραίτητο να αποφεύγεται τυχόν εξάπλωση της ασθένειας από τη στιγμή που θα εμφανιστεί ένα κρούσμα και η εξάπλωση αυτή να προλαμβάνεται με τον προσεκτικό έλεγχο των μετακινήσεων των ζώων και της χρήσης των προϊόντων που ενδεχόμενα έχουν μολυνθεί και, εφόσον είναι απαραίτητο, με εμβολιασμό·

ότι η διάγνωση της ασθένειας πρέπει να πραγματοποιείται υπό την αιγίδα υπεύθυνων εργαστηρίων των οποίων το συντονισμό πρέπει να εξασφαλίζει ένα κοινοτικό εργαστήριο αναφοράς·

ότι τα κοινά μέτρα για τον έλεγχο της γρίπης των ορνίθων σχηματίζουν μια βάση για τη διατήρηση ενός ομοιόμορφου κανόνα για την υγεία των ζώων·

ότι θα πρέπει να ανατεθεί στην Επιτροπή το καθήκον της λήψης των απαραίτητων μέτρων εφαρμογής·

ΕΞΕΔΩΣΕ ΤΟΝ ΠΑΡΟΝΤΑ ΚΑΝΟΝΙΣΜΟ :

Άρθρο 1

1. Ο παρών κανονισμός καθορίζει τα κοινοτικά μέτρα ελέγχου που θα πρέπει να εφαρμόζονται στην περίπτωση εμφάνισης κρουσμάτων της γρίπης των ορνίθων σε πουλερικά, με την επιφύλαξη των κοινοτικών διατάξεων που διέπουν τις ενδοκοινοτικές συναλλαγές.
2. Ο παρών κανονισμός δεν εφαρμόζεται σε περίπτωση εμφάνισης κρουσμάτων της γρίπης των ορνίθων σε άλλα πτηνά. Εντούτοις, στην περίπτωση αυτή, τα κράτη μέλη ενημερώνουν την Επιτροπή για τυχόν μέτρα που λαμβάνουν.

Άρθρο 2

1. Για τους σκοπούς του παρόντος κανονισμού εφαρμόζονται, εφόσον παρίσταται ανάγκη, οι ορισμοί που περιλαμβάνονται στο άρθρο 2 της οδηγίας 90/539/ΕΟΚ του Συμβουλίου σχετικά με τις υγειονομικές συνθήκες που διέπουν τις ενδοκοινοτικές συναλλαγές και τις εισαγωγές από τρίτες χώρες, πουλερικών και αυγών για επώαση⁽¹⁾.

2. Ισχύουν επίσης οι ακόλουθοι ορισμοί :
 - (α) ως "προσβεβλημένα πουλερικά" νοούνται τα πουλερικά :
 - στα οποία η παρουσία της γρίππης των ορνίθων, σύμφωνα με την έννοια του Παραρτήματος Ι, έχει διαπιστωθεί επίσημα μετά από εξέταση, που πραγματοποιεί εγκεκριμένο εργαστήριο, ή
 - στην περίπτωση δεύτερου και επόμενων κρουσμάτων, στα οποία υπάρχουν κλινικά συμπτώματα ή μεταθανάτιες αλλοιώσεις που προϋποθέτουν την εμφάνιση της γρίππης των ορνίθων.

 - (β) ως "πουλερικά για τα οποία υπάρχει υποψία ότι έχουν προσβληθεί" νοούνται τα πουλερικά που παρουσιάζουν κλινικά συμπτώματα ή μεταθανάτιες αλλοιώσεις τέτοιου είδους ώστε να καθίσταται βάσιμη η υποψία της εμφάνισης της γρίππης των ορνίθων, ή έχει αποδειχθεί η παρουσία του ιού της γρίππης Α των υποκατηγοριών Η5 ή Η7.

 - (γ) ως "πουλερικά για τα οποία υπάρχει υποψία ότι έχουν μολυνθεί" νοούνται τα πουλερικά που έχουν εκτεθεί έμμεσα ή άμεσα στον ιό της γρίππης των ορνίθων, ή στον ιό της γρίππης Α των υποκατηγοριών Η5 ή Η7.

 - (δ) ως "αρμόδια αρχή" νοείται η κτηνιατρική αρχή που έχει ορισθεί για τον σκοπό αυτό από την εθνική διοίκηση της συγκεκριμένης χώρας, και που είναι άμεσα υπεύθυνη για την εθνική διοίκηση, στα πλαίσια του παρόντος κανονισμού και προβαίνει σε αναφορές μέσω της εθνικής διοίκησης.

 - (ε) ως "επίσημος κτηνίατρος" νοείται ο κτηνίατρος που έχει ορισθεί από την αρμόδια αρχή ενός κράτους μέλους.

(1) ΕΕ αριθ. L 303 της 31.10.1990, σ. 6

Άρθρο 3

Κάθε υποψία εμφάνισης της γρίπης των ορνίθων κοινοποιείται αμέσως στην αρμόδια αρχή.

Άρθρο 4

1. Εφόσον υπάρχουν υποψίες ότι πουλερικά έχουν προσβληθεί ή μολυνθεί από τη γρίπη των ορνίθων, ο επίσημος κτηνίατρος προβαίνει αμέσως σε έρευνα με σκοπό την επιβεβαίωση ή τη διάψευση της εμφάνισης της ασθένειας και, ειδικότερα, θα πρέπει να λάβει ή να έχει λάβει τα απαραίτητα δείγματα για εργαστηριακές εξετάσεις.
2. Από τη στιγμή που θα κοινοποιηθεί η υποψία λοίμωξης, η αρμόδια αρχή θέτει την εκμετάλλευση υπό επίσημη εποπτεία και ειδικότερα απαιτεί :
 - (α) την καταγραφή όλων των κατηγοριών πουλερικών στην εκμετάλλευση, προσδιορίζοντας για κάθε κατηγορία τους αριθμούς των νεκρών πουλερικών, των πουλερικών που παρουσιάζουν κλινικά συμπτώματα και των πουλερικών που δεν παρουσιάζουν συμπτώματα. Τα στοιχεία αυτά θα πρέπει να είναι ενημερωμένα και να προσκομίζονται κατόπιν αιτήσεως και θα ελέγχονται σε κάθε επίσκεψη.
 - (β) τον εγκλεισμό όλων των πουλερικών της εκμετάλλευσης στους χώρους στέγασης τους ή σε οποιοδήποτε άλλο χώρο όπου είναι δυνατόν να απομονωθούν και να μην έρχονται σε επαφή με άλλα πτηνά.
 - (γ) την απαγόρευση των μετακινήσεων πουλερικών από ή προς την εκμετάλλευση.
 - (δ) ότι όλες οι μετακινήσεις :
 - προσώπων, άλλων ζώων και οχημάτων από και προς την εκμετάλλευση,
 - κρέατος πουλερικών ή σφάγιων ή ζωοτροφών, εργαλείων, περιττωμάτων, αχυροστρωμάτων ή οποιωνδήποτε άλλων αντικειμένων που ενδέχεται να μεταδώσουν την ασθένεια από την εκμετάλλευση, απαγορεύονται εκτός και αν τις επιτρέψει ο επίσημος κτηνίατρος.

- (ε) την απαγόρευση εξόδου από την εκμετάλλευση όλων των αυγών με εξαίρεση τα αυγά που προορίζονται για κατανάλωση των οποίων η απολύμανση θεωρείται ικανοποιητική από τον επίσημο κτηνίατρο·
- (στ) τη χρησιμοποίηση των κατάλληλων μέσων απολύμανσης στις εισόδους και τις εξόδους των κτιρίων στέγασης πουλερικών και της ίδιας εκμετάλλευσης·
- (ζ) τη διεξαγωγή επιδημιολογικής έρευνας σύμφωνα με το άρθρο 7.
3. Έως ότου εφαρμοσθούν τα επίσημα μέτρα που προβλέπονται στην παράγραφο 2, ο ιδιοκτήτης ή ο κάτοχος πουλερικών για τα οποία υπάρχει υποψία ότι έχουν προσβληθεί από την ασθένεια, λαμβάνει όλα τα κατάλληλα μέτρα για να εξασφαλισθεί η εφαρμογή των διατάξεων της παραγράφου 2 και ιδιαίτερα των υποπαραγράφων β), γ), δ) και ε).
4. Η αρμόδια αρχή δύναται να εφαρμόσει οποιοδήποτε από τα μέτρα που προβλέπονται στην παράγραφο 2 και σε άλλες εκμεταλλεύσεις εφόσον η θέση τους και η διαμόρφωση των χώρων τους ή οι επαφές με την εκμετάλλευση για την οποία υπάρχει υποψία ότι έχει προσβληθεί από την ασθένεια, καθιστούν δυνατή την υπόνοια ενδεχόμενης μόλυνσης.
5. Τα μέτρα που αναφέρονται στις παραγράφους 2, 3 και 4 αίρονται μόνον όταν ο επίσημος κτηνίατρος κρίνει ότι δεν υπάρχει πλέον υποψία μόλυνσης από τη γρίπη των ορνίθων.

Άρθρο 5

1. Από τη στιγμή που θα βεβαιωθεί επίσημα η εμφάνιση της γρίπης των ορνίθων σε μια εκμετάλλευση, η αρμόδια αρχή απαιτεί, εκτός από τη λήψη των μέτρων που απαριθμούνται στο άρθρο 4 παράγραφος 2, τη λήψη των ακόλουθων μέτρων :
- (α) όλα τα πουλερικά της εκμετάλλευσης θανατώνονται επί τόπου. Καταστρέφονται τα νεκρά πουλερικά ή τα πουλερικά που έχουν θανατωθεί καθώς και όλα τα αυγά. Οι ενέργειες αυτές πραγματοποιούνται κατά τρόπο που να ελαχιστοποιείται ο κίνδυνος εξάπλωσης της ασθένειας.

- (β) όλες οι ουσίες ή τα υπολείμματα, όπως οι ζωοτροφές, τα αχυροστρώματα και τα εκκρίματα που ενδέχεται να έχουν μολυνθεί καταστρέφονται ή υφίστανται επεξεργασία· η επεξεργασία αυτή, που πραγματοποιείται σύμφωνα με τις οδηγίες του επίσημου κτηνίατρου, πρέπει να εξασφαλίζει την καταστροφή του υπάρχοντος ιού της γρίπης των ορνίθων·
- (γ) εφόσον έχουν σφαγεί πουλερικά κατά τη διάρκεια της υποτιθέμενης περιόδου επώασης της νόσου, το κρέας των εν λόγω πουλερικών θα αναζητείται και θα καταστρέφεται στο μέτρο του δυνατού·
- (δ) τα αυγά που προορίζονται για επώαση που γεννώνται κατά τη διάρκεια της υποθετικής περιόδου επώασης της νόσου και τα οποία έχουν μετακινηθεί από την εκμετάλλευση θα αναζητούνται και θα καταστρέφονται· τα πουλερικά όμως τα οποία έχουν ήδη επωασθεί από τα εν λόγω αυγά θα τίθενται υπό επίσημο έλεγχο. Τα αυγά που προορίζονται για κατανάλωση που γεννώνται κατά τη διάρκεια της υποθετικής περιόδου επώασης της νόσου και τα οποία έχουν μετακινηθεί από την εκμετάλλευση θα αναζητούνται και θα καταστρέφονται στο μέτρο του δυνατού·
- (ε) μετά από την πραγματοποίηση των εργασιών που αναφέρονται στην υποπαράγραφο (α), τα κτίρια στέγασης των πουλερικών, οι πέριξ χώροι και τα οχήματα που χρησιμοποιήθηκαν για τη μεταφορά καθώς και ολόκληρος ο εξοπλισμός που ενδέχεται να έχει μολυνθεί, καθαρίζονται και απολυμαίνονται σύμφωνα με τις διατάξεις του άρθρου 11·
- (στ) δεν θα επανεισάγονται στην εκμετάλλευση πουλερικά τουλάχιστον επί 21 ημέρες μετά την ολοκλήρωση των εργασιών που προβλέπονται στην υποπαράγραφο (ε)·
- (ζ) θα διεξάγεται επιδημιολογική έρευνα σύμφωνα με το άρθρο 7·
2. Η αρμόδια αρχή δύναται να εφαρμόζει τα μέτρα που προβλέπονται στην παράγραφο 1 και σε άλλες εκμεταλλεύσεις εφόσον η τοποθεσία τους, η διαμόρφωση των χώρων τους ή οι επαφές που έχουν με την εκμετάλλευση όπου διαπιστώθηκε η ασθένεια, δημιουργούν βάσιμες υποψίες ενδεχόμενης μόλυνσης·

Άρθρο 6

1. Στην περίπτωση εκμεταλλεύσεων που περιλαμβάνουν δύο ή περισσότερα χωριστά σμήνη πτηνών, η αρμόδια αρχή δύναται να παρεκκλίνει από τις απαιτήσεις του άρθρου 5 παράγραφος 1 σημείο α, όσον αφορά τα υγιή σμήνη πτηνών μίας εκμετάλλευσης που έχουν προσβληθεί από την ασθένεια υπό τον όρο ότι ο επίσημος κτηνίατρος έχει βεβαιώσει ότι οι δραστηριότητες που αναπτύχθηκαν στις εν λόγω μονάδες είναι τέτοιου είδους ώστε να υπάρχει πλήρης διαχωρισμός όσον αφορά τη στέγαση, τη φύλαξη και την εκτροφή, έτσι ώστε ο ιός να μη δύναται να εξαπλωθεί από τη μία εκμετάλλευση στην άλλη.
2. Η Επιτροπή θεσπίζει σύμφωνα με τη διαδικασία του άρθρου 21 τα κριτήρια που θα εφαρμόζονται για την έγκριση παρεκκλίσεων βάσει της παραγράφου 1.

Άρθρο 7

1. Η επιδημιολογική έρευνα αφορά :
 - τη διάρκεια της περιόδου κατά την οποία ενδέχεται να έχει εμφανιστεί η γρίπη των ορνίθων στην εκμετάλλευση.
 - την πιθανή προέλευση της γρίπης των ορνίθων στην εκμετάλλευση και τον προσδιορισμό άλλων εκμεταλλεύσεων στις οποίες βρίσκονται πουλερικά που πιθανόν να έχουν προσβληθεί ή μολυνθεί από την ίδια πηγή.
 - τις μετακινήσεις προσώπων, πουλερικών ή άλλων ζώων, οχημάτων, αυγών, κρέατος και σφάγιων καθώς και οποιαδήποτε εργαλεία ή ουσίες που ενδεχόμενα έχουν μεταφέρει τον ιό της ψευδοπανώλης από ή προς την εν λόγω εκμετάλλευση.
2. Για να υπάρχει πλήρης συντονισμός όλων των μέτρων που είναι αναγκαία για την εξασφάλιση της εκκρίζωσης της ψευδοπανώλης το ταχύτερο δυνατόν, και για τους σκοπούς της διεξαγωγής της επιδημιολογικής έρευνας, συστήνεται ομάδα για την αντιμετώπιση της κρίσης.

Οι γενικοί κανόνες που αφορούν τη λειτουργία των εθνικών και των κοινοτικών ομάδων για την αντιμετώπιση της κρίσης καθορίζονται από τον κανονισμό του Συμβουλίου ../.../ΕΟΚ.

Άρθρο 8

1. Εφόσον ο επίσημος κτηνίατρος πιστεύει βάσιμα ότι τα πουλερικά σε οποιαδήποτε εκμετάλλευση ενδέχεται να έχουν μολυνθεί λόγω της μετακίνησης προσώπων, ζώων ή οχημάτων ή με οποιοδήποτε άλλο τρόπο, η εκμετάλλευση πρέπει να τίθεται υπό επίσημο έλεγχο σύμφωνα με την παράγραφο 2.
2. Σκοπός του επίσημου ελέγχου πρέπει να είναι ο άμεσος εντοπισμός κάθε υποψίας μόλυνσης από τη γρίπη των ορνίθων, η καταμέτρηση των πουλερικών και ο έλεγχος των μετακινήσεων τους καθώς και η ανάληψη, ενδεχομένως, της δράσης που προβλέπεται στην παράγραφο 3.
3. Εφόσον μία εκμετάλλευση αποτελεί το αντικείμενο επίσημου ελέγχου σύμφωνα με τις διατάξεις της παραγράφου 2, η αρμόδια αρχή απαγορεύει την έξοδο πουλερικών από την εκμετάλλευση με εξαίρεση την μετακίνηση με σκοπό την άμεση μεταφορά των πουλερικών σε σφαγείο υπό επίσημη εποπτεία και για άμεση σφαγή. Πριν από την έγκριση της εν λόγω άδειας, ο επίσημος κτηνίατρος πρέπει να πραγματοποιεί κλινική εξέταση όλων των πουλερικών έτσι ώστε να αποκλείεται η εμφάνιση της γρίπης των ορνίθων στην εκμετάλλευση. Οι προαναφερθέντες περιορισμοί των μετακινήσεων θα πρέπει να επιβάλλονται για περίοδο 21 ημερών από την τελευταία ημερομηνία της πιθανής μόλυνσης. Εντούτοις τέτοιου είδους περιορισμοί πρέπει να επιβάλλονται για μια περίοδο 7 ημερών τουλάχιστον.
4. Στις περιπτώσεις που θεωρεί ότι οι συνθήκες το επιτρέπουν, η αρμόδια αρχή δύναται να περιορίσει τα μέτρα που προβλέπονται στο παρόν άρθρο, σε ένα μόνο τμήμα της εκμετάλλευσης και στα πουλερικά που περιλαμβάνει, υπό τον όρο ότι τα εν λόγω πουλερικά έχουν στεγαστεί στο εν λόγω τμήμα της εκμετάλλευσης, έχουν φυλαχθεί και εκτραφεί εντελώς χωριστά και από ιδιαίτερο προσωπικό.

Άρθρο 9

1. Από τη στιγμή που βεβαιωθεί επίσημα η διάγνωση της γρίπης των ορνίθων, η αρμόδια αρχή οριοθετεί γύρω από τη μολυσμένη εκμετάλλευση μία ζώνη μόλυνσης η οποία περιλαμβάνει μια προστατευτική ζώνη ακτίνας τουλάχιστον 3 χλμ. και μια ζώνη επίβλεψης ακτίνας τουλάχιστον 10 χλμ. Για την οριοθέτηση των εν λόγω ζωνών πρέπει να λαμβάνονται υπόψη τα φυσικά εμπόδια και η επιδημιολογία των κρουσμάτων της ασθένειας.
2. Τα μέτρα που εφαρμόζονται στην προστατευτική ζώνη περιλαμβάνουν :
 - (α) τον εντοπισμό όλων των εκμεταλλεύσεων που έχουν πουλερικά εντός της ζώνης.
 - (β) περιοδικές επισκέψεις σε όλες τις εκμεταλλεύσεις που έχουν πουλερικά, κλινική εξέταση των πουλερικών αυτών συμπεριλαμβανομένης, εάν παραστεί ανάγκη, της συλλογής δειγμάτων για εργαστηριακές εξετάσεις· την τήρηση αρχείου σχετικά με τις επισκέψεις και τα σχετικά πορίσματα·
 - (γ) τη διατήρηση όλων των πουλερικών στους χώρους στέγασής τους ή σε οποιοδήποτε άλλο χώρο όπου είναι δυνατόν να απομονωθούν·
 - (δ) τη χρησιμοποίηση κατάλληλων μέσων για την απολύμανση στις εισόδους και τις εξόδους των εκμεταλλεύσεων·
 - (ε) τον έλεγχο των μετακινήσεων ατόμων που έρχονται σε επαφή με τα πουλερικά, σφαγίων πουλερικών και αυγών από και προς τις εκμεταλλεύσεις εντός της ζώνης· κατά γενικό κανόνα, απαγορεύεται η μεταφορά πουλερικών, εκτός αν πρόκειται για διέλευση μέσω των μεγάλων οδικών ή σιδηροδρομικών αξόνων·
 - (στ) την απαγόρευση της μετακίνησης πουλερικών και αυγών προς επώαση από την εκμετάλλευση στην οποία φυλάσσονται, με εξαίρεση την περίπτωση κατά την οποία η αρμόδια αρχή έχει επιτρέψει τη μεταφορά :

(I) πουλερικών για άμεση σφαγή σε σφαγείο που βρίσκεται κατά προτίμηση στη μολυσμένη περιοχή ή, εφόσον τούτο δεν είναι δυνατό, σε σφαγείο εκτός της περιοχής αυτής, το οποίο έχει οριστεί από την αρμόδια αρχή. Το ειδικό υγειονομικό σήμα που προβλέπεται στο άρθρο 6 παράγραφος 1 του κανονισμού ../.../ΕΟΚ σχετικά με τους υγειονομικούς όρους που διέπουν τις ενδοκοινοτικές συναλλαγές και τις εισαγωγές από τρίτες χώρες νωπών κρεάτων πουλερικών και νωπών κρεάτων πτηνών τα οποία έχουν εκτραφεί για συμμετοχή σε παιχνίδια και αγώνες⁽¹⁾ θα πρέπει να τίθεται στο κρέας των πουλερικών αυτών.

(II) νεοσσών μιας ημέρας ή πουλερικών την εποχή της ωοτοκίας, σε εκμετάλλευση εντός της μολυσμένης περιοχής στην οποία δεν υπάρχουν άλλα πουλερικά. Η εν λόγω εκμετάλλευση θα πρέπει να τίθεται υπό επίσημο έλεγχο όπως προβλέπεται στο άρθρο 8 παράγραφος 2.

(III) αυγών προς επώαση σε επωαστήριο που βρίσκεται εντός της μολυσμένης περιοχής ή σε επωαστήριο εκτός της περιοχής, το οποίο ορίζεται από την αρμόδια αρχή· πριν από την αποστολή τους τα αυγά και οι συσκευασίες τους θα πρέπει να απολυμαίνονται.

Οι μετακινήσεις που προβλέπονται στις υποπαραγράφους (I), (II) και (III) πρέπει να πραγματοποιούνται με απευθείας μεταφορά και υπό επίσημο έλεγχο. Επιτρέπονται μόνο μετά από υγειονομική επιθεώρηση της εκμετάλλευσης από τον επίσημο κτηνίατρο. Τα χρησιμοποιούμενα μέσα μεταφοράς πρέπει να καθαρίζονται και να απολυμαίνονται πριν και μετά από τη χρήση.

(ζ) την απαγόρευση της μεταφοράς ή της διασκόρπισης, άνευ αδείας, των εκκρινμάτων και των απορριμμάτων των πουλερικών.

(η) την απαγόρευση υπαίθριων εμπορικών εκθέσεων, αγορών, εκθέσεων και άλλων συγκεντρώσεων πουλερικών ή άλλων πτηνών.

3. Τα μέτρα που εφαρμόζονται στην προστατευτική ζώνη ισχύουν τουλάχιστον επί 21 ημέρες μετά από την πραγματοποίηση των προκαταρκτικών ενεργειών καθαρισμού και απολύμανσης στις μολυσμένες εκμεταλλεύσεις σύμφωνα με το άρθρο 11. Η προστατευτική ζώνη θα αποτελεί στην περίπτωση αυτή τμήμα της ζώνης επίβλεψης.

(1) ΕΠ (89) 507 τελικό

4. Τα μέτρα που εφαρμόζονται στην ζώνη επίβλεψης περιλαμβάνουν :
- (α) τον προσδιορισμό όλων των εκμεταλλεύσεων που έχουν πουλερικά εντός της ζώνης·
 - (β) τον έλεγχο των μετακινήσεων πουλερικών και αυγών προς επώαση εντός της ζώνης·
 - (γ) την απαγόρευση της μετακίνησης πουλερικών από τη ζώνη κατά τη διάρκεια των πρώτων 15 ημερών, εκτός και αν πρόκειται για άμεση μεταφορά σε σφαγείο που βρίσκεται εκτός της ζώνης επίβλεψης και έχει ορισθεί από την αρμόδια αρχή. Το ειδικό υγειονομικό σήμα που προβλέπεται στο άρθρο 6 του κανονισμού του Συμβουλίου/.../ΕΟΚ σχετικά με τους υγειονομικούς όρους που διέπουν τις ενδοκοινοτικές συναλλαγές και τις εισαγωγές από τρίτες χώρες πουλερικών και νωπών κρεάτων πτηνών τα οποία έχουν εκτραφεί για συμμετοχή σε παιχνίδια και αγώνες πρέπει να τίθεται στο κρέας των πουλερικών αυτών·
 - (δ) την απαγόρευση της μετακίνησης αυγών προς επώαση από τη ζώνη επίβλεψης, με εξαίρεση τη μεταφορά σε εγκαταστάσεις που έχουν ορισθεί από την αρμόδια αρχή. Πριν από την αποστολή τους, τα αυγά και οι συσκευασίες τους θα πρέπει να απολυμαίνονται·
 - (ε) την απαγόρευση της μεταφοράς των εκκριμάτων των πουλερικών και των συναφών απορριμμάτων εκτός της ζώνης·
 - (στ) την απαγόρευση υπαίθριων εμπορικών εκθέσεων, αγορών, εκθέσεων και άλλων συγκεντρώσεων, πουλερικών και άλλων πτηνών·
 - (ζ) με την επιφύλαξη των όσων προβλέπονται στα ως άνω σημεία β) και γ), την απαγόρευση της μεταφοράς πουλερικών, με εξαίρεση την περίπτωση διέλευσής τους μέσω μεγάλων οδικών ή σιδηροδρομικών αξόνων.
5. Τα μέτρα που εφαρμόζονται στη ζώνη επίβλεψης θα ισχύουν τουλάχιστον επί 30 ημέρες μετά από την πραγματοποίηση των προκαταρκτικών ενεργειών καθαρισμού και απολύμανσης στη μολυσμένη εκμετάλλευση σύμφωνα με το άρθρο 11.

Άρθρο 10

1. Οι αρμόδιες αρχές καθορίζουν τις ρυθμίσεις που θα τους παράσχουν τη δυνατότητα παρακολούθησης των μετακινήσεων αυγών και πουλερικών.
2. Ο ιδιοκτήτης των πουλερικών ή ο υπεύθυνος για την εκτροφή τους υποχρεούται να παρέχει στην αρμόδια αρχή, κατόπιν αίτησής της, τις πληροφορίες που αφορούν τα πουλερικά και τα αυγά που εισέρχονται ή εξέρχονται από την εκμετάλλευσή του.
3. Όλα τα πρόσωπα που ασχολούνται με την μεταφορά ή το εμπόριο πουλερικών ή αυγών θα πρέπει να είναι σε θέση να παρέχουν στην αρμόδια αρχή τις πληροφορίες που αφορούν τις μετακινήσεις πουλερικών και αυγών τα οποία έχουν αποτελέσει το αντικείμενο μεταφοράς ή εμπορίας και να προσκομίζουν όλα τα σχετικά με τις εν λόγω πληροφορίες στοιχεία.

Άρθρο 11

1. Οι απολυμαντικές ουσίες που χρησιμοποιούνται καθώς και οι συγκεντρώσεις τους πρέπει να έχουν εγκριθεί από την αρμόδια αρχή.
2. Οι δραστηριότητες καθαρισμού και απολύμανσης πραγματοποιούνται υπό επίσημο έλεγχο σύμφωνα με τις οδηγίες του επίσημου κτηνιάτρου.

Άρθρο 12

Η λήψη δειγμάτων και οι εργαστηριακές δοκιμές για την ανίχνευση του ιού της ασθένειας πραγματοποιούνται σύμφωνα με το παράρτημα Ι.

Άρθρο 13

1. Κάθε κράτος ορίζει :
 - (α) ένα ή περισσότερα εθνικά εργαστήρια των οποίων οι εγκαταστάσεις και το ειδικευμένο προσωπικό τους θα συντηρούνται για να εξασφαλίζεται ο προσδιορισμός των παθογενετικών χαρακτηριστικών των απομονωμένων ιών της γρίπης των ορνίθων (παράρτημα Ι κεφάλαιο 7) και ο εντοπισμός ιών της γρίπης Α των υποκατηγοριών Η5 και Η7.

- (β) ένα ή περισσότερα εθνικά εργαστήρια στα οποία δοκιμάζονται τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται στα περιφερειακά εργαστήρια·
 - (γ) ένα ή περισσότερα ινστιτούτα ή εργαστήρια στα οποία θα δύνανται να δοκιμάζονται εγκεκριμένα εμβόλια ούτως ώστε να επαληθεύεται ότι αυτά είναι σύμφωνα με τις προδιαγραφές που καθορίζονται στην έγκριση κυκλοφορίας.
2. Τα εθνικά εργαστήρια που απαριθμούνται στο παράρτημα ΙΙ είναι υπεύθυνα για το συντονισμό των κανόνων και των μεθόδων διάγνωσης, τη χρήση των αντιδραστηρίων και τις δοκιμασίες των εμβολίων.
3. Τα εθνικά εργαστήρια για τη νόσο τα οποία αναφέρονται στην παράγραφο 2 είναι υπεύθυνα για το συντονισμό των κανόνων και των διαγνωστικών μεθόδων που έχουν καθοριστεί σε κάθε διαγνωστικό εργαστήριο για την γρίπη των ορνίθων στο κράτος μέλος. Προς αυτόν τον σκοπό :
- (α) θα δύνανται να παρέχουν διαγνωστικά αντιδραστήρια σε περιφερειακά εργαστήρια·
 - (β) ελέγχουν την ποιότητα όλων των διαγνωστικών αντιδραστηρίων τα οποία θα χρησιμοποιούνται σε αυτό το κράτος μέλος·
 - (γ) θα διενεργούν περιοδικούς συγκριτικούς ελέγχους·
 - (δ) θα διατηρούν απομονώσεις ιών της γρίπης των ορνίθων που θα προέρχονται από επαληθευμένα περιστατικά σ' αυτό το κράτος μέλος·
 - (ε) θα εξασφαλίζουν την επαλήθευση θετικών αποτελεσμάτων που θα έχουν σημειωθεί σε περιφερειακά διαγνωστικά εργαστήρια.
4. Τα εθνικά εργαστήρια που απαριθμούνται στο παράρτημα ΙΙ συνεργάζονται με το κοινοτικό εργαστήριο αναφοράς που αναφέρεται στο άρθρο 14.

Άρθρο 14

Το κοινοτικό εργαστήριο αναφοράς για τη γρίπη των ορνίθων αναφέρεται στο παράρτημα ΙΙΙ. Οι αρμοδιότητες και τα καθήκοντα του εργαστηρίου θα καθορισθούν, εφόσον δεν καλύπτονται ήδη από το άρθρο 28 της απόφασης 90/424/ΕΟΚ του Συμβουλίου⁽¹⁾ για τις δαπάνες στον κτηνιατρικό τομέα, σύμφωνα με τη διαδικασία που καθορίζεται στο άρθρο 21.

(1) ΕΕ αριθ. L 224 της 18.08.1990, σ. 19

Άρθρο 15

1. Ο εμβολιασμός κατά της γρίππης των ορνίθων με εμβόλια τα οποία έχει επιτρέψει η αρμόδια αρχή, δύναται να πραγματοποιείται ως συμπλήρωμα των μέτρων ελέγχου που λαμβάνονται κατά την περίοδο εμφάνισης της ασθένειας.
2. Η απόφαση για τη χρησιμοποίηση εμβολιασμού ως συμπληρώματος των μέτρων ελέγχου λαμβάνεται από την Επιτροπή σε συνεργασία με το ενδιαφερόμενο κράτος μέλος και σύμφωνα με τη διαδικασία που προβλέπεται στο άρθρο 21. Στην απόφαση αυτή θα πρέπει να λαμβάνονται κυρίως υπόψη :
 - η συγκέντρωση των πουλερικών στην περιοχή που έχει πληγεί·
 - τα χαρακτηριστικά και η σύνθεση κάθε εμβολίου που χρησιμοποιείται·
 - οι διαδικασίες ελέγχου της διανομής, της αποθήκευσης και της χρήσης των εμβολίων·
 - τα είδη και οι κατηγορίες των πουλερικών που ενδέχεται ή πρόκειται να υποβληθούν σε εμβολιασμό,
 - οι περιοχές στις οποίες ενδέχεται ή πρόκειται να πραγματοποιηθεί εμβολιασμός.
3. Όταν σε ένα κράτος μέλος επιτρέπεται, σύμφωνα με τις διατάξεις της παραγράφου 2, να προβαίνει σε έκτακτο εμβολιασμό σε ένα περιορισμένο τμήμα του εδάφους του, το καθεστώς του υπόλοιπου εδάφους δεν θίγεται εφόσον τα μέτρα ακινητοποίησης των εμβολιασθέντων ζώων είναι αποτελεσματικά για επί τρεις μήνες μετά το τέλος του εμβολιασμού.

Άρθρο 16

1. Όταν, σε μια ορισμένη περιοχή η επιζωοτία της γρίππης των ορνίθων εμφανίζει εξαιρετικά σοβαρό χαρακτήρα και τάση μετάδοσης, το ενδιαφερόμενο κράτος μέλος :
 - κηρύσσει ως "ζώνη υψηλού υγειονομικού κινδύνου" μια γεωγραφικά οριοθετημένη ζώνη η οποία περιλαμβάνει τουλάχιστον όλες τις προστατευτικές ζώνες και τις ζώνες εποπτείας στην περιοχή αυτή·

- εφαρμόζει τα μέτρα που προβλέπονται στο άρθρο 9 παράγραφος 3 στην "ζώνη υψηλού υγειονομικού κινδύνου".
 - απαγορεύει την έξοδο όλων των ζώντων πουλερικών και των αυγών προς επώαση από τη "ζώνη υψηλού υγειονομικού κινδύνου".
 - ενημερώνει την Επιτροπή και τα άλλα κράτη μέλη στα πλαίσια της μόνιμης κτηνιατρικής επιτροπής σχετικά με την κατάσταση της ασθένειας και τα μέτρα ελέγχου που έχουν εφαρμοστεί.
2. Τα όρια της "ζώνης υψηλού υγειονομικού κινδύνου" δύνανται να αναθεωρούνται με σταδιακή κατάργηση των ζωνών εποπτείας. Τα μέτρα που θεσπίζονται στην προηγούμενη παράγραφο παύουν να εφαρμόζονται μετά την κατάργηση της τελευταίας ζώνης εποπτείας.
 3. Σε περίπτωση παράτασης μιας εξαιρετικά σοβαρής κατάστασης, τα μέτρα που θα πρέπει να λαμβάνονται από το ενδιαφερόμενο κράτος μέλος, ιδίως όσον αφορά τον καθορισμό "ζώνης υψηλού υγειονομικού κινδύνου" και την προσφυγή στις διατάξεις του άρθρου 15, πρέπει να αποτελέσουν το αντικείμενο απόφασης σύμφωνα με τη διαδικασία που ορίζεται στο άρθρο 21.

Άρθρο 17

1. Κάθε κράτος μέλος καταρτίζει σχέδιο επείγουσας προειδοποίησης, στο οποίο διευκρινίζονται τα εθνικά μέτρα τα οποία θα πρέπει να εφαρμόζονται σε περίπτωση εμφάνισης κρούσματος της γρίπης των ορνίθων.

Με το σχέδιο αυτό πρέπει να εξασφαλίζεται πρόσβαση στις εγκαταστάσεις, στον εξοπλισμό στο προσωπικό και σε όποιο άλλο κατάλληλο υλικό είναι αναγκαίο για την ταχεία και αποτελεσματική εκρίζωση των κρουσμάτων. Πρέπει να περιλαμβάνει επακριβείς ενδείξεις όσον αφορά τις ανάγκες εμβολιασμού τις οποίες κάθε ενδιαφερόμενο κράτος μέλος θεωρεί ότι χρειάζεται σε περίπτωση εμβολιασμού επείγουσας ανάγκης.

2. Τα κριτήρια που εφαρμόζονται για την κατάρτιση του σχεδίου επείγουσας προειδοποίησης είναι τα κριτήρια που καθορίζονται στην απόφαση 91/42/ΕΟΚ⁽¹⁾ της Επιτροπής, της 8ης Ιανουαρίου 1991 για τον καθορισμό των κριτηρίων που εφαρμόζονται κατά την κατάρτιση σχεδίων επείγουσας προειδοποίησης για τον έλεγχο του αφθώδους πυρετού, κατ'εφαρμογή του άρθρου 5 της οδηγίας 90/423/ΕΟΚ του Συμβουλίου το οποίο εφαρμόζεται τηρουμένων των αναλογιών.

Η Επιτροπή, σύμφωνα με τη διαδικασία του άρθρου 21, τροποποιεί ή συμπληρώνει αυτά τα κριτήρια λαμβάνοντας υπόψη την ιδιάζουσα φύση της γρίπης των ορνίθων.

3. Τα σχέδια που έχουν καταρτιστεί σύμφωνα με τα κριτήρια τα οποία προβλέπονται στην παράγραφο 2, υποβάλλονται στην Επιτροπή όχι αργότερα από 12 μήνες μετά από την έναρξη της ισχύος του παρόντος κανονισμού.
4. Η Επιτροπή εξετάζει τα σχέδια για να κρίνει κατά πόσον είναι σε θέση να εξασφαλίσουν την επίτευξη του επιθυμητού στόχου και υποδεικνύει στο ενδιαφερόμενο κράτος μέλος όποιες τροποποιήσεις κρίνονται αναγκαίες, ιδίως για να εξασφαλιστεί η συμβατότητά τους με τα σχέδια των άλλων κρατών μελών.

Η Επιτροπή εγκρίνει τα σχέδια, με τις ενδεχόμενες αναγκαίες τροποποιήσεις, σύμφωνα με τη διαδικασία που προβλέπεται στο άρθρο 21.

Εν συνεχεία, τα σχέδια ενδέχεται να τροποποιούνται ή να συμπληρώνονται, σύμφωνα με την ίδια διαδικασία, ούτως ώστε να λαμβάνονται υπόψη οι εξελίξεις της κατάστασης.

Άρθρο 18

Εμπειρογνώμονες κτηνίατροι από την Επιτροπή δύνανται, σε συνεργασία με τις αρχές του ενδιαφερόμενου κράτους μέλους, στο βαθμό που αυτό είναι αναγκαίο για την εξασφάλιση της ομοιόμορφης εφαρμογής του παρόντος κανονισμού, να πραγματοποιούν επιτόπου ελέγχους· η Επιτροπή ενημερώνει τα κράτη μέλη σχετικά με τα αποτελέσματα αυτών των ελέγχων.

(1) ΕΕ αριθ. L 23, 29.01.1991, σ. 29

Ένα κράτος μέλος στο έδαφος του οποίου πραγματοποιείται έλεγχος, πρέπει να επικουρεί με κάθε τρόπο τους εμπειρογνώμονες ως προς τις ανάγκες τους κατά την εκτέλεση των καθηκόντων τους.

Οι γενικές διατάξεις για την εφαρμογή του παρόντος άρθρου θα καθορισθούν σύμφωνα με τη διαδικασία που προβλέπεται στο άρθρο 21.

Άρθρο 19

Οι λεπτομέρειες όσον αφορά τη χρηματική συμμετοχή της Κοινότητας στις ενέργειες που θα προκύψουν από τον παρόντα κανονισμό, καθορίζονται στην απόφαση του Συμβουλίου 90/424/ΕΟΚ, σχετικά με τις δαπάνες στον κτηνιατρικό τομέα.

Άρθρο 20

Τα παραρτήματα του παρόντος κανονισμού, δύναται η Επιτροπή να τα τροποποιήσει, σύμφωνα με τη διαδικασία που προβλέπεται στο άρθρο 21, ιδίως για να λαμβάνονται υπόψη οι εξελίξεις όσον αφορά τις διαγνωστικές μεθόδους.

Άρθρο 21

1. Η Επιτροπή θα επικουρείται από τη μόνιμη κτηνιατρική επιτροπή, η οποία θα αναφέρεται εφεξής ως "η επιτροπή"· όπως θεσπίστηκε από την απόφαση 68/361/ΕΟΚ⁽¹⁾.
2. Στην περίπτωση που πρέπει να ακολουθηθεί η διαδικασία που ορίζεται στο παρόν άρθρο, εφαρμόζονται οι ακόλουθες διατάξεις.

Ο εκπρόσωπος της Επιτροπής υποβάλλει στην "επιτροπή" σχέδιο των προς λήψη μέτρων. Η "επιτροπή" γνωμοδοτεί για το σχέδιο αυτό εντός προθεσμίας την οποία δύναται να ορίσει ο πρόεδρος ανάλογα με το κατά πόσον το θέμα είναι επείγον και, εφόσον παραστεί ανάγκη, διοργανώνοντας ψηφοφορία.

Η γνώμη αυτή καταγράφεται στα πρακτικά· επιπλέον, κάθε κράτος μέλος δικαιούται να ζητήσει να καταγραφεί η θέση του στα πρακτικά.

(1) ΕΕ αριθ. L 255, 18.10.1968, σ. 23

Η Επιτροπή λαμβάνει στο έπακρον υπόψη τη γνώμη της επιτροπής. Ενημερώνει την επιτροπή σχετικά με τον τρόπο με τον οποίο έχει λάβει υπόψη τη γνώμη της.

Άρθρο 22

Ο παρών κανονισμός αρχίζει να ισχύει από την 1η Ιουλίου 1991.

Ο παρών κανονισμός είναι δεσμευτικός ως προς όλα τα μέρη του και ισχύει άμεσα σε κάθε κράτος μέλος.

Βρυξέλλες,

Για το Συμβούλιο,

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΑΛΗΘΕΥΣΗ ΚΑΙ ΤΗ ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΓΡΙΠΠΗΣ ΤΩΝ ΟΡΝΙΘΩΝ (ΓΟ)

Οι ακόλουθες μέθοδοι απομόνωσης και χαρακτηρισμού των ιών της γρίππης των ορνίθων, πρέπει να θεωρούνται ως γενικές κατευθυντήριες γραμμές και ως τα ελάχιστα που πρέπει να εφαρμόζονται κατά τη διάγνωση της ασθένειας.

Όσον αφορά τις διαγνωστικές μεθόδους για την επαλήθευση και τη διαφορική διάγνωση της γρίππης των ορνίθων, ισχύει ο ακόλουθος ορισμός.

Ως "γρίπη των ορνίθων" νοείται μια μολυσματική νόσος των πουλερικών η οποία προξενείται από οποιονδήποτε ιό της γρίππης Α και η οποία εμφανίζει ένα δείκτη ενδοφλέβιας παθογενετικότητας μεγαλύτερο από 1,2 για κοτόπουλα έξι εβδομάδων ή κάθε μόλυνση από τους ιούς της γρίππης Α των υποτύπων Η5 ή Η7 για την οποία ο καθορισμός αλληλουχίας νουκλεοτιδίων έχει καταδείξει την παρουσία πολλαπλών βασικών αμινοξέων στο σημείο συλάκωσης της αιματοσυγκολλητίνης.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 : ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ ΚΑΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

1. Δείγματα

Επιχρίσματα κλοάκης (αμάρας) (ή κοπράνων) και επιχρίσματα τραχείας από άρρωστα πτηνά, κόπρανα ή περιεχόμενο εντέρου, εγκεφαλικός ιστός, τραχεία, πνεύμονες, ήπαρ, σπλήνα, και άλλα φανερά προσβεβλημένα όργανα από πρόσφατα θανόντα πτηνά.

2. Επεξεργασία των δειγμάτων

Τα όργανα και οι ιστοί που αναφέρονται προηγουμένως δύνανται να συσσωρεύονται, αλλά η χωριστή επεξεργασία του κοπρανώδους υλικού είναι απαραίτητη. Τα επιχρίσματα πρέπει να τοποθετούνται σε επαρκή ποσότητα αντιβιοτικού μέσου ώστε να εξασφαλίζεται η πλήρης βύθισή τους. Τα δείγματα κοπράνων και τα όργανα πρέπει να ομοιογενοποιούνται (σε κλειστό αναμεικτήρα (blander) ή με χρήση γουδιού και γουδοχειριού και αποστειρωμένης άμμου) σε αντιβιοτικό μέσο και να γίνονται αιωρήματα 10-20% w/v στο μέσο. Τα αιωρήματα πρέπει να αφήνονται περίπου δύο ώρες σε θερμοκρασία δωματίου (ή επί μεγαλύτερες περιόδους στους 4° C) και εν συνεχεία να διαυγάζονται με φυγοκέντρηση (π.χ. 800 έως 1000 X g επί 10 λεπτά).

3. Αντιβιοτικό περιβάλλον

Ορισμένα εργαστήρια χρησιμοποίησαν με επιτυχία διάφορους τύπους αντιβιοτικού περιβάλλοντος και τα εθνικά εργαστήρια θα είναι σε θέση να παρέχουν συμβουλές για μια συγκεκριμένη χώρα. Για τα δείγματα κοπράνων απαιτούνται υψηλές συγκεντρώσεις αντιβιοτικών και ένα τυπικό μείγμα είναι :

10.000 μονάδες/ml πενικιλίνης, 10 mg/ml στρεπτομικίνης, 0,25 mg/ml γενταμικίνης και 5.000 μονάδες/ml μυκοστατίνης σε διάλυμα που ρυθμίζεται με φωσφορικά ιόντα (PBS). Οι εν λόγω τιμές δύνανται να είναι πέντε φορές χαμηλότερες για τους ιστούς και τα αποξέσματα της τραχείας. Για τον έλεγχο των Chlamydi επιτρέπεται η προσθήκη 50 mg/ml οξυτετρακυκλίνης. Κατά τη διαμόρφωση του περιβάλλοντος είναι απαραίτητο να ελέγχεται το pH μετά την προσθήκη αντιβιοτικών και να γίνεται η κατάλληλη προσαρμογή ώστε να λαμβάνεται ένα pH μεταξύ 7,0 και 7,4.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 : Απομόνωση του ιού

Απομόνωση του ιού στα γονιμοποιημένα αυγά πτηνών

Ενοφθαλμίζονται μεταξύ 0,1 και 0,2 ml διαυγασθείσας επιπλέουσας στοιβάδας στον αλλαντοειδή θύλακα καθενός από τα τέσσερα τουλάχιστον γονιμοποιημένα αυγά πτηνών που επωάζονται επί 8 έως 10 ημέρες. Θεωρητικά, τα αυγά αυτά θα πρέπει να προέρχονται από σμήνος EOPS (απαλλαγμένο από ειδικά παθογενή όργανα), εάν όμως τούτο δεν είναι δυνατόν, επιτρέπεται η χρησιμοποίηση αυγών που προέρχονται από σμήνος απαλλαγμένο από αντισώματα του ιού της γρίπης των ορνίθων. Τα ενοφθαλμισθέντα αυγά διατηρούνται σε θερμοκρασία 37° C και παρακολουθούνται σε καθημερινή βάση. Σταδιακά, τα αυγά που περιέχουν νεκρά ή θνησιγενή έμβρυα και όλα τα αυγά που εναπομένουν έξι ημέρες μετά τον ενοφθαλμισμό θα πρέπει να διατηρούνται σε ψύξη σε θερμοκρασία 4° C και να αποτελούν το αντικείμενο έρευνας αιματοσυγκόλλησης με βάση το υγρό του αλλαντοειδούς θύλακα/αμνιοτικό υγρό. Εν απουσία αιματοσυγκολλητίνης, η προαναφερθείσα διαδικασία επαναλαμβάνεται χρησιμοποιώντας ως ενοφθαλμιζόμενο υλικό το μη-διαλυμένο υγρό αλλαντοειδούς θύλακα/αμνιοτικό υγρό.

Εφόσον υπάρχει αιματοσυγκολλητίνη, θα πρέπει να αποκλείεται από την καλλιέργεια η παρουσία βακτηριδίων. Επιτρέπεται να διοχετεύονται τα υγρά μέσα από έναν μεμβρανώδη ηθμό 450 nm, να προστίθεται ένα συμπλήρωμα αντιβιοτικών και να ενοφθαλμίζονται τα γονιμοποιημένα αυγά, κατά τον τρόπο που περιγράφεται ανωτέρω.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 : Διαφορική διάγνωση

1. Προκαταρκτική διαφοροποίηση

Έχει όμως σημασία να μπορούν να εφαρμοσθούν το συντομότερο δυνατόν προσωρινά μέτρα ελέγχου για την νόσο που έχουν ως στόχο τον περιορισμό της εξάπλωσης του ιού και τα περιφερειακά εργαστήρια πρέπει να είναι σε θέση να αναγνωρίζουν την παρουσία κάθε απομονωμένου αιμοσυγκολλητικού ιού όπως είναι οι ιοί της γρίπης των υποτύπων H5 ή H7 με την πρόσθεση του ιού της νόσου Newcastle. Επομένως τα υγρά που εμφανίζουν αιμοσυγκόλληση πρέπει να χρησιμοποιούνται σε δοκιμασία αναστολής της αιμοσυγκόλλησης όπως περιγράφεται στα κεφάλαια 5 και 6. Η θετική αναστολή, δηλαδή 2⁴ ή περισσότερο με τον πολυκλωνικό αντιορό ειδικό για τους ιούς των υποκατηγοριών H5 ή H7 της γρίπης Α με γνωστό τίτλο τουλάχιστον 2⁹ θα χρησίμευε ως προκαταρκτική αναγνώριση που θα επέτρεπε την επιβολή προσωρινών μέτρων ελέγχου.

2. Επαληθευτική αναγνώριση

Εφόσον πρόκειται για 13 υποτύπους αιματοσυγκολλητίνης και σε καθέναν από αυτούς υπάρχουν 9 υποτύποι νευραμινιδάσης ιών και ποικιλιών γρίπης δεν είναι εφικτό ούτε σκόπιμο από πλευράς κόστους να κρατηθούν αντιοροί οι οποίοι, θα επέτρεπαν πλήρη αντιγονικό χαρακτηρισμό των απομονωμένων ιών γρίπης. Εντούτοις, κάθε εθνικό εργαστήριο θα πρέπει :

- (i) να επιβεβαιώσει ότι ο απομονωμένος ιός είναι ένας ιός γρίπης Α με τη χρήση μιας δοκιμασίας ανοσολογικής διπλής διαχύσεως προκειμένου να εντοπιστεί το αντιγόνο ομάδος όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο 9 του

παρόντος παραρτήματος (τεχνικές ανοσοφθορισμού ή ELISA για τον εντοπισμό αντιγόνων ομάδος μπορούν να χρησιμοποιηθούν από το εθνικό εργαστήριο εφόσον το κρίνει σκόπιμο).

- (ii) να καθορίσει κατά πόσον οι απομονούμενοι ιοί ανήκουν στον υποτύπο H5 ή H7.

(III) να διεξαγάγει μια δοκιμασία δείκτη ενδοφλέβιας παθογενετικότητας σε κοτόπουλα ηλικίας 6 εβδομάδων όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο 7 του παρόντος παραρτήματος. Δείκτες ενδοφλέβιας παθογενετικότητας μεγαλύτεροι από 1,2 καταδεικνύουν την παρουσία ιού και απαιτούν την πλήρη εφαρμογή των μέτρων ελέγχου (θα ήταν σκόπιμη η διεξαγωγή και από τα εθνικά εργαστήρια δοκιμασιών προκειμένου να καθοριστεί η ικανότητα απομονωμένων ιών να δημιουργούν πλάκες σε κυτταροκαλλιέργειες όπως ορίζεται στο κεφάλαιο 8).

Τα εθνικά εργαστήρια θα πρέπει να υποβάλουν αμέσως όλους τους απομονωμένους ιούς της γρίπης των ορνίθων και των υποτύπων H5 και H7 στο Κοινοτικό Εργαστήριο Αναφοράς προκειμένου να γίνει πλήρης χαρακτηρισμός.

3. Περαιτέρω καταχώρηση σε ομάδες και χαρακτηρισμός των απομονώσεων

Το Κοινοτικό Εργαστήριο Αναφοράς πρέπει να λαμβάνει όλους τους ιούς που προκαλούν αιμοσυγκόλληση από τα Εθνικά Εργαστήρια για περαιτέρω αντιγονικές και γενετικές μελέτες για την επίτευξη μεγαλύτερης κατανόησης της επιζωοτιολογίας της νόσου (ή των νόσων) στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα σύμφωνα με τις λειτουργίες και τα καθήκοντα του εργαστηρίου Αναφοράς.

Εκτός από τα ανωτέρω καθήκοντα το Κοινοτικό Εργαστήριο Αναφοράς θα πρέπει να διεξαγάγει πλήρη αντιγονικό καθορισμό τύπου όλων των ιών γρίπης που παρέλαβε. Για όλους τους ιούς των υποτύπων H5 και H7 οι οποίοι δεν παρουσιάζουν δείκτη ενδοφλέβιας παθογενετικότητας μεγαλύτερο από 1,7, θα πρέπει να διενεργηθεί καθορισμός της αλληλουχίας του γονιδίου αιμοσυγκολλητίνης προκειμένου να καταδειχτεί η παρουσία ή μη πολλαπλών βασικών αμινοξέων στο σημείο αυλάκωσης της πρωτεΐνης αιματοσυγκολλητίνης.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 : Ορολογικές δοκιμασίες για την ανίχνευση αντισωμάτων
του ιού της γρίπης των ορνίθων

1. Κατά τη διάρκεια εφαρμογής των προγραμμάτων εκρίζωσης και εφόσον ο υποτύπος Η του υπεύθυνου για την ασθένεια ιού είναι ήδη γνωστός, ή με τη χρήση του ομολόγου ιού ως αντιγόνου, η ορολογική παρακολούθηση για τον εντοπισμό ενδείξεων μόλυνσης μπορεί να διεξαχθεί με τη χρήση δοκιμών αναστολής της αιμόπηξης όπως περιγράφεται στα κεφάλαια 5 και 6.

Εάν ο υποτύπος αιματοσυγκολλητίνης δεν είναι γνωστός, ο εντοπισμός μόλυνσης από ιούς της γρίπης Α μπορεί να επιτευχθεί με την ανίχνευση αντισωμάτων που κατευθύνονται στα ειδικά αντιγόνα ομάδος. Για το σκοπό αυτό μπορεί να χρησιμοποιηθεί είτε μια δοκιμασία ανοσολογικής διπλής διάχυσης (όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο 9 του παρόντος παραρτήματος), είτε μια δοκιμασία ELISA (ένα πρόβλημα που παρουσιάζει η δοκιμασία ELISA είναι η ιδιαιτερότητα του ξενιστή της δοκιμασίας καθώς αυτός εξαρτάται από την ανίχνευση του ξενιστή ανοσοσφαιρινών). Όσον αφορά τα υδρόβια πτηνά σπάνια έχουμε θετικά αποτελέσματα κατά τις δοκιμασίες ανοσολογικής διπλής διάχυσης και, εκτός εάν ο υποτύπος είναι γνωστός, είναι προφανώς εφικτό να εξετάζονται τέτοιου είδους πτηνά για την ανίχνευση της παρουσίας αντισωμάτων των υποτύπων H5 και H7.

2. (α) Δείγματα

Πρέπει να λαμβάνονται δείγματα αίματος από όλα τα πτηνά εάν το μέγεθος του σμήνους είναι μικρότερο από 20 και από 20 πτηνά από μεγαλύτερα σμήνη (Αυτό θα δώσει πιθανότητα 99% ανίχνευσης τουλάχιστον ενός θετικού όρου εάν 25% ή περισσότερο από το σμήνος είναι θετικό, ανεξάρτητα από το μέγεθος του σμήνους). Το αίμα πρέπει να αφήνεται να πήξει και να αφαιρείται ο ορός του αίματος για υποβολή σε δοκιμασία.

- (β) Εξέταση για αντισώματα

Τα μεμονωμένα δείγματα ορού πρέπει να δοκιμάζονται για την ικανότητά τους να αναστέλλουν το αντιγόνο αιμοσυγκόλλησης του ιού της γρίπης σε τυποποιημένες δοκιμασίες αναστολής αιμοσυγκόλλησης όπως ορίζονται στο κεφάλαιο 6.

Είναι αμφιλεγόμενο το κατά πόσον πρέπει να χρησιμοποιούνται 4 ή 8 μονάδες αιμοσυγκολλητίνης για τη δοκιμασία ΗΙ. Φαίνεται ότι και οι δύο μέθοδοι είναι έγκυρες και η επιλογή πρέπει να αφήνεται στη κρίση των εθνικών εργαστηρίων. Το χρησιμοποιούμενο αντιγόνο όμως, θα επηρεάσει το επίπεδο στο οποίο ένας ορός θεωρείται θετικός : - για 4 ΗΥ θετικός ορός είναι ο ορός που εμφανίζει τίτλο 2^4 ή μεγαλύτερο, ενώ για 8 ΗΥ θετικός ορός είναι όποιος ορός εμφανίζει τίτλο 2^3 ή μεγαλύτερο.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 : Δοκιμασία αιμοσυγκόλλησης (ΗΑ)

Τα αντιδραστήρια

1. Ισότονο διάλυμα χλωριούχου νατρίου ρυθμισμένο με φωσφορικό (0,05M) σε pH 7,0-7,4.
2. Ερυθρά αιμοσφαίρια (RBC) που λαμβάνονται και συγκεντρώνονται από τουλάχιστον τρία κοτόπουλα χωρίς ειδικό παθογόνο (εάν δεν υπάρχουν, μπορεί να ληφθεί αίμα από πουλιά που παρακολουθούνται τακτικά και έχει αποδειχθεί ότι δεν έχουν αναπτύξει αντισώματα κατά της γρίπης των ορνίθων) σε ίσο όγκο διαλύματος του Alsever. Τα αιμοσφαίρια πρέπει να πλυθούν τρεις φορές σε PBS πριν από τη χρήση. Για τη δοκιμασία συνιστάται αιώρημα 1% (εστοιβαγμένα κύτταρα v/v) σε PBS.
3. Το Κοινοτικό Εργαστήριο Αναφοράς προμηθεύει ή παραγγέλει ιούς Η5 και Η7 χαμηλής μολυσματικότητας προκειμένου να χρησιμοποιηθούν ως πρότυπα αντιγόνων.

Η μέθοδος

1. Τοποθετούνται 0,025ml PBS σε κάθε τρυβλίο μίας πλαστικής πλάκας μικροτιτλοδότησης (πρέπει να χρησιμοποιούνται τρυβλία με πυθμένα σχήματος V).
2. Τοποθετούνται 0,025 ml αιωρήματος ιού (δηλαδή αλλαντοϊκού υγρού) στο πρώτο τρυβλίο.
3. Χρησιμοποιείται μικροτιτλοδοτικό μέσο αραιώσης για μικροτιτλοδότηση για αραιώσεις στο διπλάσιο (1:2 έως 1:4096) ιού κατά πλάτος της πλάκας.
4. Τοποθετούνται άλλα 0,025 ml RBS σε κάθε τρυβλίο.
5. Προστίθενται 0,025 ml ερυθρών αιμοσφαιρίων 1% σε κάθε τρυβλίο.

6. Αναμειγνύονται με ελαφρό κτύπημα και τοποθετούνται σε θερμοκρασία 4° C.
- Τα τρυβλία "αναγιγνώσκονται" 30-40 λεπτά αργότερα όταν τα δείγματα αναφοράς έχουν κατασταλάξει. Η ανάγνωση γίνεται με κλίση της πλάκας και παρατήρησης της παρουσίας ή απουσίας δακρυόσχημης ροής υγρού των ερυθροκυττάρων. Τα τρυβλία χωρίς HA πρέπει να ρέουν με τον ίδιο ρυθμό με κύτταρα αναφοράς χωρίς ιό.
8. Ο τίτλος HA είναι η υψηλότερη αραιώση που προκαλεί συγκόλληση των ερυθροκυττάρων. Η αραιώση αυτή μπορεί να θεωρηθεί ότι περιέχει μία μονάδα HA (HAU). Μία ακριβέστερη μέθοδος για τον προσδιορισμό του τίτλου HA είναι να γίνει η δοκιμασία HA σε ιό από στενό εύρος αρχικών αραιώσεων δηλαδή : 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, κλπ. Αυτό συνιστάται για την ακριβή παρασκευή αντιγόνου για δοκιμασίες αναστολής αιμοσυγκόλλησης (Κεφάλαιο 6).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 : Δοκιμασία αναστολής αιμοσυγκόλλησης (HI)

Τα αντιδραστήρια

1. Ρυθμιστικό Διάλυμα Φωσφορικών (PBS).
2. Αλλαντοϊκό υγρό που περιέχει ιό αραιωμένο με PBS ώστε να περιέχει 4 ή 8 HU ανά 0,025 ml.
3. 1% ερυθροκύτταρα κοτόπουλου.
4. Αρνητικός όρος αναφοράς από κοτόπουλο.
5. Θετικός όρος αναφοράς.

Η μέθοδος

1. Τοποθετούνται 0,025 ml PBS σε όλα τα τρυβλία μίας πλαστικής πλάκας μικροτιτλοδότησης (με τρυβλία με πυθμένα σχήματος V).
2. Τοποθετούνται 0,025 ml ορού στο πρώτο τρυβλίο της πλάκας.

3. Χρησιμοποιείται αραιωτικό μικροτιτλοδότησης για διπλές αραιώσεις ορού κατά πλάτος της πλάκας.
4. Προστίθεται 0,025 ml αραιού αλλαντοϊκού υγρού που περιέχει 4 ή 8 ΗU.
5. Γίνεται ανάμειξη με κτύπημα και τοποθετείται η πλάκα στους 4° C επί τουλάχιστον 60 λεπτά ή σε θερμοκρασία δωματίου επί τουλάχιστον 30 λεπτά.
6. Προστίθενται 0,025 ml ερυθροκυττάρων 1% σε όλα τα τρυβλία.
7. Αναμειγνύονται με ελαφρό κτύπημα και τοποθετούνται σε θερμοκρασία 4° C.
8. Τα τρυβλία "αναγιγνώσκονται" 30-40 λεπτά αργότερα όταν τα δείγματα αναφοράς έχουν κατασταλάξει. Η ανάγνωση γίνεται με κλίση της πλάκας και παρατήρηση της παρουσίας ή απουσίας δακρυόσχημης ροής με τον ίδιο ρυθμό όπως στα τρυβλία ελέγχου που περιέχουν ερυθροκύτταρα (0,025 ml) και μόνο PBS (0,05 ml).
9. Ο τίτλος ΗΙ είναι η υψηλότερη αραιώση αντιορού που προκαλεί πλήρη αναστολή 4 ή 8 μονάδων ιού. (Κάθε δοκιμασία πρέπει να περιλαμβάνει μία τιτλοδότηση ΗΑ για την επιβεβαίωση της παρουσίας των απαιτούμενων ΗU).
10. Η εγκυρότητα των αποτελεσμάτων εξαρτάται από τη λήψη τίτλου κάτω του 2³ για 4 ΗU ή 2² για 8 ΗU με τον αρνητικό ορό αναφοράς και τίτλου που να απέχει λιγότερο από μία αραιώση από το γνωστό τίτλο του θετικού όρου αναφοράς.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7 : Δοκιμασία δείκτη ενδοεγκεφαλικής παθογενητικότητας

1. Λοιμογόνο πρόσφατα συλλεγέιν αλλαντοϊκό υγρό (ο τίτλος ΗΑ πρέπει να είναι μεγαλύτερος από 24) αραιώνεται 1:10 σε αποστειρωμένο ισότονο διάλυμα χλωριούχου νατρίου.
2. 0,1 ml του αραιωμένου ιού ενίεται ενδοεγκεφαλικά σε καθένα από 10 ορνίθια (κοτόπουλα) ηλικίας 6 εβδομάδων (πρέπει να χρησιμοποιηθούν πτηνά χωρίς ειδικά παθογόνα).
3. Τα πτηνά εξετάζονται με μεσοδιαστήματα 24 ωρών επί 10 ημέρες.

4. Σε κάθε παρατήρηση κάθε πτηνό βαθμολογείται : 0 = φυσιολογικό· 1 = άρρωστο· 2 = σοβαρά άρρωστο ή 3 = νεκρό.

5. Ο δείκτης υπολογίζεται όπως φαίνεται στο παρακάτω παράδειγμα :

Κλινικές ενδείξεις	Ημέρα μετά τον										Συνολική βαθμολογία	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
Φυσιολογικό	10	2	0	0	0	0	0	0	0	0	12 x 0	= 0
Άρρωστο	0	4	2	0	0	0	0	0	0	0	6 x 1	= 6
Σοβαρά άρρωστο*	0	2	2	2	0	0	0	0	0	0	6 x 2	= 12
Νεκρό	0	2	6	8	10	10	10	10	10	10	76 x 3	= 228
ΣΥΝΟΛΟ											= 246	
Δείκτης = η μέση βαθμολογία ανά πτηνό και ανά παρατήρηση =											$\frac{246}{100} = 2,46$	

* Αυτό θα πρέπει να αποτελεί μια υποκειμενική, κλινική κρίση αλλά κανονικά αυτή η περίπτωση θα πρέπει να περιλαμβάνει πτηνά που εμφανίζουν περισσότερα από ένα από τα κατωτέρω συμπτώματα : αναπνευστικές δυσκολίες, κατάπτωση, διάρροια, εμφάνιση κυάνωσης στις εκτεθειμένες περιοχές του δέρματος ή σαρκώδεις αποφύσεις, οίδημα στην όψη ή το κεφάλι, νευρικά συμπτώματα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8 : ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ ΠΛΑΚΑΣ

1. Συνήθως είναι προτιμότερο να χρησιμοποιείται μία σειρά αραιώσεων ιού ώστε να είναι βέβαιο ότι υπάρχει ο βέλτιστος αριθμός πλακών στην πλάκα δοκιμασίας. Δεκαπλάσιες αραιώσεις μέχρι 10^{-7} σε PBS πρέπει να είναι επαρκείς.
2. Συρρέουσες μονοστοιβάδες κυττάρων εμβρύου κοτόπουλου ή κατάλληλης κυτταρικής σειράς (π.χ. νεφρός βοδιού Madin Darby) παρασκευάζονται σε τρυβλία Petri 5 cm.
3. 0,2 ml κάθε αραιώσης ιού προστίθεται σε καθένα από τα δύο τρυβλία Petri και ο ιός αφήνεται να προσροφηθεί επί 30 λεπτά.
4. Μετά από πλύση τρεις φορές με PBS, τα μολυσμένα κύτταρα επικαλύπτονται με το αντίστοιχο μέσο που περιέχει 1% w/v άγαρ και είτε 0,01 mg/ml θρυψίνη ή καθόλου θρυψίνη. Έχει σημασία να μην προστεθεί ορός στο μέσο επικάλυψης.

5. Μετά από επώαση επί 72 ώρες στους 37° C η πλάκα πρέπει να έχει επαρκές μέγεθος. Παρατηρούνται καλύτερα αφαιρώντας την επικάλυψη άγαρ και χρωματίζοντας την μονοστοιβάδα των κυττάρων με κρυσταλλικό ιώδες (0,5% w/v) σε 25% v/v αιθανόλη.
6. Όλοι οι ιοί πρέπει να δίνουν διαυγείς πλάκες όταν επώζονται παρουσία θρυψίνης στην επικάλυψη. Όταν δεν υπάρχει θρυψίνη στην επικάλυψη μόνο οι ιοί που είναι μολυσματικοί για τα κοτόπουλα θα παράσχουν πλάκες.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9 : Ανοσολογική διπλή διάχυση

Η προτιμώμενη μέθοδος για την επιβεβαίωση της παρουσίας ιού της γρίπης Α είναι να καταδείξουμε την ύπαρξη νουκλεοκασιδίων ή περικλειόμενου υλικού αντιγόνων τα οποία εμφανίζονται σε όλους τους ιούς γρίπης Α. Αυτό συμβαίνει γενικά κατά τη διεξαγωγή δοκιμασιών ανοσολογικής διπλής διάχυσης που περιλαμβάνουν είτε παρασκευάσματα συμπηκνωμένου ιού είτε εκχυλίσματα μολυσμένων χοριοαλλαντοϊκών μεμβράνων.

Κατάλληλα παρασκευάσματα συμπηκνωμένου ιού μπορούν να προέλθουν από απλή φυγοκέντρηση μεγάλης ταχύτητας μολυσμένου αλλαντοϊού υγρού και ρήξη ιού για την αποδέσμευση εσωτερικού νουκλεοκασιδίου και περικλειόμενου υλικού αντιγόνων με επεξεργασία με τη βοήθεια αντιδραστήριου λουρο-σαρκοσινικού νατρίου. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί εξάλλου όξινη καθίζηση με την προσθήκη 1 N HCL στο μολυσμένο αλλαντοϊκό υγρό για να προέλθει ένα τελικό pH 3,5-4,0 δια ψύξεως τουλάχιστον επί μία ώρα σε 0° C και χαμηλής ταχύτητας φυγοκέντρησης σε 1000 g επί 10 λεπτά. Η υπερκείμενη στοιβάδα μπορεί να απομακρυνθεί και το ίζημα που περιέχει ιό να εναιωρηθεί σε ελάχιστο όγκο ρυθμιστικού διαλύματος γλυκίνο-σαρκοσίλης (1% λουρο-σαρκοσινικού νατρίου σταθεροποιείται σε pH 9,0 με 0,5 M γλυκίνης). Αυτά τα παρασκευάσματα περιλαμβάνουν νουκλεοκαψίδια και περικλειόμενο υλικό αντιγόνων.

Ο Beard (1970) περιέγραψε τη λήψη αντιγόνου πλούσιου σε νουκλεοκαψίδια από χοριοαλλαντοϊκές μεμβράνες που προέρχονταν από μολυσμένα αυγά. Η μέθοδος αυτή περιλαμβάνει : αφαίρεση των χοριοαλλαντοϊκών μεμβράνων από μολυσμένα αυγά θετικής αιμοσυγκολλητίνης, άλεση ή ομογενοποίηση των μεμβράνων, κατάψυξη και απόψυξη τρεις φορές και κατόπιν φυγοκέντρηση σε 1000 g επί 10 λεπτά. Το ίζημα απομακρύνεται και η υπερκείμενη στοιβάδα υπόκειται σε επεξεργασία με τη βοήθεια 0,1% φορμαλίνης προκειμένου να χρησιμοποιηθεί ως αντιγόνο.

Αμφότερα τα δύο αυτά αντιγόνα μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε δοκιμασίες ανοσολογικής διπλής διάχυσης με τη χρήση 1% πηκτών αгарόσης ή άγαρ που περιέχουν 8,0% χλωριούχο νάτριο που προστίθεται σε 0,1 Μ διαλύματος φωσφάτων pH 7,2. Η παρουσία ιού γρίπης Α επιβεβαιώνεται με γραμμές καθίζησης που σχηματίζονται από δοκιμασία αντιγόνου και αναγνωρίζεται από θετικό αντιγόνο που είναι αντίθετο σε μια γνωστή θετική συγκόλληση αντιορού και δίνει μια γραμμή ταυτοποίησης.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΤΩΝ ΕΘΝΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ ΓΙΑ ΤΗ ΓΡΙΠΠΗ ΤΩΝ ΟΡΝΙΘΩΝ

- Belgium	Institut National de Recherches Vétérinaires, Groeselenberg 99, B 1180 Bruxelles
- Denmark	National Veterinary Laboratory, Poultry Disease Division, Høngøvej 2 DK 8200 Aarhus N.
- Germany	Institut für Kleintierzucht der Bundesforschungsanstalt für Land- wirtschaft, Braunschweig-Völkenrode, Postfach 280, D 3100 Celle
- France	Centre National d'Etudes Vétérinaires et Alimentation - Laboratoire Central de Recherches Agricoles et Porcines, B.P. 53, F 22440 Ploufragan
- Ireland	Veterinary Research Laboratory, Abbotstown, Castleknock, Dublin 15
- Italy	Istituto Patologie Aviare, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Napoli, Via Aniello Falcone 394, I 80127 Napoli F Delpino 1
- Luxembourg	Institut National de Recherches Vétérinaires, Groeselenberg 99, B 1180 Bruxelles
- Netherlands	Centraal Diergeneeskundig Instituut, Vestiging Virologie, Hourtibweg 39, NL 8221 RA Lelystad
- Portugal	Laboratório Nacional de Investigação Veterinária (LNIV), Estrada de Benfica 701, 1500 Lisboa
- United Kingdom	Central Veterinary Laboratory, New Haw, Weybridge, GB-Surrey KT15 3 NB

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙΙ

ΟΝΟΜΑΣΙΑ ΤΟΥ ΚΟΙΝΟΤΙΚΟΥ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΓΙΑ ΤΗ ΓΡΙΠΠΗ ΤΩΝ ΟΡΝΙΘΩΝ

Central Veterinary Laboratory
New Haw
Weybridge
Surrey KT15 3 NB
UNITED KINGDOM

ISSN 0254-1483

COM(91) 304 τελικό

ΕΓΓΡΑΦΑ

GR

03

Αριθ. καταλόγου : CB-CO-91-344-GR-C

ISBN 92-77-74816-8
