

II

(Actes dont la publication n'est pas une condition de leur applicabilité)

CONSEIL

DIRECTIVE 92/40/CEE DU CONSEIL

du 19 mai 1992

établissant des mesures communautaires de lutte contre l'influenza aviaire

LE CONSEIL DES COMMUNAUTÉS EUROPÉENNES,

vu le traité instituant la Communauté économique européenne, et notamment son article 43,

vu la proposition de la Commission ⁽¹⁾,

vu l'avis du Parlement européen ⁽²⁾,

vu l'avis du Comité économique et social ⁽³⁾,

considérant que la volaille figure à l'annexe II du traité; que la commercialisation de la volaille constitue une importante source de revenus pour la population agricole;

considérant qu'il est nécessaire d'instituer au niveau communautaire les mesures de lutte à arrêter en cas d'apparition de l'influenza aviaire, hautement pathogène, causée par un virus grippal ayant des caractéristiques spécifiques, ci-après dénommé «influenza aviaire», en vue de préserver la situation nationale du secteur de la volaille et de contribuer à la protection de la santé animale dans la Communauté;

considérant que l'influenza aviaire peut, dès son apparition, prendre un caractère épizootique provoquant une mortalité et des perturbations telles qu'elles risquent de compromettre notablement la rentabilité de l'ensemble du secteur de l'élevage de volaille;

considérant que des mesures doivent être prises dès que la présence de la maladie est suspectée afin de permettre une lutte immédiate et efficace lorsqu'elle est confirmée;

considérant qu'il est nécessaire d'éviter toute extension de la maladie dès son apparition par un contrôle précis des mouvements des animaux et de l'utilisation des produits susceptibles d'être contaminés, ainsi que par un recours éventuel à la vaccination;

considérant que le diagnostic de la maladie doit être effectué sous l'égide des laboratoires nationaux responsables dont la coordination doit être assurée par le laboratoire communautaire de référence;

considérant que des mesures communes de lutte contre l'influenza aviaire constituent une base pour le maintien d'une norme unifiée relative à la santé animale;

considérant que les dispositions de l'article 3 de la décision 90/424/CEE du Conseil, du 26 juin 1990, relative à certaines dépenses dans le domaine vétérinaire ⁽⁴⁾ s'appliquent lors de l'apparition de l'influenza aviaire;

considérant qu'il convient de confier à la Commission le soin d'arrêter les mesures d'application nécessaires,

A ARRÊTÉ LA PRÉSENTE DIRECTIVE:

Article premier

La présente directive définit les mesures communautaires de lutte à appliquer en cas d'apparition de l'influenza aviaire dans les élevages de volailles, sans préjudice des dispositions communautaires régissant les échanges intracommunautaires.

La présente directive ne s'applique pas en cas de découverte de l'influenza aviaire chez d'autres oiseaux; dans ce cas, toutefois, l'État membre concerné signale à la Commission toutes les mesures qu'il a prises.

Article 2

Aux fins de la présente directive, les définitions figurant à l'article 2 de la directive 90/539/CEE du Conseil, du 15 octobre 1990, relatives aux conditions de police sanitaire

⁽¹⁾ JO n° C 231 du 5. 9. 1991, p. 4.

⁽²⁾ JO n° C 326 du 16. 12. 1991, p. 242.

⁽³⁾ JO n° C 79 du 30. 3. 1992, p. 8.

⁽⁴⁾ JO n° L 224 du 18. 8. 1990, p. 19. Décision modifiée par la décision 91/133/CEE (JO n° L 66 du 13. 3. 1991, p. 18).

régissant les échanges intracommunautaires et les importations en provenance des pays tiers de volailles et d'œufs à couvrir ⁽¹⁾ s'appliquent le cas échéant.

En outre, on entend par:

- a) *volaille infectée*: toute volaille:
- sur laquelle la présence de l'influenza aviaire, au sens de l'annexe I, a été officiellement confirmée à la suite d'un examen effectué par un laboratoire agréé
 - ou
 - sur laquelle, s'il s'agit d'un second foyer ou d'un foyer ultérieur, des symptômes cliniques ou des lésions *post mortem* propres à l'influenza aviaire ont été constatés;
- b) *volaille suspecte d'être infectée*: toute volaille présentant des symptômes cliniques ou des lésions *post mortem* permettant de suspecter plausiblement la présence de l'influenza aviaire, ou toute volaille sur laquelle la présence du virus grippal de type A et de sous-type H5 ou H7 a été prouvée;
- c) *volaille suspecte d'être contaminée*: toute volaille pouvant avoir été directement ou indirectement au contact du virus de l'influenza aviaire ou d'un virus grippal de type A et de sous-type H5 ou H7;
- d) *autorité compétente*: l'autorité compétente au sens de l'article 2 point 6 de la directive 90/425/CEE ⁽²⁾;
- e) *vétérinaire officiel*: le vétérinaire désigné par l'autorité compétente.

Article 3

Les États membres veillent à ce que la suspicion de l'existence d'influenza aviaire fasse l'objet d'une notification obligatoire et immédiate à l'autorité compétente.

Article 4

1. Lorsque dans une exploitation se trouvent des volailles suspectes d'être infectées d'influenza aviaire, les États membres veillent à ce que le vétérinaire officiel mette en œuvre immédiatement les moyens d'investigation officiels visant à confirmer ou à infirmer la présence de ladite maladie; en particulier, il effectue ou fait effectuer les prélèvements adéquats en vue des examens de laboratoire.

2. Dès la notification de la suspicion, l'autorité compétente fait placer l'exploitation sous surveillance officielle et ordonne notamment que:

- a) soit effectué le recensement de toutes les catégories de volailles de l'exploitation en précisant pour chacune d'elles le nombre de volailles qui sont mortes, de celles qui présentent des signes cliniques et de celles qui ne présentent aucun signe. Le recensement devra être mis à jour pour tenir compte des volailles nées et mortes

⁽¹⁾ JO n° L 303 du 31. 10. 1990, p. 6. Directive modifiée en dernier lieu par la directive 91/496/CEE (JO n° L 268 du 24. 9. 1991, p. 56).

⁽²⁾ JO n° L 224 du 18. 8. 1990, p. 29. Directive modifiée en dernier lieu par la directive 91/496/CEE (JO n° L 268 du 24. 9. 1991, p. 56).

pendant la période de suspicion; les données de ce recensement devront être tenues à jour et produites sur demande et pourront être contrôlées à chaque visite;

- b) toutes les volailles de l'exploitation soient maintenues dans leurs locaux d'hébergement ou confinées dans d'autres lieux permettant leur isolement hors du contact d'autres volailles;
- c) tout mouvement de volailles en provenance ou à destination de l'exploitation soit interdit;
- d) soient subordonnés à l'autorisation de l'autorité compétente:
- tout mouvement de personnes, d'autres animaux et de véhicules en provenance ou à destination de l'exploitation,
 - tout mouvement de viandes ou cadavres de volailles, d'aliments des animaux, de matériel, déchets, déjections, litières, fumiers ou de tout ce qui est susceptible de transmettre l'influenza aviaire;
- e) la sortie des œufs de l'exploitation soit interdite, à l'exclusion des œufs qui sont envoyés directement dans un établissement agréé pour la fabrication et/ou le traitement des ovoproduits conformément à l'article 6 point 1 de la directive 89/437/CEE ⁽³⁾ et qui sont transportés conformément à une autorisation délivrée par l'autorité compétente. Cette autorisation devra répondre aux exigences de l'annexe I;
- f) la mise en place de moyens appropriés de désinfection aux entrées et sorties des bâtiments hébergeant des volailles, ainsi qu'à celles de l'exploitation;
- g) l'exécution d'une enquête épidémiologique conformément à l'article 7.

3. En attendant la mise en vigueur des mesures officielles prévues au paragraphe 2, le propriétaire ou le détenteur de tout élevage de volaille suspect de la maladie prend toutes les mesures raisonnables pour se conformer aux dispositions du paragraphe 2, à l'exclusion du point g).

4. L'autorité compétente peut appliquer l'une quelconque des mesures prévues au paragraphe 2 à d'autres exploitations dans le cas où leur implantation, leur topographie ou les contacts avec l'exploitation où la maladie est suspectée permettent de soupçonner une possibilité de contamination.

5. Les mesures prévues aux paragraphes 1 et 2 ne sont levées que lorsque la suspicion d'influenza aviaire est infirmée par le vétérinaire officiel.

Article 5

1. Dès que la présence de l'influenza aviaire est officiellement confirmée dans une exploitation, les États membres veillent à ce que l'autorité compétente ordonne, en complément des mesures prévues à l'article 4 paragraphe 2:

⁽³⁾ JO n° L 212 du 22. 7. 1989, p. 87. Directive modifiée par la directive 89/662/CEE (JO n° L 395 du 30. 12. 1989, p. 13).

- a) la mise à mort sur place et sans délai de toutes les volailles de l'exploitation. Les volailles mortes ou mises à mort et tous les œufs doivent être détruits. Ces opérations doivent être effectuées de manière à réduire à un minimum les risques de propagation de la maladie;
- b) la destruction ou le traitement approprié de toutes les matières ou de tous les déchets, tels les aliments, les litières et fumiers, susceptibles d'être contaminés. Ce traitement, effectué conformément aux instructions du vétérinaire officiel, devra assurer la destruction du virus de l'influenza aviaire éventuellement présent;
- c) la recherche, dans toute la mesure du possible, et la destruction des viandes des volailles provenant de l'exploitation et abattues au cours de la période présumée d'incubation de la maladie;
- d) la recherche et la destruction des œufs à couver pondus pendant la période présumée d'incubation et sortis de l'exploitation, étant entendu que les volailles déjà issues de ces œufs doivent être placées sous surveillance officielle; la recherche, dans toute la mesure du possible, et la destruction des œufs de table pondus pendant la période présumée d'incubation et sortis de l'exploitation, sauf s'ils ont été préalablement désinfectés correctement;
- e) le nettoyage et la désinfection, après l'exécution des opérations visées aux points a) et b), et conformément à l'article 11, des bâtiments utilisés pour l'hébergement des volailles et de leurs abords, des véhicules de transport et de tout matériel susceptible d'être contaminé;
- f) le respect, après l'exécution des opérations visées au point e), d'un vide sanitaire d'au moins vingt et un jours avant la réintroduction de volailles dans l'exploitation;
- g) l'exécution d'une enquête épidémiologique conformément à l'article 7.

2. L'autorité compétente peut étendre les mesures prévues au paragraphe 1 à d'autres exploitations voisines dans le cas où leur implantation, leur topographie ou le contact avec l'exploitation où la maladie a été confirmée permettent de suspecter une contamination éventuelle.

Article 6

Dans le cas d'exploitations comprenant deux ou plusieurs troupeaux distincts, l'autorité compétente peut, sur la base de critères fixés par la Commission selon la procédure prévue à l'article 21, déroger aux exigences de l'article 5 paragraphe 1 en ce qui concerne les troupeaux sains d'une exploitation infectée, pour autant que le vétérinaire officiel ait confirmé que les opérations qui y sont effectuées sont telles que les troupeaux sont totalement séparés sur le plan de l'hébergement, de l'entretien et de l'alimentation, de telle sorte que le virus ne puisse pas se propager d'un troupeau à l'autre.

Article 7

1. L'enquête épidémiologique porte sur:
 - la durée de la période pendant laquelle l'influenza aviaire peut avoir existé dans l'exploitation,

- l'origine possible de l'influenza aviaire dans l'exploitation et l'identification des autres exploitations dans lesquelles se trouvent des volailles ayant pu être infectées ou contaminées à partir de cette même source,
- les mouvements des personnes, des volailles ou d'autres animaux, des véhicules, des œufs, des viandes et cadavres et de tout matériel ou de toute matière susceptibles d'avoir transporté le virus de l'influenza aviaire à partir ou en direction des exploitations en cause.

2. Une cellule de crise est mise en place en vue d'une totale coordination de toutes les mesures nécessaires pour garantir l'éradication de l'influenza aviaire dans les meilleurs délais et en vue de l'exécution de l'enquête épidémiologique.

Les règles générales concernant les cellules de crise nationales et la cellule de crise communautaire sont arrêtées par le Conseil, statuant à la majorité qualifiée sur proposition de la Commission.

Article 8

1. Lorsque le vétérinaire officiel a des raisons de suspecter que les volailles d'une exploitation peuvent avoir été contaminées par suite de mouvements de personnes, d'animaux, de véhicules ou de toute autre manière, ladite exploitation est placée sous contrôle officiel conformément au paragraphe 2.

2. Le contrôle officiel a pour but de déceler immédiatement toute suspicion d'influenza aviaire, de procéder au recensement et au contrôle des mouvements de volailles ainsi que d'entreprendre éventuellement l'action prévue au paragraphe 3.

3. Lorsqu'une exploitation a été soumise au contrôle officiel conformément aux paragraphes 1 et 2, l'autorité compétente interdit la sortie des volailles de l'exploitation si ce n'est pour le transport direct vers un abattoir sous contrôle officiel en vue de leur abattage immédiat. Préalablement à l'octroi de ladite autorisation, le vétérinaire officiel doit avoir effectué un examen clinique des volailles permettant d'exclure la présence de l'influenza aviaire dans l'exploitation. Les restrictions de mouvements visées au présent article sont imposées pendant une période de vingt et un jours à compter du dernier jour de contamination potentielle; toutefois ces restrictions doivent être appliquées pendant une période d'au moins sept jours.

4. Lorsqu'elle estime que les conditions le permettent, l'autorité compétente peut limiter les mesures prévues au présent article à une partie de l'exploitation et aux volailles qui s'y trouvent, pour autant que lesdites volailles y aient été hébergées, entretenues et alimentées de façon totalement séparée et par un personnel distinct.

Article 9

1. Dès que le diagnostic d'influenza aviaire est officiellement confirmé, les États membres veillent à ce que l'autorité compétente délimite, autour de l'exploitation infectée une zone de protection d'un rayon minimal de trois kilomètres, elle-même inscrite dans une zone de surveillance d'un rayon minimal de dix kilomètres. La délimitation des zones doit tenir compte des facteurs d'ordre géographique, administratif, écologique et épizootique liés à l'influenza aviaire et des structures de contrôle.

2. Les mesures appliquées dans la zone de protection comprennent:

- a) l'identification de toutes les exploitations détenant des volailles à l'intérieur de la zone;
- b) des visites périodiques à toutes les exploitations détenant des volailles, un examen clinique desdites volailles, comprenant, le cas échéant, un prélèvement d'échantillons à des fins d'examen de laboratoire, étant entendu qu'un registre des visites et des observations faites doit être tenu;
- c) le maintien de toutes les volailles dans leurs locaux d'hébergement ou dans tout autre lieu permettant leur isolement;
- d) la mise en place de moyens appropriés de désinfection aux entrées et sorties des exploitations;
- e) le contrôle des mouvements des personnes manipulant des volailles, des cadavres de volailles et des œufs, ainsi que le contrôle des véhicules transportant des volailles, des cadavres de volailles et des œufs à l'intérieur de la zone; le transport des volailles est généralement interdit, sauf pour les faire transiter par les grands axes routiers ou ferroviaires;
- f) l'interdiction de sortie des volailles et des œufs à couver de l'exploitation où ils se trouvent, sauf si l'autorité compétente a autorisé le transport:
 - i) de volailles en vue de l'abattage immédiat dans un abattoir situé de préférence dans la zone infectée ou, si cela n'est pas possible, dans un autre abattoir situé en dehors de la zone et désigné par l'autorité compétente. Les viandes de ces volailles sont munies de la marque spéciale de salubrité prévue à l'article 5 paragraphe 1 de la directive 91/494/CEE ⁽¹⁾;
 - ii) de poussins d'un jour ou de poulettes prêtes à la ponte vers une exploitation qui est située dans la zone de surveillance et dans laquelle il n'y a aucune autre volaille. Cette exploitation doit être placée sous le contrôle officiel prévu à l'article 8 paragraphe 2;
 - iii) d'œufs à couver vers un couvoir désigné par l'autorité compétente, étant entendu que les œufs et leurs emballages doivent être désinfectés avant le départ. Les mouvements prévus aux points i), ii) et iii) doivent être directement exécutés, sous contrôle officiel. Ils ne peuvent être autorisés qu'après une visite sanitaire de l'exploitation par le vétérinaire officiel. Les moyens de transport utilisés doivent être nettoyés et désinfectés avant et après leur utilisation;
- g) l'interdiction d'enlever ou d'épandre sans autorisation les litières usées et fumiers de volaille;
- h) l'interdiction de tenir des foires, marchés, expositions et autres rassemblements de volailles ou d'oiseaux.

3. La levée des mesures dans la zone de protection intervient au plus tôt vingt et un jours après l'exécution,

⁽¹⁾ JO n° L 268 du 24. 9. 1991, p. 35.

conformément à l'article 11, des opérations préliminaires de nettoyage et de désinfection dans l'exploitation infectée. La zone de protection est alors comprise dans la zone de surveillance.

4. Les mesures appliquées dans la zone de surveillance comprennent:

- a) l'identification de toutes les exploitations détenant des volailles dans la zone;
- b) le contrôle des mouvements de volailles et d'œufs à couver à l'intérieur de la zone;
- c) l'interdiction des mouvements de volailles hors de la zone pendant les quinze premiers jours, sauf pour les acheminer directement vers un abattoir situé en dehors de la zone de surveillance et désigné par l'autorité compétente. Les viandes de ces volailles sont munies de la marque spéciale de salubrité prévue à l'article 5 de la directive 91/494/CEE;
- d) l'interdiction des mouvements d'œufs à couver hors de la zone de surveillance, sauf vers des couvoirs désignés par l'autorité compétente. Les œufs et leurs emballages doivent être désinfectés avant le départ;
- e) l'interdiction des mouvements de litières usées et de fumiers de volailles hors de la zone;
- f) l'interdiction de tenir des foires, marchés, expositions et autres rassemblements de volailles ou d'autres oiseaux;
- g) sans préjudice des cas prévus aux points a) et b), l'interdiction de transporter des volailles, à l'exclusion du transit par les grands axes routiers ou ferroviaires.

5. La levée des mesures appliquées dans la zone de surveillance intervient au plus tôt trente jours après l'exécution, conformément à l'article 11, des opérations préliminaires de nettoyage et de désinfection dans l'exploitation infectée.

6. Dans le cas où les zones se situent sur le territoire de plusieurs États membres, les autorités compétentes des États membres concernés collaborent afin de délimiter les zones visées au paragraphe 1. Toutefois, si nécessaire, la zone de protection et la zone de surveillance sont délimitées selon la procédure prévue à l'article 21.

Article 10

Les États membres veillent à ce que:

- a) l'autorité compétente fixe les modalités permettant de retracer les mouvements d'œufs et de volailles;
- b) le propriétaire ou détenteur de volailles soit tenu de fournir, à toute demande de l'autorité compétente, les renseignements concernant les mouvements de volailles et d'œufs à destination ou en provenance de son exploitation;
- c) toute personne pratiquant le transport ou le commerce de volailles et d'œufs soit en mesure de fournir à l'autorité compétente les renseignements concernant les mouvements des volailles et des œufs qu'elle a transportés ou commercialisés et d'apporter tout élément se rapportant à ces renseignements.

Article 11

Les États membres veillent à ce que:

- a) les désinfectants à utiliser ainsi que leurs concentrations soient officiellement approuvés par l'autorité compétente;
- b) les opérations de nettoyage et de désinfection soient effectuées sous contrôle officiel conformément:
 - i) aux instructions données par le vétérinaire officiel;
 - ii) à la procédure de nettoyage et de désinfection d'une exploitation infectée prévue à l'annexe II.

Article 12

Les prélèvements d'échantillons et les examens de laboratoire visant à déceler la présence du virus de l'influenza aviaire doivent être effectués conformément à l'annexe III.

Article 13

Les États membres veillent à ce que l'autorité compétente prenne toutes les mesures nécessaires afin d'informer les personnes établies dans les zones de protection et de surveillance des restrictions en vigueur et prenne toutes les dispositions qui s'imposent aux fins de la mise en œuvre appropriée de ces mesures.

Article 14

1. Les États membres veillent à ce que, dans chaque État membre soient désignés:

- a) un laboratoire national disposant d'installations et d'un personnel spécialisé lui permettant l'évaluation de la pathogénicité des isolats du virus grippal, conformément à l'annexe III chapitre 7, ainsi que l'identification des virus grippaux de type A et de sous-type H5 ou H7;
- b) un laboratoire national chargé de contrôler les réactifs utilisés par les laboratoires régionaux de diagnostic;
- c) un institut ou laboratoire national en mesure de contrôler la conformité des vaccins autorisés aux spécifications établies par l'autorisation de mise sur le marché.

2. Les laboratoires nationaux indiqués à l'annexe IV sont responsables de la coordination des normes et des méthodes de diagnostic, de l'utilisation de réactifs et du testage des vaccins.

3. Les laboratoires nationaux indiqués à l'annexe IV sont responsables de la coordination des normes et des méthodes de diagnostic fixées par chaque laboratoire de diagnostic de l'influenza aviaire dans l'État membre. À cette fin, ils:

- a) peuvent fournir des réactifs de diagnostic aux laboratoires nationaux;
- b) contrôlent la qualité de tous les réactifs de diagnostic utilisés dans ledit État membre;

- c) organisent périodiquement des tests comparatifs;
- d) conservent des isolats du virus de l'influenza aviaire provenant de cas confirmés dans ledit État membre;
- e) veillent à confirmer les résultats positifs obtenus dans les laboratoires de diagnostic régionaux.

4. Les laboratoires nationaux indiqués à l'annexe IV coopèrent avec le laboratoire communautaire de référence visé à l'article 15.

Article 15

Le laboratoire communautaire de référence pour l'influenza aviaire est indiqué à l'annexe V. Sans préjudice des dispositions de la décision 90/424/CEE, et notamment de son article 28, les compétences et tâches de ce laboratoire sont celles qui figurent à ladite annexe.

Article 16

La vaccination contre l'influenza aviaire à l'aide de vaccins autorisés par l'autorité compétente ne peut être pratiquée qu'en complément des mesures de lutte prises lors de l'apparition de la maladie et conformément aux dispositions suivantes.

- a) La décision d'introduire la vaccination en complément des mesures de lutte est prise, en collaboration avec l'État membre concerné, par la Commission, statuant selon la procédure prévue à l'article 21. Cette décision se fonde en particulier sur les critères suivants:
 - la concentration de la volaille dans la zone touchée,
 - les caractéristiques et la composition de chaque vaccin utilisé,
 - les modalités de contrôle de la distribution, du stockage et de l'utilisation des vaccins,
 - les espèces et les catégories de volailles pouvant ou devant être soumises à la vaccination,
 - les zones dans lesquelles la vaccination peut ou doit être pratiquée.

Toutefois, par dérogation au premier alinéa, la décision d'instaurer la vaccination d'urgence autour du foyer peut être prise par l'État membre concerné, après notification à la Commission, pourvu qu'il ne soit pas porté atteinte aux intérêts fondamentaux de la Communauté. Cette décision sera immédiatement réexaminée dans le cadre du comité vétérinaire permanent, selon la procédure prévue à l'article 21.

- b) Lorsqu'un État membre est autorisé, conformément au point a), à recourir à la vaccination d'urgence sur une partie limitée de son territoire, le statut du territoire restant n'est pas affecté, pourvu que les mesures d'immobilisation des animaux vaccinés soient effectives pendant une période à déterminer selon la procédure prévue à l'article 21.

Article 17

1. Chaque État membre établit un plan d'urgence, spécifiant les mesures nationales à mettre en œuvre en cas d'apparition de l'influenza aviaire.

Ce plan doit permettre l'accès aux installations, à l'équipement, au personnel et à tout autre matériel approprié nécessaire pour une éradication rapide et efficace du foyer.

2. Les critères à appliquer pour l'établissement des plans sont énoncés à l'annexe VI.

3. Les plans établis conformément aux critères énoncés à l'annexe VI sont soumis à la Commission au plus tard six mois après la mise en application de la présente directive.

4. La Commission examine les plans afin de déterminer s'ils permettent d'atteindre l'objectif visé et propose à l'État membre en question toute modification nécessaire, notamment en vue de garantir qu'ils sont compatibles avec ceux des autres États membres.

La Commission approuve les plans, éventuellement modifiés, selon la procédure prévue à l'article 21.

Les plans peuvent être modifiés ou complétés ultérieurement selon la même procédure pour tenir compte de l'évolution de la situation.

Article 18

1. Des experts de la Commission peuvent, dans la mesure où cela est nécessaire pour l'application uniforme de la présente directive et en collaboration avec les autorités compétentes, effectuer des contrôles sur place. Pour ce faire, ils peuvent vérifier par le contrôle d'un pourcentage représentatif d'établissements si les autorités compétentes contrôlent le respect de la présente directive par les établissements. La Commission informe les États membres du résultat des contrôles effectués.

L'État membre sur le territoire duquel est effectué un contrôle apporte toute l'aide nécessaire aux experts dans l'accomplissement de leur mission.

Les modalités d'application du présent article sont arrêtées selon la procédure prévue à l'article 21.

Article 19

Les conditions de participation financière de la Communauté aux actions liées à la mise en œuvre de la présente directive sont définies par la décision 90/424/CEE.

Article 20

Les annexes sont modifiées, en tant que de besoin, par le Conseil statuant à la majorité qualifiée sur proposition de la Commission, notamment pour tenir compte de l'évolution des recherches et des procédures de diagnostic.

Article 21

1. Dans le cas où il est fait référence à la procédure définie au présent article, le comité vétérinaire permanent, institué par la décision 68/361/CEE ⁽¹⁾ ci-après dénommé «comité» est saisi sans délai par son président, soit à l'initiative de celui-ci, soit à la demande du représentant d'un État membre.

2. Le représentant de la Commission soumet au comité un projet des mesures à prendre. Le comité émet son avis sur ce projet dans un délai que le président peut fixer en fonction de l'urgence de la question en cause. L'avis est émis à la majorité prévue à l'article 148 paragraphe 2 du traité pour l'adoption des décisions que le Conseil est appelé à prendre sur proposition de la Commission. Lors des votes au sein du comité, les voix des représentants des États membres sont affectées de la pondération définie audit article. Le président ne prend pas part au vote.

3. a) La Commission arrête les mesures envisagées lorsqu'elles sont conformes à l'avis du comité.

b) Lorsque les mesures envisagées ne sont pas conformes à l'avis du comité, ou en l'absence d'avis, la Commission soumet sans tarder au Conseil une proposition relative aux mesures à prendre. Le Conseil statue à la majorité qualifiée.

Si, à l'expiration d'un délai de trois mois à compter de la date à laquelle il a été saisi, le Conseil n'a pas statué, les mesures proposées sont arrêtées par la Commission, sauf dans le cas où le Conseil s'est prononcé à la majorité simple contre lesdites mesures.

Article 22

Les États membres mettent en vigueur les dispositions législatives, réglementaires et administratives nécessaires pour se conformer à la présente directive avant le 1^{er} janvier 1993. Ils en informent immédiatement la Commission.

Lorsque les États membres adoptent ces dispositions, celles-ci contiennent une référence à la présente directive ou sont accompagnées d'une telle référence lors de leur publication officielle. Les modalités de cette référence sont arrêtées par les États membres.

Article 23

Les États membres sont destinataires de la présente directive.

Fait à Bruxelles, le 19 mai 1992.

Par le Conseil

Le président

Arlindo MARQUES CUNHA

⁽¹⁾ JO n° L 265 du 18. 10. 1968, p. 23.

ANNEXE I

AUTORISATION DE SORTIR DES ŒUFS D'UNE EXPLOITATION SOUMISE AUX CONDITIONS DE L'ARTICLE 4 PARAGRAPHE 2 POINT E) DE LA PRÉSENTE DIRECTIVE

L'autorisation délivrée par l'autorité compétente aux fins de transport des œufs d'une exploitation suspecte soumise aux dispositions de l'article 4 paragraphe 2 point e) vers un établissement agréé pour la fabrication et pour le traitement d'ovoproduits conformément à l'article 6 paragraphe 1 de la directive 89/437/CEE, ci-après dénommé «établissement désigné» devra respecter les conditions suivantes:

- 1) pour pouvoir quitter l'exploitation suspecte, les œufs devront:
 - a) satisfaire aux exigences de l'annexe du chapitre IV de la directive 89/437/CEE;
 - b) être envoyés directement de l'exploitation suspecte à l'établissement désigné; chaque envoi devra être scellé avant le départ par le vétérinaire officiel de l'exploitation suspecte et devra rester scellé pendant toute la durée du transport jusqu'à l'établissement désigné;
- 2) le vétérinaire officiel de l'exploitation suspecte informe l'autorité compétente de l'établissement désigné de l'intention de lui envoyer des œufs;
- 3) l'autorité compétente responsable de l'établissement désigné s'assurera que:
 - a) les œufs mentionnés au point 1 b) seront maintenus isolés des autres œufs depuis leur arrivée jusqu'à ce qu'ils soient traités;
 - b) les coquilles de ces œufs seront considérées comme du matériel à haut risque conformément à l'article 2 paragraphe 2 de la directive 90/667/CEE ⁽¹⁾ et seront traitées conformément aux exigences du chapitre II de la directive précitée;
 - c) le matériel d'emballage, les véhicules utilisés pour le transport des œufs mentionnés au point 1 b) et tous les lieux avec lesquels les œufs seront entrés en contact seront nettoyés et désinfectés de telle sorte que tout virus de l'influenza aviaire soit détruit;
 - d) le vétérinaire officiel de l'exploitation suspecte est informé de toute expédition d'œufs traités.

(1) JO n° L 363 du 27. 12. 1990, p. 51.

ANNEXE II

PROCÉDURE DE NETTOYAGE ET DE DÉSINFECTION D'UNE EXPLOITATION INFECTÉE

I. Nettoyage préliminaire et désinfection

- a) Dès que les carcasses de volailles ont été enlevées pour être détruites, les parties des locaux ayant hébergé les volailles et toute partie de bâtiment, enclos, etc., contaminées pendant l'abattage ou l'inspection *post mortem*, doivent être aspergées de désinfectant approuvé conformément à l'article 11 de la présente directive.
- b) tous tissus de volailles et d'œufs qui auraient pu contaminer les bâtiments, les enclos, les ustensiles, etc., doivent être soigneusement récupérés et détruits avec les carcasses.
- c) Le désinfectant utilisé doit rester sur la surface traitée au moins 24 heures.

II. Nettoyage final et désinfection

- a) La graisse et les souillures doivent être enlevées de toutes les surfaces par application d'un dégraissant, puis lavées à l'eau.
- b) Après le lavage à l'eau décrit au point a), il faut asperger à nouveau de désinfectant.
- c) Après sept jours, les locaux doivent être traités à l'aide d'un dégraissant, rincés à l'eau froide, aspergés de désinfectant et rincés une nouvelle fois à l'eau.
- d) Les litières usées et le fumier doivent être traités par une méthode apte à tuer le virus. Cette méthode doit comprendre l'une des manipulations suivantes:
 - i) être incinérés ou traités par la vapeur à une température de 70° C;
 - ii) être enfouis à une profondeur empêchant les vermines et les oiseaux sauvages d'y avoir accès;
 - iii) être empilés et humidifiés (si nécessaire pour faciliter la fermentation), être couverts pour maintenir la chaleur de telle sorte qu'une température de 20° C soit atteinte et demeurer couverts pendant 42 jours de manière à empêcher les vermines et les oiseaux sauvages d'y avoir accès.

ANNEXE III

MÉTHODES DE DIAGNOSTIC POUR LA CONFIRMATION ET DIAGNOSTIC DIFFÉRENTIEL DE L'INFLUENZA AVIAIRE

Les méthodes d'isolement et de caractérisation des virus de l'influenza aviaire exposées ci-après doivent être considérées comme des orientations et comme les *minima* à appliquer pour les diagnostics de la maladie.

Aux fins des méthodes de diagnostic pour la confirmation et du diagnostic différentiel de l'influenza aviaire, on entend par:

«influenza aviaire»: l'infection des volailles causée par tout virus grippal de type A ayant, chez les poulets âgés de six semaines, un indice de pathogénicité intraveineux supérieur à 1,2 ou toute infection causée par des virus grippaux de type A et de sous-types H5 ou H7 pour lesquels de séquençage des nucléotides a prouvé la présence d'acides aminés basiques multiples au niveau du site de coupure de l'hémagglutinine.

CHAPITRE 1

Échantillonnage et traitement des échantillons

1. Échantillons

Écouvillonnages cloacaux (ou fèces) et écouvillonnages trachéaux d'oiseaux malades; fèces ou contenus des organes (intestin, encéphale, trachée, poumons, foie, rate et autres), manifestement affectés, provenant de cadavres frais d'oiseaux.

2. Traitement des échantillons

Les organes et tissus mentionnés au paragraphe 1 peuvent être groupés, mais il est impératif que les matières fécales soient traitées séparément. Les écouvillonnages doivent être placés dans une quantité de milieu antibiotique suffisante pour assurer leur immersion totale. Les échantillons de fèces et d'organes doivent être homogénéisés (à l'aide d'un mélangeur fermé ou d'un pilon et de sable stérile) dans un milieu antibiotique jusqu'à l'obtention de suspension à 10-20% p/v dans le milieu. Laisser reposer les suspensions pendant deux heures environ à la température ambiante (ou plus longtemps à 4° C), puis les clarifier par centrifugation (par exemple, 800 à 1 000 tours g pendant dix minutes).

3. Milieu antibiotique

Différents laboratoires ont utilisé avec succès diverses formulations de milieux antibiotiques et les laboratoires nationaux seront en mesure d'offrir des conseils. Des concentrations élevées d'antibiotiques sont nécessaires pour les échantillons de fèces. Le mélange suivant est typique: 10 000 unités/ml de pénicilline, 10 mg/ml de streptomycine, 0,25 mg/ml de gentamycine et 5 000 unités/ml de mycostatine dans une solution tamponnée au phosphate (STP). Ces taux peuvent être cinq fois moins élevés pour les tissus et les écouvillonnages trachéaux. Pour le contrôle des Chlamydia, l'addition de 50 mg/ml d'oxytétracycline est autorisée. Lors de la confection du milieu, il est impératif que le pH soit contrôlé après addition des antibiotiques et ajusté pour obtenir un pH compris entre 7,0 et 7,4.

CHAPITRE 2

Isolement du virus

Isolement du virus dans les œufs embryonnés de poules

Inoculer entre 0,1 et 0,2 ml du surnageant clarifié dans la cavité allantoïdienne d'au moins quatre œufs embryonnés de poules, mis à incuber pendant 8 à 10 jours. Idéalement, ces œufs devraient être issus d'un troupeau exempt d'organes pathogènes spécifiques, mais, si cela n'est pas possible, il est admis d'utiliser des œufs issus d'un troupeau reconnu exempt d'anticorps du virus de l'influenza aviaire. Les œufs inoculés sont conservés à 37° C et mirés quotidiennement. Au fur et à mesure, les œufs contenant des embryons morts ou mourants et tous les œufs restant après six jours d'inoculation doivent être réfrigérés à 4° C et faire l'objet d'une recherche d'hémagglutinines à partir du liquide allantoïdien/amniotique. En l'absence d'hémagglutination, on répète cette procédure en utilisant comme *inoculum* le liquide allantoïdien/amniotique non dilué.

Lorsqu'il y a hémagglutination, la présence de bactéries doit être exclue par culture. S'il y a des bactéries, il est admis de passer les liquides par un filtre à membrane de 450 nm, d'ajouter un complément d'antibiotiques et d'inoculer les œufs embryonnés comme indiqué ci-dessus.

CHAPITRE 3

Diagnostic différentiel

1. *Différentiation préliminaire*

Étant donné qu'il est important de mettre en œuvre, dès que possible, des mesures de lutte contre l'influenza aviaire visant à limiter la propagation du virus, chaque laboratoire régional devrait être en mesure d'identifier tout virus hémagglutinant isolé comme étant un virus grippal de sous-type H5 ou H7, en plus du virus de la maladie de Newcastle. Les liquides hémagglutinants devraient donc être utilisés dans un test d'hémagglutination tel qu'il est décrit aux chapitres 5 et 6. Une inhibition positive, c'est-à-dire 2⁴ ou plus, à l'aide d'antisérums polyclonaux spécifiques de sous-type H5 ou H7 de la grippe de type A, d'un titre d'au moins 2³, pourra servir d'identification préliminaire permettant la mise en œuvre de mesures de contrôle intérimaires.

2. *Confirmation*

Étant donné qu'il existe treize sous-types d'hémagglutinine et neuf sous-types de neuraminidase des virus grippaux et que chacun de ces sous-types présente des variations, il n'est ni possible ni rentable pour les laboratoires nationaux de conserver des antisérums qui permettraient une caractérisation antigénique complète des isolats de la grippe. Toutefois, chaque laboratoire national devrait:

- i) confirmer le fait que l'isolat est un virus grippal de type A, à l'aide d'un test d'immunodiffusion double, afin de détecter les groupements d'antigènes, selon la méthode décrite au chapitre 9 (le laboratoire national pourra utiliser, s'il le préfère, l'immunofluorescence ou les techniques ELISA pour détecter les groupements d'antigènes);
- ii) déterminer si l'isolat est ou n'est pas de sous-type H5 ou H7;
- iii) effectuer un test de recherche de l'indice de pathogénicité intraveineux chez les poulets âgés de six semaines, selon la méthode décrite au chapitre 7. Des indices de pathogénicité intraveineux supérieurs à 1,2 indiquent la présence du virus et exigent la pleine application des mesures de contrôle (il serait utile que les laboratoires nationaux effectuent également des tests, en vue de déterminer la capacité d'un isolat de produire des plages dans les cultures cellulaires, comme prévu au chapitre 8).

Les laboratoires nationaux devraient immédiatement soumettre tous les isolats de l'influenza aviaire et les isolats de sous-type H5 ou H7 au laboratoire communautaire de référence à des fins de caractérisation complète.

3. *Poursuite du typage et caractérisation des isolats*

Le laboratoire communautaire de référence devrait recevoir tous les virus hémagglutinants des laboratoires nationaux à des fins de complément d'études antigéniques et génétiques permettant de mieux comprendre l'épizootologie de la ou des maladies au sein de la Communauté, dans le cadre des compétences et des tâches du laboratoire communautaire de référence.

En plus de ces fonctions, le laboratoire communautaire de référence effectuera le typage antigénique complet de tous les virus grippaux qu'il reçoit. En ce qui concerne les virus H5 et H7 qui n'ont pas des indices de pathogénicité intraveineux supérieurs à 1,2, le séquençage des nucléotides du gène hémagglutinine devrait également être effectué, afin de déterminer la présence d'acides aminés basiques multiples dans le site de coupure de la protéine de l'hémagglutinine. Des virus possédant des acides aminés basiques multiples dans le site de coupure, bien que présentant des indices faibles de pathogénicité, exigeront la pleine application des mesures de lutte contre l'influenza aviaire.

CHAPITRE 4

Tests sérologiques de détection des anticorps du virus de l'influenza aviaire

1. Pendant les programmes d'éradication où le sous-type H du virus responsable est connu, ou lorsque le virus homologue est utilisé comme antigène, on peut procéder à un contrôle sérologique afin de prouver l'infection à l'aide de tests d'inhibition de l'hémagglutination, selon la méthode décrite aux chapitres 5 et 6.

Si le sous-type de l'hémagglutinine n'est pas connu, la présence de l'infection due aux virus grippaux de type A peut être prouvée en détectant des anticorps dirigés vers les antigènes spécifiques du groupe.

À cette fin, on procède soit à un test d'immunodiffusion double (tel que décrit au chapitre 9), soit à un test ELISA (un des inconvénients de ce test est la spécificité de ses hôtes, puisqu'il dépend de la détection des immunoglobulines hôtes). Les oiseaux aquatiques présentent rarement des résultats positifs aux tests d'immunodiffusion double, et, à moins que le sous-type soit connu, il est probablement possible d'examiner ces oiseaux uniquement afin de détecter la présence d'anticorps dans les sous-types H5 et H7.

2. a) *Échantillons*

Les échantillons sanguins doivent être prélevés sur tous les oiseaux pour les troupeaux en comptant moins de 20 et sur 20 oiseaux pour les troupeaux plus importants (cela donne une probabilité de 99 % de déceler au moins 1 sérum positif si 25 % ou plus des animaux du troupeau sont positifs, quelle que soit la taille du troupeau). Pour le test, il convient de laisser coaguler le sang et d'enlever le sérum.

b) *Recherche des anticorps*

Il conviendrait de rechercher la capacité des échantillons individuels de sérum à inhiber l'antigène hémagglutinant du virus grippal dans des tests standards d'inhibition de l'hémagglutination comme décrits au chapitre 6.

Les avis sont partagés quant à la question de savoir s'il convient d'utiliser, pour le test d'inhibition de l'hémagglutination, 4 ou 8 unités hémagglutinantes. Il semble que les deux solutions soient valables et le choix devrait être laissé à la discrétion des laboratoires nationaux.

Toutefois, l'antigène utilisé affectera le niveau auquel un sérum est considéré positif: pour 4 unités hémagglutinantes, est considéré positif tout sérum dont le titre est égal ou supérieur à 2^4 , pour 8 unités hémagglutinantes, tout sérum dont le titre est égal ou supérieur à 2^3 .

CHAPITRE 5

Test d'hémagglutination (HA)

Réactifs

1. Solution isotonique tamponnée au phosphate (STP) (0,05M), avec un pH compris entre 7,0 et 7,4.
2. Prélever des hématies en mélange provenant d'au moins 3 poules exemptes d'organisation pathogènes spécifiques (si l'on n'en dispose pas, prélever du sang sur des oiseaux régulièrement contrôlés et reconnus exempts d'anticorps du virus de l'influenza aviaire) et les placer dans un volume égal de solution d'Alsever. Laver les cellules trois fois dans la STP avant l'utilisation. Pour l'autre test, une suspension à 1 % (valeur hématocrite) dans le PBS est recommandée.
3. Le laboratoire de référence communautaire fournira ou recommandera les virus H5 et H7 de faible virulence pour servir d'antigènes standard.

Méthode

1. Distribuer 0,025 ml de STP dans chaque puits d'une microplaque en plastique (utiliser des fonds en V).
2. Verser 0,025 ml de suspension du virus (c'est-à-dire de liquide allantoïdien dans le premier puits).
3. Utiliser un microdilueur ou réaliser des dilutions par dédoublement du virus (1/2 à 1/4096) de puits en puits.
4. Ajouter 0,025 ml de PBS dans chaque puits.
5. Ajouter 0,025 ml d'hématies à 1 % dans chaque puits.
6. Mélanger en tapotant doucement et laisser reposer à 4° C.
7. Lire les plaques 30 à 40 minutes plus tard lorsque la sédimentation des témoins est achevée. Pour lire, incliner la plaque pour observer la présence ou l'absence d'un flux en forme de larme des hématies. Les puits sans hémagglutination devraient s'écouler au même rythme que les cellules témoins sans virus.
8. Le titre hémagglutinant correspond à la dilution la plus élevée entraînant l'agglutination des hématies. Cette dilution peut être considérée comme contenant une unité hémagglutinante. Une méthode plus précise pour déterminer le titre hémagglutinant consiste à réaliser les tests HA sur des virus provenant d'une gamme complète de dilution initiale du type 1/3, 1/4, 1/5, 1/6, etc. Cette méthode est recommandée pour la préparation précise de l'antigène destiné aux tests d'inhibition de l'hémagglutination (chapitre 6).

CHAPITRE 6

Test d'inhibition de l'hémagglutination (HI)

Réactifs

1. Solution tampon au phosphate (STP).
2. Liquide allantoïdien contenant le virus, dilué dans la STP et contenant 4 ou 8 unités hémagglutinantes par 0,025 ml.
3. Hématies de poulet à 1%.
4. Sérum témoin négatif de poulet.
5. Sérum témoin positif.

Méthode

1. Distribuer 0,025 ml de STP dans tous les puits d'une microplaque plastique (puits à fond en V).
2. Verser 0,025 ml de sérum dans le premier puits de la plaque.

3. Utiliser un microdilueur pour réaliser les dilutions doubles de sérum de puits en puits.
4. Ajouter 0,025 ml de liquide allantoïdien dilué contenant 4 ou 8 unités hémagglutinantes.
5. Mélanger en tapotant doucement et laisser reposer la plaque à 4° C pendant un minimum de 60 minutes ou à la température ambiante pendant un minimum de 30 minutes.
6. Ajouter 0,025 ml d'hématies à 1 % dans tous les puits.
7. Mélanger en tapotant doucement et laisser reposer à 4° C.
8. Lire les plaques après 30 à 40 minutes lorsque la sédimentation des hématies témoins est terminée. Lire en inclinant la plaque pour observer la présence ou l'absence d'un flux en forme de larme s'écoulant au même rythme que les puits témoins contenant des hématies (0,025 ml) et du PBS (0,05 ml) uniquement.
9. Le titre HI correspond à la dilution la plus élevée d'antisérum entraînant une inhibition complète de 4 à 8 unités du virus (le titrage du HA pour confirmer la présence du nombre requis d'unités hémagglutinantes doit être inclus pour chaque test HI).
10. La validité des résultats dépend de l'obtention d'un titre inférieur à 2³ pour 4 unités hémagglutinantes ou 2² pour 8 unités hémagglutinantes avec le sérum témoin négatif et d'un titre d'une dilution immédiatement supérieure ou immédiatement inférieure au titre connu du sérum témoin positif.

CHAPITRE 7

Indice de pathogénicité intraveineux (IVPI)

1. Diluer à 10⁻¹ dans du liquide physiologique stérile du liquide allantoïdien infectieux dès le niveau de passage disponible le plus bas, de préférence dès l'isolement initial, sans sélection préalable.
2. Injecter par voie intraveineuse 0,1 ml du virus dilué à 10 poussins âgés de six semaines (les oiseaux utilisés doivent être indemnes d'organismes pathogènes spécifiques).
3. Examiner les sujets à 24 heures d'intervalle pendant 10 jours.
4. À chaque observation, attribuer un coefficient à chaque animal: 0 = normal, 1 = malade, 2 = gravement malade et 3 = mort.
5. Enregistrer les résultats et calculer l'indice selon l'exemple indiqué ci-dessous:

Signes cliniques	Jours suivant l'inoculation										Total score
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Normaux	10	2	0	0	0	0	0	0	0	0	12 × 0 = 0
Malades	0	4	2	0	0	0	0	0	0	0	6 × 1 = 6
Gravement malades (*)	0	2	2	2	0	0	0	0	0	0	6 × 2 = 12
Morts	0	2	6	8	10	10	10	10	10	10	76 × 3 = 228
											Total = 246

$$\text{Indice} = \text{résultat moyen par animal et par observation} = \frac{246}{100} = 2,46$$

(*) Cette évaluation clinique doit être subjective, mais normalement elle suppose que les oiseaux présentent plusieurs des symptômes suivants: troubles respiratoires, abattement, diarrhée, cyanose de la peau exposée ou barbillons, œdème de la face et/ou de la tête, troubles nerveux.

CHAPITRE 8

Évaluation de la capacité à former des plages

1. Il est généralement préférable d'utiliser une gamme de dilution du virus pour faire en sorte d'obtenir un nombre optimum de plages sur la plaque. Des dilutions décuplées allant jusqu'à 10⁻⁷ dans le PBS devraient être suffisantes.
2. Des cultures monocouches confluentes de cellules d'embryon de poulet ou une lignée cellulaire appropriée (par exemple, Madin-Darby bovine kidney) sont préparées dans des boîtes de Petri de 5 cm de diamètre.

3. Ajouter 0,2 ml de chaque dilution du virus dans chacune des deux boîtes de Petri et laisser reposer 30 minutes pour l'absorption du virus.
4. Après avoir été lavées trois fois dans la STP, les cellules infectées sont recouvertes d'un milieu approprié contenant de l'agar à 1 % p/v et éventuellement 0,01 mg/ml de trypsine. Il est important de n'ajouter aucun sérum au milieu d'immersion.
5. Après une incubation de 72 heures à 37° C, les plages devraient être d'une taille suffisante. Pour une meilleure observation, enlever la couverture d'agar et colorer la culture monocouche à l'aide de crystal violet (0,5 % p/v) dans 25 % p/v d'éthanol.
6. Tous les virus doivent présenter des plages claires lorsqu'ils sont incubés dans un milieu contenant de la trypsine. Lorsque les milieux de couverture ne contiennent pas de trypsine, seuls les virus virulents pour les poulets formeront des plages.

CHAPITRE 9

Immunodiffusion double

Pour démontrer la présence du virus grippal de type A, on préfère utiliser la méthode qui démontre le fait que la nucléocapside ou les antigènes de la matrice sont communs à tous les virus grippaux de type A. Cette méthode est généralement utilisée dans les tests d'immunodiffusion double qui supposent soit des préparations à base de virus concentré, soit des extraits de membranes chorio-allantoïdiennes infectées.

Des préparations appropriées à base de virus concentré peuvent être obtenues par simple centrifugation à vitesse de rotation élevée du liquide allantoïdien infectieux et par rupture du virus afin de libérer la nucléocapside interne, ainsi que les antigènes de la matrice, par traitement avec du détergent à base de sarcosinate-lauroyl de sodium. La précipitation à l'acide peut également être utilisée en ajoutant 1N HCL à du liquide allantoïdien infectieux pour obtenir un pH final compris entre 3,5 et 4,0 et en procédant à la réfrigération à 0° C pendant au moins une heure et à la centrifugation à faible vitesse à 1 000 g pendant dix minutes.

Le liquide surnageant peut être jeté et le précipité contenant du virus remis en suspension dans un volume minimum de tampon sarkosyl-glycine (1 % de sarcosinate-lauroyl de sodium tamponné à un pH de 9,0 avec 0,5 M de glycine). Ces préparations possèdent à la fois les nucléocapsides et les antigènes de la matrice.

Beard (1970) a décrit la préparation de l'antigène riche en nucléocapsides à partir de membranes chorio-allantoïdiennes retirées des œufs infectés. Cette méthode suppose qu'il faut retirer les membranes chorio-allantoïdiennes des œufs infectés présentant un résultat positif à l'hémagglutinine, les broyer ou les homogénéiser, les congeler et les décongeler trois fois, et ensuite les soumettre à une centrifugation à 1 000 g pendant dix minutes. La granule est jetée et le surnageant traité avec 0,1 % de formol afin qu'il puisse être utilisé comme antigène.

Chacun des deux antigènes peut être utilisé dans des tests d'immunodiffusion double en utilisant 1 % d'agarose ou de la gélose ou des gels contenant 8,0 % de chlorure de sodium obtenus à partir de 0,1 M de tampon phosphate de pH 7,2. Le virus grippal de type A est confirmé par les lignes de précipitation formées à partir de l'antigène utilisé dans le test et de l'antigène connu comme étant positif contre un antiserum également positif, lesquels s'unissent afin de donner une ligne d'identité.

ANNEXE IV

LISTE DES LABORATOIRES NATIONAUX DE L'INFLUENZA AVIAIRE

Belgique	Institut national de recherches vétérinaires, Groeselenberg 99, B-1180 Bruxelles
Danemark	National Veterinary Laboratory, Poultry Disease Division, Hangøvej 2, DK-8200 Aarhus N
Allemagne	Institut für Kleintierzucht der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft, Braunschweig-Völkenrode, Postfach 2 80, D-3100 Celle
France	Centre national d'études vétérinaires et alimentaires — Laboratoire central de recherches avicoles et porcines, BP 53, F-22440 Ploufragan
Grèce	Ινστιτούτο Λοιμωδών και Παρασιτικών Νοσημάτων 66, 26ης Οκτωβρίου, 54627 — Θεσσαλονίκη Institut des maladies infectieuses et parasitaires 66, rue du 26 octobrem GR-54627 — Thessaloniki
Irlande	Veterinary Research Laboratory, Abbotstown, Castleknock, IRL-Dublin 15
Italie	Istituto Patologie Aviaire, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Napoli, via Aniezzo, Falcone 394, I-80127 Napoli F Delpino 1
Luxembourg	Institut national de recherches vétérinaires, Groeselenberg 99, B-1180 Bruxelles
Pays-Bas	Centraal Diergeneeskundig Instituut, Vestiging Virologie, Hourtibweg 39, NL-8221 RA Lelystad
Portugal	Laboratório Nacional de Investigação Veterinária (LNIV), Estrada de Benfica 701, P-1500 Lisboa
Espagne	Centro Nacional de Referencia para la Peste Aviar es el Laboratorio Nacional de Sanidad y Producción Animal de Barcelona, Zona Franca Circunvalación-Tramo 6, Esquina Calle 3. Barcelona
Royaume-Uni	Central Veterinary Laboratory, New Haw, Weybridge, GB-Surrey KT15 3NB

ANNEXE V

LABORATOIRE COMMUNAUTAIRE DE RÉFÉRENCE POUR L'INFLUENZA AVIAIRE

Nom du laboratoire

Central Veterinary Laboratory
New Haw
Weybridge
GB-Surrey KT 15 3NB
Royaume-Uni

Le laboratoire communautaire de référence pour l'influenza aviaire a pour compétences et tâches:

- 1) de coordonner, en consultation avec la Commission, les méthodes de diagnostic de l'influenza aviaire dans les États membres, notamment par:
 - a) la spécification, la détention et la délivrance des souches du virus de l'influenza aviaire en vue des tests sérologiques et de la préparation de l'antisérum;
 - b) la délivrance des sérums de référence et d'autres réactifs de référence aux laboratoires de référence nationaux en vue de la standardisation des tests et des réactifs utilisés dans chaque État membre;
 - c) l'établissement et la conservation d'une collection de souches et d'isolats du virus de l'influenza aviaire;
 - d) l'organisation périodique de tests comparatifs communautaires des procédures de diagnostic;
 - e) la collecte et la collation des données et des informations concernant les méthodes de diagnostic utilisées et les résultats des tests effectués dans la Communauté;
 - f) la caractérisation des isolats du virus de l'influenza aviaire par les méthodes les plus avancées afin de permettre une meilleure compréhension de l'épizootiologie de l'influenza aviaire;
 - g) le suivi de l'évolution de la situation, dans le monde entier, en matière de surveillance, d'épizootiologie et de prévention de l'influenza aviaire;
 - h) le maintien d'une expertise sur le virus de l'influenza aviaire et sur d'autres virus concernés afin de permettre un diagnostic différentiel rapide;
 - i) l'acquisition d'une connaissance approfondie dans la préparation et l'utilisation des produits de médecine vétérinaire immunologique utilisés pour l'éradication et le contrôle de l'influenza aviaire;
- 2) d'apporter une aide active à l'identification des foyers d'influenza aviaire dans les États membres par l'étude des isolats de virus qui lui sont envoyés pour confirmation du diagnostic, caractérisation et études épizootiologiques. Le laboratoire devrait en particulier être en mesure d'analyser le séquençage des nucléotides afin de permettre la détermination de la séquence d'acides aminés déduite au site de coupure de la molécule d'hémagglutinine des virus grippaux de sous-type H5 ou H7;
- 3) de faciliter la formation ou le recyclage des experts en diagnostic de laboratoire en vue de l'harmonisation des techniques de diagnostic dans l'ensemble de la Communauté.

ANNEXE VI

CRITÈRES MINIMAUX APPLICABLES AUX PLANS D'INTERVENTION

Les plans d'intervention doivent prévoir au moins:

- 1) la création, au niveau national, d'une cellule de crise, destinée à coordonner toutes les mesures d'urgence dans l'État membre concerné;
 - 2) une liste des centres locaux d'urgence dotés d'équipements adéquats pour coordonner les mesures de contrôle à l'échelon local;
 - 3) des renseignements détaillés sur le personnel chargé des mesures d'urgence, ses qualifications et ses responsabilités;
 - 4) la possibilité, pour tout centre local d'urgence, de contacter rapidement les personnes ou organisations directement ou indirectement concernées par une infestation;
 - 5) la disponibilité des équipements et matériels nécessaires à l'exécution appropriée des mesures d'urgence;
 - 6) des instructions précises concernant les actions à adopter lorsque des cas d'infection ou de contamination sont soupçonnés et confirmés, comprenant des moyens de destruction des carcasses;
 - 7) des programmes de formation pour la mise à jour et le développement des connaissances relatives aux procédures sur le terrain et aux procédures administratives;
 - 8) pour les laboratoires de diagnostic, un service d'examen *post mortem*, la capacité nécessaire aux examens sérologiques, histologiques, etc., et la mise à jour des techniques de diagnostic rapide (à cet effet, il convient d'arrêter des dispositions concernant le transport rapide d'échantillons);
 - 9) des précisions relatives à la quantité de vaccins contre l'influenza aviaire jugée nécessaire en cas de rétablissement de la vaccination d'urgence;
 - 10) des dispositions réglementaires pour la mise en œuvre des plans d'intervention.
-