

Euroopan unionin virallinen lehti

L 237

49. vuosikerta

Suomenkielinen laitos

Lainsäädäntö

31. elokuuta 2006

Sisältö

I Säädökset, jotka on julkaistava

.....

II Säädökset, joita ei tarvitse julkaista

Komissio

2006/437/EY:

- ★ **Komission päätös, tehty 4 päivänä elokuuta 2006, neuvoston direktiivissä 2005/94/EY säädetyn lintuinfluenssaa koskevan taudinmäärityskäsikirjan hyväksymisestä** (tiedoksiannettu numerolla K(2006) 3477) ⁽¹⁾ 1

(¹) ETA:n kannalta merkityksellinen teksti.

II

(Säädökset, joita ei tarvitse julkaista)

KOMISSIO

KOMISSION PÄÄTÖS,
tehty 4 päivänä elokuuta 2006,
neuvoston direktiivissä 2005/94/EY säädetyntä lintuinfluenssaa koskevan taudinmäärityskäsikirjan
hyväksymisestä

(tiedoksiannettu numerolla K(2006) 3477)

(ETA:n kannalta merkityksellinen teksti)

(2006/437/EY)

EUROOPAN YHTEISÖJEN KOMISSIO, joka

ottaa huomioon yhteisön toimenpiteistä lintuinfluenssan torjumiseksi ja direktiivin 92/40/ETY kumoamisesta 20 päivänä joulukuuta 2005 annetun neuvoston direktiivin 2005/94/EY⁽¹⁾ ja erityisesti sen 50 artiklan 1 kohdan toisen alakohdan,

sekä katsoo seuraavaa:

(1) Direktiivissä 2005/94/EY säädetään tietyistä ennalta ehkäisevistä toimenpiteistä lintuinfluenssan valvonnan ja varhaisen toteamisen osalta sekä myös sellaisista torjuntaa koskevista vähimmäistoimenpiteistä, joita on toteutettava, jos tätä tautia ilmenee siipikarjassa ja muissa vankeudessa pidetyissä linnuissa.

(2) On tarpeen säätää yhteisön tasolla diagnostisista menetelyistä, näytteenottomenetelmistä ja laboratoriotestien tulosten arviointikriteereistä lintuinfluenssan tautipesäkkeen vahvistamiseksi.

(3) Direktiivin 2005/94/EY liitteessä VII säädetään yhteisön lintuinfluenssan vertailulaboratorion toimista ja tehtävistä yhteensovittaa yhteistyössä komission kanssa jäsenvaltioissa käytettäviä menetelmiä tämän taudin diagnoosinnissa. Näihin toimiin ja tehtäviin kuuluu säännöllisten vertailutestausten järjestäminen ja standardireagenssien toimitus yhteisön tasolla.

(4) Viime aikoina on kehitetty laboratoriotestejä, joilla varmistetaan lintuinfluenssan nopea diagnoosi.

(5) Lintuinfluenssan torjunnasta viime vuosina saatujen kokemusten ansiosta on voitu määritellä sopivimmat näytteenottomenetelmät ja laboratoriotestien tulosten arviointikriteerit tämän taudin oikean diagnoosin tekemiseksi eri tilanteissa.

(6) Tässä päätöksessä säädetyt toimenpiteet ovat elintarvikeketjua ja eläinten terveyttä käsittelevän pysyvän komitean lausunnon mukaiset,

ON TEHNYT TÄMÄN PÄÄTÖKSEN:

1 artikla

Hyväksytään direktiivissä 2005/94/EY säädetty ja tämän päätöksen liitteessä esitetty taudinmäärityskäsikirja.

2 artikla

Jäsenvaltioiden on sovellettava taudinmäärityskäsikirjaa siitä päivästä, jona ne saattavat direktiivin 2005/94/EY osaksi kansallista lainsäädäntöä, tai 1 päivästä heinäkuuta 2007 sen mukaan, kumpi päivämäärästä on aikaisempi.

⁽¹⁾ EUVL L 10, 14.1.2006, s. 16.

3 artikla

Tämä päätös on osoitettu kaikille jäsenvaltioille.

Tehty Brysselissä 4 päivänä elokuuta 2006.

Komission puolesta
Markos KYPRIANOU
Komission jäsen

LIITE

LINTUINFLUENSSSAA KOSKEVA TAUDINMÄÄRITYSKÄSIKIRJA

I LUKU

Johdanto, tavoitteet ja määritelmät

1. Lintuinfluenssan diagnosointimenettelyjen yhdenmukaisuuden varmistamiseksi yhteisössä tässä taudinmäärityskäsikirjassa esitetään
 - a) diagnostisia menettelyjä, näytteenottomenetelmiä ja laboratoriotestien tulosten arviointikriteereitä koskevat ohjeet ja vähimmäisvaatimukset lintuinfluenssan asianmukaiseksi määrittämiseksi;
 - b) lintuinfluenssan taudinmäärityksessä käytettävät laboratoriotestit sekä lintuinfluenssaviruksen kantojen geneettisen tyyppin tunnistamiseksi käytettävät laboratoriotekniikat;
 - c) bioturvallisuuden vähimmäisvaatimukset sekä laatuvaatimukset, joita on noudatettava taudinmäärityksiä tekevissä laboratorioissa ja näytteitä kuljettaessa.
2. Tämä taudinmäärityskäsikirja on osoitettu lintuinfluenssan torjunnasta vastaaville viranomaisille. Käsikirjassa käsitellään tämän vuoksi lähinnä laboratoriotestien periaatteita ja soveltamista ja niiden tulosten arviointia sekä laboratoriotekniikoita.
3. Tässä käsikirjassa käytetään direktiivin 2005/94/EY 2 artiklassa tarkoitettujen määritelmien lisäksi seuraavaa määritelmää:

"diagnostinen näyte" tarkoittaa mitä tahansa eläinmateriaalia, diagnoosi- tai tutkimustarkoituksiin kuljetettava kokonainen ruho mukaan luettuna, lukuun ottamatta eläviä tartunnan saaneita eläimiä.
4. Lintuinfluenssan vahvistamisen siipikarjassa ja muissa vankeudessa pidetyissä linnuissa on tapahduttava tässä taudinmäärityskäsikirjassa esitettyjen menettelyiden, näytteenottomenetelmien ja laboratoriotestien tulosten arviointikriteerien mukaisesti ja perustuttava yhteen tai useampaan a, b ja c alakohdassa mainittuun kriteeriin:
 - a) tarttuvan viruksen, antigeenin tai spesifisen geneettisen materiaalin toteaminen siipikarjan tai muiden lintujen kudus-, elin-, veri- tai eritenäytteistä;
 - b) kliinisten oireiden ja kuolleissa linnuissa havaittujen muutosten toteaminen;
 - c) spesifisen vasta-ainereaktion osoittaminen kyseisten lintujen verinäytteissä.
5. Nisäkkään saaman lintuperäisen influenssa A -viruksen aiheuttaman tartunnan — kyseessä voi olla joko korkeapatogeeninen virus tai alatyyppejä H5 tai H7 oleva matalapatogeeninen virus — vahvistamisen on perustuttava yhteen tai useampaan a tai b alakohdassa mainittuun kriteeriin:
 - a) lintuinfluenssaa aiheuttavan tarttuvan viruksen, antigeenin tai spesifisen geneettisen materiaalin toteaminen nisäkkäistä otetuista kudus-, elin-, veri- tai eritenäytteistä;
 - b) lintuinfluenssalle ominaisen vasta-ainereaktion osoittaminen nisäkkäiden verinäytteissä.
6. Menettelyiden, näytteenottomenetelmien ja laboratoriotestien tulosten arviointikriteerien
 - a) on oltava taudinmäärityskäsikirjassa esitettyjä; tai
 - b) on oltava toimivaltaisen viranomaisen hyväksymiä sillä edellytyksellä, että
 - i) hyväksytyjen laboratoriotestien herkkyys ja spesifisyys on osoitettu vertailutestillä, jonka yhteisön lintuinfluenssan vertailulaboratorio ("yhteisön vertailulaboratorio") on järjestänyt; tai
 - ii) jos yhteisön vertailulaboratorio ei ole järjestänyt tällaista arviointia jonkin tietyn tyyppisen laboratoriotestin osalta, hyväksytyjen laboratoriotestien herkkyys ja spesifisyys on validoitu kansallisessa vertailulaboratoriossa ja laboratoriotestin on katsottu soveltuvan tarkoitukseensa; validoinnin tulokset on toimitettava yhteisön vertailulaboratoriolle tarkasteltaviksi.

II LUKU

Lintuinfluenssan kuvaus ja erotusdiagnostiikka taudinmäärityksessä**1. Etiologia ja virulenssi**

Lintuinfluenssa on herkästi tarttuva virustauti, jota aiheuttavat *ortomyksovirusten* heimoon, influenssa A -virusten sukuun kuuluvat virukset. Influenssa A -virukset ovat ainoita ortomyksovirusia, joiden tiedetään tarttuvan lintuihin. Useiden lintulajien on osoitettu olevan alttiita influenssa A -virustartunnalle: vesilinnut ovat tällaisten virusten merkittävä reservoaari, mutta ylivoimaisesti suurin osa kanoista ja kalkkunoista löydetystä kannoista on ollut matalapatogeenistä tyyppiä — nämä linnut ovat tautiin sairastuneista lajeista taloudellisesti merkittävimpiä.

Influenssa A -virusten nukleoproteiiniantigeenit ja matriksi proteiiniantigeenit muistuttavat toisiaan, mutta virukset jaetaan kuitenkin alatyyppeihin sen perusteella, kuinka paljon pinta glykoproteiinien eli hemagglutiniinin (HA) ja neuraminidaasin (NA) antigeeniominaisuudet ovat samanlaisia. Nykyään tunnetaan 16 HA-alatyyppiä (H1–H16) ja 9 NA-alatyyppiä (N1–N9). Kullakin A-tyypin influenssaviruksella on yksi HA- ja yksi NA-antigeeni, jotka voivat esiintyä ilmeisesti millaisena yhdistelmänä tahansa.

Influenssa A -virukset jaetaan kahteen ryhmään sen mukaan, miten ne pystyvät aiheuttamaan sairautta virukselle alttiissa siipikarjassa:

- a) **korkeapatogeenistä lintuinfluenssaa (HPAI)** aiheuttavat virukset voivat aiheuttaa erittäin vakavan sairauden, jolle on luonteenomaista yleisinfektio tartunnan saaneessa siipikarjassa, mistä voi olla seurauksena erittäin korkea kuolleisuus parvessa (jopa 100 prosenttia); ja
- b) **matalapatogeenistä lintuinfluenssaa (LPAI)** aiheuttavat virukset aiheuttavat lievän, ensisijaisesti hengityselimiin paikantuvan sairauden siipikarjassa, elleivät muut yhtäaikaisesti esiintyvät tartunnat tai tekijät pahenna tilannetta.

Luonnonvaraisilla linnuilla, erityisesti muuttavilla vesilinnuilla, on erittäin suuri merkitys A-tyypin influenssaviruksen reservoaarina, mikä ilmenee siitä, että luonnonvaraisista linnuista on eristetty lähes kaikki mahdolliset HA- ja NA-alatyyppien yhdistelmät. Ellei HPAI-virusta ole levinnyt tartunnan saaneesta siipikarjasta, luonnonvaraisissa linnuissa tavataan yleensä vain LPAI-virusia.

Primaari-infektio siipikarjatiloihin johtuu todennäköisimmin suorasta tai välillisestä kosketuksesta luonnonvaraisiin lintuihin.

Luonnollisesta reservoaarista peräisin olevat LPAI-virukset saattavat levitä siipikarjan keskuudessa ilman, että niitä havaitaan, koska kliiniset oireet ovat usein lieviä tai niitä ei esiinny lainkaan.

Kun alatyyppiä H5 ja H7 olevat LPAI-viruskannat ovat kulkeutuneet siipikarjaan, ne saattavat muuntaa HPAI-kannoiksi. Tähän mennessä ainoastaan alatyyppiä H5 ja H7 olevien virusten on osoitettu aiheuttavan korkeapatogeenistä lintuinfluenssaa.

Vaikka useat eri mekanismit näyttävät aiheuttavan LPAI-viruksen muuntumista HPAI-virukseksi, muuntumisen aiheuttavien tekijöitä ei tunneta. Joissakin tapauksissa muuntuminen näyttää tapahtuneen nopeasti primaaritartunta-paikalla sen jälkeen, kun virus on kulkeutunut sinne luonnonvaraisista linnuista, mutta toisissa tapauksissa LPAI-virus on levinnyt siipikarjan keskuudessa kuukausia ennen muuntumista. Näin ollen on mahdotonta ennustaa, tapahtuuko muuntumista ja milloin se tapahtuu. Voidaan kuitenkin kohtuudella olettaa, että mitä laajemmalle LPAI-virus leviää siipikarjassa, sitä suuremmalla todennäköisyydellä se myös muuntuu HPAI-virukseksi.

Itämisaiakaa on vaikea arvioida, ja se todennäköisesti vaihtelee viruskannan ja isännän mukaan; yleensä itämisajaksi kuitenkin mainitaan viisi tai kuusi vuorokautta, mutta yksittäisten lintujen kohdalla se vaihtelee todennäköisesti muutamasta tunnista noin seitsemään vuorokauteen.

2. HPAI-viruksen saaneiden lintujen kliiniset oireet

Kliiniset oireet vaihtelevat suuresti, ja niihin vaikuttavat erilaiset tekijät, kuten tartunnan aiheuttavan viruksen virulenssi, altistunut lintulaji, ikä, sukupuoli, muut samanaikaisesti esiintyvät sairaudet ja ympäristöolosuhteet.

Varhaisiin oireisiin saattaa kuulua ruokahaluttomuutta, vedenkulutuksen vähentymistä ja suhteellisen alhaista kuolleisuutta. Toisaalta tauti saattaa ilmetä parvessa äkillisesti, ja useat linnut saattavat kuolla joko ilman kuolemaa edeltäviä oireita tai niillä saattaa esiintyä vähäisessä määrin apaattisuutta, ruokahaluttomuutta, sulkien pörröttymistä ja kuumetta. Yleensä mitä pidempään linnut selviävät hengissä, sitä ilmeisemmiksi kliiniset oireet käyvät. Oireiden kehittymiseen kuluva aika riippuu viruksesta, isäntäeläimestä ja alkuperäisestä tartunta-annoksesta sekä käytössä olevasta kotieläintuotannon tyypistä. Virus leviää hitaammin häkkikanojen tai ulkona pidettävien lintujen keskuudessa kuin broileritiloilla.

HPAI-viruksen saaneet kanat saattavat ensin munia pehmytkuoriaisia munia mutta lopettavat pian muninnan kokonaan. Sairaot linnut usein istuvat tai seisovat puolitajuttomassa tilassa pää lattiaa koskien. Harja ja helta sinertävät ja turpoavat, ja niiden kärjessä saattaa olla pistemäisiä verenpurkauksia tai mustelmia. Vedensekaista ripulia esiintyy usein ja runsaasti, ja linnut ovat erittäin janoisia. Hengitys voi olla vaivalloista, ja linnuilla voi näkyä ylenmääräistä kyyneleritystä. Verenvuotoa voi näkyä ihon höyhenettömillä alueilla. Kuolleisuus parvessa vaihtelee 50:stä 100 prosenttiin.

Broilereilla HPAI-tartunnan oireet ovat usein vähemmän ilmeiset kuin muussa siipikarjassa, ja näihin oireisiin kuuluvat usein vakava apaattisuus ja ruokahaluttomuus; kuolleisuuden erittäin merkittävä lisääntyminen saattaa olla ensimmäisenä havaittu poikkeama tavanomaisesta. Lisäksi saatetaan havaita naaman ja kaulan turvotusta ja neurologisia oireita, kuten vinokaulaisuutta tai ataksiaa.

HPAI ilmenee kalkkunoilla samanlaisena kuin siipikarjalla, mutta jotkin HPAI-virukset vaikuttavat olevan kalkkunoille virulentimpia ja toiset taas vähemmän virulentimpia.

HPAI-viruksen saaneilla hanhilla apaattisuuden, ruokahaluttomuuden ja ripulin oireet ovat samanlaiset kuin munivilla kanoilla, mutta niillä esiintyy usein myös onteloiden turpoamista. Nuorissa linnuissa saattaa näkyä neurologisia oireita.

HPAI-viruksen saaneilla ankoilla ei välttämättä ilmene kliinisiä oireita, mutta joidenkin kantojen on raportoitu aiheuttavan hanhilla ilmeneviä oireita vastaavia oireita ja jonkin verran kuolleisuutta.

Strutsien saatua HPAI- tai LPAI-tartunnan niillä ei välttämättä ilmene kliinisiä oireita. Korkeapatogeenisen lintuinfluenssan taudinpurkauksissa, kuten Italiassa vuosina 1999–2000 ilmenneessä taudinpurkauksessa, helmikanojen ja japaninviiiriäisten raportoitiin olevan alttiita tartunnoille ja niiden oireiden ja kuolleisuuden ilmoitettiin muistuttavan kanoissa tai kalkkunoissa ilmenevän taudin oireita ja kuolleisuutta. Joissakin kokeellisissa tutkimuksissa viiriäisten on kuitenkin raportoitu olevan vastustuskykyisiä joillekin HPAI-kannoille. Saman H-alatyypin vasta-aineiden esiintyminen — joko rokotuksen tai luonnollisen infektion seurauksena — saattaa kaikilla linnuilla tarkoittaa, että HPAI-viruksen aiheuttama tartunta ei johda näkyviin kliinisiin oireisiin.

3. Muutokset HPAI-virukseen kuolleissa linnuissa

Tautiin äkillisesti kuolleissa linnuissa saattaa olla vähäisiä paljain silmin näkyviä muutoksia, jotka johtuvat kuivumisesta sekä sisäelinten ja lihasten verentungoksesta.

Linnuissa, jotka kuolevat pitkällisen sairauden jälkeen, esiintyy pistemäisiä verenpurkauksia ja mustelmia kautta kehon, erityisesti kurkunpäässä, henkitorvessa, rauhasmahassa ja sydäntä ympäröivässä rasvassa sekä rintalastaa lähellä olevilla herakalvoilla. Ihonalaista pöhöä esiintyy laajalti, erityisesti pään ja kinnernivelten ympärillä. Ruho voi olla kuivunut. Pernassa, maksassa, munuaisissa ja keuhkoissa saattaa olla keltaisia tai harmaita kuolioituneita pesäkkeitä. Ilmapussi voi sisältää tulehdusnestettä. Perna voi olla laajentunut, ja siinä voi olla verenpurkauksia.

Lintuinfluenssalle on histologisesti luonteenomaista verenkiertohäiriöt, jotka aiheuttavat turvotusta, verenvuotoja ja verisuonia ympäröivän tulehdussolureaktion erityisesti sydänlihaksessa, pernassa, keuhkoissa, aivoissa, haimassa ja heltassa. Keuhkoissa, maksassa ja munuaisissa on kuolioituneita pesäkkeitä. Aivoissa saattaa esiintyä gliosia, verisuonittumista ja hermoston rappeutumista.

4. Erotusdiagnosi

Korkeapatogeenisen lintuinfluenssan erotusdiagnosissa on erityisesti otettava huomioon seuraavat sairaudet:

- a) muut äkillistä suurta kuolleisuutta aiheuttavat sairaudet, kuten
 - i) Newcastlen tauti;
 - ii) tarttuva laryngotrakeiitti (ILT, infectious laryngotracheitis);

- iii) ankkujen virusripuli (duck plague);
- iv) akuutit myrkytykset;
- b) muut harjan ja heltan turpoamista aiheuttavat sairaudet, kuten
 - i) akuutti lintukolera ja muut septikemiset sairaudet;
 - ii) harjan ja heltan bakteeriperäinen selluliitti.

5. LPAI-viruksen saaneiden lintujen kliiniset oireet

LPAI-virusten aiheuttaman taudin vakavuuteen vaikuttavat suuresti seuraavat tekijät:

- a) viruskanta;
- b) isäntäeläimen laji ja ikä;
- c) isännän immuuniteetti virusta vastaan ja erityisesti muiden tartunnanaiheuttajien esiintyminen, esimerkkeinä:
 - i) *Pasteurella* spp.;
 - ii) Newcastlelta tautia aiheuttava virus (myös rokotekannat);
 - iii) lintujen pneumovirus (APV), tarttuvaa bronkiittia (IB:tä) aiheuttava virus;
 - iv) *E. coli*;
 - v) *Mycoplasma* spp.;
- d) immuunivajavuus;
- e) ympäristötekijät (kuten liian paljon ammoniakkia tai pölyä tai liian kuuma tai kylmä lämpötila).

Taudin näkyvät kliiniset oireet saattavat olla huomaamattomia tai vähäisiä, ja tauti saattaa aiheuttaa vain lieviä hengityselinoireita tai munivilla linnuilla vaikeuksia munantuotannossa. Toisaalta LPAI-virustartuntaan voi liittyä taudin vakavia kliinisiä oireita erityisesti kalkkunoilla; näihin oireisiin kuuluvat tavallisesti rahina, yskiminen, turvotus silmäkuopan alaisissa onteloissa ja kuumetila, johon liittyy ruokahaluttomuutta ja korkeaa kuolleisuutta.

LPAI voidaan sekoittaa useisiin sairauksiin, joihin liittyy hengityselin- tai suolisto-oireita, tai ne saattavat pahentaa sitä. Lintuinfluenssaa on epäiltävä aina, kun siipikarjassa puhkeaa sitkeä sairaus, joka ei laannu huolimatta siitä, että sovelletaan muita sairauksia koskevia ehkäisy- ja hoitotoimenpiteitä.

6. Kliiniset oireet vankeudessa pidetyissä linnuissa

Kliinisten oireiden kirjo voi olla hyvin laaja, ja kuten siipikarjan kohdalla, oireet voivat vaihdella huomaamattomista vakaviin oireisiin, joista on seurauksena korkea kuolleisuus.

Yleisesti ottaen tartunta leviää hitaammin vankeudessa pidetyissä eri lajeista muodostuvissa lintuyhteisöissä; tähän vaikuttaa lajien moninaisuus, eri lajien erilainen alttius, viruksen erittämisen vaihtelevuus ja usein suhteellisen hidas tartunta, mikä johtuu lintujen vähäisestä kosketuksesta toisiinsa ja suhteellisen alhaisesta eläintihyeydestä.

III LUKU

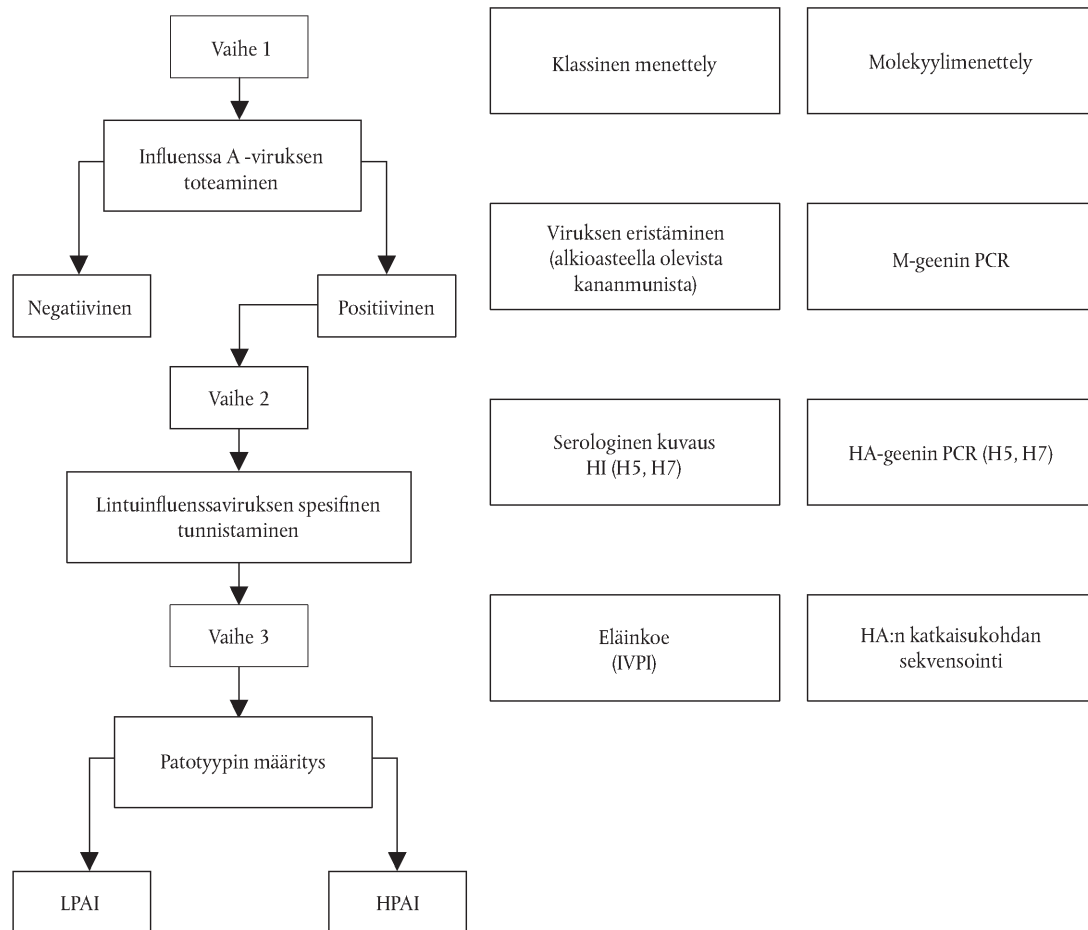
Ohjeet, jotka on otettava huomioon epäiltäessä lintuinfluenssaa tilalla

Koska HPAI:n ja LPAI:n kliiniset oireet ovat niin moninaiset, ei voida antaa yksiselitteisiä ohjeita tautipesäketä epäiltäessä. Siipikarjan äkillinen korkea kuolleisuus, johon saattaa liittyä joitakin II luvussa kuvattuja kliinisiä oireita, on tutkittava toimittamalla näytteitä laboratorioon tutkittaviksi, mutta mikäli korkea kuolleisuus ei esiinny, lintuinfluenssan esiintymistä on vaikeampi epäillä tai sulkea pois.

Koska alatyypin H5 ja H7 aiheuttaman HPAI:n tai LPAI:n nopea taudinmääritys on ensisijaisen tärkeää näiden tautien saamiseksi varhaisessa vaiheessa hallintaan ja niiden hävittämiseksi, lintuinfluenssa on aina otettava huomioon tehtäessä erotusdiagnosi siipikarjalla ilmenevien hengitysvaikeuksien, munantuotanto-ongelmien ja lisääntyneen kuolleisuuden takia, ja asianmukaiset näytteet on toimitettava laboratorioon tutkittaviksi.

Kuva

Kaaviokuva lintuinfluenssan vahvistamiseksi tehtävän diagnoosin eri vaiheista



IV LUKU

Yleiset menettelyt näytteenottoa ja näytteiden kuljetusta varten

1. Direktiivi 2005/94/EY ja taudinmäärityskäsikirja

Kun direktiivissä 2005/94/EY viitataan taudinmäärityskäsikirjaan, on toteutettava taudinmäärityskäsikirjan tässä luvussa esitetyt tutkimukset sekä näytteenotto- ja valvontamenettelyt:

2. Menettelyt epäiltäessä lintuinfluenssan tautipesäketä

Jos virkaeläinlääkärillä on kliininen epäily lintuinfluenssan tautipesäkkeestä tai jos jonkin tätä tautia koskevan laboratoriotestin tulokset eivät ole negatiiviset, toimivaltaisen viranomaisen on varmistettava, että taudinmäärityskäsikirjan tässä luvussa esitetty tutkimus toteutetaan direktiivin 2005/94/EY 7 artiklan mukaisesti ja saadaan tyydyttävästi päätökseen, ennen kuin taudin esiintyminen suljetaan pois.

3. Virologisten testien tulkinta

Toimivaltainen viranomainen voi katsoa, että lintuinfluenssaviruksen esiintyminen voidaan sulkea pois, kun on toimitettu asianmukainen määrä sairastuneita tai kuolleita lintuja ja henkitorvesta/nielusta tai yhteissuolesta otettuja pyyhkäisynäytteitä tämän luvun mukaisesti kyseisen viruksen tai sen genomin toteamiseksi ja kun näytteistä on saatu negatiiviset tulokset tutkimuksissa, jossa on käytetty jotakin V tai VI luvussa tarkoitettua erikseen määriteltä viruksen toteamismenetelmää tai toimivaltaisen viranomaisen I luvun 6 kohdan b alakohdan mukaisesti hyväksymää menetelmää.

4. Vakionäytteet virologisia tai serologisia laboratoriotestejä varten

Tutkittaessa tilaa, jolla epäillään lintuinfluenssatartuntaa, on otettava a ja b alakohdassa tarkoitettut vakionäytteet virologista tai serologista tutkimusta varten ("vakionäytteet") ja toimitettava ne suoraan virologisiin ja serologisiin laboratoriotesteihin.

a) Virologisten testien vakionäytteitä ovat seuraavat:

- i) vähintään viisi sairastunutta/kuollutta lintua, jos niitä on; ja/tai
- ii) vähintään 20 henkitorvesta/nielusta otettua pyyhkäisynäytettä ja 20 yhteissuolesta otettua pyyhkäisynäytettä.

Ruhojen on oltava sellaisten lintujen ruhoja, jotka ovat kuolleet vastikään tai jotka ovat olleet vakavasti sairaita tai kuolemaisillaan ja jotka on lopetettu kivuttomasti.

Pyyhkäisynäytteet on otettava a alakohdassa tarkoitettua määräästä lintuja tai kaikista tartuntaepäilyn kohteena olevalla tilalla olevista linnuista, jos sillä on vähemmän lintuja. Näytteenotto on kohdistettava lintuihin, joilla on havaittavissa taudin kliinisiä oireita.

Yhteissuolesta otettavien pyyhkäisynäytteiden on oltava ulosteen peitossa (optimaalisesti 1 g). Jos jostakin syystä ei ole käytännöllistä ottaa yhteissuolesta otettavia pyyhkäisynäytteitä eläviltä linnuilta, vaihtoehtona voidaan käyttää huolellisesti kerättyjä tuoreita ulostenäytteitä.

Usein on käytännöllisempää kerätä henkitorvesta/nielusta otettavat pyyhkäisynäytteet suun limakalvolta.

Heti kun viruksen kasvuominaisuudet ovat tiedossa, toimivaltainen viranomainen voi päättää valita pyyhkäisynäytteet otettaviksi joko henkitorvesta/nielusta tai yhteissuolesta molempien keräämisen sijasta sen mukaan, lisääntykö virus paremmin hengitysteissä vai ruoansulatuskanavassa, ja ottaen huomioon myös kyseisen lajin.

b) Serologisen testauksen vakionäytteinä otetaan vähintään 20 verinäytettä.

Näytteet on otettava b alakohdassa tarkoitettua määräästä lintuja tai kaikista tilalla olevista linnuista, jos sillä on vähemmän lintuja. Näytteenotto on kohdistettava lintuihin, jotka näyttävät olevan sairaita tai jotka ovat ilmeisesti toipuneet sairaudesta.

Toimivaltainen viranomainen voi päättää, ettei tarvitse ottaa kaikkia vakionäytteitä vaan vain osa niistä.

5. Näytteiden kuljetus

Varastoitaessa näytteitä ja kuljettaessa niitä laboratorioon testattaviksi on oltava erityisen huolellinen.

Pyyhkäisynäytteet on jäädytettävä jäällä tai jäädytetyillä geelipakkauksilla ja toimitettava laboratorioon mahdollisimman nopeasti. Näytteitä ei saa jäädyttää ellei se ole aivan välttämätöntä. Jos nopeaa kuljetusta laboratorioon 24 tunnin kuluessa ei voida taata, näytteet on välittömästi jäädytettävä, varastoitava ja kuljetettava tämän jälkeen kuivajäissä.

Jäädyttämisen lisäksi (ei sen vaihtoehtona) näytteet on upotettava kokonaan antibiootteja sisältävään kuljetusliuokseen tai erityiseen virusten kuljetukseen tarkoitettuun elatusaineeseen, jonka lämpötila on 4 °C. Jos tällaista elatusainetta ei ole käytettävissä, pyyhkäisynäytepuikot on palautettava koteloonsa ja toimitettava kuivina laboratorioon testattaviksi.

Useat eri tekijät voivat vaikuttaa näytteiden varastointiin ja kuljetukseen, joten valitun kuljetusmenetelmän on oltava tarkoitukseensa sopiva.

6. Antibiootteja sisältävä elatusaine

Edellä 5 kohdassa tarkoitettuna antibiootteja sisältävänä elatusaineena on pohjauduttava fosfaattipuskuroituun suola-liuokseen, jonka pH on 7,0—7,4 (tarkistetaan antibioottien lisäämisen jälkeen).

Proteiinipohjaiset elatusaineet, kuten Brain Heart Infusion -liemi tai tris-puskuroitu tryptosiliemi, voivat lisätä viruksen stabiiliteettia erityisesti kuljetuksen aikana. Käytettyjä antibiootteja ja niiden pitoisuuksia voidaan vaihdella paikallisiin oloihin sopiviksi ja saatavuuden mukaan.

Antibiootteja saatetaan tarvita suurina pitoisuuksina otettaessa ulostenäytteitä, ja asianmukaiset pitoisuudet ovat seuraavat: 10 000 IU/ml penisilliiniä, 10 mg/ml streptomysiiniä, 0,25 mg/ml gentamysiiniä ja 5 000 IU/ml nystatiiniä. Näitä pitoisuuksia voidaan pienentää jopa viidesosaan, kun on kyse kudoksista ja henkitorvesta otetuista pyyhkäisyinäytteistä.

Jos halutaan kontrolloida *Chlamyphila*-bakteeria, on lisättävä 0,05–0,1 mg/ml oksitetrazykliiniä.

7. Brain Heart Infusion -elatusaine

Liuos on valmistettava veteen, ja sen on sisällettävä 15 % w/v Brain Heart Infusion -liemijauhetta, ennen steriloimista (autoklaavikäsittely 121 °C:ssa 15 minuutin ajan).

Steriloinnin jälkeen antibiootteja on lisättävä seuraavasti: 10 000 IU/ml G-penisilliiniä, 20 µg amfoterisiini B:tä ja 1 000 µg/ml gentamysiiniä. Elatusaineet voidaan varastoida 4 °C:ssa enintään kahden kuukauden ajan.

8. Toteutettavat menettelyt direktiivin 2005/94/EY asiaan liittyvien säännösten osalta

8.A Epäillyt tautipesäkkeet

8.1. 7 artiklan 1 kohta — Sovellettavat toimenpiteet tiloilla, joilla epäillään tautipesäkettä

Virkaeläinlääkärin tutkiessa tilaa, jolla epäillään tautipesäkettä, on toteutettava seuraavat toimenpiteet:

- On tarkistettava tilan tuotanto- ja terveyskirjanpito, jos sellainen on olemassa. Virkaeläinlääkärin on dokumentoitava tarkastusraporttiinsa päivittäistä kuolleisuutta koskevat tiedot ja päivittäiset tiedot munantuotannosta sekä rehun- ja/tai vedenkulutuksesta ajanjaksolla, joka alkaa yhtä viikkoa ennen lintuinfluenssan kliinisten oireiden alkamispäivää ja päättyy päivään, jona virkaeläinlääkäri tutkii tilan.
- Kukin tuotantoyksikkö on tarkastettava, mukaan lukien arviointi parven terveystilasta sekä siipikarjan tai muiden vankeudessa pidettyjen lintujen (erityisesti niiden, jotka näyttävät sairailta) kliiniset tutkimukset.
- Jos tautipesäke-epäily ei toimivaltaisen viranomaisen mielestä voida sulkea pois a ja b alakohdan mukaisesti tehdyn tarkastuksen perusteella, jokaisesta tuotantoyksiköstä on otettava vakionäytteet.
- Riippumatta vakionäytteiden tutkimuksissa saaduista negatiivisista tuloksista — ja paikalliset olosuhteet huomioon ottaen — jokaisessa tuotantoyksikössä oleva siipikarja on tutkittava kliinisesti, ennen kuin virallisesta valvonnasta voidaan luopua.

8.2. 10 artiklan 3 kohta — Epidemiologiseen selvitykseen perustuvat lisätoimenpiteet

Vakionäytteet on otettava lopetetusta siipikarjaan kuuluvista tai muista vankeudessa pidetyistä linnuista jokaisessa tuotantoyksikössä.

8.B. Korkeapatogeeninen lintuinfluenssa (HPAI)

8.3. 11 artiklan 4 kohta — Sovellettavat toimenpiteet sellaisen siipikarjan osalta, joka on haudottu sellaisilta tiloilta kerätyistä munista, joilla on vahvistettu tautipesäke

Virkaeläinlääkärin tutkiessa tilaa, jolla on siipikarjaa, joka on jo haudottu munista, jotka on kerätty itämisajan aikana tilalla, jolla HPAI-tartunta on vahvistettu, on toteutettava seuraavat toimenpiteet:

- On tarkistettava tilan tuotanto- ja terveyskirjanpito. Virkaeläinlääkärin on dokumentoitava tilaa koskevaan tarkastusraporttiinsa saatavilla olevat päivittäistä kuolleisuutta koskevat tiedot sekä päivittäiset tiedot rehun- ja/tai vedenkulutuksesta ajanjaksolla, joka alkaa yhtä viikkoa ennen HPAI:n kliinisten oireiden alkamispäivää ja päättyy päivään, jona virkaeläinlääkäri tutkii tilan.

- b) Kukin tuotantoyksikkö on tarkastettava sekä tutkittava siipikarja kliinisesti; tämä koskee erityisesti niitä lintuja, jotka näyttävät sairailta tai eivät kasva odotusten mukaisesti.
- c) Vakionäytteet on otettava 2–3 viikon ikäisestä siipikarjasta.
- d) Tila voidaan vapauttaa virallisesta valvonnasta sitten, kun yli 21 päivän ikäinen siipikarja on tutkittu kliinisesti ja vakionäytteiden tutkimuksissa on saatu negatiiviset tulokset.

8.4. 13 artiklan 2 kohdan b alakohta — Tiettyjä tiloja koskevat poikkeukset

Virkaeläinlääkärin tutkiessa tilaa, jolle on myönnetty poikkeus direktiivin 2005/94/EY 11 artiklan 2 kohdan ensimmäisessä alakohdassa säädettyistä toimenpiteistä, on toteutettava seuraavat toimenpiteet:

- a) On tarkistettava tilan tuotanto- ja terveyskirjanpito, jos sellainen on olemassa.
- b) Kukin tuotantoyksikkö on tarkastettava, mukaan lukien arviointi parven terveystilasta sekä siipikarjan tai muiden vankeudessa pidettyjen lintujen (erityisesti niiden, jotka näyttävät sairailta) kliiniset tutkimukset.
- c) Vakionäytteiden sijasta laboratoriotestausta varten on otettava seuraavat näytteet 21 päivää sen päivän jälkeen, jona viimeinen positiivinen HPAI-löydös tehtiin kussakin tuotantoyksikössä, ja sitten 21 päivän välein:
 - i) näytteet näytteenottohetkellä tilalla olevista kuolleista siipikarjaan kuuluvista tai muista vankeudessa pidetyistä linnuista;
 - ii) jos käytännössä mahdollista, henkitorvesta/nielusta ja yhteissuolesta otetaan pyyhkäisynäytteitä vähintään 60:ltä siipikarjaan kuuluvilta tai muulta vankeudessa pidetyiltä linnulta tai kaikilta tällaisilta siipikarjaan kuuluvilta tai muilta vankeudessa pidetyiltä linnuilta, jos lintuja on tilalla vähemmän kuin 60; tai jos linnut ovat pieniä, eksoottisia eivätkä ole tottuneet käsittelyyn tai jos niiden käsittely on ihmisille vaarallista, on kerättävä tuoreita ulostenäytteitä.

Toimivaltainen viranomainen voi kuitenkin riskinarvioinnin tuloksen perusteella myöntää poikkeuksia i ja ii alakohdassa tarkoitettua otoskoosta.

- d) Edellä c alakohdassa tarkoitettua näytteenottoa ja tällaisten näytteiden laboratoriotestausta on jatkettava, kunnes saadaan vähintään 21 päivän välein kaksi perättäistä negatiivista laboratoriotulosta.

8.5. 15 artiklan 1 ja 3 kohta — Kontaktitiloilla sovellettavat toimenpiteet

Virkaeläinlääkärin tutkiessa kontaktitilaa on toteutettava seuraavat toimenpiteet:

- a) On tarkistettava tilan tuotanto- ja terveyskirjanpito, jos sellainen on olemassa. Virkaeläinlääkärin on dokumentoitava tilaa koskevaan tarkastusraporttiinsa saatavilla olevat päivittäistä kuolleisuutta koskevat tiedot sekä päivittäiset tiedot rehun- ja/tai vedenkulutuksesta ajanjaksolla, joka alkaa yhtä viikkoa ennen sitä päivämäärää, jona kosketus lintuinfluenssan tartuttamaksi epäiltyyn parveen tapahtui, ja päättyy päivään, jona virkaeläinlääkäri tutkii tilan.
- b) Kukin tuotantoyksikkö on tarkastettava, mukaan lukien arviointi parven terveystilasta sekä siipikarjan tai muiden vankeudessa pidettyjen lintujen (erityisesti niiden, jotka näyttävät sairailta) kliiniset tutkimukset.
- c) Jos siipikarjassa tai muissa vankeudessa pidetyissä linnuissa näkyy kliinisiä oireita tai merkkejä päivittäisen kuolleisuuden noususta (> 3 kertaa tavanomaista suurempi kuolleisuusaste parvessa) tai päivittäisen munantuotannon vähenemistä (> 5 %) tai päivittäisen rehun- ja/tai vedenkulutuksen vähentymistä (> 5 %), vakionäytteet on otettava välittömästi kaikista tuotantoyksiköistä.
- d) Jos b ja c alakohdassa tarkoitettuja oireita ei esiinny, vakionäytteet on otettava 21 päivän kuluttua päivästä, jona viimeinen epäilty kosketus tartuntatilaan on tapahtunut, tai kun siipikarja tai muut vankeudessa pidetyt linnut lopetetaan.

8.6. 18 artiklan b ja c alakohta — Luettelo ja virkaeläinlääkärin tekemät tarkastukset sekä valvonta suojavyöhykkeellä olevilla tiloilla

Virkaeläinlääkärin tutkiessa kaupallista tilaa on toteutettava seuraavat toimenpiteet:

- a) On tarkistettava tilan tuotanto- ja terveyskirjanpito. Jos näkyy merkkejä päivittäisen kuolleisuuden noususta (> 3 kertaa tavanomaista suurempi kuolleisuusaste parvessa) tai päivittäisen munantuotannon vähenemistä (> 5 %) tai päivittäisen rehun- ja/tai vedenkulutuksen vähentymistä (> 5 %), vakionäytteet on otettava kaikista tuotantoyksiköistä.
- b) Kukin tuotantoyksikkö on tarkastettava, mukaan lukien arviointi parven terveystilasta sekä siipikarjan ja muiden vankeudessa pidettyjen lintujen (erityisesti niiden, jotka näyttävät sairailta) kliiniset tutkimukset.

- c) Jos siipikarjalajeissa tai muissa vankeudessa pidetyissä linnuissa ei oleteta selkeästi näkyvän taudin kliinisiä oireita tai jos on kyse rokotetuista linnuista, toimivaltainen viranomainen voi riskinarvioinnin tuloksen perusteella päättää, että jokaisesta tuotantoyksiköstä on otettava vakionäytteet.
- d) Toimivaltaisen viranomaisen on riskinarvioinnin tuloksen perusteella päätettävä virallisesta lisävalvonnasta, joka tapahtuu kohdennetuilla tiloilla tai kohdennetuissa osastoissa tai tuotantotyypeissä tehtävillä kliinisillä tarkastuksilla ja laboratoriotestejä varten toteutettavalla näytteenotolla.

8.7. 19 artiklan f alakohta — Suojavyöhykkeillä sijaitsevilla tiloilla sovellettavat toimenpiteet

Virkaeläinlääkärin tutkiessa tilaa, jolla on raportoitu lisääntyneitä tautisuutta tai kuolleisuutta tai muutos tuotantoluvuissa, on toteutettava seuraavat toimenpiteet:

- a) On tarkistettava tilan tuotanto- ja terveyskirjanpito. Jos näkyy merkkejä päivittäisen kuolleisuuden noususta (> 3 kertaa tavanomaista suurempi kuolleisuusaste parvessa) tai päivittäisen munantuotannon vähenemistä (> 5 %) tai päivittäisen rehun- ja/tai vedenkulutuksen vähenymistä (> 5 %), vakionäytteet on otettava kaikista tuotantoyksiköistä.
- b) Kukin tuotantoyksikkö on tarkastettava, mukaan lukien arviointi parven terveyshistoriasta sekä siipikarjan tai muiden vankeudessa pidettyjen lintujen (erityisesti niiden, jotka näyttävät sairailta) kliiniset tutkimukset.

8.8. 23 artiklan b alakohta — Siipikarjan suoraa kuljettamista välittömästi teurastettavaksi koskevat poikkeukset

Virkaeläinlääkärin tutkiessa tilaa, jolle on myönnetty poikkeus direktiivin 2005/94/EY 22 artiklassa säädettyistä toimenpiteistä, on toteutettava seuraavat toimenpiteet:

- a) On tarkistettava tilan tuotanto- ja terveyskirjanpito.
- b) Kukin tuotantoyksikkö on tarkastettava, mukaan lukien arviointi parven terveyshistoriasta sekä siipikarjan kliiniset tutkimukset alle 24 tuntia ennen siipikarjan tilalta lähtöä; tämä koskee erityisesti niitä lintuja, jotka näyttivät sairailta.
- c) Toimivaltaisen viranomaisen tekemän riskinarvioinnin tuloksen perusteella — ja vakionäytteiden sijasta — on kussakin tuotantoyksikössä otettava teurastettavaksi lähetettävästä siipikarjasta vähintään 60 pyyhkäisy-näytettä henkitorvesta/nielusta ja/tai 60 pyyhkäisy-näytettä yhteissuolesta silloin, kun siipikarjan tilalta lähtöön on alle 48 tuntia.

8.9. 25 artiklan b alakohta — Nuorikojen suoraa kuljettamista koskevat poikkeukset

Virkaeläinlääkärin tutkiessa tilaa, jolle on myönnetty poikkeus 22 artiklassa säädettyistä toimenpiteistä, on ennen nuorikojen suoraa kuljettamista toteutettava seuraavat toimenpiteet:

- a) On tarkistettava tilan tuotanto- ja terveyskirjanpito.
- b) Kukin tuotantoyksikkö on tarkastettava, mukaan lukien arviointi parven terveyshistoriasta sekä nuorikojen kliiniset tutkimukset alle 24 tuntia ennen nuorikojen tilalta lähtöä; tämä koskee erityisesti niitä lintuja, jotka näyttivät sairailta.
- c) Toimivaltaisen viranomaisen tekemän riskinarvioinnin tuloksen perusteella — ja vakionäytteiden sijasta — on kussakin tuotantoyksikössä otettava kuljettavaksi lähetettävistä nuorikoista vähintään 60 pyyhkäisy-näytettä henkitorvesta/nielusta ja/tai pyyhkäisy-näytettä yhteissuolesta silloin, kun nuorikojen tilalta lähtöön on alle 48 tuntia.

8.10. 26 artiklan 1 kohdan a alakohta — Siitosmunien ja syötäväksi tarkoitettujen munien suoraa kuljettamista koskevat poikkeukset

Virkaeläinlääkärin tutkiessa tilaa, jolla vanhempaispolvea pidetään ja jolle on myönnetty poikkeus 22 artiklassa säädettyistä toimenpiteistä, on ennen siitosmunien suoraa kuljettamista toteutettava seuraavat toimenpiteet:

- a) On tarkistettava tilan tuotanto- ja terveyskirjanpito.
- b) Jokaisessa tuotantoyksikössä on tehtävä kliininen tarkastus 15 vuorokauden välein.
- c) Jokaisesta tuotantoyksiköstä on otettava vakionäytteet.

8.11. 29 artiklan 1 kohta — Toimenpiteiden voimassaoloaika

Suojavyöhykkeellä direktiivissä 2005/94/EY olevan IV luvun 3 jakson mukaisesti sovellettavat toimenpiteet voidaan kumota aikaisintaan 21 päivän kuluttua tartuntatilan alustavasta puhdistuksesta ja desinfioinnista edellyttäen, että

- a) virkaeläinlääkäri on tutkinut kaikki suojavyöhykkeellä sijaitsevat kaupalliset tilat ja kaikki 8.6 kohdan a, b ja c alakohdassa sekä 8.7 kohdassa tarkoitettut tarkistukset ja kliiniset tarkastukset ja laboratoriotestit on tehty negatiivisin tuloksin.
- b) virkaeläinlääkäri on tutkinut kaikki yksilöidyt ei-kaupalliset tilat suojavyöhykkeellä, eikä kliinisistä tutkimuksista eikä tehtyjen laboratoriotestien tuloksista ole syntynyt aihetta epäillä lintuinfluenssartartuntaa.
- c) mikäli 8.6 kohdan d alakohdassa tarkoitettua virallista lisävalvontaa on toteutettu, siitä on saatu negatiiviset tulokset.

8.12. 30 artiklan g alakohta — Valvontavyöhykkeillä sovellettavat toimenpiteet

Virkaeläinlääkäriin tutkiessa tilaa, jolla on raportoitu lisääntyneitä tautisuutta tai kuolleisuutta tai muutos tuotantoluvuissa, on toteutettava seuraavat toimenpiteet:

- a) On tarkistettava tilan tuotanto- ja terveyskirjanpito.
- b) Kukin tuotantoyksikkö on tarkastettava, mukaan lukien arviointi parven terveystilasta sekä siipikarjan tai muiden vankeudessa pidettyjen lintujen (erityisesti niiden, jotka näyttävät sairailta) kliiniset tutkimukset.
- c) Jokaisesta tuotantoyksiköstä on otettava vakionäytteet.

8.13. 35 artikla — Teurastamoissa ja kuljetusvälineissä epäillyn HPAI-taudin esiintymisen tutkiminen

Virkaeläinlääkäriin tutkiessa teurastamoissa tai kuljetusvälineissä olevien lintujen alkuperätilaa on toteutettava seuraavat toimenpiteet:

- a) On tarkistettava tilan tuotanto- ja terveyskirjanpito, jos sellainen on olemassa.
- b) Kukin tuotantoyksikkö on tarkastettava, mukaan lukien arviointi parven terveystilasta sekä siipikarjan tai muiden vankeudessa pidettyjen lintujen kliiniset tutkimukset, ottaen huomioon konsultointi teurastamon virkaeläinlääkäriin kanssa; tämän on toimitettava yksityiskohtaiset tiedot mahdollisista aiemmista tarkastustiedoista sekä *ante-* ja *post mortem* -tutkimusten tulokset.
- c) Jos HPAI:n esiintymistä koskevaa epäilyä ei toimivaltaisen viranomaisen mielestä voida sulkea pois a ja b alakohdan mukaisesti tehdyn eläinlääkärintarkastuksen perusteella, jokaisesta tuotantoyksiköstä on otettava vakionäytteet.
- d) Vakionäytteiden lisäksi laboratoriotestejä varten on toimitettava näytteet vähintään viidestä sairastuneesta, kuolleesta tai teurastetusta teurastamossa olevasta linnusta, jossa on patologisia löydöksiä.

8.14. 36 artiklan 1 kohta — Teurastamoissa sovellettavat toimenpiteet

Kun on saatu päätökseen 8.13 kohdassa tarkoitettut tutkimukset ja edellyttäen, että laboratoriotestien tulokset ovat negatiiviset eikä alkuperätilalla eikä teurastamossa ole kliinistä epäilyä HPAI:n esiintymisestä, virallinen tarkailu voidaan lopettaa.

8.15. 37 artiklan 1 ja 2 kohta — Rajatarkastusasemilla tai kuljetusvälineissä sovellettavat toimenpiteet

8.15.1. Virkaeläinlääkäriin tutkiessa eristyksissä pidettyjä siipikarjaan kuuluvia tai muita vankeudessa pidettyjä lintuja, jotka on siirretty rajatarkastusasemalta tai kuljetusvälineestä HPAI:ta koskevan epäilyn tai sen vahvistamisen vuoksi, on toteutettava seuraavat toimenpiteet:

- a) On tarkistettava asiaan liittyvät asiakirjat ja kirjanpito, jos tällaisia asiakirjoja tai tällaista kirjanpitoa on olemassa.
- b) Eristyksissä pidetyille siipikarjaan kuuluville tai muille vankeudessa pidetyille linnuille on tehtävä kliininen tutkimus; myös muu siipikarja tai muut vankeudessa pidetyt linnut (erityisesti ne, jotka näyttävät sairailta) on tarkastettava kliinisesti.
- c) Vakionäytteet on otettava siipikarjasta tai muista vankeudessa pidetyistä linnuista, jotka on valikoitu eri kuljetuslaatikoista tai -häkeistä.

8.15.2. Virkaeläinlääkärin tutkiessa tunnistettua alkuperätilaa siinä tapauksessa, että siipikarjaa tai muita vankeudessa pidettyjä lintuja on teurastettu, on toteutettava seuraavat toimenpiteet:

- a) On tarkistettava tilan tuotanto- ja terveyskirjanpito, jos sellainen on olemassa.
- b) Kukin tuotantoyksikkö on tarkastettava, mukaan lukien arviointi parven terveyshistoriasta sekä siipikarjan tai muiden vankeudessa pidettyjen lintujen kliiniset tutkimukset, ottaen huomioon konsultointi teurastamon virkaeläinlääkärin kanssa; tämän on toimitettava yksityiskohtaiset tiedot mahdollisista aiemmista tarkastustiedoista sekä *ante-* ja *post mortem* -tutkimusten tulokset.
- c) Jos HPAI:n esiintymistä koskevaa epäilyä ei toimivaltaisen viranomaisen mielestä voida sulkea pois a ja b alakohdan mukaisesti tehdyn eläinlääkärintarkastuksen perusteella, jokaisesta tuotantoyksiköstä on otettava vakionäytteet.
- d) Edellä olevassa c alakohdassa tarkoitettujen vakionäytteiden lisäksi laboratoriotestejä varten on toimitettava näytteet vähintään viidestä sairastuneesta, kuolleesta tai teurastetusta teurastamossa olevasta linnusta, jossa on patologisia löydöksiä.
- e) Edellyttäen, että c ja d alakohdassa tarkoitetuille näytteille tehtyjen laboratoriotestien tulokset ovat negatiiviset eikä alkuperätilalla eikä teurastamossa ole kliinistä epäilyä HPAI:sta, virallinen tarkkailu voidaan lopettaa.

8.C. Matalapatogeeninen lintuinfluenssa (LPAI)

8.16. 39 artiklan 6 kohdan b ja h alakohta — Sovellettavat toimenpiteet tiloilla, joilla on vahvistettu LPAI-tautipesäke

Virkaeläinlääkärin tutkiessa tilaa ennen siipikarjan kuljettamista teurastamoon tai tilaa, jolla on siipikarjaa, joka on jo haudottu itämisajan aikana kerätyistä munista, on toteutettava seuraavat toimenpiteet:

- a) On tarkistettava tilan tuotanto- ja terveyskirjanpito.
- b) Kukin tuotantoyksikkö on tarkastettava, mukaan lukien arviointi parven terveyshistoriasta sekä siipikarjan tai muiden vankeudessa pidettyjen lintujen kliiniset tutkimukset.
- c) Vakionäytteet on otettava jokaisessa tuotantoyksikössä linnuista, jotka ollaan lähettämässä teurastettaviksi, silloin kun siipikarjan tilalta lähtöön on alle 48 tuntia.
- d) Vakionäytteet on otettava jokaisessa tuotantoyksikössä siipikarjasta, joka on jo haudottu itämisajan aikana kerätyistä munista.

8.17. 40 artiklan 2 kohdan b alakohta — Tiettyjä tiloja koskevat poikkeukset toimenpiteistä, joita on sovellettava, kun tautipesäke on vahvistettu

Virkaeläinlääkärin tutkiessa tilaa, jolle on myönnetty poikkeus direktiivin 2005/94/EY 39 artiklan 2 kohdassa ja 39 artiklan 5 kohdan b alakohdassa säädetyistä toimenpiteistä, on toteutettava seuraavat toimenpiteet:

- a) On tarkistettava tilan tuotanto- ja terveyskirjanpito, jos sellainen on olemassa.
- b) Kukin tuotantoyksikkö on säännöllisin väliajoin tarkastettava, mukaan lukien arviointi parven terveyshistoriasta sekä siipikarjan tai muiden vankeudessa pidettyjen lintujen (erityisesti niiden, jotka näyttävät sairailta) kliiniset tutkimukset.
- c) Vakionäytteiden sijasta laboratoriotestausta varten on otettava seuraavat näytteet 21 päivää sen päivän jälkeen, jona viimeinen positiivinen LPAI-löydös tehtiin kussakin tuotantoyksikössä, ja sitten 21 päivän välein:
 - i) näytteet näytteenottohetkellä tilalla olleista kuolleista siipikarjaan kuuluvista tai muista vankeudessa pidetyistä linnuista;
 - ii) henkitorvesta/nielusta ja yhteissuolesta otetaan pyyhkäisyinäytteitä 60:ltä siipikarjaan kuuluvilta ja muilta vankeudessa pidetyiltä linnulta tai kaikilta tällaisilta siipikarjaan kuuluvilta tai muilta vankeudessa pidetyiltä linnuilta, jos lintuja on tilalla vähemmän kuin 60; tai jos siipikarjaan kuuluvat tai muut vankeudessa pidetyt linnut ovat pieniä, eksoottisia eivätkä ole tottuneet käsittelyyn tai jos niiden käsittely on ihmisille vaarallista, on kerättävä tuoreita ulostenäytteitä.

Toimivaltainen viranomainen voi kuitenkin riskinarvioinnin tuloksen perusteella myöntää poikkeuksia i ja ii alakohdassa tarkoitettua otoskoosta.

- d) Edellä olevassa c alakohdassa tarkoitettua näytteenottoa ja tällaisten näytteiden laboratoriotestausta on jatkettava, kunnes saadaan vähintään 21 päivän välein kaksi perättäistä negatiivista laboratoriotulosta.

8.1. 42 artiklan 1 ja 3 kohta — Kontaktitiloilla sovellettavat toimenpiteet

Virkaeläinlääkärin tutkiessa kontaktitilaa on toteutettava seuraavat toimenpiteet:

- a) On tarkistettava tilan tuotanto- ja terveyskirjanpito, jos sellainen on olemassa.
- b) Kukin tuotantoyksikkö on tarkastettava, mukaan lukien arviointi parven terveyshistoriasta sekä siipikarjan tai muiden vankeudessa pidettyjen lintujen (erityisesti niiden, jotka näyttävät sairailta) kliiniset tutkimukset.
- c) Vakionäytteet on otettava jokaisesta tuotantoyksiköstä tai silloin, kun siipikarjaa tai muita vankeudessa pidettyjä lintuja lopetetaan.

8.19. 44 artiklan 1 kohdan b alakohta — Rajoitusvyöhykkeillä sovellettavat toimenpiteet

Virkaeläinlääkärin tutkiessa kaupallista tilaa rajoitusvyöhykkeellä on toteutettava seuraavat toimenpiteet:

- a) On tarkistettava tilan tuotanto- ja terveyskirjanpito.
- b) Kukin tuotantoyksikkö on tarkastettava, mukaan lukien arviointi parven terveyshistoriasta sekä siipikarjan tai muiden vankeudessa pidettyjen lintujen (erityisesti niiden, jotka näyttävät sairailta) kliiniset tutkimukset.
- c) Jokaisesta tuotantoyksiköstä on otettava vakionäytteet.
- d) Toimivaltaisen viranomaisen on riskinarvioinnin tuloksen perusteella päätettävä virallisesta lisävalvonnasta, joka tapahtuu kohdennetuilla tiloilla tai kohdennetuissa osastoissa tai tuotantotyypeissä tehtävillä kliinisillä tarkastuksilla ja laboratoriotestejä varten toteutettavalla näytteenotolla.

8.20. 45 artiklan a ja b alakohta — Toimenpiteiden voimassaoloaika

Rajoitusvyöhykkeellä direktiivissä 2005/94/EY olevan V luvun 3 jakson mukaisesti sovellettavat toimenpiteet voidaan kumota aikaisintaan 21 päivän kuluttua tartuntatilan alustavasta puhdistuksesta ja desinfioinnista tilan tyhjentämisen jälkeen tai aikaisintaan 42 päivän kuluttua LPAI:n vahvistamisesta edellyttäen, että

- a) virkaeläinlääkäri on tutkinut kaikki kaupalliset tilat rajoitusvyöhykkeellä ja kaikki 8.13 kohdan c ja d alakohdassa tarkoitetuille näytteille tehdyt laboratoriotestit on tehty ja niiden tulokset ovat saatavilla;
- b) mahdollisten lisäksi tehtävien kliinisten tutkimusten ja laboratoriotestien tulokset ovat saatavilla; näihin saattaa kuulua ei-kaupallisia tiloja LPAI:n leviämisen riskin määrittämiseksi;
- c) toimivaltainen viranomainen katsoo riskinarvioinnin tuloksen perusteella ottaen huomioon epidemiologisen tilanteen sekä a ja b alakohdassa tarkoitettujen laboratoriotestien tulokset, että LPAI:n leviämisen riski on häviävän pieni; tällaisessa arvioinnissa voidaan tulla siihen tulokseen, että rajoitukset voidaan kumota, jos serologiset löydökset ovat positiiviset mutta virologiset löydökset negatiiviset.

8.D. Toimenpiteet, joilla pyritään välttämään lintuperäisten influenssavirusten leviäminen muihin lajeihin

8.21. 47 artiklan 1 ja 6 kohta — Sikoja ja muita lajeja koskevat laboratoriotestit ja muut toimenpiteet

Virkaeläinlääkärin tutkiessa lintuinfluenssan vahvistumisen jälkeen tilaa, jolla pidetään sikoja, on toteutettava seuraavat toimenpiteet:

- a) On tarkistettava tilan tuotanto- ja terveyskirjanpito, jos sellainen on olemassa.
- b) Kukin tuotantoyksikkö on tarkastettava, mukaan lukien arviointi sen terveyshistoriasta sekä sikojen (erityisesti niiden, jotka näyttävät sairailta) kliiniset tutkimukset.
- c) Vähintään 60 sialta jokaisesta tuotantoyksiköstä tai kaikilta sioilta, jos tuotantoyksikössä on vähemmän kuin 60 sikaa, on otettava kärsästä/nielusta otettavat pyyhkäisynäytteet ennen sitä päivää, jona tartunnan saaneet siipikarjaan kuuluvat tai muut vankeudessa pidetyt linnut lopetetaan, tai kyseisenä päivänä. Sioilta on otettava vähintään 60 verinäytettä 2—4 viikkoa teurastuspäivästä. Näytteet on kerättävä siten, että ainakin yksi näyte hankitaan sellaisilta sikaryhmiltä, jotka ovat suorassa kosketuksessa toisiinsa.

- d) Lupa sikojen siirtämiseen muille tiloille voidaan myöntää, jos on saatu negatiiviset tulokset sioilta otetuista vähintään 60:stä kärsän/nielun pyyhkäisynäytteestä ja 60 verinäytteestä, jotka otettiin jokaisessa tuotantoyksikössä 14 päivän kuluttua lintuinfluenssan esiintymistä koskevien positiivisten löydösten päivämäärästä.

Lupa sikojen siirtämiseen teurastamoon voidaan myöntää, jos on saatu negatiiviset tulokset vähintään 60:stä kärsän/nielun pyyhkäisynäytteestä, jotka otettiin jokaisessa tuotantoyksikössä 14 päivän kuluttua lintuinfluenssan esiintymistä koskevien positiivisten löydösten päivämäärästä.

Jos laboratoriotesteistä ei saada varmoja tuloksia tai tulokset ovat positiivisia, on tehtävä mahdollisia muita tutkimuksia, joilla voidaan sulkea pois lintuinfluenssan tarttuminen sikoihin tai leviäminen niiden keskuudessa.

- e) Jos virkaeläinlääkäri epäilee, että tilalla olevat muut kotieläiminä pidetyt nisäkkäät ja erityisesti ne, joiden on todettu olevan alttiita alatyyppejä H5 ja H7 olevien lintuinfluenssavirusten aiheuttamalle tartunnalle, ovat saattaneet olla kosketuksissa tartunnan saaneisiin siipikarjaan kuuluviin tai muihin vankeudessa pidettyihin lintuihin, on otettava näytteet laboratoriotestejä varten.

8.E. Kannan uusiminen

8.22. 49 artiklan 3 kohdan b ja c alakohta — Tilojen kannan uusiminen

Virkaeläinlääkärin tutkiessa kaupallista tilaa, jonka kanta on uusittu, on toteutettava seuraavat toimenpiteet:

- a) On tarkistettava tilan tuotanto- ja terveyskirjanpito.
- b) Kukin tuotantoyksikkö on tarkastettava, mukaan lukien arviointi parven terveyshistoriasta sekä siipikarjan tai muiden vankeudessa pidettyjen lintujen (erityisesti niiden, jotka näyttävät sairailta) kliiniset tutkimukset.
- c) Vakionäytteiden sijasta jokaisesta tuotantoyksiköstä on otettava seuraavat näytteet:
- i) vähintään 20 verinäytettä heti, kun siipikarja on tuotu tilalle, paitsi kun on kyse untuvikoista; jos on tarkoituksenmukaista, tällainen näytteenotto voidaan suorittaa siipikarjan alkuperätilalla ennen lintujen siirtoa tilalle, jonka kanta uusitaan;
 - ii) näytteet kuolleesta siipikarjasta tai niiden ruhoista otetut pyyhkäisynäytteet enintään kymmenestä kuolleesta linnusta viikkoa kohden kannan uusimispäivää seuraavien 21 päivän aikana.
- d) Jos tilalla on aiemmin ilmennyt HPAI-tartunta, myös vesilinnuilta (ankat/hanhet) on jokaisessa tuotantoyksikössä otettava 20 henkitorvesta/nielusta ja 20 yhteissuolesta otettavaa pyyhkäisynäytettä, mikäli tämä on tarkoituksenmukaista, kannan uusimispäivää seuraavan 21 päivän jakson viimeisellä viikolla.
- e) Jos tilalla on aiemmin ilmennyt LPAI-tartunta, jokaisesta tuotantoyksiköstä on otettava 20 henkitorvesta/nielusta ja 20 yhteissuolesta otettavaa pyyhkäisynäytettä sekä 20 verinäytettä.

8.F. Rokottaminen

8.23. 56 artiklan 2 kohdan i alakohta — Siipikarjan tai muiden vankeudessa pidettyjen lintujen ennalta ehkäisevät rokotukset

Direktiivissä 2005/94/EY olevassa IX luvussa säädetty laboratoriotestit on tehtävä rokotetuille siipikarjaan kuuluville tai muille vankeudessa pidetyille linnuille hyväksytyä DIVA-määrittystä käyttäen, silloin kun kyseinen muu kanta kuin rokoteviruskanta on tiedossa.

Kun käytetään sentinellilintuja, niitä on oltava jokaisessa rokotetussa parvessa, niille on tehtävä kliininen tutkimus ja ne on testattava käyttäen hemagglutinaation inhibitiotestiiä (HI). Tätä tarkoitusta varten kullakin rokotetulla tilalla on rokottamattomista sentinellilinnuista otettava 20 verinäytettä vähintään joka 60. päivä.

8.24. Liite IX — Siipikarjan tai muiden vankeudessa pidettyjen lintujen ja siipikarjatuotteiden siirtämistä koskevat vaatimukset, joita on sovellettava hätärokotusten yhteydessä

Elävien siipikarjaan kuuluvien ja muiden vankeudessa pidettyjen lintujen ja niiden munien siirtämiseen on sovellettava tiukkoja seurantatoimenpiteitä, jotta vähennetään minimiin riski lintuinfluenssatartunnan leviämisestä laajemmalle.

Samoja seuranta-toimenpiteitä on hätärokotusohjelman alussa tämän vuoksi sovellettava elävien siipikarjaan kuuluvien ja muiden vankeudessa pidettyjen lintujen ja niiden munien siirtämiseen, jotta vähennetään minimiin riski lintuinfluenssatartunnan leviämisestä laajemmalle rokotusalueella ja sen ulkopuolella.

- a) Ennen kuin siitosmunia ja syötäväksi tarkoitettuja munia siirretään ensimmäistä kertaa rokotusalueella ja sen ulkopuolelle ja tämän jälkeen vähintään joka 30. päivä, virkaeläinlääkäri on toteutettava seuraavat toimenpiteet:
- i) Kussakin tuotantoyksikössä on tarkastettava rokotamaton vanhempaispolvi tai muniva siipikarja, mukaan lukien arviointi parven terveyshistoriasta sekä siipikarjan (erityisesti sairailta näyttävien lintujen) kliiniset tutkimukset; siipikarjasta on jokaisessa tuotantoyksikössä otettava vakionäytteet; tai
 - ii) Kussakin tuotantoyksikössä on tarkastettava rokotettu vanhempaispolvi tai muniva siipikarja, mukaan lukien arviointi parven terveyshistoriasta sekä näissä parvissa olevien sentinellilintujen kliiniset tutkimukset; näistä sentinellilinnuista on otettava vakionäytteet.
- b) Elävien rokotettujen siipikarjaan kuuluvien tai muiden vankeudessa pidettyjen lintujen siirtämiseksi muille tiloille tai elävän rokotetun siipikarjan siirtämiseksi rokotusalueella ja sen ulkopuolelle virkaeläinlääkäri on toteutettava seuraavat toimenpiteet:
- i) On tarkistettava tilan tuotanto- ja terveyskirjanpito.
 - ii) Kukin tuotantoyksikkö on tarkastettava, mukaan lukien arviointi parven terveyshistoriasta sekä siipikarjan tai muiden vankeudessa pidettyjen lintujen kliiniset tutkimukset enintään 72 tuntia ennen lähtöhetkeä; sentinellilintuihin on kiinnitettävä erityistä huomiota.
 - iii) Jos i ja ii alakohdassa tarkoitettujen tarkistusten ja kliinisten tarkastusten ja tutkimusten tulokset eivät ole tyydyttäviä, sentinellilinnuista on otettava vakionäytteet; jos tulokset kuitenkin ovat tyydyttävät, on otettava seuraavat näytteet:
 - rokotetuista siipikarjaan kuuluvista tai muista vankeudessa pidetyistä linnuista: vähintään 20 henkitorvesta/nielusta otettavaa pyyhkäisynäytettä ja 20 yhteissuolesta otettavaa pyyhkäisynäytettä ja 20 verinäytettä käyttäen asianmukaista DIVA-määrittystä enintään 72 tuntia ennen lähtöhetkeä, ja
 - sentinellilinnuista: 20 henkitorvesta/nielusta otettavaa pyyhkäisynäytettä ja 20 yhteissuolesta otettavaa pyyhkäisynäytettä ja 20 verinäytettä HI-testein tapahtuvia serologisia tutkimuksia varten ennen lähtöhetkeä.

V LUKU

Diagnostiset virologiset testit ja tulosten arviointi

1. Ennen molekyyliin perustuvien testien ilmaantumista ja kehittämistä viruksen eristämistä inokuloimalla alkiovaiheessa olevia kananmunia pidettiin lintuinfluenssan toteamisessa ehdottomasti herkipänä diagnostisena testinä ja olennaisena tartunnan aiheuttavan viruksen myöhempää tunnistamista ja kuvaamista varten. Prosessin keskeiset vaiheet esitetään tässä luvussa.
2. **Näytteen käsittely**

Jos pyyhkäisynäytteet toimitetaan "kuivina", ne on asetettava riittävään määrään antibiootteja sisältävää elatusainetta, jotta varmistetaan niiden uppoaminen siihen kokonaan. Näytteet voidaan kerätä viiden kappaleen eriin edellyttäen, että ne ovat peräisin samasta lajista, samalta ajalta ja samasta epidemiologisesta yksiköstä.

Laboratorioon toimitetuille ruhoille on tehtävä *post mortem* -tarkastus, ja seuraavista aineksista/elimistä on otettava näytteet: uloste tai suolen sisältö, aivokudos, henkitorvi, keuhkot, maksa, perna ja muut selvästi vahingoittuneet elimet. Nämä elimet ja kudokset voidaan kerätä yhteen, mutta ulosteaine on ehdottomasti käsiteltävä erillään.

Ulosteista ja elimistä otetut näytteet on homogenoitava (suljetussa sekoittimessa tai morttelissa steriiliä hiekkaa käyttäen) antibiootteja sisältävässä elatusaineessa, kunnes siinä saadaan 10—20 % w/v suspensiot.

Upotettujen pyyhkäisynäytteiden ja suspensioiden on annettava seistä noin kahden tunnin ajan huoneenlämmössä (tai kauemmin 4 °C:ssa), minkä jälkeen ne sentrifugoidaan (esimerkiksi 800—1 000 kierrosta × g 10 minuutin ajan).

3. Viruksen eristäminen alkioasteella olevissa kananmunissa

Inokuloidaan 0,1—0,2 ml supernatanttia vähintään neljän 9—11 vuorokautta haudotun alkioasteella olevan kananmunan allantoisonteloon. Parasta olisi, jos nämä munat saataisiin parvesta, jossa ei esiinny kyseistä spesifistä patogeeniä (specific pathogen free, SPF); jos tämä ei kuitenkaan onnistu, voidaan käyttää sellaisesta parvesta saatuja muniä, jossa ei esiinny lintuinfluenssaviruksen vasta-aineita (seerumivasta-ainenegatiivinen, SAN).

Inokuloituja muniä säilytetään 37 °C:ssa ja ne läpivalaistaan päivittäin. Sitä mukaa kun niitä havaitaan, kuolleen tai kuolevan alkion sisältävät munat sekä kaikki kuusi vuorokautta inokuloinnin jälkeen jäljellä olevat munat on jäädytettävä 4 °C:een, ja niille on suoritettava hemagglutinaatiotutkimus allantois/amnionnesteestä. Jos hemagglutinaatiota ei todeta, tämä menettely on toistettava käyttäen inokulaattina laimentamatonta allantois/amnionnesteä. Jos hemagglutinaatiota tapahtuu, bakteerien esiintyminen on suljettava pois viljelemällä. Jos bakteereja havaitaan, nesteet voidaan suodattaa kalvosuodattimella, jonka huokoskoko on 450 nm, lisätä ylimääräisiä antibiootteja ja inokuloida nesteet alkioasteella oleviin muniin edellä esitetyllä tavalla.

Diagnoosin nopeuttamiseksi jotkin laboratoriot ovat käyttäneet kahta 3 päivän siirrostusta tai 2 päivän ja 4 päivän siirrostuksia ja raportoineet tulosten olevan vertailukelpoisia kahden 6 päivän siirrostuksen kanssa, mutta tätä ei ole vielä täysin arvioitu.

Positiivisista nesteistä on määritettävä bakteerit. Jos nesteessä on bakteereja, neste voidaan suodattaa kalvosuodattimella, jonka huokoskoko on 450 nm, tai sentrifugoida bakteerien poistamiseksi ja siirrostaa uudelleen muniin, sen jälkeen kun on lisätty enemmän antibiootteja.

4. Erotusdiagnoosi

a) Alustava erotus

Koska on tärkeää toteuttaa mahdollisimman nopeasti toimenpiteet lintuinfluenssaviruksen leviämisen estämiseksi, jokaisen kansallisen vertailulaboratorion, joka on eristänyt hemagglutinaatiota aiheuttavan viruksen, on pystyttävä tunnistamaan, onko se alatyyppejä H5 tai H7 oleva influenssa A -virus vai Newcastlel taudin virus. Hemagglutinaatiota aiheuttavia nesteitä on tämän vuoksi käytettävä IX luvussa kuvatuissa hemagglutinaation inhibiitioesteissä. Positiivista inhibiitiota A-tyyppin influenssaviruksen alatyypeille H5 tai H7 spesifisillä polykloonisilla antiseerumeilla voidaan käyttää alustavassa tunnistamisessa, jonka perusteella voidaan toteuttaa väliaikaiset torjuntatoimenpiteet. Positiivista inhibiitiota osoittaisi esimerkiksi positiivisen kontrollinäytteen titteri välillä 2—3 log₂.

b) Vahvistustunnistaminen

Koska influenssaviruksilla on olemassa 16 hemagglutiniinin alatyyppejä ja 9 neuraminidaasin alatyyppejä, joilla kaikilla on lisäksi muunnoksia, ei ole mahdollista eikä kannattavaa säilyttää kaikissa kansallisissa vertailulaboratorioissa antiseerumeita, joilla voidaan suorittaa eristetyn influenssakannan täydellinen alatyyppien tunnistaminen. Kunkin kansallisen vertailulaboratorion on kuitenkin vähimmäisvaatimuksena

- i) pystyttävä vahvistamaan, että eristetty kanta on A-tyyppin influenssavirus, kaksoisimmunodiffuusiotestillä ryhmäantigeenien toteamiseksi;
- ii) määritettävä, onko eristetty kanta H5- tai H7-alatyyppejä vai ei; positiivinen tunnistus edellyttää alatyyppejä H5 ja H7 olevan LPAI:n torjuntatoimenpiteiden toteuttamista;
- iii) välittömästi toimitettava kaikki HPAI- ja kaikki H5- ja H7-kannat yhteisön vertailulaboratoriolle vahvistamista ja täydellistä tunnistamista varten, ellei poikkeusta ole myönnetty d alakohdan mukaisesti.

Tämän lisäksi on suotavaa, että laboratorioissa, joilla on asianmukaiset välineet,

- iv) suoritetaan suonenensisäisen patogeenisuuden määrittämisestä kuuden viikon ikäisillä kananpojilla VII luvussa kuvatun menetelmän mukaisesti. Jos suonenensisäinen patogeenisuusindeksi on yli 1,2, se merkitsee sellaisen viruksen esiintymistä, joka edellyttää HPAI:n torjuntatoimenpiteiden toteuttamista täydessä laajuudessaan.

Kansallisten vertailulaboratorioiden on lisäksi harkittava sellaisen asiantuntemuksen ja välineistön hankkimista, että voidaan tehdä hemagglutiniinigeenin nukleotidien sekvenssianalyysi sen määrittämiseksi, onko LPAI:ta aiheuttavan H5- tai H7-viruksen hemagglutiniinin prekursoriproteiinin katkaisukohtassa useita emäksisiä aminohappoja. Vaikka yhteisön vertailulaboratorio tekee patogeenisuuden määrittämisensä ensisijaisena toimenaan osana direktiivin 2005/94/EY liitteessä VII olevan 2 kohdan b alakohdassa tarkoitettuja tehtäviään, tällainen viruksen kuvaus kansallisella tasolla vähentää huomattavasti diagnoosiin kuuluvaa aikaa ja, jos tulos on positiivinen, HPAI:n torjuntatoimien toteuttamiseen täydessä laajuudessaan vaadittavaa aikaa.

c) Kantojen tyyppimääritys ja kuvaus

Direktiivin 2005/94/EY liitteessä VII esitettyjen yhteisön vertailulaboratorion toimien ja tehtävien mukaisesti kansallisten vertailulaboratorioiden on toimitettava yhteisön vertailulaboratoriolle kaikki hemagglutinaatiota aiheuttavat virukset täydentäviä antigeeni- ja geenitutkimuksia varten, joiden avulla voidaan saada tarkempi käsitys taudin tai tautien leviämisestä yhteisössä.

Edellä mainittujen toimien ja tehtävien lisäksi yhteisön vertailulaboratorion on suoritettava kaikille sille toimitetuille influenssaviruksille täydellinen antigeenin tyyppimääritys. Suonensisäiseltä patogeenisuusindeksiltään enintään 1,2 olevien H5- ja H7-alatyypin virusten osalta on myös välittömästi tehtävä hemagglutiniiniin nukleotidien sekvenssianalyysi sen määrittämiseksi, onko hemagglutiniinin prekursoriproteiinin katkaisukohdassa useita emäksisiä aminohappoja, ja kansalliselle vertailulaboratoriolle ja alkuperämaan toimivaltaiselle viranomaiselle on ilmoitettava asiasta heti, kun tulokset ovat saatavilla, jotta HPAI:n torjuntatoimet voidaan toteuttaa täydessä laajuudessaan.

d) Ottaen huomioon HPAI:n/LPAI:n muuttuvan epidemiologisen tilanteen komission ja yhteisön vertailulaboratorion suostumuksella saattaa olla mahdollista myöntää poikkeus laboratorioille, joilla on täydet valmiudet virusten nopeaa kuvaamista varten, jotta ne voisivat toimittaa tällaisten virusten osajoukon tietojen tutkimisen jälkeen; yhteisön vertailulaboratorion olisi sitten tehtävä valinta. Poikkeus voidaan sallia ainoastaan silloin, kun kansallinen vertailulaboratorio voi tuottaa tiedot nopeasti ja jakaa ne yhteisön vertailulaboratorion kanssa.

VI LUKU

Molekyylitestit ja tulosten arviointi

HPAI:n nykyisen määritelmän mukaan kannan taudinaiheutuskyky voidaan osoittaa molekyylitasolla, ja molekyyliteknikoiden käyttö lintuinfluenssan taudinmäärityksessä onkin lisääntynyt. Viime aikoina on kehitetty näistä menetelmistä sovellutuksia lintuinfluenssavirusten osoittamiseen ja karakterisointiin, ja nykyisin niitä voidaan käyttää suoraan tartunnan saaneista linnuista otettuja kliinisiä näytteitä tutkittaessa. Kliinisiin näytteisiin käytetyillä perinteisillä RT-PCR-menetelmillä voidaan, jos alukkeet on valittu oikein, todeta virus nopeasti ja tunnistaa alatyypit (ainakin H5 ja H7). PCR-amplikonituotetta voidaan käyttää nukleotidien sekvenssianalyysiin. Näiden teknikoiden on osoitettu sopivan myöhempien tautipesäkkeiden tunnistamiseen nopeasti, sitten kun primäärisesti saastuneet tilat on todettu ja virus kuvattu. Reaaliaikainen yksivaiheinen RT-PCR-menetelmä, jossa käytetään aluketta / fluorogeenistä koetinjärjestelmää (rRT-PCR), mahdollistaa vieläkin nopeamman ja herkemman taudinmäärityksen ja alatyypin H5 ja H7 osoittamisen kliinisistä näytteistä.

RT-PCR- ja rRT-PCR-menetelmiin liittyy se merkittävä ongelma, että eri laboratoriot ovat kehittäneet erilaisia järjestelmiä, jotka tosin ovat täysin päteviä mutta joita ei ole validoitu, eikä niitä ole testattu käyttäen laajaa määrää näytteitä eri laboratorioissa. Yhteisön vertailulaboratorio ja tietyt kansalliset vertailulaboratoriot ovat käsitelleet tätä ongelmaa yhteisön rahoittaman hankkeen (EU AVIFLU) yhteydessä tarkoituksenaan tuottaa perinteisiä RT-PCR- ja rRT-PCR-menetelmiä, jotka muutkin kansalliset vertailulaboratoriot voisivat ottaa käyttöön. Jos testimuuttajat, kuten reaktiosyklit ja lämpötilanvaihtoajat, poikkeavat tietyissä testausprotokollissa suositelluista, niiden on ennen käyttöä osoitettava soveltuvan käyttötarkoitukseensa tämän taudinmäärityskäsikirjan I luvun 6 kohdan mukaisesti.

Yhteisön vertailulaboratorion soveltamat näitä molekyylitestejä ja niiden arviointia koskevat vakioprotokollat löytyvät seuraavalta www-sivustolta:

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

VII LUKU

In vivo patogeenisuustesti ja tulosten arviointi

Linnuista eristettyjen A-tyypin influenssavirusten virulenssi kanojen kannalta on arvioitava käyttäen suonensisäistä patogeenisuusindeksiä (IVPI) koskevaa testiä, joka on toteutettava seuraavasti:

- Laimennetaan steriilillä isotonisella suolaliuoksella kymmenkertaiseksi tuoretta infektoitunutta allantoisnestettä, joka on mahdollisimman vähän siirrostettu, mieluiten ensimmäisestä eristyksistä saatua ja valikoimatonta (HA-titteri on $> 1/16$ ($> 2^4$ tai $> \log_2 4$ käänteisarvona ilmaistuna)).
- Injektoidaan suonensisäisesti 0,1 ml laimennettua virusta 10:een kuuden viikon ikäiseen kananpoikaan (käytettävissä linnuissa ei saa esiintyä erityisiä patogeenisiä organismeja (SPF) tai niiden on oltava seerumivasta-ainenegeatiivisia (SAN)).

- c) Linnut tutkitaan 24 tunnin välein 10 vuorokauden ajan. Jokaisen tarkastuskerran yhteydessä kullekin linnulle merkitään kerroin: 0 = normaali, 1 = sairastunut, 2 = vakavasti sairastunut, 3 = kuollut. Lintujen luokittelu joko sairastuneiksi tai vakavasti sairastuneiksi on subjektiivinen kliininen arviointi.

Tavallisesti "sairastuneissa" linnuissa on havaittavissa yksi ja "vakavasti sairastuneissa" linnuissa useampi kuin yksi seuraavista oireista: hengitysvaikeudet, apaattisuus, ripuli, paljaan ihon tai heltojen sinerys, turvotus naamassa ja/tai päässä, hermostolliset häiriöt. Kuolleille linnuille merkitään kertoimeksi 3 jokaisella jäljellä olevalla päivittäisellä tarkastuskerralla kuoleman jälkeen.

Kun linnut ovat liian sairaita syödäkseen tai juodakseen, ne on hyvinvointisyyistä lopetettava kivuttomasti ja merkittävää kuolleiksi seuraavalla tarkastuskerralla, koska ilman hoitotoimenpiteitä ne kuolisivat 24 tunnin kuluessa. Akkreditoinnista vastaavat viranomaiset voivat hyväksyä tämän toimintamallin.

- d) Patogeenisuusindeksi on keskimääräinen arvo lintua ja tarkastuskertaa kohden 10 vuorokauden jaksolla. Lukuarvo 3,00 tarkoittaa, että kaikki linnut kuolivat 24 tunnin kuluessa, kun taas lukuarvo 0,00 tarkoittaa, ettei yhdessäkään linnussa havaittu mitään kliinisiä oireita 10 vuorokauden tarkastelujaksolla.

Seuraavassa esimerkissä esitetään yksinkertainen menetelmä tulosten kirjaamiseksi ja patogeenisuusindeksien laskemiseksi:

Kliiniset oireet	Inokuloinnista kulunut aika vuorokausina										Yhteensä
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Normaalit	10	2	0	0	0	0	0	0	0	0	12 x 0 = 0
Sairastuneet	0	4	2	0	0	0	0	0	0	0	6 x 1 = 6
Vakavasti sairastuneet	0	2	2	2	0	0	0	0	0	0	6 x 2 = 12
Kuolleet	0	2	6	8	10	10	10	10	10	10	76 x 3 = 228
											Yhteensä = 246

Huomautuksia:

10 lintua tarkastettu 10 vuorokauden ajan = 100 tarkastuskertaa

Patogeenisuusindeksi = keskimääräinen arvo eläintä ja tarkastuskertaa kohden = 246/100 = 2,46

Alatyypistä riippumatta mitä tahansa A-tyypin influenssavirusta, joka saa IVPI-testissä suuremman arvon kuin 1,2, pidetään HPAI-viruksena.

VIII LUKU

Serologiset testit ja tulosten arviointi

A-tyypin influenssaviruksen esiintymisen toteamiseksi käytetään ensisijaisesti menetelmää, jolla osoitetaan, että viruksella on nukleoproteiini- tai matriksiantigeenit, jotka on kaikilla A-tyypin influenssaviruksilla.

Tämä voidaan tehdä kaksoisimmunodiffuusiotesteissä, jotka edellyttävät joko viruskonsentraattipohjaisten valmisteiden tai infektoituneista alkion suoni- ja rakkokalvoista saatujen uutteen käyttöä.

Lintuinfluenssaviruksen vasta-aineiden serologisissa testeissä käytetään ensisijaisesti hemagglutinaatiotestiä (HA) ja hemagglutinaation inhibitiotestiä (HI).

Maailman eläntäauttajärjestön (OIE) maaeläinten diagnostisia testejä ja rokotteita käsittelevän käsikirjan (Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals of the World Organisation for Animal Health) 2.7.12 luvussa esitetään yksityiskohtaisesti laboratoriotekniikat ja tulosten arviointi.

Yhteisön vertailulaboratorion soveltamat serologisia testejä ja niiden tulosten arviointia koskevat vakioprotokollat löytyvät seuraavalta www-sivustolta:

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

IX LUKU

Rokottamiseen liittyvät seurantajärjestelmät

1. Direktiivi 2005/94/EY ja taudinmäärityskäsikirja

Direktiivissä 2005/94/EY olevan IX luvun 2 ja 3 jaksossa sallitaan hätä- ja ennalta ehkäisevät rokotukset tietyin edellytyksin. Yhtenä edellytyksenä on, että käytetään DIVA-strategiaa (tartunnan saaneen ja rokotetun eläimen erottamisdiagnoosi).

Rokottamisella on pyrittävä ehkäisemään tartunta ja viruksen myöhempi leviäminen parvien välillä. On olemassa kiistatonta näyttöä siitä, että rokottaminen lisää sitä viruksen määrää, joka tarvitaan linnun tartuttamiseen, ja vähentää eritetyt viruksen määrää. Vaikka rokotetuille linnuille ei enää kehity kliinisiä oireita, ne voivat kuitenkin edelleen levittää virusta tartunnan saatuaan. Alatyyppejä H5 ja H7 olevat HPAI-virukset saattavat huomaamatta levitä jonkin aikaa parvessa, jonka immuniteetti ei ole optimaalisella tasolla, samalla tavalla kuin LPAI-virukset voivat levitä rokotamattomassa parvessa. Tämän vuoksi on voitava tunnistaa viruspositiiviset rokotetut parvet, jotka ovat saaneet tartunnan muusta kannasta kuin rokoteviruskannasta, jotta voidaan toteuttaa muita torjuntatoimenpiteitä, kuten lopettaa koko parvi.

2. Sentinellilintujen käyttö tartunnan seurannassa

Yksinkertainen menetelmä parven tasolla on säännöllisesti seurata rokottamatta jätettyjä sentinellilintuja kussakin rokotetussa parvessa, mutta tähän toimintamalliin liittyy joitakin käytännön ongelmia erityisesti sen osalta, miten sentinellilinnut tunnistetaan varsinkin suurissa parvissa. Kosketus sentinellilintujen ja rokotettujen lintujen välillä on varmistettava.

3. DIVA-laboratoriotesti tartunnan seurannassa

Vaihtoehtona tai edellisen lisänä voidaan testata rokotettujen lintujen altistumista muulle kannalle kuin rokoteviruskannalle käyttäen DIVA-laboratoriotestejä. Viime vuosina on kehitetty useita testausjärjestelmiä, joiden avulla on mahdollista todeta myös rokotettujen lintujen altistuminen muulle kuin rokoteviruskannalle. Yksi käyttökelpoiseksi osoittautunut menetelmä on sellaisen rokotteen käyttö, joka sisältää vallitsevan kannan kanssa samaa hemagglutiiniiniin (H) alatyyppejä mutta erilaista neuraminidaasin (N) alatyyppejä olevan viruksen. Vallitsevan kannan neuraminidaasin vasta-aineet toimivat tartunnan luonnollisina merkkiaineina.

Tämä järjestelmä oli käytössä Italiassa LPAI H7N1 -viruksen ilmaantua uudelleen vuonna 2000. Välittömien torjuntatoimenpiteiden täydennykseksi toteutettiin DIVA-strategia, jossa käytettiin H7N3-virusta sisältävää rokotetta torjumaan H7N1-luonnonkannan aiheuttamaa tartuntaa. Rokotetut linnut erotettiin muulle kannalle kuin rokoteviruskannalle altistuneista linnuista käyttäen serologista testiä spesifisten anti-N1-vasta-aineiden toteamiseksi. Samaa strategiaa käytettiin torjumaan H7N3-viruksen Italiassa vuosina 2002–2003 aiheuttamaa LPAI-tautia; tässä tapauksessa käytettiin H7N1-rokotetta ja erityisesti N3:n vasta-aineiden toteamiseksi tehtyä serologista testiä. Molemmissa tapauksissa rokottaminen ja koko parven lopettaminen käyttäen tätä DIVA-strategiaa johti muun kuin rokoteviruskannan hävittämiseen.

Tämän järjestelmän kanssa syntyy ongelmia, jos ilmaantuu sellainen muu kanta kuin rokoteviruskanta, jolla on sama N-antigeeni kuin olemassa olevalla muulla kuin rokoteviruskannalla mutta joka on muuta H-alatyyppejä kuin H5 tai H7, tai jos luonnossa leviää jo alatyyppejä, joilla on samat N-antigeenit. Erityisesti ankkosten tiedetään voivan toimia useamman kuin yhden alatyypin tartunnankantajina. Lisäksi oli tarpeen kehittää sopiva testi, jonka avulla voitaisiin rutiiniluonteisesti määrittää, esiintyykö parvissa antineuraminidaasivasta-aineita. Italiassa kehitettiin ja otettiin käyttöön erityinen epäsuoraan fluoresenssivasta-ainetestin perustuva serologinen testi, jossa käytetään antigeeninä baculovirusrekombinanttien ilmaisevia N-proteiineja. Tämän soveltaminen voi laajeta ja helpottaa, kunhan kehitetään ELISA-testi.

Ainoastaan HA:ta sisältävien rokotteiden, kuten rekombinanttivektori-rokotteiden, käyttö mahdollistaa sen, että nukleoproteiineihin, muihin kuin rakenneproteiineihin tai matriksiproteiineihin perustuvia klassisia AGID- tai ELISA-testejä voidaan käyttää tartunnan toteamiseen rokotetuissa linnuissa.

Inaktivoitujen rokotteiden osalta on kuvattu testi, jolla todetaan muiden kuin viruksen rakenneproteiinien vasta-aineet, joita syntyy ainoastaan luonnollisen tartunnan aikana. Tällainen järjestelmä on vielä validoitava kentällä, mutta sen rajoituksena on, että jos jokin parvi saa minkä tahansa influenssaviruksen (alatyypistä riippumatta) luonnollisen tartunnan, tuloksena on kyseisen muun kuin rakenneproteiinin vasta-aineiden muodostuminen.

Nopeiden ja herkkien virustentodentamismenetelmien — erityisesti reaaliaikaisen RT-PCR-menetelmän kaltaisten automatisoitavissa olevien menetelmien — kehittäminen tarkoittaa, että näitä menetelmiä voidaan käyttää yksinkertaisten, laajojen ja säännöllisten testien tekemiseen rokotetuille linnuille muun kannan kuin rokoteviruskannan esiintymisen toteamiseksi. Taudinaiheuttajien toteaminen kuitenkin rajoittuu lyhyeen ajankohtaan infektion akuutissa vaiheessa, eikä sen avulla voida päätellä, etteikö parvi olisi altistunut virukselle aiemmin. Tämä toimintamalli sopii parhaiten rokotettujen lintujen testaamiseen ennen niiden siirtämistä sen osoittamiseksi, ettei niillä ole aktiivista infektiota.

Valitulla järjestelmällä testattavien näytteiden lukumäärän on mahdollistettava lintuinfluenssavirustartunnan yli 15 prosentin esiintyvyyden poissulkeminen parvessa 95 prosentin varmuudella.

X LUKU

Lintuinfluenssan taudinmäärityksen strategiat

Kuten direktiivin 2005/94/EY liitteessä IV esitetään, päätökset soveltaa toimenpiteitä tietyillä alueilla tai kontaktitiloilla sekä näiden toimenpiteiden ankaruus voivat vaihdella suuresti riskin suuruuden mukaan. Vaaditussa tautidiagnoosin vahvistamisessa otetaan samaten todennäköisesti huomioon vallitseva tilanne, vaaran suuruus sekä riskin aste. Eläinlääkintäviranomaisten on tehtävä diagnostisen näytön pohjalta päätökset, joissa otetaan huomioon taudin nopeasta hillitsemisestä ja hävittämisestä saatava hyöty ja toisaalta väärän diagnoosin mahdolliset vaikutukset. Ratkaisuja tehtäessä on otettava samanaikaisesti huomioon monta tekijää, mutta joidenkin tilanteiden voidaan ennustaa syntyvän.

Tautitilanne	Mahdollinen ongelma	Diagnoosikriteeri
Ei spesifisiä oireita, ei virallista epäilyä	Eristyksissä oleva tila	Tehdään M-geenin RT-PCR-menetelmään pohjautuva nopea osoitustesti. Erotusdiagnoosi tarvittaessa.
Epäilty primääritautipesäke	Eristyksissä oleva tila	Toteutetaan taudinmääritystä varten täysi testaus, viruksen eristäminen ja kuvaus.
Epäilty primääritautipesäke	Tila korkean siipikarjatiheyden alueella	Toteutetaan taudinmääritystä varten täysi testaus, viruksen eristäminen ja kuvaus mutta keskitytään nopean osoituksen ja kuvaamisen menetelmiin ja erityisesti niihin, jotka perustuvat RT-PCR-menetelmään ja sekvenssianalyysiin ⁽¹⁾ .
Toinen ja myöhempi epäilty tautipesäke	Eristyksissä olevat tilat, joilla on epidemiologinen yhteys epäiltyyn primääritautipesäkkeeseen	Keskitytään nopean osoituksen ja kuvaamisen menetelmiin ja erityisesti niihin, jotka perustuvat RT-PCR-menetelmään ja sekvenssianalyysiin ⁽¹⁾ .
Toinen ja myöhempi epäilty tautipesäke	Tila korkean siipikarjatiheyden alueella tai useita epidemiologisia yhteyksiä	Luotetaan nopean osoituksen menetelmiin, joilla saadaan aikaisimmin näyttöä jonkin lintuinfluenssaviruksen esiintymisestä ⁽¹⁾ .
Useita tautipesäke-epäilyjä tai tauti leviää nopeasti, vaikka valvontaa harjoitetaan	Ilman nopeita toimia leviäminen muodostuu hallitsemattomaksi	Luotetaan nopean osoituksen menetelmiin, joilla saadaan aikaisimmin näyttöä jonkin lintuinfluenssaviruksen esiintymisestä, tai toimitaan kliinisten oireiden perusteella ⁽¹⁾ .

⁽¹⁾ Näissä tapauksissa on otettava kaikki näytteet, ja ne on säilytettävä myöhempää arviointia varten.

XI LUKU

Sikojen ja muiden nisäkkäiden lintuinfluenssavirustartuntojen taudinmääritys**1. Lintuinfluenssa sioilla**

Lintuinfluenssavirukset tarttuvat helposti sikoihin, ja vaikka monistuminen on useimmissa tapauksissa suhteellisen vähäistä, tartunnan saaneet siat saattavat levittää tautia siipikarjaan ja muihin taudille alttiisiin eläimiin. Tähän mennessä ei ole saatu kentältä näyttöä siitä, että tartunnan saaneet siat levittäisivät alatyyppejä H5 ja H7 olevia lintuinfluenssaviruksia.

Alankomaissa vuonna 2003 tapahtuneen taudinpurkauksen aikana saatu kokemus osoittaa, että H7N7-tartunnan saaneilla sioilla ei ollut havaittavissa kliinisiä oireita, jotka olisivat johdettavissa H7N7-tartuntaan. H5N1-viruksen aiheuttaman taudinpurkauksen kuluessa Aasiassa ja muualla ei ilmeisesti ole tähän mennessä raportoitu sairastuneista sioista.

Näin ollen ei voida luottaa siihen, että tartunnan saaneet siat paljastuisivat kliinisten oireiden ansiosta, vaikkakin tautia saattaa esiintyä kliinisesti sikojen saatua tartunnan muusta lintuperäisestä influenssaviruksesta, sitten kun virus on mukautunut isäntäänsä. Sikojen lintuinfluenssavirustartunnan taudinmääritys tapahtuu olennaisilta osin samalla tavalla kuin taudinmääritys lintulajeilla eli siinä eristetään virus, käytetään molekyyliarakenteeseen perustuvia menetelmiä ja todetaan spesifiset vasta-aineet hemagglutinaation inhibiitotestien avulla. Tiettyjä eroja kuitenkin on, eikä yhtäkään testeistä ole täysin validoitu käytettäväksi sioilla lintuinfluenssavirusten aiheuttaman tartunnan vahvistamiseksi.

2. Näytteet viruksen eristämiseksi

Lintuinfluenssatartunta rajoittuu sioilla yleensä hengitysteihin, ja niiltä on otettava näytteet hengitystiekudoksista sekä tarvittaessa pyyhkäisynäytteet henkitorvesta tai kärsästä — ne otetaan mieluiten sioilta, joilla on havaittavissa taudin oireita. Näitä näytteitä ja pyyhkäisynäytteitä voidaan käsitellä viruksen eristämiseksi tai viruksen molekyylien toteamiseksi käyttäen samoja menetelmiä kuin edellä kuvattiin linnuista otettujen näytteiden kohdalla. Kun käytetään PCR-menetelmiä, on kuitenkin järjestettävä asianmukainen kontrolli sen varmistamiseksi, etteivät sioilta otetuissa näytteissä olevat tekijät estä monistumista.

3. Munien inokulointi ja inkubointi

Nisäkkäiden influenssavirusten eristämiseksi 9–11 vuorokauden vanhoissa alkioasteella olevissa kananmunissa käytäntönä on tavallisesti, että jokainen muna inokuloidaan allantoisontelon kautta amniononteloon. Testattaessa lintuinfluenssavirusten kanssa kosketuksissa olleita sikoja, kun viruksella on ollut vähäiset mahdollisuudet mukautua, inokulointi allantoisonteloon todennäköisesti riittää.

Inkubaatiolämpötilaksi suositellaan yleensä 35 °C nisäkkäiden influenssa A -virusten eristämiseksi, mutta jälleen jos on kyse huonosti sikoihin sopeutuneista viruksista, 37 °C ei ole vahingollista viruksen eristämisen kannalta.

4. Spesifisten vasta-aineiden testaus HI-testeissä

Viruksen eristäminen tai spesifisten molekyylien osoittaminen ovat todennäköisesti herkimmat menetelmät sikojen lintuinfluenssavirustartunnan toteamiseksi. Sioilla on kuitenkin todettu serologisia vasteita, vaikkei virusta ole pystytty eristämään tai osoittamaan. Kun tehdään HI-testi sikojen seerumista, on VIII luvussa tarkoitettuun lintujen seerumia käyttävään testiin tehtävä joitakin mukautuksia.

Sian seerumi on tunnettu ei-spesifisestä inhibitiosta HI-testeissä, ja inhibition estämiseksi jokaista seeruminäytettä on käsiteltävä reseptoreja tuhoavalla entsymillä (RDE). On käytettävä seuraavaa menetelmää:

- a) Lisätään 100 µl:aan sian antiseerumia 400 µl RDE:tä (ennalta määritetty käyttölaimennos) ja sekoitetaan läpikotaisin.
- b) Inkuboidaan 37 °C:ssa yhden tunnin ajan.
- c) Inkuboidaan sitten 30 minuutin ajan 56 °C:ssa.
- d) Jäähdytetään näytteet 4 °C:ssa vähintään 15 minuutin ajan.
- e) Lisätään 10 µl 30-prosenttisia (v/v pakattuja soluja) kananpojan punasoluja ja sekoitetaan voimakkaasti.
- f) Inkuboidaan 4 °C:ssa yön yli. Vaihtoehtoisesti, jos on välttämätöntä käyttää näytteitä samana päivänä, inkuboidaan 37 °C:ssa yhden tunnin ajan ja sentrifugoidaan 300 kierrosta x g viiden minuutin ajan.

Tällä tavoin käsiteltyä seerumia käytetään sitten HI-testeissä kuten lintujen seerumin osalta kuvataan [...] kohdassa; alkulaimennos on 1:10. HI-testien spesifisyyttä kyseiselle viruskannalle on arvioitava käyttäen sikojen seerumeita, joiden tiedetään olevan lintuinfluenssan suhteen seronegatiivisia (ks. tautipesäkkeestä saadun viruskannan käyttö serologiassa; VIII luku). Alankomaissa vuonna 2003 tapahtuneen taudinpurkauksen aikana HI-testissä todettiin jopa 2,6 % ei-spesifisiä reaktiivisia aineita, kun käytettiin sian seerumia, joka oli kerätty taudinpurkauksesta erillään.

5. Näytteiden ottaminen sioilta

Erityisesti sekä sikoja että siipikarjaa — joko samoissa tai erillisissä kasvattamoissa — pitävillä tiloilla siat ovat vaarassa saada lintuinfluenssatartunnan suoraan tai välillisesti oltuaan kosketuksissa siipikarjaan tai siipikarjatuotteisiin. Tällaisen tartunnan sulkemiseksi pois on kerättävä henkitorvesta tai kärsästä otettavat pyyhkäisynäytteet ja verinäytteet IV luvun 8.21 kohdassa kuvattujen menettelyjen mukaisesti. Näytteet on otettava sioilta, joilla on havaittavissa taudin kliinisiä oireita. Jos sioilla ei kuitenkaan ole havaittavissa mitään kliinisiä oireita, näytteet voidaan kerätä sattumanvaraisesti kasvattamon eri puolilta. Pyyhkäisynäytteille on tehtävä nopeat molekyyli-testit ja/tai viruksen eristämistesti, jos tällaiset ovat käytettävissä kyseisessä laboratoriossa. RT-PCR-menetelmä on täytynyt validoida asianmukaisesti, ja sen on oltava vähintään yhtä herkkä kuin testin, jolla influenssa A -virus eristetään munissa.

Kahdesta neljään viikkoon lintuinfluenssataartunnan saaneen siipikarjan lopettamisen jälkeen sioilta on kerättävä vähintään 60 verinäytettä siten, että ainakin jotkin näytteistä hankitaan sellaisilta sikaryhmiltä, jotka ovat suoraan kosketuksissa toisiinsa. Näytteet on testattava HI-testissä käyttäen siipikarjan keskuudessa ilmenneestä tautipesäkkeestä peräisin olevaa virusta. Samassa testissä on testattava sekä taudin akuutista että toipumisvaiheesta otettuja näytteitä. Positiiviset näytteet voidaan vahvistaa käyttäen virusten neutralisaatiotestiä ja/tai Western blot -menetelmää.

Jos jokin näytteistä osoittautuu positiiviseksi, kaikilla suojavyöhykkeellä sijaitsevilla sikatiloilla on tehtävä epidemiologinen selvitys riippumatta siitä, ovatko tilat sekatyyppejä vai eivät.

6. Lintuinfluenssavirukset muilla nisäkkäillä kuin sioilla

Tutkimuksia on tehtävä sellaisilla muillakin nisäkkäillä kuin sioilla, jotka ovat lintuinfluenssavirukselle alttiita, esimerkiksi kissoilla. Ottaen erityisesti huomioon HPAI H5N1 -viruksen kissoja testattaessa on toimittava seuraavasti:

Paljain silmin näkyvät patologiset muutokset, jotka liittyvät virusreplikaatioon, keskittyvät keuhkoihin ja maksaan, minkä vuoksi näytteet virologisia tutkimuksia varten on kuolleilta eläimiltä otettava mieluiten juuri näistä elimistä. Eläviltä eläimiltä on viruksen toteamista varten otettava mieluiten pyyhkäisyinäytteet henkitorvesta/nielusta. Ulosteesta voidaan lisäksi erikseen ottaa pyyhkäisyinäytteet.

HI-määrittelyssä tutkittaville verinäytteille on tehtävä lämpökäsittely 56 °C:ssa 30 minuutin ajan mutta RDE-käsittely voidaan jättää tekemättä.

XII LUKU

Vähimmäisturvallisuusvaatimukset näytteiden kuljettamiseksi

1. Sellaisten näytteiden kuljettamisessa, joissa tiedetään tai epäillään esiintyvän patogeenejä, on aina noudatettava tiukoja kansallisia ja kansainvälisiä säännöksiä. Eristettyjä viruskantoja ei luokitella diagnostisiksi näytteiksi, vaan ne on pakattava kansainvälisten standardien mukaisesti.

Tässä luvussa esitetyt ohjeet koskevat ilmakuljetuksia, mutta samanlaisia pakkauksia on käytettävä myös kuljettaessa näytteet maitse tai meritse.

2. Diagnostisten näytteiden pakkaaminen kuljetusta varten

IATA:n sääntöjen mukaan kuljetettaville diagnostisille näytteille annetaan UN-numero 2814, 2900 tai 3373.

Lähetäjä — ei kuljetusyhtiö — on vastuussa lähetyksestä, kunnes paketti saapuu vastaanottajalle.

3. Primaaripakkaus

- a) Primaariastian(astioiden) on oltava vedenpitävä, esim. kierrekorkit on suljettava parafilmillä tai teipillä tai on ryhdyttävä vastaaviin varotoimiin.
- b) Jos primaariastioita on useita, ne on käärittävä yksitellen rikkoontumisen estämiseksi.
- c) Määritettäessä lähetettävien diagnostisten näytteiden tilavuutta on otettava huomioon viruksen kuljetuselatusaine.
- d) Primaariastioiden enimmäissisältö saa olla 500 ml tai 500 g.

Primaariastian koko sisältö muodostaa diagnostisen näytteen.

4. Sekundaaripakkaus

- a) Sekundaaripakkaukseen on laitettava riittävästi imukykyistä materiaalia imemään kaikkien primaariastioiden koko sisältö, jos primaariastiat vuotavat tai vahingoittuvat.
- b) Sekundaaripakkauksen on täytettävä diagnostisia näytteitä koskevat IATA:n pakkausvaatimukset, mukaan lukien 1,2 metrin (3,9 jalan) pudotustestimenettely. Tartuntavaarallisen aineen pakkausta (IATA:n pakkausohje 602) saa käyttää, koska tällainen pakkaus ylittää diagnostisen näytteen pakkausta koskevat vaatimukset.

- c) Tartuntavaarallisen aineen pakkauksessa on oltava vaaditut merkinnät (lyhenne "UN" on ympyröity): Esimerkki:

"UN 4G/CLASS 6.2/99/GB/2450"

- d) Sekundaaripakkauksen on oltava vedenpitävä. On noudatettava pakkauksen valmistajan tai muun valtuutetun osapuolen pakkausohjeita, jotka toimitetaan sekundaaripakkauksen mukana.
- e) Sekundaaripakkauksen ulkoisten mittojen on pienimmillään oltava vähintään 100 mm (neljä tuumaa).
- f) Sekundaaripakkauksen on oltava riittävän suuri lastausasiakirjoja, kuten lentorahtikirjaa, varten.

5. Ulkopakkaus

- a) Ulkopakkauksen sisältö saa olla enintään 4 l tai 4 kg.
- b) Tarvittaessa sekundaaripakkauksen ulkopuolelle on asetettava joko kuivajäätä tai märkää jäätä. Jos käytetään kuivajäätä, pakkauksesta on voitava vapautua hiilidioksidikaasua, eikä siinä saa syntyä sellaista painetta, että pakkaus voisi revetä. Jos käytetään märkää jäätä, pakkauksen on oltava tiivis.

Jokaisessa pakkauksessa ja lentorahtikirjassa on oltava seuraava merkintä täsmälleen tässä sanamuodossa:

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

- c) Sekundaaripakkauksen ja ulkopakkauksen välissä on oltava yksilöity luettelo sisällöstä.
- d) Ulkopakkaus on asetettava suljettuun muovipussiin sen suojaamiseksi kosteudelta.
- e) Vaarallisia aineita koskevaa lähettäjän ilmoitusta ei vaadita.

XIII LUKU

Virusten ja näytteiden lähettäminen yhteisön vertailulaboratorioon

1. Yhteisön vertailulaboratorioon lähetettävien näytteiden on oltava vaarallisten patogeenien kuljettamista yhteisössä koskevien suositusten samoin kuin Yhdistyneessä kuningaskunnassa voimassa olevien sääntöjen ja lainsäädännön mukaisia.

Tässä luvussa esitetyt ohjeita on noudatettava.

2. Virusten tai muun materiaalin lähettäminen yhteisön vertailulaboratorioon

- a) Kaikki materiaalit on pakattava tässä luvussa esitettyjen ohjeiden mukaisesti.
- b) Ulkopakkaukseen on laitettava seuraava merkintä:

"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) Mukaan on liitettävä yksi seuraavista lisenssinumeroista:

- i) lintuinfluenssavirusten osalta: "AHZ/2232/2002/5*"
- ii) kudosten ja muiden materiaalien "AHZ/2074C/2004/3*" osalta:

Koska nämä lisenssinumerot vaihtuvat aika ajoin, näytteet lähetettävän laboratorion on varmistettava ennen pakkausten lähettämistä, että se käyttää kulloinkin voimassa olevia lisenssinumeroita.

d) Pakkaus on osoitettava seuraavaan osoitteeseen:

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

e) Pakkauksen mukaan on liitettävä kirje, jossa selitetään mahdollisimman paljon viruskannoista, esim. laji ja ikä, alue/maa, jossa ne eristettiin, mahdolliset kliiniset taustatiedot.

f) Pakkaukset on lähetettävä lentopostina tai lentorahtina.

Jos pakkaukset lähetetään lentorahtina, yhteisön vertailulaboratoriolle on ennen materiaalin saapumista annettava faksitse, puhelimitse tai sähköpostitse lentorahtikirjan numero.

Lentorahtina lähetettäviin pakkauksiin on selkeästi laitettava seuraava merkintä:

"CARE OF TRANSGLOBAL" nopean käsittelyn varmistamiseksi lentokentällä.

Yhteisön vertailulaboratorion yhteystiedot:

Ian H. Brown, Director of the Reference Laboratory
Suora puh.: (44-1932) 35 73 39;
Suora faksi: (44-1932) 35 72 39;
Sähköposti: i.h.brown@vla.defra.gsi.gov.uk

Ruth Manvell, Reference Laboratory Manager
Suora puh.: (44-1932) 35 77 36 tai (44-1932) 35 77 08
Suora faksi: (44-1932) 35 78 56
Sähköposti: r.manvell@vla.defra.gsi.gov.uk

XIV LUKU

Lintuinfluenssan taudinmääryksiä tekevää laboratoriota koskevat vähimmäisturvallisuusvaatimukset

1. Lintuinfluenssan taudinmääryksiä tekevien laboratorioden turvallisuusvaatimusten on katettava toimet, joilla nämä eläinten terveyttä uhkaavat virukset pidetään eristettyinä, ja toimet, joilla suojellaan laboratoriossa työskenteleviä (ja ulkopuolisia) zoonoosien riskiltä.

Laboratorioissa noudatettavat vähimmäisturvallisuusvaatimukset on yhteisössä esitetty useissa direktiiveissä. Toimintaan liittyviä eri näkökohtia on lisäksi kuvattu ja esitetty jäljempänä mainituissa eurooppalaisissa standardeissa (EN). Taudinmääryksiä tekevien laboratorioden toiminnasta on vielä muita säännöksiä (EN), kuten hyvä laboratoriokäytäntö.

2. Laboratorioita käsittelevät yhteisön direktiivit

Neuvoston direktiivi 89/391/ETY, annettu 12 päivänä kesäkuuta 1989, toimenpiteistä työntekijöiden turvallisuuden ja terveyden parantamisen edistämiseksi työssä (EYVL L 183, 29.6.1989, s. 1).

Neuvoston direktiivi 90/679/ETY, annettu 26 päivänä marraskuuta 1990, työntekijöiden suojelemisesta vaaroilta, jotka liittyvät biologisille tekijöille altistumiseen työssä (seitsemäs direktiivin 89/391/ETY 16 artiklan 1 kohdassa tarkoitettu erityisdirektiivi) (EYVL L 374, 31.12.1990, s. 1).

Jos taudinmäärytys tehdään polymeerasiketjureaktio (PCR) -menetelmällä ja PCR-tuotteita kloonataan bakteeriplasmiin monistettavaksi esimerkiksi DNA:n sekvensointia varten, edellä mainittujen kahden direktiivin lisäksi sovelletaan seuraavaa direktiiviä ja seuraavia eurooppalaisia standardeja (EN):

Neuvoston direktiivi 90/219/ETY, annettu 23 päivänä huhtikuuta 1990, geneettisesti muunnettujen mikro-organismien käytöstä suljetuissa oloissa (EYVL L 117, 8.5.1990, s. 1).

3. Yhteisön direktiivien lisäksi on tunnettava eurooppalaiset standardit (EN):

EN 12128 Biotekniikka. Tutkimus-, kehitys- ja analyttiset laboratoriot. Mikrobiologisten laboratorioden eristystasot, riskialueet ja työskentelytilat ja fyysiset turvallisuusvaatimukset.

EN 12738 Biotechnology. Laboratories for research, development and analysis. Guidance for containment of animals inoculated with micro-organisms in experiments.

EN 12740 Biotechnology. Laboratories for research, development and analysis. Guidance for handling, inactivating and testing of waste.

EN 12741 Biotechnology. Laboratories for research, development and analysis. Guidance for biotechnology laboratory operations.

Laboratorioiden toiminnassa/hallinnossa sovelletaan seuraavia edellytyksiä:

4. Laboratorioita koskevat vaatimukset (eristystasot 1–4)

Euroopan parlamentin ja neuvoston direktiivi 2000/54/EY, annettu 18 päivänä syyskuuta 2000, työntekijöiden suojelemisesta vaaroilta, jotka liittyvät biologisille tekijöille altistumiseen työssä (seitsemäs direktiivin 89/391/ETY 16 artiklan 1 kohdassa tarkoitettu erityisdirektiivi) (EYVL L 262, 17.10.2000, s. 21), direktiivi 90/219/ETY ja eurooppalaiset standardit: EN 12128; EN 12740; EN 12741.

Eristämis- ja suojatoimenpide	Eristystaso			
	1	2	3	4
Erillinen laboratoriotila	ei	kyllä	kyllä	kyllä
Ovilla erotetut laboratoriot	ei	kyllä	kyllä	kyllä
Tarkkailuikkuna tai vastaava, jonka kautta tilassa olijat voidaan nähdä	valinnainen	valinnainen	valinnainen	kyllä
Henkilöstölle on järjestettävä käsienpesumahdollisuudet	kyllä	kyllä	kyllä	kyllä
Käytössä on oltava desinfiointimahdollisuudet (kädet)	valinnainen	kyllä	kyllä	kyllä
Pääsy rajoitettu	ei	kyllä	kyllä	kyllä
Erityiset toimenpiteet aerosolien leviämisen hallitsemiseksi	ei	kyllä minimoitava	kyllä estettävä	kyllä estettävä
Biologista vaaraa ilmaiseva merkki ovella	ei	kyllä	kyllä	kyllä
Suihku	ei	ei	valinnainen	kyllä
Silmien huuhtelu	kyllä	kyllä	kyllä	kyllä
Laboratorio: suljettavissa ilmatiiviisti kaasudesinfiointin suorittamiseksi	ei	ei	kyllä	kyllä
Vettä, happoja, emäksiä, liuottimia, desinfiointi- ja dekontaminaatioaineita kestävä helposti puhdistettavat pinnat	kyllä (pöytä)	kyllä (pöytä)	kyllä (pöytä, lattia)	kyllä (pöytä, lattia)
Käynti laboratorioon ilmasulun kautta	ei	ei	valinnainen	kyllä
Ilmanpaine alhaisempi kuin lähiympäristössä	ei	ei	valinnainen	kyllä
Tulo- ja poistoilman HEPA-suodatus	ei	ei	kyllä (poistoilma)	kyllä
Autoklaavi	laitoksessa	samassa rakennuksessa	laboratoriotilassa	samassa laboratoriossa, läpianatomalli

Eristämis- ja suojaustoimenpide	Eristystaso			
	1	2	3	4
Suojavaatetus	sopivat suoja- vaatteet	sopivat suoja- vaatteet	sopivat suoja- vaatteet (tarvit- taessa suojajalki- neet)	kaikkien vaat- teiden ja jalki- neiden vaihto ennen sisään- menoa ja ulos- tuloa
Käsineet	ei	valinnainen	kyllä	kyllä
Tehokas tartunnan levittäjien valvonta (esimerkiksi jyräjoiden ja hyönteisten varalta)	valinnainen	kyllä	kyllä	kyllä
Mikrobiologinen turvakaappi/tila	kyllä	kyllä	kyllä	kyllä
Laboratoriokohtaiset laitteet	ei	ei	suositellaan	kyllä

On olemassa muita eurooppalaisia standardeja, joissa käsitellään laboratorioiden hallintaa ja organisointia.

Lisäksi on muita kansallisia ja kansainvälisiä säännöksiä ja suosituksia, joita on noudatettava. Maailman terveysjärjestö (WHO) on julkaissut laboratorioiden bioturvallisuutta koskevasta käsikirjastaan kolmannen painoksen www.sivustolaan

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

5. Eläinten terveyteen liittyvät eristämistoimet

Jäsenvaltioiden eläinlääkintäviranomaisten on otettava käyttöön lintuinfluenssavirusten ja erityisesti HPAI-virusten mutta myös kaikkien alatyyppejä H5 ja H7 olevien lintuinfluenssavirusten eristämistä koskevat säännökset. Maailman eläintautijärjestön (OIE) maaeläinten terveyttä koskevan vuoden 2005 säännösten 1.4.5 luvussa annetaan asiasta jonkin verran opastusta, ja HPAI:ta pidetään OIE:n eristysryhmään 4 kuuluvana patogeeninä.

Lintuinfluenssavirusten käsittelyä koskevien säännösten voimaansaattaminen kuuluu kunkin jäsenvaltion eläinlääkintäviranomaisille.

Yhteisön vertailulaboratorion soveltamiin vähimmäisturvallisuusvaatimuksiin, joihin toimivat Yhdistyneen kuningaskunnan kansalliset säännöt, voi tutustua seuraavalla [www-sivustolla](http://www.defra.gov.uk/corporate/vla/science/science-viral-ai-reflab.htm):

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

6. Ihmisten terveyteen liittyvät hallintatoimet

Lintuinfluenssavirusten kanssa työskentelevien laboratorioiden on aina oltava tietoisia siitä, että nämä virukset saattavat olla ihmisille patogeenisia, ja laboratorion on toimittava sillä tavoin, että vältetään viruksen tarttuminen laboratoriossa työskenteleviin sekä viruksen karkaaminen siten, että se voisi tarttua ulkopuolisiin ihmisiin.

Sellaisten näytteiden käsittelystä, joiden epäillään sisältävän A-tyypin lintuinfluenssavirusta, löytyy ohjeet Maailman terveysjärjestön [www-sivustolta](http://www.sivustolta):

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