ISSN 1725-5120

Europos Sąjungos oficialusis leidinys

L 237

49 tomas

Leidimas lietuvių kalba

Teisės aktai

2006 m. rugpjūčio 31 d.

Turinys

I *Aktai, kuriuos skelbti privaloma*

. . . . . .

II *Aktai, kurių skelbti neprivaloma*

Komisija

2006/437/EB:

★ **2006 m. rugpjūčio 4 d. Komisijos sprendimas, patvirtinantis Tarybos direktyvoje 2005/94/EB numatytą Paukščių gripo diagnostikos vadovą** *(pranešta dokumentu Nr. C(2006) 3477)* [1] 1

[1] Tekstas svarbus EEE.

LT

Aktai, kurių pavadinimai spausdinami paprastu šriftu, yra susiję su kasdieniu žemės ūkio reikalų valdymu ir paprastai galioja ribotą laikotarpį.

Visų kitų aktų pavadinimai spausdinami ryškesniu šriftu ir prieš juos dedama žvaigždutė.

II

(Aktai, kurių skelbti neprivaloma)

KOMISIJA

KOMISIJOS SPRENDIMAS

2006 m. rugpjūčio 4 d.

patvirtinantis Tarybos direktyvoje 2005/94/EB numatytą Paukščių gripo diagnostikos vadovą

(pranešta dokumentu Nr. C(2006) 3477)

(Tekstas svarbus EEE)

(2006/437/EB)

EUROPOS BENDRIJŲ KOMISIJA,

atsižvelgdama į 2005 m. gruodžio 20 d. Tarybos direktyvą 2005/94/EB dėl paukščių gripo kontrolės Bendrijoje priemonių ir panaikinančią Direktyvą 92/40/EEB ([1]), ypač į jos 50 straipsnio 1 dalies antrąją pastraipą,

kadangi:

(1) Direktyvoje 2005/94/EB yra nustatytos tam tikros prevencinės priemonės, susijusios su paukščių gripo stebėjimu bei ankstyvu nustatymu, ir būtiniausios kontrolės priemonės, taikytinos kilus naminių ir kitų nelaisvėje laikomų paukščių gripo protrūkiui.

(2) Būtina Bendrijos lygiu nustatyti diagnostikos procedūras, mėginių ėmimo metodus ir laboratorinių tyrimų rezultatų vertinimo kriterijus paukščių gripo protrūkiui patvirtinti.

(3) Direktyvos 2005/94/EB VII priede yra nustatytos Bendrijos etaloninės paukščių gripo laboratorijos funkcijos ir pareigos siekiant, pasitarus su Komisija, derinti valstybėse narėse taikomus minimos ligos diagnozavimo metodus. Šios funkcijos ir pareigos apima reguliarių lyginamųjų tyrimų organizavimą ir aprūpinimą standartiniais reagentais Bendrijos lygiu.

(4) Neseniai buvo patobulinti laboratoriniai tyrimai, užtikrinantys greitą paukščių gripo diagnozavimą.

(5) Remiantis pastaraisiais metais kontroliuojant paukščių gripą įgyta patirtimi galima nustatyti tinkamiausias mėginių ėmimo procedūras ir laboratorinių tyrimų, skirtų tinkamai diagnozuoti šią ligą skirtingomis aplinkybėmis, rezultatų vertinimo kriterijus.

(6) Šiame sprendime nustatytos priemonės atitinka Maisto grandinės ir gyvūnų sveikatos nuolatinio komiteto nuomonę,

PRIĖMĖ ŠĮ SPRENDIMĄ:

1 straipsnis

Patvirtinamas Direktyvoje 2005/94/EB numatytas ir šio sprendimo priede pateiktas diagnostikos vadovas.

2 straipsnis

Diagnostikos vadovą valstybės narės taiko nuo tos dienos, kai perkelia Direktyvą 2005/94/EB į nacionalinę teisę, arba nuo 2007 m. liepos 1 d., jei ši data ankstesnė.

([1]) OL L 10, 2006 1 14, p. 16.

3 straipsnis

Šis sprendimas skirtas valstybėms narėms.

Priimta Briuselyje, 2006 m. rugpjūčio 4 d.

Komisijos vardu
Markos KYPRIANOU
Komisijos narys

PRIEDAS

PAUKŠČIŲ GRIPO DIAGNOSTIKOS VADOVAS

I SKYRIUS

Įvadas, tikslai ir sąvokų apibrėžimai

1. Siekiant visoje Bendrijoje užtikrinti vienodas paukščių gripo (PG) diagnozavimo procedūras, šiame diagnostikos vadove nustatomi:

   a) diagnostikos procedūrų gairės ir būtiniausi reikalavimai, mėginių ėmimo metodai ir laboratorinių tyrimų, skirtų tinkamai diagnozuoti PG, rezultatų vertinimo kriterijai;

   b) laboratoriniai tyrimai, skirti diagnozuoti PG, ir laboratoriniai metodai, taikytini išskirto PG viruso genetiniam tipui nustatyti;

   c) būtiniausi biologinės saugos reikalavimai ir kokybės standartai, kurių turi laikytis diagnostikos laboratorijos ir kurie taikomi mėginių vežimui.

2. Diagnostikos vadovas yra skirtas už paukščių gripo kontrolę atsakingoms institucijoms. Todėl pirmiausia jame yra nustatyti laboratorinių tyrimų principai ir taikymas, jų rezultatų vertinimo taisyklės ir laboratoriniai metodai.

3. Diagnostikos vadove, be Direktyvos 2005/94/EB 2 straipsnyje pateiktų sąvokų apibrėžimų, taikomi dar ir šie apibrėžimai:

   „diagnostinis mėginys“ – tai bet kokia gyvūninė medžiaga, įskaitant visą skerdeną, vežama diagnozuoti arba ištirti (išskyrus gyvus užsikrėtusius gyvūnus).

4. Tai, kad naminiai ir kiti nelaisvėje laikomi paukščiai yra užsikrėtę paukščių gripu, turi būti patvirtinta taikant diagnostikos vadove nustatytas procedūras, mėginių ėmimo metodus bei laboratorinių tyrimų rezultatų vertinimo kriterijus, remiantis vienu arba daugiau kaip vienu iš a, b ir c punktuose nustatytų kriterijų:

   a) infekcinio viruso, antigeno arba specifinės genetinės medžiagos nustatymu naminių ar kitų paukščių audinių, organų, kraujo ar išskyrų mėginiuose;

   b) klinikinių (ligos) požymių ir *post–mortem* pakitimų paukščiuose nustatymu;

   c) specifinės antikūnų reakcijos pastebėjimu šių paukščių kraujo mėginiuose.

5. Patvirtinimą, kad paukščių gripo A virusu, kuris yra arba didelio, arba mažo (H5 ar H7 potipiai) patogeniškumo, yra užsikrėtę žinduoliai, būtina pagrįsti vienu arba daugiau kaip vienu iš a ir b punktuose nustatytų kriterijų:

   a) paukščių gripo infekcinio viruso, antigeno arba specifinės genetinės medžiagos nustatymu žinduolių audinių, organų, kraujo ar išskyrų mėginiuose;

   b) specifinės antikūnų reakcijos į paukščių gripą pastebėjimu žinduolių kraujo mėginiuose.

6. Procedūros, mėginių ėmimo metodai ir laboratorinių tyrimų rezultatų vertinimo kriterijai turi būti:

   a) pateikti diagnostikos vadove arba

   b) patvirtinti kompetentingos valdžios institucijos, jei :

      i) Bendrijos paukščių gripo etaloninės laboratorijos (Bendrijos etaloninė laboratorija) lyginamasis tyrimas parodė, kad patvirtintų laboratorinių tyrimų jautrumas ir specifiškumas yra veiksmingas, arba

      ii) jei Bendrijos etaloninė laboratorija nesurengė specialaus tipo laboratorinio tyrimo vertinimo, patvirtinto laboratorinio tyrimo jautrumą ir specifiškumą įteisino nacionalinė etaloninė laboratorija, todėl laboratorinis tyrimas tinka tam tikslui, kuriam jis naudojamas; šio patvirtinimo rezultatai turi būti perduoti Bendrijos etaloninei laboratorijai patikrinti.

II SKYRIUS

Paukščių gripo aprašymas atsižvelgiant į diferencinę diagnostiką

1. **Etiologija ir virulentiškumas**

Paukščių gripas yra lengvai užkrečiama virusinė infekcija, kurią sukelia *Orthomyxoviridae* šeimos A gripo virusai. Kiek žinoma, A gripo virusai yra vieninteliai *Orthomyxoviridae* grupės virusai, galintys užkrėsti paukščius. Įrodyta, kad daugelis paukščių rūšių yra neatsparios (jautrios) A gripo virusui; vandens paukščiai yra pagrindinis šio viruso šaltinis, bet didesnioji izoliatų dalis, aptikta viščiukuose ir kalakutuose, – didžiausios ekonominės svarbos paukščiuose, kuriuos paveikia ši liga, – yra mažo patogeniškumo.

A gripo virusai turi antigeninius nukleino baltymus ir antigeninius matrikso baltymus, bet į potipius yra skirstomi pagal paviršinių glikoproteinų hemagliutinino (H) ir neuraminidazės (N) antigeninių savybių panašumą. Šiuo metu yra nustatyta 16 HA potipių (H1–H16) ir 9 NA potipiai (N1–N9). Žinoma, kad kiekvienas A gripo virusas turi kokio nors derinio vieną HA ir vieną NA antigeną.

Pagal gebėjimą neatspariems naminiams paukščiams sukelti ligą A gripo virusai skirstomi į dvi grupes:

a) **didelio patogeniškumo paukščių gripo (DPPG)** virusai, sukeliantys ypač sunkią ligą, apibūdinamą bendra apsikrėtusių paukščių infekcija, galinčia sukelti labai didelį paukščių pulkų mirtingumą (iki 100 %), ir

b) **mažo patogeniškumo paukščių gripo (MPPG)** virusai, paukščiams sukeliantys švelnios formos, visų pirma kvėpavimo takų, ligą, kurią galėtų apsunkinti kitos infekcijos arba veiksniai.

Laukiniai paukščiai, ypač migruojantys vandens paukščiai, yra svarbus A gripo šaltinis, kaip rodo beveik visų įmanomų HA ir NA potipių derinių išskyrimas iš laukinių paukščių. Dažniausiai laukiniuose paukščiuose aptinkami tik MPPG virusai, išskyrus tuos atvejus, jeigu DPPG paplito nuo užsikrėtusių paukščių.

Labiausiai tikėtina, kad pirmą kartą PG virusai į ūkį patenka per tiesioginį arba netiesioginį sąlytį su laukiniais paukščiais.

Gali būti, kad per laukinį šaltinį patekę MPPG virusai naminiuose paukščiuose gali plisti nepastebimai, kadangi klinikiniai ligos požymiai dažnai yra neryškūs arba visai nepasireiškia.

Patekę į naminius paukščius, H5 ir H7 potipių MPPG viruso štamai gali mutuoti į DPPG viruso štamus. Iki šiol pastebėta, kad tik H5 ir H7 potipiai sukelia DPPG.

Nors atrodo, jog MPPG virusų mutaciją į DPPG virusus lemia keli mechanizmai, šią mutaciją sukeliantys veiksniai yra nežinomi. Atrodo, kad kai kuriais atvejais mutacija įvyko greitai, jau pirminėje vietoje, į kurią pateko laukinių paukščių virusas, kitais atvejais MPPG virusas naminiuose paukščiuose plito ištisus mėnesius, kol mutavo. Todėl neįmanoma numatyti, ar ši mutacija įvyks ir kada įvyks. Tačiau galima pagrįstai manyti, kad kuo labiau MPPG naminiuose paukščiuose yra pasklidęs, tuo didesnė jo mutavimo į DPPG galimybė.

Inkubacinį laikotarpį sunku įvertinti; jis greičiausiai skiriasi atsižvelgiant į viruso štamą ir nešiotoją ir, kaip pranešama, dažniausiai trunka penkias–šešias dienas, tačiau atskirų paukščių atveju šis laikotarpis svyruoja maždaug nuo kelių valandų iki septynių dienų.

2. **DPPG virusu užsikrėtusių paukščių klinikiniai požymiai**

Klinikiniai požymiai labai skiriasi; jiems turi įtakos šie veiksniai: užkrečiamo viruso virulentiškumas, veikiamos rūšys, amžius, lytis, tuo pačiu metu sergamos ligos ir aplinka.

Ankstyvieji požymiai gali būti dingęs apetitas, sumažėjęs poreikis gerti ir palyginti mažas mirtingumas. Tačiau liga paukščių pulke gali atsirasti ir staiga, daug paukščių gali nugaišti nepasireiškus pirmiesiems ligos požymiams arba atsiradus silpniems depresijos, apetito nebuvimo požymiams, pasišiaušus plunksnoms ir šiek tiek pakilus kūno temperatūrai. Paprastai kuo ilgiau paukščiai išgyvena, tuo labiau išryškėja klinikiniai požymiai. Požymių išryškėjimo laikotarpis priklauso nuo viruso, viruso nešiotojo, pirminio užkrato kiekio, taip pat ir paukštininkystės sistemos. Virusas lėčiau plinta tarp narveliuose laikomų dedeklių paukščių arba lauke laikomų paukščių nei broilerių.

DPPG virusu užsikrėtusios vištos pradžioje gali dėti kiaušinius minkštu kevalu, bet paskui visai nustoja dėjusios. Sergantys paukščiai dažnai tupi arba stovi pusiau komos būklėje, galvomis liesdami žemę. Skiauterės ir barzdelės yra pamėlusios ir pabrinkusios, kraštuose gali būti taškinės arba dėminės kraujosruvos. Dažnai gausiai ir vandeningai viduriuojama, paukščiai jaučia didelį troškulį. Gali būti sunku kvėpuoti, kartais pastebimas gausus ašarojimas. Kraujosruvos gali atsirasti ir tose odos vietose, kur nėra plunksnų. Pulkų mirtingumas svyruoja nuo 50 iki 100 %.

Broileriuose DPPG požymiai dažnai mažiau pastebimi nei kituose naminiuose paukščiuose: ryški depresija, apetito dingimas ir labai padidėjęs mirtingumas – tai pirmieji ligos ženklai. Gali būti pastebimas galvos ir kaklo pabrinkimas bei neuralgijos požymiai, pavyzdžiui, kreivakaklystė ir judesių koordinacijos sutrikimas.

Kalakutams DPPG pasireiškia panašiai kaip ir naminiams paukščiams, bet ne visi DPPG virusai jiems yra vienodai virulentiški.

DPPG virusu užsikrėtusioms žąsims pasireiškianti depresija, apetito dingimas ir viduriavimas yra panašūs kaip ir dedeklių vištų, nors dažnai joms dar paburksta sinusai. Jaunesniems paukščiams gali atsirasti neuralgijos požymiai.

DPPG virusu užsikrėtusios antys gali ir neturėti klinikinių požymių, bet, kaip pranešama, kai kurie štamai gali sukelti panašius požymius kaip ir žąsims ir tam tikrą mirtingumą.

DPPG ir MPPG užsikrėtusiems stručiams klinikiniai požymiai gali ir nepasireikšti. Kilus DPPG protrūkiams, pavyzdžiui, 1999–2000 m. Italijoje, buvo pranešta, kad perlinės vištos ir japoniškosios putpelės yra neatsparios infekcijai, o jų klinikiniai požymiai ir mirtingumas yra panašūs į sergančių viščiukų arba kalakutų. Tačiau, atlikus kai kuriuos eksperimentinius tyrimus, buvo paskelbta, kad kai kuriems DPPG viruso štamams putpelės yra atsparios. Visiems paukščiams būdinga tai, kad to paties H potipio antikūnų atsiradimas vakcinuojant arba natūraliai patekus infekcijai gali reikšti, jog užsikrėtus DPPG virusu, akivaizdžių klinikinių požymių neatsiranda.

3. **DPPG virusu užsikrėtusių paukščių *post–mortem* pakitimai**

Staiga nugaišę paukščiai gali turėti minimalių pakitimų, kuriuos sukelia vidaus organų bei raumenų dehidratacija ir hiperemija.

Visame po ilgo gydymo kurso nugaišusių paukščių kūne, ypač gerklose, trachėjoje, prie skilvelių bei ant išorinio širdies dangalo esančių riebalų ir ant serozinio dangalo paviršių prie krūtinkaulio, atsiranda taškinės ir dėminės kraujosruvos. Ypač apie galvą ir kulkšnis pastebimi poodiniai pabrinkimai. Skerdena gali būti dehidratuota. Blužnyje, kepenyse, inkstuose ir plaučiuose gali atsirasti geltoni ir pilki nekrozės židiniai. Oro maišelyje gali atsirasti eksudato. Blužnis gali būti padidėjusi, su kraujosruvomis.

Histologiškai PG yra būdingi kraujagyslių pakenkimai, dėl kurių išsivysto pabrinkimai, kraujosruvos ir leukocitų perivaskulinė infiltracija, ypač širdies raumenyje, blužnyje, plaučiuose, smegenyse, kasoje ir barzdelėse. Plaučiuose, kepenyse ir inkstuose yra nekrozės židinių. Smegenyse gali išsivystyti gliozė, kraujagyslių išvešėjimas (proliferacija) ir neuronų degeneracija.

4. **Diferencinė diagnostika**

Atliekant diferencinę DPPG diagnostiką, pirmiausia būtina atsižvelgti į šias ligas:

a) kitas ligas, sukeliančias staigų ir didelį mirtingumą, pvz.:

   i) Niukaslio liga;

   ii) užkrečiamas gerklų ir gerklės uždegimas;

iii) ančių maras;

iv) ūmūs apsinuodijimai;

b) kitas ligas, kuriomis sergant ištinsta skiauterės ir barzdelės, pvz.:

i) ūmi naminių paukščių cholera ir kitos kraujo užkrėtimo ligos;

ii) bakterinis skiauterės ir barzdelių celiulitas.

5. **MPPG virusais užsikrėtusių paukščių klinikiniai požymiai**

MPPG virusų sukeltos ligos sunkumo laipsniui didelės įtakos turi:

a) viruso štamas;

b) viruso nešiotojo rūšis ir amžius;

c) viruso nešiotojo imuninis atsparumas virusui ir ypač kitų infekcijų sukėlėjai:

i) *Pasteurella* spp.;

ii) Niukaslio ligos virusai (įskaitant vakcinos štamus);

iii) paukščių plaučių virusas, užkrečiamojo bronchito virusas;

iv) *E. coli*;

v) *Mycoplasma* spp.;

d) imunodeficito būklė;

e) aplinkos veiksniai (pvz., amoniako perteklius, dulkės, aukšta arba žema temperatūra).

Klinikiniai ligos požymiai gali būti neryškūs arba silpni, pasireiškiantys vos pastebimais kvėpavimo sutrikimais arba paukščių kiaušinių dėjimo problemomis. Kita vertus, užsikrėtus MPPG virusais gali pasireikšti stiprūs klinikinės ligos požymiai, ypač kalakutams, t. y. dažniausiai karkalai, kosulys, infraorbitalinių sinusų patinimas ir karščiavimas, susijęs su apetito praradimu ir dideliu mirtingumu.

MPPG gali būti painiojamas su daugeliu kvėpavimo arba žarnyno ligų arba jų apsunkintas. PG būtina įtarti kilus bet kokiam naminių paukščių ligos protrūkiui, kuris išlieka, nepaisant to, kad taikomos prevencinės ir terapeutinės priemonės nuo kitų ligų.

6. **Nelaisvėje laikomų paukščių klinikiniai požymiai**

Klinikinių požymių spektras gali būti labai platus: šie ligos požymiai, kaip ir naminių paukščių, gali svyruoti nuo nepastebimų iki ryškių ir lemti didelį mirtingumą.

Nelaisvėje laikomų paukščių sambūryje infekcija paprastai plinta lėčiau dėl to, kad laikomi įvairių rūšių paukščiai, kurių atsparumas nevienodas, atsikratymo virusu lygis kinta, o infekcija dėl nedidelio sąlyčio ir gana mažo paukščių tankio dažnai plinta palyginti lėtai.

III SKYRIUS

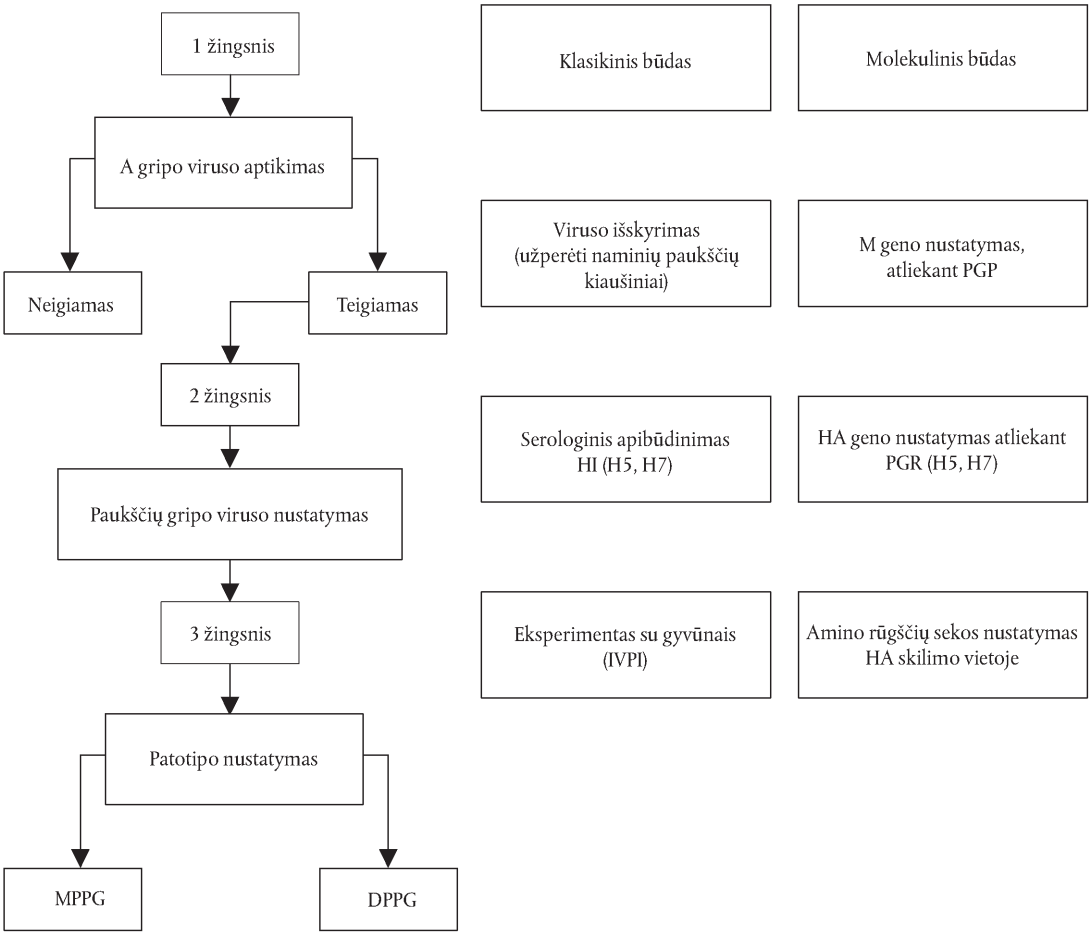
Rekomendacijos, į kurias būtina atsižvelgti ūkyje įtarus PG

Dėl klinikinių DPPG ir MPPG požymių įvairovės neįmanoma duoti aiškių patarimų, kaip elgtis, įtarus protrūkį. Staigus ir didelis naminių paukščių mirtingumas, pasireiškus arba nepasireiškus II skyriuje aprašytiems susijusiems klinikiniams požymiams, turi būti ištirtas pateikus mėginius laboratoriniams tyrimams, bet jei mirtingumas nedidelis, įtarti arba atmesti PG buvimą yra daug sunkiau.

Kadangi siekiant anksti pastebėti ir išnaikinti ligą pirmiausia būtina greitai diagnozuoti H5 ir H7 potipių sukeltą DPPG ir MPPG, PG visada turi būti vertinamas atsižvelgiant į naminių paukščių diferencinę kvėpavimo, kiaušinių dėjimo ir padidinto mirtingumo problemų diagnozę, pateikus mėginius laboratoriniam tyrimui.

Schema

Diagnostikos priemonių, skirtų patvirtinti PG, scheminė apžvalga



IV SKYRIUS

Bendrosios mėginių ėmimo ir vežimo procedūros

1. **Direktyva 2005/94/EB ir diagnostikos vadovas**

Dėl diagnostikos vadovo Direktyvoje 2005/94/EB nurodoma, kad būtina atlikti šiame skyriuje nustatytas tyrimų, mėginių ėmimo ir stebėjimo procedūras.

2. **Procedūros, kurių būtina laikytis įtarus PG protrūkius**

Kai oficialus veterinarijos gydytojas įtaria PG ligos protrūkį arba kai laboratorinio tyrimo, skirto tai ligai nustatyti, rezultatai yra teigiami, kompetentinga valdžios institucija turi užtikrinti, kad, laikantis Direktyvos 2005/94/EB 7 straipsnio nuostatų, būtų atliktas ir, prieš paneigiant ligos buvimą, sėkmingai užbaigtas šiame diagnostikos vadovo skyriuje nustatytas tyrimas.

3. **Virusologinio tyrimo aiškinimas**

Kompetentinga valdžios institucija gali manyti, kad PG viruso buvimą galima atmesti, jei pagal šio skyriaus nuostatas buvo pateiktas atitinkamas sergančių ar nugaišusių paukščių ir trachėjos ir (arba) burnos bei ryklės arba kloakos tepinėlių skaičius tam virusui ar jo genomui nustatyti ir, juos ištyrus vienu iš V arba VI skyriuje nurodytų ar kompetentingos valdžios institucijos pagal I skyriaus 6 dalies b punkto nuostatą patvirtintų nustatymo metodų, buvo gauti neigiami rezultatai.

4. **Standartinis virusologiniams arba serologiniams laboratoriniams tyrimams skirtų mėginių rinkinys**

Siekiant ištirti, ar įtariamas ūkis yra užkrėstas PG virusu, būtina paimti a ir b punktuose nurodytą standartinį mėginių rinkinį (toliau – standartiniai mėginiai) virusologiniams arba serologiniams tyrimams ir pristatyti juos tiesiai į laboratorijas, kuriose šie tyrimai atliekami.

a) Standartinį virusologiniam tyrimui skirtų mėginių rinkinį sudaro:

i) ne mažiau kaip penki sergantys arba nugaišę paukščiai, jei tokių yra, ir (arba)

ii) ne mažiau kaip 20 trachėjos ir (arba) burnos bei ryklės ir 20 kloakos tepinėlių.

Turi būti imamos tik neseniai nugaišusių paukščių arba paukščių, nužudytų dėl to, kad sunkiai sirgo ar buvo begaištantys, skerdenos.

Tepinėliai turi būti imami iš a punkte nurodyto paukščių skaičiaus arba iš visų įtariamame ūkyje esančių paukščių, kai paukščių yra mažiau. Mėginiams pasirenkami klinikinių ligos požymių turintys paukščiai.

Tepinėliai turi būti su išmatų sluoksniu (optimali masė – 1 g). Jei dėl kokios nors priežasties neįmanoma paimti gyvų paukščių kloakos tepinėlių, pakaitu gali būti kruopščiai surinkti šviežių išmatų mėginiai.

Dažnai patogiausia būna paimti trachėjos ir (arba) burnos bei ryklės tepinėlius iš burnos ertmės.

Vos tik sužinojusi viruso augimo savybes, kompetentinga valdžios institucija gali nuspręsti, ką pasirinkti: trachėjos ir (arba) burnos bei ryklės arba kloakos tepinėlius, o gal geriau abu: ji atsižvelgia į tai, kur geriau dauginasi virusas, t. y. kvėpavimo ar skrandžio ir žarnyno trakte, ir į paukščių rūšis.

b) Standartinį serologiniam tyrimui skirtų mėginių rinkinį sudaro 20 kraujo mėginių.

Mėginiai imami iš b punkte nurodyto paukščių skaičiaus arba iš visų ūkyje esančių paukščių, jei paukščių yra mažiau. Imama iš paukščių, kurie atrodo sergantys arba yra akivaizdžiai pasveikę.

Kompetentinga valdžios institucija gali nuspręsti, kad nebūtina imti viso standartinio mėginių rinkinio, o tik jo dalį.

5. **Mėginių vežimas**

Mėginiai turi būti ypač rūpestingai laikomi ir vežami į laboratoriją ištirti.

Tepinėlius būtina nedelsiant atšaldyti ant ledo arba naudojant užšaldytus gelio pakelius ir kuo greičiau nuvežti į laboratoriją. Mėginių negalima užšaldyti, nebent labai reikėtų. Jei neužtikrinama, kad mėginiai į laboratoriją bus pristatyti greitai, t. y. per 24 val., juos būtina tuoj pat užšaldyti, laikyti, o paskui vežti sudėjus ant sauso ledo.

Be to, tepinėlius būtina visiškai panardinti į antibiotikų arba specialiai virusams skirtą 4 °C terpę, ir tai nėra šaldymo pakaitas.

Mėginių laikymas ir vežimas gali būti veikiami daugelio veiksnių, taigi turi būti tinkamai pasirinktas vežimo būdas.

6. **Antibiotikų terpė**

5 dalyje nurodytos antibiotikų terpės pagrindą turi sudaryti 7,0–7,4 pH fosfato buferinis tirpalas (tikrinamas pridėjus antibiotikų).

Baltyminė terpė, pvz., smegenų ir širdies mišinys arba tris–buferinis triptozės sultinys gali padidinti viruso stabilumą, ypač vežant. Vartojami antibiotikai ir jų koncentracijos gali skirtis, atsižvelgiant į vietos sąlygas ir galimybę jų įsigyti.

Labai daug antibiotikų gali prireikti išmatų mėginiams, pvz.: 10 000 TV/ml penicilino, 10 mg/ml streptomicino, 0,25 mg/ml gentamicino ir 5 000 TV/ml nistatino. Audiniams ir trachėjos tepinėliams ši koncentracija gali būti sumažinta iki penkių kartų.

Chlamydophila kontrolei būtina pridėti 0,05–0,1 mg/ml oksitetraciklino.

7. **Smegenų ir širdies mišinio terpė**

Tirpalas turi būti ruošiamas iš vandens, kurio 15 % sudaro smegenų ir širdies mišinio sultinio milteliai, prieš sterilizuojant (15 min. laikoma autoklave 121 °C temperatūroje).

Po sterilizavimo pridedamos šios antibiotikų dozės: 10 000 TV/ml penicilino G, 20 µg g amfotericino B ir 1 000 TV/ml gentamicino. Terpę galima du mėnesius laikyti ne aukštesnėje kaip 4 °C temperatūroje.

8. **Pagal atitinkamas Direktyvos 2005/94/EB nuostatas turi būti atliekamos šios procedūros:**

8.A. Įtariami protrūkiai

8.1. *7 straipsnio 1 dalis. Priemonės, taikytinos ūkiuose, kuriuose įtariami protrūkiai*

Tikrindamas ūkį, kuriame įtariamas protrūkis, oficialus veterinarijos gydytojas privalo imtis šių priemonių:

a) Patikrinti ūkyje įrašus, jei jie daromi, apie produkciją ir sveikatą. Oficialaus veterinarijos gydytojo ūkio patikrinimo ataskaitoje turi būti dokumentais patvirtinti kiekvienos dienos mirtingumo ir kiaušinių produkcijos duomenys, pašarų ir (arba) vandens kiekis, suvartotas per laikotarpį, kuris prasideda savaitę prieš klinikinių PG požymių atsiradimą ir baigiasi tą dieną, kurią oficialus veterinarijos gydytojas tikrina ūkį.

b) Atlikti klinikinį patikrinimą kiekviename gamybos padalinyje, įskaitant jo klinikinės (ligos) istorijos vertinimą ir klinikinę naminių arba kitų nelaisvėje laikomų paukščių, ypač tų, kurie atrodo sergantys, apžiūrą.

c) Jei kompetentingos valdžios institucijos netenkina tai, kad įtariamą protrūkį galima paneigti remiantis klinikiniu patikrinimu pagal a ir b punktų nuostatas, kiekviename gamybos padalinyje turi būti imami standartiniai mėginiai.

d) Nepaisant neigiamų standartinių mėginių tyrimo rezultatų ir atsižvelgiant į vietos veiksnius, prieš nutraukiant oficialią stebėseną, kiekviename gamybos padalinyje turi būti atliktas klinikinis naminių paukščių patikrinimas.

8.2. *10 straipsnio 3 dalis. Epidemiologine apklausa pagrįstos papildomos priemonės*

Kiekviename gamybos padalinyje būtina paimti standartinius naminių ir kitų nelaisvėje laikomų paukščių, kurie yra žudomi, mėginius.

8.B. Didelio patogeniškumo paukščių gripas (DPPG)

8.3. *11 straipsnio 4 dalis. Priemonės, taikytinos paukščiams, kurių kiaušiniai buvo surinkti ūkiuose, kuriuose patvirtinti PG protrūkiai*

Tikrindamas ūkį, kuriame yra paukščių, išsiritusių iš ūkyje, kuriame patvirtintas DPPG, surinktų kiaušinių, oficialus veterinarijos gydytojas privalo imtis šių priemonių:

a) Patikrinti ūkyje daromus įrašus apie produkciją ir sveikatą. Oficialaus veterinarijos gydytojo ūkio patikrinimo ataskaitoje turi būti dokumentais patvirtinti kiekvienos dienos mirtingumo duomenys ir duomenys apie pašarų ir (arba) vandens kiekį, suvartotą per laikotarpį, kuris prasideda savaitę prieš klinikinių DPPG požymių atsiradimą ir baigiasi tą dieną, kurią oficialus veterinarijos gydytojas tikrina ūkį, jei šie duomenys yra.

b) Atlikti klinikinį patikrinimą kiekviename gamybos padalinyje ir klinikinę naminių arba kitų nelaisvėje laikomų paukščių, ypač tų, kurie atrodo sergantys arba auga ne taip, kaip tikėtasi, apžiūrą.

c) Būtinai paimti standartinius trijų–keturių savaičių amžiaus naminių paukščių mėginius.

d) Oficialią stebėseną nutraukti tik atlikus klinikinę daugiau kaip 21 dienos amžiaus naminių paukščių apžiūrą ir gavus neigiamus standartinių mėginių tyrimo rezultatus.

8.4. *13 straipsnio 2 dalies b punktas. Tam tikriems ūkiams taikomos leidžiančios nukrypti nuostatos*

Tikrindamas ūkį, kuriam leidžiama nukrypti nuo Direktyvos 2005/94/EB 11 straipsnio 2 dalies pirmos pastraipos nuostatų, oficialus veterinarijos gydytojas privalo imtis šių priemonių:

a) Patikrinti ūkyje įrašus, jei jie daromi, apie produkciją ir sveikatą.

b) Atlikti klinikinį patikrinimą kiekviename gamybos padalinyje, įskaitant jo klinikinės istorijos vertinimą ir klinikinę naminių arba kitų nelaisvėje laikomų paukščių, ypač tų, kurie atrodo sergantys, apžiūrą.

c) Vietoj standartinių mėginių, praėjus 21 dienai, kai buvo gauti paskutiniai teigiami DPPG duomenys, kas 21 dieną iš kiekvieno ūkio laboratoriniams tyrimams imti šiuos mėginius:

i) nugaišusių naminių arba kitų nelaisvėje laikomų paukščių, kurie tuo metu yra ūkyje;

ii) jei įmanoma, ne mažiau kaip 60 naminių ar kitų nelaisvėje laikomų paukščių trachėjos ir (arba) burnos bei ryklės ir kloakos tepinėlius arba, jei ūkyje nėra 60 minėtų paukščių, visų jame esančių naminių arba kitų nelaisvėje laikomų paukščių, tepinėlius, arba, jei paukščiai smulkūs, egzotiniai ir neįpratę, kad juos liestų rankomis arba jei šis lietimas būtų pavojingas žmonėms – jų šviežių išmatų mėginius.

Tačiau kompetentinga valdžios institucija, remdamasi rizikos vertinimu, gali leisti nukrypti nuo i ir ii dalyse nurodytų mėginių dydžių.

d) c punkte nurodytas mėginių ėmimas ir laboratorinis šių mėginių tyrimas turi būti tęsiamas tol, kol bus gauti du iš eilės neigiami laboratoriniai rezultatai, tarp kurių yra 21 dienos laikotarpis.

8.5. *15 straipsnio 1 ir 3 dalys. Sąlyčio ūkiuose taikytinos priemonės*

Tikrindamas sąlyčio ūkį, oficialus veterinarijos gydytojas privalo imtis šių priemonių:

a) Patikrinti ūkyje įrašus, jei jie daromi, apie produkciją ir sveikatą. Oficialaus veterinarijos gydytojo ūkio patikrinimo ataskaitoje turi būti dokumentais patvirtinti kiekvienos dienos mirtingumo duomenys ir pašarų ir (arba) vandens kiekis, suvartotas per laikotarpį, kuris prasideda savaitę prieš sąlytį su įtariamu užsikrėtus PG pulku, ir baigiasi tą dieną, kurią oficialus veterinarijos gydytojas tikrina ūkį.

b) Atlikti klinikinį patikrinimą kiekviename gamybos padalinyje, įskaitant jo klinikinės istorijos vertinimą ir klinikinę naminių arba kitų nelaisvėje laikomų paukščių, ypač tų, kurie atrodo sergantys, apžiūrą.

c) Jei naminiai ar kiti nelaisvėje laikomi paukščiai turi klinikinių požymių arba yra ženklų, kad padidėjo jų mirtingumas (3 kartus didesnis už įprastą pulko mirtingumą) arba sumažėjo kasdieninė kiaušinių produkcija (daugiau kaip 5 %) ar kasdien suvartojamas pašarų ir (arba) vandens kiekis (daugiau kaip 5 %), kiekviename gamybos padalinyje imami standartiniai mėginiai.

d) Jei b ir c punktuose nurodytų požymių nėra, standartiniai mėginiai turi būti imami praėjus 21 dienai nuo paskutiniojo įtariamo sąlyčio su užsikrėtusiu ūkiu dienos arba kai naminiai arba kiti nelaisvėje laikomi paukščiai yra žudomi.

8.6. *18 straipsnio b ir c punktai. Surašymas bei oficialaus veterinarijos gydytojo patikrinimai ir apsaugos zonoje esančių ūkių stebėsena*

Tikrindamas komercinį ūkį, oficialus veterinarijos gydytojas privalo imtis šių priemonių:

a) Patikrinti ūkyje daromus įrašus apie produkciją ir sveikatą. Jei yra ženklų, kad padidėjo kasdieninis mirtingumas (3 kartus didesnis už įprastą pulko mirtingumą) arba sumažėjo kasdieninė kiaušinių gamyba (daugiau kaip 5 %) ar kasdien suvartojamas pašarų ir (arba) vandens kiekis (daugiau kaip 5 %), kiekviename gamybos padalinyje turi būti imami standartiniai mėginiai.

b) Atlikti klinikinį patikrinimą kiekviename gamybos padalinyje, įskaitant jo klinikinės istorijos vertinimą ir klinikinę naminių arba kitų nelaisvėje laikomų paukščių, ypač tų, kurie atrodo sergantys, apžiūrą.

c) Jei manoma, kad naminių arba kitų nelaisvėje laikomų paukščių arba vakcinuotų paukščių klinikiniai požymiai gali ir neišryškėti, kompetentinga valdžios institucija, remdamasi rizikos vertinimo rezultatais, gali nuspręsti, kad standartinius mėginius būtina imti iš kiekvieno gamybos padalinio.

d) Remdamasi rizikos vertinimo rezultatais, kompetentinga valdžios institucija turi patvirtinti papildomą oficialią klinikinių patikrinimų ir laboratorinių mėginių ėmimo tiksliniuose ūkiuose, skyriuose ir tam tikros produkcijos stebėseną.

8.7. *19 straipsnio f punktas. Priemonės, taikytinos apsaugos zonose esantiems ūkiams*

Tikrindamas ūkį, kuriame, kaip pranešama, padidėjo sergamumas, mirtingumas arba pasikeitė produkcijos duomenys, oficialus veterinarijos gydytojas privalo imtis šių priemonių:

a) Patikrinti ūkyje daromus įrašus apie produkciją ir sveikatą. Jei yra ženklų, kad padidėjo kasdieninis mirtingumas (3 kartus didesnis už įprastą pulko mirtingumą) arba sumažėjo dienos kiaušinių (produkcija) gamyba (daugiau kaip 5 %) ar kasdien suvartojamas pašarų ir (arba) vandens kiekis daugiau kaip 5 %), kiekviename gamybos padalinyje turi būti imami standartiniai mėginiai.

b) Atlikti klinikinį patikrinimą kiekviename gamybos padalinyje, įskaitant jo klinikinės istorijos vertinimą ir klinikinę naminių arba kitų nelaisvėje laikomų paukščių, ypač tų, kurie atrodo sergantys, apžiūrą.

8.8. *23 straipsnio b punktas. Leidžiančios nukrypti nuostatos, taikomos tiesiogiai vežant neatidėliotinai skersti skirtus naminius paukščius*

Tikrindamas ūkį, kuriam suteikta teisė taikyti nuostatą, leidžiančią nukrypti nuo Direktyvos 2005/94/EB 22 straipsnio, oficialus veterinarijos gydytojas privalo imtis šių priemonių:

a) Patikrinti ūkyje daromus įrašus apie produkciją ir sveikatą.

b) Atlikti klinikinį patikrinimą kiekviename gamybos padalinyje, įskaitant jo klinikinės istorijos vertinimą ir klinikinę naminių arba kitų nelaisvėje laikomų paukščių, ypač tų, kurie atrodo sergantys, apžiūrą, likus mažiau kaip 24 val. iki jų išvežimo.

c) Remdamasis kompetentingos valdžios institucijos atlikto rizikos vertinimo rezultatais, vietoj standartinių mėginių kiekviename gamybos padalinyje būtinai paimti ne mažiau kaip 60 skersti skirtų naminių paukščių trachėjos ir (arba) burnos bei ryklės ir (arba) 60 kloakos tepinėlių, likus 48 val. iki išvežimo.

8.9. *25 straipsnio b punktas. Leidžiančios nukrypti nuostatos, taikomos subrendusių naminių paukščių tiesioginiam vežimui*

Tikrindamas ūkį, kuriam suteikta teisė taikyti nuostatą, leidžiančią nukrypti nuo Direktyvos 2005/94/EB 22 straipsnio, oficialus veterinarijos gydytojas prieš išvežant subrendusius naminius paukščius (tiesiai į ūkį ar paukštidę), privalo imtis šių priemonių:

a) Patikrinti ūkyje daromus įrašus apie produkciją ir sveikatą.

b) Atlikti klinikinį patikrinimą kiekviename gamybos padalinyje, įskaitant jo klinikinės istorijos vertinimą ir klinikinę naminių arba kitų nelaisvėje laikomų paukščių, ypač tų, kurie atrodo sergantys, apžiūrą, likus mažiau kaip 24 val. iki jų išvežimo.

c) Remdamasis kompetentingos valdžios institucijos atlikto rizikos vertinimo rezultatais, vietoj standartinių mėginių kiekviename gamybos padalinyje būtinai paimti ne mažiau kaip 60 skersti skirtų naminių paukščių trachėjos ir (arba) burnos bei ryklės ir (arba) 60 kloakos tepinėlių, likus 48 val. iki išvežimo.

8.10. *26 straipsnio 1 dalies a punktas. Leidžianti nukrypti nuostata, taikoma perinių ir maistinių kiaušinių tiesioginiam vežimui*

Tikrindamas tėvinio pulko ūkį, kuriam suteikta teisė taikyti nuostatą, leidžiančią nukrypti nuo Direktyvos 2005/94/EB 22 straipsnio, oficialus veterinarijos gydytojas privalo, prieš išvežant perinius kiaušinius (tiesiai į ūkį ar paukštidę), imtis šių priemonių:

a) Patikrinti ūkyje daromus įrašus apie produkciją ir sveikatą.

b) Kiekviename gamybos padalinyje kas 15 dienų atlikti klinikinį patikrinimą.

c) Kiekviename gamybos padalinyje būtinai paimti standartinius mėginius.

8.11. *29 straipsnio 1 dalis. Priemonių taikymo trukmė*

Pagal Direktyvos 2005/94/EB IV skyriaus 3 skirsnio nuostatas apsaugos zonoje taikomos priemonės gali būti panaikintos ne anksčiau kaip po 21 dienos nuo tos dienos, kai užkrėsti ūkiai buvo išvalyti ir dezinfekuoti, jei:

a) oficialus veterinarijos gydytojas patikrino visus apsaugos zonoje esančius komercinius ūkius, ir visų 8.6 dalies a, b ir c punktuose ir 8.7 dalyje nustatytų patikrinimų, klinikinių patikrinimų bei laboratorinių tyrimų rezultatai yra neigiami;

b) oficialus veterinarijos gydytojas patikrino visus identifikuotus apsaugos zonoje esančius nekomercinius ūkius, ir nei klinikinė apžiūra, nei laboratorinių tyrimų rezultatai nesuteikė pagrindo įtarti užsikrėtus PG;

c) pagal 8.6 dalies d punktą atliktos papildomos oficialios stebėsenos rezultatai yra neigiami.

8.12. *30 straipsnio g punktas. Stebėsenos zonose taikytinos priemonės*

Tikrindamas ūkį, kuriame, kaip pranešama, padidėjo sergamumas, mirtingumas arba pasikeitė produkcijos duomenys, oficialus veterinarijos gydytojas privalo imtis šių priemonių:

a) Patikrinti ūkyje daromus įrašus apie produkciją ir sveikatą.

b) Atlikti klinikinį patikrinimą kiekviename gamybos padalinyje, įskaitant jo klinikinės istorijos vertinimą ir klinikinę naminių arba kitų nelaisvėje laikomų paukščių, ypač tų, kurie atrodo sergantys, apžiūrą.

c) Kiekviename gamybos padalinyje būtinai paimti standartinius mėginius.

8.13. *35 straipsnis. Įtariamo DPPG buvimo skerdyklose ir transporto priemonėse tyrimas*

Tikrindamas paukščių kilmės ūkį, skerdyklas ar transporto priemones, oficialus veterinarijos gydytojas privalo imtis šių priemonių:

a) Patikrinti ūkyje įrašus, jei jie daromi, apie produkciją ir sveikatą.

b) Atlikti klinikinį patikrinimą kiekviename gamybos padalinyje, įskaitant jo klinikinės istorijos vertinimą ir klinikinę naminių arba kitų nelaisvėje laikomų paukščių apžiūrą, atsižvelgiant į konsultacijas su skerdyklos oficialiu veterinarijos gydytoju, kuris privalo pateikti išsamią informaciją apie visų ankstesnių tikrinimų duomenis ir *ante–mortem* ir *post–mortem* patikrinimų rezultatus.

c) Jei kompetentingos valdžios institucijos netenkina tai, kad įtariamą DPPG galima paneigti remiantis veterinariniu tyrimu, atliktu pagal a ir b punktų nuostatas, kiekviename gamybos padalinyje turi būti imami standartiniai mėginiai.

d) Be standartinių mėginių, laboratoriniams tyrimams dar būtina pateikti ne mažiau kaip penkis sergančių, nugaišusių arba skerdykloje paskerstų paukščių, turinčių patologijos požymių, mėginius.

8.14. *36 straipsnio 1 dalis. Skerdyklose taikytinos priemonės*

Atlikus 8.13 dalyje nurodytus tyrimus, jei laboratorinių tyrimų rezultatai yra neigiami, o klinikinio įtarimo dėl DPPG buvimo kilmės ūkyje ir skerdykloje nėra, oficiali stebėsena gali būti nutraukta.

8.15. *37 straipsnio 1 ir 2 dalys. Pasienio kontrolės postuose arba transporte taikytinos priemonės*

8.15.1. Tikrindamas naminius arba kitus nelaisvėje laikomus paukščius, kurie, pasienio kontrolės poste arba transporto priemonėje įtarus arba patvirtinus DPPG, buvo izoliuoti, oficialus veterinarijos gydytojas privalo imtis šių priemonių:

a) Patikrinti atitinkamus dokumentus ir įrašus, jei tokie dokumentai ar įrašai yra.

b) Atlikti šių arba kitų nelaisvėje laikomų paukščių, kurie yra izoliuoti, klinikinį tyrimą ir visų kitų paukščių arba kitų nelaisvėje laikomų paukščių, ypač tų, kurie atrodo sergantys, klinikinę apžiūrą.

c) Būtinai paimti naminių arba kitų nelaisvėje laikomų paukščių, atrinktų iš įvairių transportavimo dėžių ar narvų, standartinius mėginius.

8.15.2. Tikrindamas identifikuotą kilmės ūkį tuo atveju, kai naminiai arba kiti nelaisvėje laikomi paukščiai yra skerdžiami, oficialus veterinarijos gydytojas privalo imtis šių priemonių:

a) Patikrinti ūkyje įrašus, jei jie daromi, apie produkciją ir sveikatą.

b) Atlikti klinikinį patikrinimą kiekviename gamybos padalinyje, įskaitant jo klinikinės istorijos vertinimą ir klinikinę naminių arba kitų nelaisvėje laikomų paukščių apžiūrą, atsižvelgiant į konsultacijas su skerdyklos oficialiu veterinarijos gydytoju, kuris privalo pateikti išsamią informaciją apie visų ankstesnių tikrinimų duomenis ir *ante–mortem* ir *post–mortem* patikrinimų rezultatus.

c) Jei kompetentingos valdžios institucijos netenkina tai, kad įtariamą DPPG galima paneigti remiantis veterinariniu tyrimu, atliktu pagal a ir b punktų nuostatas, kiekviename gamybos padalinyje turi būti imami standartiniai mėginiai.

d) Be standartinių c punkte nurodytų mėginių, laboratoriniams tyrimams dar būtina pateikti ne mažiau kaip penkis sergančių, nugaišusių arba skerdykloje paskerstų paukščių, turinčių patologijos požymių, mėginius.

e) Jei c ir d punktuose nurodytų mėginių laboratorinių tyrimų rezultatai yra neigiami ir nėra įtarimo, kad kilmės ūkyje sergama DPPG, oficiali stebėsena gali būti nutraukta.

8.C. Mažo patogeniškumo paukščių gripas (MPPG)

8.16. *39 straipsnio 6 dalies b ir h punktai. Priemonės, taikytinos ūkiams, kuriuose patvirtinti MPPG protrūkiai*

Prieš išvežant paukščius į skerdyklą tikrindamas ūkį arba tokį ūkį, kuriame yra paukščių, jau išsiperėjusių iš inkubaciniu laikotarpiu surinktų kiaušinių, oficialus veterinarijos gydytojas privalo imtis šių priemonių:

a) Patikrinti ūkyje daromus įrašus apie produkciją ir sveikatą.

b) Atlikti klinikinį patikrinimą kiekviename gamybos padalinyje, įskaitant jo klinikinės istorijos vertinimą ir klinikinę naminių arba kitų nelaisvėje laikomų paukščių apžiūrą.

c) Likus 24 val. iki išvežimo, kiekviename gamybos padalinyje būtinai paimti skersti skirtų naminių paukščių standartinius mėginius.

d) Kiekviename gamybos padalinyje būtinai paimti naminių paukščių, jau išsiperėjusių iš inkubaciniu laikotarpiu surinktų kiaušinių, standartinius mėginius.

8.17. *40 straipsnio 2 dalies b punktas. Nuostatos, leidžiančios tam tikriems ūkiams nukrypti nuo priemonių, taikytinų patvirtinus protrūkius*

Tikrindamas ūkį, kuriam leidžiama nukrypti nuo Direktyvos 2005/94/EB 39 straipsnio 2 dalies ir 39 straipsnio 5 dalies b punkto nuostatų, oficialus veterinarijos gydytojas privalo imtis šių priemonių:

a) Patikrinti ūkyje įrašus, jei jie daromi, apie produkciją ir sveikatą.

b) Atlikti klinikinį patikrinimą kiekviename gamybos padalinyje, įskaitant jo klinikinės istorijos vertinimą ir klinikinę naminių arba kitų nelaisvėje laikomų paukščių, ypač tų, kurie atrodo sergantys, apžiūrą.

c) Vietoj standartinių mėginių, po 21 dienos paskutinių teigiamų MPPG duomenų gavimo kas 21 dieną iš kiekvieno ūkio laboratoriniams tyrimams imti šiuos mėginius:

i) visų nugaišusių naminių arba kitų nelaisvėje laikomų paukščių, kurie tuo metu yra ūkyje;

ii) 60 naminių ar kitų nelaisvėje laikomų paukščių trachėjos ir (arba) burnos bei ryklės ir kloakos tepinėlius arba, jei ūkyje nėra 60 minėtų paukščių, visų jame esančių naminių arba kitų nelaisvėje laikomų paukščių, tepinėlius, arba, jei paukščiai smulkūs, egzotiniai ir neįpratę, kad juos liestų rankomis arba jei šis lietimas būtų pavojingas žmonėms – jų šviežių išmatų mėginius.

Tačiau kompetentinga valdžios institucija, remdamasi rizikos vertinimu, gali leisti nukrypti nuo i ir ii dalyse nurodytų mėginių dydžių.

d) c punkte nurodytas mėginių ėmimas ir laboratorinis šių mėginių tyrimas turi būti tęsiamas tol, kol bus gauti du iš eilės neigiami laboratoriniai rezultatai, tarp kurių yra 21 dienos laiko tarpas.

8.18. *42 straipsnio 1 ir 3 dalys. Sąlyčio ūkiuose taikytinos priemonės*

Tikrindamas sąlyčio ūkį, oficialus veterinarijos gydytojas privalo imtis šių priemonių:

a) Patikrinti ūkyje įrašus, jei jie daromi, apie produkciją ir sveikatą.

b) Atlikti klinikinį patikrinimą kiekviename gamybos padalinyje, įskaitant jo klinikinės istorijos vertinimą ir klinikinę naminių arba kitų nelaisvėje laikomų paukščių, ypač tų, kurie atrodo sergantys, apžiūrą.

c) Būtinai paimti standartinius mėginius kiekviename gamybos padalinyje arba kai naminiai ar kiti nelaisvėje laikomi paukščiai yra žudomi.

8.19. *44 straipsnio 1 dalies b punktas. Apribojimo zonose taikytinos priemonės*

Tikrindamas apribojimo zonoje esantį komercinį ūkį, oficialus veterinarijos gydytojas privalo imtis šių priemonių:

a) Patikrinti ūkyje daromus įrašus apie produkciją ir sveikatą.

b) Atlikti klinikinį patikrinimą kiekviename gamybos padalinyje, įskaitant jo klinikinės istorijos vertinimą ir klinikinę naminių arba kitų nelaisvėje laikomų paukščių, ypač tų, kurie atrodo sergantys, apžiūrą.

c) Paimti standartinius mėginius kiekviename gamybos padalinyje.

d) Remdamasi rizikos vertinimo rezultatais, kompetentinga valdžios institucija turi patvirtinti papildomą oficialią klinikinių patikrinimų ir laboratorinių mėginių ėmimo tiksliniuose ūkiuose, skyriuose ir tam tikros produkcijos stebėseną.

8.20. *45 straipsnio a ir b punktai. Priemonių taikymo trukmė*

Apribojimų zonoje pagal Direktyvos 2005/94/EB V skyriaus 3 skirsnį taikomos priemonės gali būti panaikintos ne anksčiau kaip po 21 dienos nuo išankstinio valymo ir dezinfekavimo užkrėstame ūkyje, išvežus iš jo paukščius, užbaigimo arba ne anksčiau kaip po 42 dienų nuo MPPG patvirtinimo, jei:

a) oficialus veterinarijos gydytojas patikrino visus apribojimų zonoje esančius komercinius ūkius ir buvo atlikti ir yra prieinami visi 8.13 dalies c ir d punktuose nurodytų mėginių laboratoriniai tyrimai;

b) yra visų papildomų klinikinių patikrinimų ir laboratorinių tyrimų rezultatai, tarp kurių gali būti ir MPPG išplitimo nekomerciniuose ūkiuose nustatymas;

c) kompetentinga valdžios institucija, remdamasi rizikos vertinimo išvadomis ir atsižvelgdama į epidemiologinę padėtį bei a ir b punktuose nurodytų laboratorinių tyrimų rezultatus, yra įsitikinusi, kad MPPG išplitimas yra nežymus; remiantis tokiu vertinimu galima daryti išvadą, kad, jeigu serologiniai duomenys yra teigiami, o virusologiniai neigiami, apribojimus galima panaikinti.

8.D. Priemonės, padedančios išvengti paukščių gripo viruso perdavimo kitų rūšių gyvūnams

8.21. *47 straipsnio 1 ir 6 dalys. Laboratoriniai tyrimai ir kitos kiaulėms bei kitoms gyvūnų rūšims taikomos priemonės*

Tikrindamas ūkį, kuriame laikomos kiaulės ir kuriame buvo patvirtintas PG, oficialus veterinarijos gydytojas privalo imtis šių priemonių:

a) Patikrinti ūkyje įrašus, jei jie daromi, apie produkciją ir sveikatą.

b) Atlikti klinikinį patikrinimą kiekviename gamybos padalinyje, įskaitant jo klinikinės istorijos vertinimą ir klinikinę naminių arba kitų nelaisvėje laikomų paukščių, ypač tų, kurie atrodo sergantys, apžiūrą.

c) Kiekviename gamybos padalinyje paimti ne mažiau kaip 60 kiaulių nosies ir (arba) burnos bei ryklės mėginių, o jei gamybos padalinyje yra mažiau kaip 60 kiaulių – visų kiaulių mėginius dieną prieš užsikrėtusių naminių ar kitų nelaisvėje laikomų paukščių pjovimą arba pjovimo dieną. Per 2–4 savaites nuo pjovimo turi būti paimta ne mažiau kaip 60 kiaulių kraujo mėginių. Būtina paimti bent po vieną mėginį iš kiaulių grupių, kurios buvo tiesioginiame sąlytyje.

d) Išvežti kiaules į kitus ūkius gali būti leidžiama tik tuo atveju, jei po 14 dienų nuo tada, kai buvo gauti teigiami rezultatai dėl PG buvimo, ne mažiau kaip 60 nosies ir (arba) burnos bei ryklės mėginių ir 60 kraujo mėginių, paimtų kiekviename gamybos padalinyje, rodė neigiamus rezultatus.

Išvežti kiaules į skerdyklą gali būti leidžiama tik tuo atveju, jei po 14 dienų nuo tada, kai buvo gauti teigiami rezultatai dėl PG buvimo, ne mažiau kaip 60 nosies ir (arba) burnos ir ryklės mėginių parodė neigiamus rezultatus.

Jei laboratorinių tyrimų rezultatai negalutiniai arba teigiami, norint paneigti kiaulių užsikrėtimą PG arba jo perdavimą, būtina atlikti daugiau tyrimų.

e) Jei oficialus veterinarijos gydytojas įtaria, jog ūkiuose laikomi kiti naminiai žinduoliai, ypač tie, kurių neatsparumas H5 ir H7 potipių PG virusams yra pripažintas, galėjo būti sąlytyje su užkrėstais naminiais arba kitais nelaisvėje laikomais paukščiais, būtina paimti mėginius laboratoriniams tyrimams.

8.E. Pulkų atkūrimas

8.22. *49 straipsnio 3 dalies b ir c punktai. Ūkių pulkų atkūrimas*

Tikrindamas komercinį ūkį, kuriame buvo atkurti paukščių pulkai, oficialus veterinarijos gydytojas privalo imtis šių priemonių:

a) Patikrinti ūkyje daromus įrašus apie produkciją ir sveikatą.

b) Atlikti klinikinį patikrinimą kiekviename gamybos padalinyje, įskaitant jo klinikinės istorijos vertinimą ir klinikinę naminių arba kitų nelaisvėje laikomų paukščių, ypač tų, kurie atrodo sergantys, apžiūrą.

c) Vietoj standartinių mėginių kiekviename gamybos padalinyje turi būti imami šie mėginiai:

i) ne mažiau kaip 20 kraujo mėginių vos tik naminiai paukščiai atvežami į ūkį, išskyrus vienadienius viščiukus; prireikus šie mėginiai gali būti imami naminių paukščių kilmės ūkyje dar prieš išvežant juos į ūkį, kuriame atkuriami pulkai;

ii) nugaišusių naminių paukščių mėginiai arba jų skerdenų tepinėliai: ne daugiau kaip 10 paukščių per savaitę 21 dienos laikotarpiu, pradedant perkėlimo diena.

d) Jei anksčiau ūkis buvo apkrėstas DPPG, prireikus paskutiniąją 21 dienos laikotarpio nuo pulko atkūrimo savaitę kiekviename gamybos padalinyje dar būtina paimti vandens paukščių (ančių ir (arba) žąsų) mėginius: 20 trachėjos ir (arba) burnos bei ryklės arba 20 kloakos tepinėlių.

e) Jei anksčiau ūkis buvo apkrėstas MPPG, kiekviename gamybos padalinyje būtina paimti 20 trachėjos ir (arba) burnos bei ryklės mėginių, 20 kloakos tepinėlių ir 20 kraujo mėginių.

8.F. Vakcinacija

8.23. *56 straipsnio 2 dalies i punktas. Naminių ar kitų nelaisvėje laikomų paukščių prevencinė vakcinacija*

Direktyvos 2005/94/EB IX skyriuje nustatyti vakcinuotų naminių arba kitų nelaisvėje laikomų paukščių laboratoriniai tyrimai ūkyje turi būti atliekami taikant patvirtintą DIVA analizę, jei lauko virusas yra žinomas.

Kai naudojami kontroliniai paukščiai, jie turi būti kiekviename vakcinuotame pulke, kliniškai apžiūrėti ir ištirti taikant hemagliutinacijos slopinimo tyrimą. Todėl ne rečiau kaip kas 60 dienų iš kiekvieno vakcinuoto ūkio turi būti paimta po 20 nevakcinuotų kontrolinių paukščių kraujo mėginių.

8.24. *IX priedas. Reikalavimai, keliami naminių paukščių ar kitų nelaisvėje laikomų paukščių ir naminių paukščių produktų vežimui dėl neatidėliotinos vakcinacijos*

Gyvų naminių ir kitų nelaisvėje laikomų paukščių bei jų kiaušinių vežimui turi būti taikomos griežtos priemonės, kad sumažėtų tolesnio PG infekcijos plitimo pavojus.

Todėl neatidėliotinos vakcinacijos kampanijos pradžioje gyvų naminių ir kitų nelaisvėje laikomų paukščių bei jų kiaušinių vežimui vakcinacijos zonoje arba už jos ribų turi būti taikomos tos pačios stebėsenos priemonės:

a) Prieš pirmąjį perinių ir maistinių kiaušinių vežimą vakcinacijos zonoje arba už jos ribų ir po to dar bent 30 dienų oficialus veterinarijos gydytojas turi imtis šių priemonių:

i) atlikti klinikinę nevakcinuotų tėvinių arba veislinių naminių paukščių apžiūrą kiekviename gamybos padalinyje, įskaitant jų klinikinės istorijos vertinimą ir naminių paukščių, ypač tų, kurie atrodo sergantys, klinikinę apžiūrą; kiekviename gamybos padalinyje turi būti imami naminių paukščių standartiniai mėginiai arba

ii) atlikti klinikinę nevakcinuotų tėvinių arba veislinių naminių paukščių apžiūrą kiekviename gamybos padalinyje, įskaitant jų klinikinės istorijos vertinimą ir naminių paukščių, ypač tų, kurie atrodo sergantys, klinikinį tuose pulkuose esančių kontrolinių paukščių patikrinimą; kiekviename gamybos padalinyje turi būti imami tų kontrolinių paukščių standartiniai mėginiai.

b) Vežant gyvus vakcinuotus naminius arba kitus nelaisvėje laikomus paukščius į kitus ūkius arba vežant gyvus vakcinuotus paukščius vakcinacijos zonoje arba už jos ribų, oficialus veterinarijos gydytojas turi imtis šių priemonių:

i) patikrinti ūkyje daromus įrašus apie produkciją ir sveikatą;

ii) atlikti klinikinį patikrinimą kiekviename gamybos padalinyje, įskaitant jo klinikinės istorijos vertinimą ir klinikinę naminių arba kitų nelaisvėje laikomų paukščių klinikinį patikrinimą per 72 val. iki jų išvežimo, ypač atkreipiant dėmesį į kontrolinius paukščius;

iii) jei i ir ii dalyse nurodytų patikrinimų, klinikinės apžiūros ir klinikinio ištyrimo rezultatai nepatenkinami, turi būti imami kontrolinių paukščių standartiniai mėginiai; bet kai minėti rezultatai yra patenkinami, būtina imti šiuos mėginius:

— vakcinuotų naminių arba kitų nelaisvėje laikomų paukščių: ne mažiau kaip 20 trachėjos ir (arba) burnos bei ryklės, 20 kloakos tepinėlių ir 20 kraujo mėginių, taikant atitinkamą DIVA tyrimą, likus 72 val. iki išvežimo, ir

— kontrolinių paukščių: 20 trachėjos ir (arba) burnos bei ryklės, 20 kloakos tepinėlių ir 20 kraujo mėginių serologiniams tyrimams, taikant HI tyrimą, prieš išvežant paukščius.

V SKYRIUS

Diagnostiniai virusologiniai tyrimai ir rezultatų vertinimas

1. Kol dar nebuvo pradėti ir ištobulinti molekuliniai tyrimai, viruso išskyrimas užkrečiant užperėtus naminių paukščių kiaušinius buvo laikomas pačiu jautriausiu ir svarbiausiu diagnostiniu PG tyrimu tolesniam užkrečiamam virusui identifikuoti ir charakterizuoti. Pagrindiniai žingsniai yra išdėstyti šiame skyriuje.

2. **Mėginių apdorojimas**

Tepinėliai, jei pateikti „sausi“, turi būti visiškai panardinti į pakankamo antibiotinio poveikio terpę. Mėginiai gali būti apdorojami kartu po penkias partijas, jei jie yra paimti iš tų pačių paukščių rūšių, tuo pačiu metu ir iš to paties epidemiologinio padalinio.

Laboratorijai pateiktoms skerdenoms taikoma *post mortem* apžiūra, ir būtina paimti šiuos mėginius: išmatų arba žarnų turinio, smegenų audinių, trachėjos, plaučių, kepenų, blužnies ir kitų akivaizdžiai paveiktų organų. Minėti organai ir audiniai gali būti apdorojami kartu, bet labai svarbu, kad išmatos būtų apdorojamos atskirai.

Išmatų mėginiai ir organai turi būti homogenizuoti antibiotikų terpėje (uždarame maišytuve arba naudojant grūstuvę su grūstuvu ir sterilų smėlį) ir pagaminta 10–20 % w/v suspensija.

Panardinti tepinėliai ir suspensijos laikomi apie dvi valandas aplinkos temperatūroje (arba ilgiau, esant 4 °C), o po to nuskaidrinami centrifuguojant (pvz., 800–1 000 × g 10 min.)).

3. **Viruso išskyrimas užperėtuose naminių paukščių kiaušiniuose**

0,1–0,2 ml išgrynintu supernatantu būtina inokuliuoti mažiausiai keturių užperėtų kiaušinių, inkubuojamų jau 9–11 dienų, alantojo ertmę. Geriausia būtų tuos kiaušinius paimti iš paukščių pulko, kuriame neaptikta specifinių patogenų (SPF), bet, jei tai neįmanoma, galima naudoti kiaušinius, paimtus iš paukščių pulkų, kuriuose nerasta paukščių gripo antikūnų (serumas antikūnams neigiamas, SAN).

Inokuliuoti kiaušiniai turi būti laikomi 37 °C temperatūroje ir kasdien peršviečiami. Kiaušinius su negyvais ar mirštančiais embrionais reikia tuoj pat, o likusius kiaušinius – praėjus šešioms dienoms po inokuliacijos atšaldyti iki 4 °C ir nustatyti alantojo–amniono skysčio hemagliutinacijos aktyvumą. Jei hemagliutinacija nenustatoma, pirmiau aprašyta procedūra pakartojama, naudojant inokuliacijai neatskiestą alantojo–amniono skystį. Nustačius hemagliutinaciją, privaloma paneigti bakterijų buvimą kultivuojant terpėje. Jei bakterijų yra, skysčius galima perfiltruoti per 450-nm membraninį filtrą, pridėti dar antibiotikų ir į užperėtus kiaušinius inokuliuoti taip, kaip nurodyta pirmiau.

Diagnozavimui paspartinti kai kurios laboratorijos naudojo du 3 dienų pasažavimus arba 2 ir 4 dienų pasažavimus ir pranešė, kad rezultatus galima lyginti su dviem 6 dienų pasažavimo rezultatais, bet tai dar nėra galutinis vertinimas.

Reikia ištirti, ar teigiamuose skysčiuose nėra bakterijų. Jei jų yra, skysčius galima perfiltruoti per 450-nm membraninį filtrą arba centrifuguoti ir taip pašalinti bakterijas bei persėti į kiaušinius, pridėjus daugiau antibiotikų.

4. **Diferencinė diagnozė**

a) Preliminarus diferencijavimas

Kadangi svarbu taikyti kontrolės priemones, kurios kuo greičiau apribotų PG viruso paplitimą, kiekviena nacionalinė etaloninė laboratorija turi sugebėti identifikuoti bet kurį jos išskirtą hemagliutinuojantį virusą kaip gripo H5 arba H7 potipio virusą ar kaip Niukaslio ligos virusą. Hemagliutinacijos slopinimo reakcijoje hemagliutinuojančius skysčius būtina naudoti taip, kaip aprašyta IX skyriuje. Teigiamas slopinimas, kaip titras 2–3 $\log_2$ teigiamos kontrolės, su poliklonininiais antiserumais, būdingais A gripo H5 ar H7 potipiams, laikytinas preliminaria identifikacija, kuri jau leidžia taikyti laikinas kontrolės priemones.

b) Identifikacijos patvirtinimas

Kadangi gripo virusas turi 16 hemagliutinuojančių potipių ir devynis neuraminidazės potipius, o kiekvienas iš jų dar turi keletą variantų, nenaudinga ir brangu kiekvienai nacionalinei etaloninei laboratorijai laikyti antiserumus, kurie padėtų išsamiai antigeniškai apibūdinti gripo izoliatus. Tačiau kiekviena laboratorija turi bent jau:

i) patvirtinti, kad izoliatas yra A gripo virusas, atlikdama dvigubos imunodifuzijos bandymą, kuriuo būtų galima aptikti grupinius antigenus;

ii) nustatyti, ar izoliatas priklauso H5 ar H7 potipiui, jei taip, būtina taikyti MPPG H5 ir H7 potipių kontrolės priemones;

iii) visus DPPG ir visus H5 bei H7 izoliatus nedelsiant pateikti Bendrijos etaloninei laboratorijai, kad ši juos patvirtintų ir išsamiai charakterizuotų, nebent būtų suteikta galimybė taikyti d punkte nurodytą leidžiančią nukrypti nuostatą.

Be to, pageidautina, kad tinkamą įrangą turinčios laboratorijos:

iv) atliktų šešių mėnesių viščiukų intraveninį patogeniškumo indeksų bandymą, nurodytą VII skyriuje. Didesni kaip 1,2 intraveninio patogeniškumo indeksai rodo, kad yra virusas, ir tada būtina taikyti DPPG kontrolės priemones.

Nacionalinės etaloninės laboratorijos dar turi pasvarstyti dėl ekspertizės ir įrangos, kuria būtų galima nustatyti H5 ir H7 potipių virusų hemagliutinino geno nukleotidų seką, lemiančią, ar daugybinėje skilimo (kirpimo) vietoje hemagliutinino baltymo pirmtake yra pagrindinių amino rūgščių. Nors Bendrijos etaloninė laboratorija, vykdydama Direktyvos 2005/94/EB VII priedo 2 dalies b punkte nurodytas pareigas, pirmiausia nustatys patogeniškumą, šis viruso charakterizavimas nacionaliniu lygiu labai sutrumpins diagnozavimo ir, jei rezultatas teigiamas, DPPG kontrolės priemonių galutino įgyvendinimo laiką.

c) Tolesnis izoliatų tipų nustatymas ir charakterizavimas

Bendrijos etaloninė laboratorija, vykdydama Direktyvos 2005/94/EB VII priede nustatytas Bendrijos etaloninės laboratorijos funkcijas ir pareigas, iš nacionalinių etaloninių laboratorijų turi gauti visus hemagliutinuojančius virusus tolesniam antigeniniam ir genetiniam ištyrimui, kad būtų galima geriau suprasti ligos (ligų) epizootologiją Bendrijoje.

Be šių funkcijų ir pareigų, Bendrijos etaloninė laboratorija dar turi nustatyti visų gautų gripo virusų antigenų tipus. H5 ir H7 virusams, kurių intraveninis patogeniškumo indeksas ne didesnis kaip 1,2, laboratorija taip pat turėtų nustatyti hemagliutinuojančio geno nukleotidų seką ir išsiaiškinti, ar hemagliutinino baltymo skilimo vietoje yra daug bazinių amino rūgščių, o apie gautus rezultatus kuo greičiau pranešti kilmės šalies nacionalinei etaloninei laboratorijai ir kompetentingai valdžios institucijai, kad būtų galima taikyti visas DPPG kontrolės priemones.

d) Jei su DPPG ir MPPG susijusi epidemiologinė padėtis keičiasi, galima, susitarus tiek su Komisija, tiek su Bendrijos etalonine laboratorija, laboratorijoms, turinčioms visas galimybes greitai charakterizuoti virusą, taikant leidžiančią nukrypti nuostatą, patikrinus duomenis, pateikti šių virusų poaibį, o Bendrijos etaloninei laboratorijai – padaryti atitinkamą atranką. Ši leidžianti nukrypti nuostata turi būti taikoma tik tada, kai nacionalinė etaloninė laboratorija gali greitai gauti duomenis ir pateikti juos Bendrijos etaloninei laboratorijai.

VI SKYRIUS

Molekuliniai bandymai ir rezultatų vertinimas

Dabartinis sąvokos DPPG apibūdinimas leidžia identifikuoti molekulinį virulentiškumo veiksnius ir patvirtina molekulinių metodų taikymą PG diagnozuoti. Pastaruoju metu padaryta pažanga, taikant juos PG virusui nustatyti ir charakterizuoti tiesiai iš užkrėstų paukščių klinikinių mėginių. Tradiciniai AT–PGR klinikinių mėginių tyrimo metodai su teisingai nustatytais pradmenimis galėtų leisti greitai aptikti virusą ir nustatyti potipį (bent jau H5 ir H7); be to, gautas PGR amplifikacijos produktas galėtų būti naudojamas nukleotidų sekai nustatyti, taip pat pasitvirtino jo svarba greitai nustatant vėlesnius protrūkius, kai jau nustatytos pirminio užkrato patalpos ir charakterizuotas virusas. „Realaus laiko“ vieno žingsnio atvirkštinės transkripcijos-polimerazės grandininė reakcija (AT–PGR), naudojant pradmens ir (arba) fluorescuojančio zondo sistemas (rAT–PGR), leidžia klinikinius mėginius diagnozuoti netgi greičiau ir jautriau ir nustatyti PG virusus bei H5 arba H7 potipį.

Didelis AT–PGR ir rAT–PGR sistemų trūkumas yra tas, kad iki šiol skirtingos laboratorijos yra ištobulinusios skirtingas sistemas, kurios, nors visiškai pagrįstos, nėra įteisintos arba tiriamos, įvairiose laboratorijose naudojant daug mėginių. Bendrijos etaloninė laboratorija ir nurodytos nacionalinės laboratorijos bandė spręsti šią problemą atsižvelgdamos į Bendrijos finansuojamą projektą (EU AVIFLU), kad parengtų ratifikuotus tradicinius protokolus tradiciniam PGR ir rAT–PGR, kuriuos nacionalinės etaloninės laboratorijos galėtų suderinti. Jei bandymo parametrai, pvz., ciklų skaičius ir ciklų trukmė, skiriasi nuo rekomenduojamų nurodytame protokole, pagal diagnostikos vadovo I skyriaus 6 dalį prieš naudojimą turi būti įrodyta, kad jie tinkami tam tikslui, kuriam yra naudojami.

Standartinių molekulinių tyrimų protokolus ir jų vertinimą, kuriuos pateikia Bendrijos etaloninė laboratorija, galima rasti šioje tinklavietėje:

http://www.defra.gov.uk/corporate/vla/science/science–viral–ai–reflab.htm

VII SKYRIUS

In vivo patogeniškumo tyrimas ir rezultatų vertinimas

Iš paukščių išskirtų A gripo virusų virulentiškumas viščiukams turi būti vertinamas taikant intraveninio patogeniškumo indekso bandymą (IPIB), kuris atliekamas taip:

a) Šviežias infekuotas alantojo skystis, kurio HA titras > 1/16 (> 2^4 arba > $\log_2$ 4, išreikštas atvirkštiniu dydžiu), žemiausio galimo pasažavimo laipsnio, pageidautina be jokios atrankos iš pačioje pradžioje išskirtos dalies, praskiedžiamas 1/10 steriliu izotoniniu fiziologiniu tirpalu.

b) Kiekvienam iš 10 šešių savaičių specifinių patogenų ir PG antikūnų neturinčiam viščiukui į veną suleidžiama 0,1 ml praskiesto viruso.

c) 10 dienų paukščiai apžiūrimi kas 24 valandas. Kiekvienos apžiūros rezultatai užregistruojami taip: normalus (0), serga (1), sunkiai serga (2) arba nugaišo (3). Ar paukštis serga, ar sunkiai serga, nustatoma atliekant klinikinį vertinimą.

Dažniausiai „sergantys“ paukščiai turi vieną, o „sunkiai sergantys“ – daugiau kaip vieną iš šių požymių: kvėpavimo sutrikimas, depresija, viduriavimas, neapsaugotos odos arba barzdelių mėlynumas, veido ir (arba) galvos pabrinkimas, nervingumas. Nugaišę paukščiai užregistruojami įrašant 3 per kiekvieną likusį stebėjimą po nugaišimo.

Kai paukščiai taip serga, kad negali lesti arba gerti, gerovės sumetimais juos būtina humaniškai nužudyti ir užregistruoti kaip nugaišusius per kitą stebėjimą, nes per 24 val. jie nugaiš be įsikišimo. Įgaliotoms institucijoms šis elgesys yra priimtinas.

d) IPIB yra vidutinis balas paukščiui per kiekvieną 10 dienų apžiūrą. Indeksas 3,00 rodo, kad visi paukščiai nugaišo per 24 val., o indeksas 0,00 reiškia, kad per 10 dienų stebėjimo laikotarpiu nė vienas paukštis neturėjo jokių klinikinių požymių.

Toliau yra pateiktas paprastas rezultatų užregistravimo ir indeksų apskaičiavimo būdas:

Klinikiniai požymiai	Diena po skiepijimo										Bendras rezultatas
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Normali būklė	10	2	0	0	0	0	0	0	0	0	12 x 0 = 0
Serga	0	4	2	0	0	0	0	0	0	0	6 x 1 = 6
Sunkiai serga	0	2	2	2	0	0	0	0	0	0	6 x 2 = 12
Nugaišo	0	2	6	8	10	10	10	10	10	10	76 x 3 = 228
											Iš viso = 246

Pastaba:

10 paukščių stebėti 10 dienų = 100 stebėjimų

Indeksas = vidutinis balas paukščiui per kiekvieną apžiūrą = 246/100 = 2,46

Kiekvienas A gripo virusas, neatsižvelgiant į potipį, kurio IPI bandyme nustatyta vertė yra didesnė kaip 1,2, laikomas DPPG virusu.

VIII SKYRIUS

Serologiniai tyrimai ir rezultatų vertinimas

Geriausias būdas įrodyti, kad yra A gripo virusas, – nustatyti, kad yra nukleoproteinų arba matrikso antigenų, kurių turi visi gripo A virusai.

Tai paprastai daroma atliekant dvigubos imunodifuzijos bandymus, kuriuose naudojami arba koncentruoti viruso preparatai, arba iš infekuotų chorioalantojo plėvelių pagaminti ekstraktai.

Tinkamiausi serologinių tyrimų, skirtų PG viruso antikūnams nustatyti, metodai yra hemagliutinacijos (HA) ir hemagliutinacijos slopinimo (HI) bandymai.

Pasaulio gyvūnų sveikatos organizacijos (OIE) Sausumos gyvūnų diagnostikos testų ir vakcinų vadovo 2.7.12 skyriuje yra pateikta išsami informacija apie laboratorinius metodus ir rezultatų vertinimą.

Bendrijos etaloninės laboratorijos taikomų serologinių tyrimų ir jų rezultatų vertinimo standartinius protokolus galima rasti šioje tinklavietėje:

http://www.defra.gov.uk/corporate/vla/science/science–viral–ai–reflab.htm

IX SKYRIUS

Su vakcinacija susijusios stebėsenos sistemos

1. **Direktyva 2005/94/EB ir diagnostikos vadovas**

IX skyriaus 2 ir 3 dalyse yra leidžiama tam tikromis sąlygomis vykdyti neatidėliotiną ir prevencinę vakcinaciją. Viena iš tokių sąlygų – taikyti DIVA (užkrėstų ir vakcinuotų gyvūnų atskyrimas) strategiją.

Vakcinacijos tikslas turi būti infekcijos patekimo ir tolesnio viruso paplitimo tarp pulkų prevencija. Yra neginčijamų įrodymų, kad vakcinacija padidinama viruso, reikalingo užkrėsti paukščius, koncentracija, ir sumažinama su išskyromis pašalinamo viruso koncentracija. Tačiau, nors vakcinuotiems paukščiams klinikiniai požymiai nebepasireiškia, tam tikrais atvejais jie vis dėlto gali platinti virusą. Taigi H5 ir H7 potipių DPPG virusai gali kurį laiką nepastebimai plisti ypač mažą imunitetą turinčių paukščių pulke, lygiai kaip ir MPPG virusai – nevakcinuotų paukščių pulke. Todėl reikia sugebėti nustatyti teigiamai reagavusius vakcinuotus paukščius, užsikrėtusius lauko virusu, kad būtų galima taikyti kitas kontrolės priemones, pvz., pulko sunaikinimą.

2. **Kontrolinių paukščių naudojimas infekcijai stebėti**

Paukščių pulkams yra taikomas paprastas metodas – nuolat stebėti kiekviename pulke neskiepytus kontrolinius paukščius, bet šis metodas kelia tam tikrų valdymo problemų, dažniausiai susijusių su kontrolinių paukščių identifikavimu, ypač dideliuose pulkuose. Būtina užtikrinti kontrolinių ir vakcinuotų paukščių sąlytį.

3. **DIVA laboratorinis bandymas, skirtas stebėti užsikrėtimą**

Kaip pakaitą arba papildomai taikant DIVA laboratorinius bandymus, gali būti tiriamas lauko viruso poveikis vakcinuotiems paukščiams. Pastaraisiais metais buvo sukurtos kelios bandymų sistemos, leidžiančios nustatyti lauko viruso poveikį vakcinuotiems paukščiams. Vienas pasitvirtinęs metodas yra vakcinos, kurioje yra to paties hemagliutinino (H) potipio virusо, bet skirtingos nei vyraujančio lauko viruso neuraminidazės (N), naudojimas. Antikūnai prieš lauko viruso neuraminidazę veikia kaip natūralios infekcijos žymekliai.

Ši sistema buvo taikoma Italijoje po to, kai 2000 m. vėl aptiktas MPPG H7N1 virusas. Norint papildyti tiesiogines kontrolės priemones, buvo įdiegta DIVA strategija, pagal kurią taikoma H7N3 turinti vakcina nuo H7N1 lauko infekcijos. Atliekant serologinį tyrimą, kuriuo galima aptikti specifinius antikūnus prieš N1, vakcinuoti paukščiai buvo atskirti nuo lauko virusu užsikrėtusių paukščių.. Ta pati strategija buvo taikoma 2002–2003 m. Italijoje H7N3 sukeltam MPPG kontroliuoti, šiuo atveju naudojant H7N1 vakciną ir serologinį tyrimą, kuriuo buvo galima nustatyti susidariusius N3 antikūnus. Abiem atvejais po paukščių vakcinacijos ir sunaikinimo pagal DIVA strategiją buvo išnaikintas lauko virusas.

Sistemos trūkumai kyla tada, jei aptinkamas lauko virusas, turintis tą patį N antigeną kaip ir jau esantis lauko virusas, tik yra kito nei H5 arba H7 potipio, arba jei tuos pačius N antigenus turintys potipiai jau yra paplitę. Žinoma, kad daugiau kaip vieno potipio virusus dažniausiai nešioja antys. Be to, reikėjo sukurti tinkamą metodą, kuriuo būtų galima atlikti įprastinę pulkų stebėseną neuraminidazės antikūnams nustatyti. Italijoje buvo sukurtas ir taikomas *ad hoc* serologinis tyrimas, pagrįstas netiesioginiu fluorescentiniu antikūno ištyrimu, naudojant N proteinus kaip rekombinuotos vakcinos *baculovirus* antigenus. Jis gali būti taikomas plačiau ir paprasčiau, patobulinus IFA (imunofermentinės analizės) tyrimą.

Tik HA turinčių vakcinų, pavyzdžiui, rekombinuotų vektorinių vakcinų, naudojimas leidžia taikyti klasikinius AGID arba IFA tyrimus, pagrįstus nukleoproteinu, nestruktūriniu baltymu arba matrikso baltymais, infekcijai vakcinuotuose paukščiuose aptikti.

Yra aprašytas inaktyvuotų vakcinų bandymas, kurio metu nustatomi nestruktūrinio viruso baltymo antikūnai, susidarantys tik natūraliai apsikrėtus. Ši sistema dar turi būti patvirtinta, bet ji turi trūkumų, nes paukščių pulkui natūraliai užsikrėtus paukščių gripu, neatsižvelgiant į potipį, susidaro nestruktūrinio baltymo antikūnai.

Greitų ir jautrių viruso aptikimo metodų, ypač tų, kurie gali būti automatizuoti, pavyzdžiui, tikro laiko AT–PGR, sukūrimas reiškia, kad jie galėtų būti taikomi paprasčiausiam paplitimui arba nuolatiniam vakcinuotų paukščių lauko viruso tyrimui. Tačiau sukėlėjo aptikimas galimas tik trumpoje ūmioje užsikrėtimo fazėje ir negalės būti pagrindas išvadai, jog praeityje paukščių pulkas neturėjo sąlyčio su virusu. Šis būdas yra pats tinkamiausias vakcinuotiems paukščiams ištirti prieš išvežant, kai norima įrodyti, jog jie neturi aktyvios infekcijos.

Mėginių, kuriuos reikia ištirti pasirenkant sistemas, skaičius turi sudaryti galimybę atmesti daugiau kaip 15 % PG viruso infekcijos paukščių pulke paplitimą 95 % patikimumu.

X SKYRIUS

PG diagnozavimo strategijos

Kaip nustatyta Direktyvos 2005/94/EB IV priede, sprendimai taikyti priemones apibrėžtose zonose arba sąlyčio ūkiuose ir tų priemonių griežtumas gali labai skirtis, atsižvelgiant į pavojaus mastą. Todėl ir reikalavimas diagnostiškai patvirtinti ligą gali priklausyti nuo visuotinės padėties, pavojaus masto ir rizikos laipsnio. Veterinarijos institucijoms reikia priimti sprendimus dėl diagnostinių požymių, kurie, greitai nustatant ir likviduojant ligą, gali būti klaidingi. Tokius sprendimus reikia priimti vienu metu atsižvelgiant į įvairius veiksnius, bet kai kuriuos atvejus įmanoma nuspėti.

Ligos etapas	Galima problema	Diagnozavimo reikalavimai
Nespecifiniai požymiai, oficialiai neįtariama.	Izoliuotas ūkis	Atlikti greito nustatymo testą, pagrįstą M geno nustatymu atliekant AT–PGR. Reikalaujama atlikti diferencinę diagnozę.
Pirminis įtariamas protrūkis	Izoliuotas ūkis	Atlikti išsamų diagnostinį tyrimą, išskirti ir charakterizuoti virusą.
Pirminis įtariamas protrūkis	Ūkiai, esantys teritorijose, kur laikoma daug naminių paukščių	Atlikti išsamų diagnostinį tyrimą, išskirti ir charakterizuoti virusą, bet daugiausia dėmesio skirti greito nustatymo ir charakterizavimo metodams, ypač tiems, kurie yra pagrįsti AT–PGR ir sekos nustatymu (1).
Antrasis ir tolesni įtariami protrūkiai	Izoliuoti ūkiai, epidemiologiškai susiję su pirminiu įtariamu protrūkiu	Daugiausia dėmesio skirti greito nustatymo ir charakterizavimo metodams, ypač tiems, kurie yra pagrįsti AT–PGR ir sekos nustatymu (1).
Antrasis ir tolesni įtariami protrūkiai	Ūkiai, esantys teritorijoje, kur laikoma daug naminių paukščių arba epidemiologiškai susiję su daugeliu protrūkių	Pasikliauti greito nustatymo metodais, rodančiais pirmuosius bet kurio PG viruso buvimo požymius (1).
Keli įtariami protrūkiai arba greitas ligos plitimas, įskaitant stebėseną.	Skubiai neįsikišus, plitimas taps nekontroliuojamas	Pasikliauti greito nustatymo metodais, rodančiais pirmuosius bet kurio PG viruso buvimo požymius, arba klinikiniais požymiais (1).

(1) Šiuo atveju mėginiai turėtų būti imami iš visų paukščių ir saugomi vėlesniam vertinimui.

XI SKYRIUS

Kiaulių ir kitų žinduolių apsikrėtimo PG virusu diagnozavimas

1. **Kiaulių užsikrėtimas PG**

PG virusu kiaulės užsikrečia lengvai, ir nors viruso dauginimasis dažniausiai yra palyginti ribotas, užsikrėtusios kiaulės gali perduoti ligą naminiams paukščiams ir kitiems neatspariems gyvūnams. Iki šiol nėra įrodymų, kad užsikrėtusios kiaulės perduotų H5 ir H7 potipių PG virusus.

Patirtis, įgyta 2003 m. Nyderlanduose kilusio protrūkio metu, rodo, kad H7N7 užsikrėtusios kiaulės neturi klinikinių požymių, kuriuos būtų galima priskirti H7N7 infekcijai. Be to, iki šiol nėra pranešimų, kad per H5N1 protrūkį Azijoje ir kitur būtų nugaišusios kiaulės.

Todėl, norint nustatyti, ar kiaulės yra užsikrėtusios, negalima remtis klinikiniais požymiais, nors, kiaulėms užsikrėtus kitais paukščių gripo virusais, klinikiniai požymiai gali pasireikšti, jei virusas prisitaikė prie ligos sukėlėjo. Pagal viruso išskyrimą, molekulinius metodus ir specifinių antikūnų nustatymą hemagliutinacijos slopinimo tyrimu, užsikrėtimo PG diagnozavimas kiaulėms iš esmės yra panašus kaip ir įvairioms paukščių rūšims taikomas diagnozavimas. Tačiau yra tam tikrų skirtumų, ir nė vienas tyrimas nėra galutinai nustatytas kaip patvirtinantis kiaulių užsikrėtimą PG virusu.

2. **Mėginiai virusui išskirti**

Kiaulėms PG viruso infekcija dažniausiai patenka į kvėpavimo takus, todėl imami kvėpavimo takų audinių mėginiai ir prireikus burnos bei ryklės arba nosies landų tepinėliai, geriau iš tų kiaulių, kurios turi šios ligos požymių. Šie mėginiai ir tepinėliai gali būti apdorojami virusui išskirti arba molekuliniam virusui nustatyti, remiantis tais pačiais pirmiau apibūdintais metodais, kurie taikomi paukščių mėginiams. Tačiau naudojantis PGR metodais, būtina taikyti tinkamą kontrolę, užtikrinančią, kad kiaulių mėginiuose esančios medžiagos neslopintų dauginimosi.

3. **Kiaušinių inokuliavimas ir inkubavimas**

Norint išskirti žinduolių virusus 9–11 dienų užperėtuose naminių paukščių kiaušiniuose, paprastai per alantojo ertmę į amniono ertmę inokuliuojamas kiekvienas kiaušinis. Tačiau tiriant kiaules, kurios buvo sąlytyje su PG virusais ir virusas turėjo nedidelę galimybę prisitaikyti, tikriausiai pakanka inokuliuoti į alantojo ertmę.

Žinduolių A gripo virusui išskirti paprastai rekomenduojama 35 °C inkubacijos temperatūra, bet, jeigu virusai yra prastai prisitaikę prie kiaulių, jų išskyrimui nepakenks ir 37 °C.

4. **Specifinių antikūnų ištyrimas hemagliutinacijos slopinimo reakcija**

Tikriausiai pats jautriausias būdas nustatyti, ar kiaulės užsikrėtusios PG virusu, yra viruso išskyrimas ir molekulinis aptikimas. Tačiau kiaulių serologinės reakcijos buvo aptiktos ir neišskyrus viruso arba jo neaptikus. Atliekant HI tyrimus, kuriuose naudojami kiaulių serumai, reikia modifikuoti kai kuriuos VIII skyriuje nurodytus paukščių serumo tyrimus.

Kiaulių serumai yra žinomi dėl jų nespecifinių inhibitorių HI tyrimuose, todėl, kad taip neatsitiktų, kiekvieno serumo mėginį būtina apdoroti receptorius naikinančiu fermentu (RNF). Turi būti taikomas šis metodas:

a) į 100 µl kiaulių antiserumo pridedama 400 µl RNF (iš anksto nustatytas darbinis praskiedimas) ir gerai sumaišoma;

b) 1 val. inkubuojama 37 °C temperatūroje;

c) po to 30 min. inkubuojama 56 °C temperatūroje;

d) ne mažiau kaip 15 min. mėginiai vėsinami 4 °C temperatūroje;

e) pridedama 10 µl 30 % (v/v ląstelių masės) viščiukų raudonųjų kraujo kūnelių ir gerai sumaišoma;

f) per naktį inkubuojama 4 °C temperatūroje. Jei mėginius būtina naudoti tą pačią dieną, tada galima juos vieną valandą inkubuoti 37 °C temperatūroje ir penkias minutes centrifuguoti 300 x g.

Paruoštas serumas yra naudojamas HI tyrimuose, skirtuose paukščių serumui, kaip aprašyta (..) dalyje (pradinis atskiedimas – 1:10). HI tyrimų specifiškumui įvertinti turi būti naudojamas kiaulių serumų komplektas, kurių serologinio tyrimo rezultatas PG atžvilgiu yra neigiamas (žr. protrūkio metu išskirto viruso štamo naudojimą serologijai, VIII skyrius). 2003 m. protrūkio Nyderlanduose metu, atliekant HI tyrimą, kuriame buvo naudojamas su protrūkiu nesusijęs kiaulių serumas, buvo aptikta iki 2,6 % nespecifinių reakcijų.

5. **Kiaulių mėginių ėmimas**

Pavojus užsikrėsti PG tiesiogiai arba netiesiogiai, per sąlytį su naminiais paukščiais arba naminių paukščių produktais ypač kyla tuose ūkiuose, kuriuose kartu arba atskirose patalpose laikomos ir kiaulės, ir naminiai paukščiai. Šiai infekcijai paneigti, laikantis IV skyriaus 8.21 punkte apibūdintų procedūrų, būtina paimti burnos ir ryklės arba nosies landų tepinėlius ir kraujo mėginius. Mėginiai turi būti imami iš kiaulių su ligos klinikiniais požymiais. Tačiau, kai klinikinių požymių nėra, visose patalpos dalyse imami atsitiktiniai mėginiai. Jei laboratorijoje yra sąlygos, tepinėliai turi būti ištirti taikant greitą molekulinį tyrimą ir (arba) išskiriant virusą. AT–PGR turi būti deramai įteisintas ir būti bent tokio jautrumo, koks yra taikomas išskiriant virusą kiaušiniuose, norint nustatyti A gripo virusus.

Po 2–4 savaičių nuo PG užsikrėtusių paukščių papjovimo paimama ne mažiau kaip 60 kiaulių kraujo mėginių taip, kad nors keli iš jų būtų turėjusių kontaktą kiaulių grupių. Mėginiai tiriami taikant HI tyrimą, naudojant paukščių protrūkio metu išskirtą virusą. Tame pačiame tyrime naudojami ir sunkiai sergančių, ir sveikstančių paukščių mėginiai. Teigiami mėginiai gali būti patvirtinti taikant viruso neutralizavimo ir (arba) *Western blot* tyrimo metodus.

Kai bent vieno iš tų mėginių tyrimo rezultatas yra teigiamas, turi būti atliekamas visų, mišrių arba ne mišrių, apsaugos zonoje esančių kiaulių ūkių epidemiologinis tyrimas.

6. **PG virusai žinduoliuose, išskyrus kiaules**

Būtina atlikti kitų nei kiaulės PG neatsparių žinduolių, įskaitant kates, tyrimus. Visų pirma atsižvelgiant į DPPG H5N1 virusą kačių tyrimo metu būtina veikti taip, kaip nurodyta toliau:

Aiškūs patologiniai pakitimai, susiję su viruso dauginimusi, dažniausiai yra būdingi plaučiams ir kepenims, todėl virusologiniams tyrimams reikėtų imti minėtų nugaišusių gyvūnų organų mėginius. Virusui gyvuose gyvūnuose ištirti turėtų būti imami trachėjos ir (arba) burnos bei ryklės tepinėliai. Be to, atskirai gali būti imami išmatų tepinėliai.

Kraujo mėginius, kuriuos būtina ištirti taikant HI tyrimus, reikia 30 min. apdoroti 56 °C temperatūroje, o RNF tyrimo galima netaikyti.

XII SKYRIUS

Būtiniausi saugos reikalavimai, taikomi mėginių vežimui

1. Mėginiams, kuriuose, kiek žinoma, yra arba įtariama, kad yra patogenų, vežti taikomos griežtos nacionalinės ir tarptautinės taisyklės, kurių visada būtina laikytis. Išskirti virusai nėra priskiriami diagnostiniams mėginiams, bet turi būti supakuoti pagal tarptautinius standartus.

Šiame skyriuje pateiktos instrukcijos yra taikomos oro transportui, bet panašiai mėginiai turi būti pakuojami ir vežant sausumos arba jūrų transportu.

2. **Vežamų diagnostinių mėginių pakavimas**

Pagal IATA reglamentus vežamiems diagnostiniams mėginiams yra paskirti šie UN identifikacijos numeriai: 2814, 2900 arba 3373.

Kol siunta pasiekia gavėją, už ją atsako ne transporto kompanija, o siuntėjas.

3. **Pirminė pakuotė**

a) Pirminis indas (pirminiai indai) turi būti nepralaidus (nepralaidūs) vandeniui, pvz., užsukami dangteliai turi būti užtvirtinti laboratorine plėvele arba apklijuoti lipniąja juosta arba kitomis panašiomis apsaugos priemonėmis.

b) Jeigu pirminių indų yra daugiau, jie turi būti suvynioti atskirai, kad nesudužtų.

c) Nustatant siunčiamų diagnostinių mėginių tūrį, būtina atsižvelgti į virusų vežimo priemones.

d) Pirminis indas (pirminiai indai) neturi būti didesnis (didesni) kaip 500 ml arba 500 g.

Visą pirminio indo turinį sudaro diagnostinis mėginys.

4. **Antrinė pakuotė**

a) Į antrinę talpyklą turi būti dedama pakankamai absorbuojančios medžiagos, kuri apsaugotų visą visų pirminių indų turinį nuo pažeidimo ir sugertų nutekėjusį skystį.

b) Antrinė pakuotė turi atitikti diagnostiniams mėginiams skirtus IATA pakavimo reikalavimus, įskaitant metimą iš 1,2 metrų (3,9 pėdų) aukščio. Kadangi infekcinės medžiagos pakuotė pranoksta nustatytąją 602 IATA pakavimo instrukcijos diagnostinių mėginių pakuotės reikalavimuose, ji gali būti naudojama.

c) Infekcinės medžiagos pakuotė turi būti paženklinta specialiais ženklais („UN“ apskritime), pvz.:

„UN 4G/CLASS 6.2/99/GB/2450“

d) Antrinė pakuotė turi būti nepralaidi vandeniui. Būtina laikytis pakuočių, taip pat ir antrinės pakuotės, gamintojo arba kitų leidimą gaminti turinčių asmenų pakavimo instrukcijų.

e) Mažiausias antrinės pakuotės bendras išorės dydis turi būti ne mažesnis kaip 100 mm (4 colių).

f) Antrinė pakuotė turi būti pakankamai didelė, kad į ją tilptų vežimo dokumentai, pvz., oro transporto važtaraštis.

5. **Išorinė pakuotė**

a) Išorinės pakuotės turinys neturi būti didesnis kaip 4 l arba 4 kg.

b) Jei būtina, išorinė pakuotė apdedama ledu su vandeniu arba sausu ledu. Naudojant sausą ledą, pakuotė turi būti tokia, kad galėtų pasišalinti anglies dioksido dujos ir negalėtų susidaryti slėgis, dėl kurio pakuotė gali suirti arba sulūžti. Naudojant ledą su vandeniu pakuotė turi būti nepralaidi vandeniui.

Ant kiekvienos pakuotės ir oro transporto važtaraščio būtina tiksliai nurodyti šią formuluotę:

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

c) Tarp antrinės ir išorinės pakuočių turi būti įdėtas detalus jų turinio sąrašas.

d) Išorinė pakuotė turi būti įdėta į sandarų plastikinį maišelį, kad nepatektų drėgmė.

e) Siuntėjo pavojingų krovinių deklaracijos nereikalaujama.

XIII SKYRIUS

Virusų ir mėginių pristatymas į Bendrijos etaloninę laboratoriją

1. Mėginiai Bendrijos etaloninei laboratorijai turi būti siunčiami laikantis pavojingų patogenų vežimo Bendrijoje rekomendacijų ir Jungtinėje Karalystėje galiojančių taisyklių bei teisės aktų.

Būtina laikytis šiame skyriuje nustatytų instrukcijų.

2. **Virusų arba kitų medžiagų pristatymas į Bendrijos etaloninę laboratoriją**

a) Visos medžiagos turi būti supakuotos pagal šiame skyriuje nurodytas instrukcijas.

b) Išorinė pakuotė turi būti ženklinama taip:

„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) Turi būti įrašyti šie licencijų numeriai:

i) PG virusams: **„AHZ/2232/2002/5*“**

ii) audiniams ir kitoms medžiagoms: **„AHZ/2074C/2004/3*“**

Kadangi šie numeriai retsykiais keičiami, mėginius siunčiančios laboratorijos, prieš išsiųsdamos pakuotes, turi įsitikinti, kad naudoja dabartinius licencijų numerius.

d) Pakuotės turi būti siunčiamos šiuo adresu:

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

e) Prie paketo pridedamas laiškas, kuriame pateikiama kuo daugiau su išskirtais virusais susijusios informacijos, pvz., rūšis ir amžius, išskyrimo rajonas ir (arba) šalis, visa klinikinė istorija.

f) Pakuotės turi būti siunčiamos oro paštu arba oro transportu.

Jei pakuotės siunčiamos oro transportu, prieš pristatant medžiagas Bendrijos etaloninei laboratorijai turi būti faksu, telefonu arba elektroniniu paštu perduotas oro transporto važtaraščio numeris.

Oro transportu siunčiamos pakuotės turi būti aiškiai paženklintos taip:

„CARE OF TRANSGLOBAL“ (siekiant užtikrinti greitus formalumus oro uoste).

Bendrijos etaloninės laboratorijos adresai informacijai:

Ian H. Brown, Etaloninės laboratorijos direktorius
Tiesioginis tel. (44-1932) 35 73 39;
Tiesioginis faksas (44-1932) 35 72 39;
E. paštas: i.h.brown@vla.defra.gsi.gov.uk

Ruth Manvell, Etaloninės laboratorijos vadovė
Tiesioginis tel. (44-1932) 35 77 36 arba (44-1932) 35 77 08
Tiesioginis faksas (44-1932) 35 78 56
E. paštas: r.manvell@vla.defra.gsi.gov.uk

XIV SKYRIUS

Būtiniausi saugos reikalavimai, keliami PG diagnostinei laboratorijai

1. Su PG virusais dirbančių diagnostikos laboratorijų saugos reikalavimai turi apimti priemones, skirtas sulaikyti gyvūnų sveikatai grėsmę keliančius virusus, ir apsaugoti laboratorijoje dirbančius (ir už jos ribų) asmenis nuo zoonozių pavojaus.

Būtiniausi Bendrijos saugos reikalavimai, taikytini laboratorijoms, yra nustatyti keliose direktyvose. Be to, pagrindinėse Europos normose (EN) yra apibūdinti procedūrų aspektai. Laboratorijų diagnostinę veiklą reglamentuoja papildomos taisyklės (EN), pvz., gera laboratorinė praktika.

2. **Bendrijos direktyvos, skirtos laboratorijoms**

1989 m. birželio 12 d. **Tarybos direktyva 89/391/EEB** dėl priemonių darbuotojų saugai ir sveikatos apsaugai darbe gerinti nustatymo (OJ L 183, 1989 6 29, p. 1.)

1990 m. lapkričio 26 d. **Tarybos direktyva 90/679/EEB** dėl darbuotojų apsaugos nuo rizikos, susijusios su biologinių veiksnių poveikiu darbe (septintoji atskira direktyva, kaip apibrėžta Direktyvos 89/391/EEB 16 straipsnio 1 dalyje) (OL L 374, 1990 12 31, p. 1.)

Jei, pvz., DNR sekai nustatyti diagnostika atliekama taikant polimerazės grandininę reakciją (PGR) ir PGR produktų klonavimą į bakterines plazmides dauginimuisi, be minėtų dviejų direktyvų, taikoma toliau nurodyta direktyva ir Europos normos:

1990 m. balandžio 23 d. **Tarybos direktyva 90/219/EEB** dėl riboto genetiškai modifikuotų mikroorganizmų naudojimo (OL L 117, 1990 5 8, p. 1.)

3. Be Bendrijos direktyvų, turi būti pripažintos Europos normos (EN):

EN 12128 Biotechnologija. Mokslinių tyrimų, plėtros ir analizės laboratorijos. Mikrobiologijos laboratorijų izoliavimo lygiai, rizikos zonos, vietovės ir fiziniai saugos reikalavimai

EN 12738 Biotechnologija. Mokslinių tyrimų, plėtros ir analizės laboratorijos. Eksperimento metu mikroorganizmais užkrėstų gyvūnų izoliavimas.

EN 12740 Biotechnologija. Mokslinių tyrimų, plėtros ir analizės laboratorijos. Atliekų tvarkymo, nukenksminimo ir tikrinimo rekomendacijos

EN 12741 Biotechnologija. Mokslinių tyrimų, plėtros ir analizės laboratorijos. Rekomendacijos dėl biotechnologijos laboratorijų procedūrų.

Laboratorijų darbui ir vadovavimui taikomos šios sąlygos:

4. **Reikalavimai laboratorijoms (1–4 izoliavimo lygiai)**

Pagal 2000 m. rugsėjo 18 d. **Europos Parlamento ir Tarybos direktyvą 2000/54/EB** dėl priemonių darbuotojų saugai ir sveikatos apsaugai darbe gerinti nustatymo (septintoji atskira direktyva, kaip apibrėžta Direktyvos 89/391/EEB 16 straipsnio 1 dalyje) (OL L 262, 2000 10 17, p. 21.), Direktyva 90/219/EEB ir Europos normos: EN 12128; EN 12740; EN 12741.

Izoliavimo priemonės	Izoliavimo lygis			
	1	2	3	4
Laboratorijų patalpos: izoliavimas	ne	taip	taip	taip
Durimis atskirtos laboratorijos	ne	taip	taip	taip
Turi būti stebėjimo langas ar jo pakaitas, kad būtų galima matyti, kas yra viduje	neprivaloma	neprivaloma	neprivaloma	taip
Darbuotojai turi būti aprūpinti rankų plovimo priemonėmis	taip	taip	taip	taip
Turi būti (rankų) dezinfekavimo priemonės	neprivaloma	taip	taip	taip
Ribotas patekimas	ne	taip	taip	taip
Specialios aerozolių kontrolės priemonės	ne	taip iki minimumo	taip užkirsti kelią	taip užkirsti kelią
Biologinio pavojaus ženklas ant durų	ne	taip	taip	taip
Dušas	ne	ne	neprivaloma	taip
Akių plovimas	taip	taip	taip	taip
Laboratorija: užplombuojama fumigacijai	ne	ne	taip	taip
Vandeniui, rūgštims, šarmams, tirpikliams, dezinfekcinėms medžiagoms, nukenksminančioms medžiagoms atsparūs, lengvai nuvalomi paviršiai	taip (darbastalis)	taip (darbastalis)	taip (darbastalis, grindys)	taip (darbastalis, grindys)
Įėjimas į laboratoriją per priešdujinės slėptuvės kamerą	ne	ne	neprivaloma	taip
Neigiamas slėgis, atitinkantis supančios aplinkos slėgį	ne	ne	neprivaloma	taip
Turi būti atliekamas iš laboratorijos šalinamo ir į ją patenkančio oro HEPA filtravimas	ne	ne	taip (šalinamas oras)	taip
Autoklavas	vietoje	pastate	laboratorijoje	laboratorijoje, dviejų durų autoklavas

Izoliavimo priemonės	Izoliavimo lygis			
	1	2	3	4
Apsauginė apranga	tinkama apsauginė apranga	tinkama apsauginė apranga	tinkama apsauginė apranga (avalynė neprivaloma)	Visiškas aprangos pakeitimas
Pirštinės	ne	neprivaloma	taip	taip
Veiksminga užkrato pernešėjo) kontrolė (pvz., graužikai, vabzdžiai)	neprivaloma	taip	taip	taip
Saugus biologinės medžiagos laikymas	taip	taip	taip	taip
Laboratorija, kurioje laikoma sava įranga	ne	ne	rekomenduojama	taip

Be to, taikomos ir kitos laboratorijų valdymo bei jų struktūrą apibrėžiančios Europos normos.

Be to, yra kitų nacionalinių ir tarptautinių reglamentų bei rekomendacijų, kurių būtina laikytis. PSO Laboratorijų biologinės saugos vadovo 3-ąjį leidimą galima rasti šioje tinklavietėje:

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

5. **Su gyvūnų sveikata susijęs izoliavimas**

Valstybių narių veterinarijos institucijos turi įgyvendinti reglamentus dėl PG virusų, ypač DPPG, įskaitant ir H5 bei H7 potipių virusus, izoliavimo. Kelios rekomendacijos pateikiamos Pasaulio gyvūnų sveikatos organizacijos (OIE) 2005 m. Sausumos gyvūnų sveikatos kodekso 1.4.5 skyriuje (HPNAI laikomas OIE 4 izoliavimo grupės patogenu).

Valstybės narės veterinarijos institucijos įgyvendins PG virusų tvarkymą reguliuojančius reglamentus.

Bendrijos etaloninės laboratorijos taikomus būtiniausius saugos reikalavimus, kurie yra nacionalinės Jungtinės Karalystės taisyklės, galima rasti šioje tinklavietėje:

http://www.defra.gov.uk/corporate/vla/science/science–viral–ai–reflab.htm

6. **Izoliavimas, susijęs su žmonių sveikata**

Su PG virusais laboratorijose dirbantys asmenys turi visada žinoti, kad šie virusai gali būti žmogaus patogenai, ir darbas turi būti organizuojamas taip, kad jose dirbantieji neužsikrėstų ir virusas nepatektų į išorę.

Rekomendacijos, kaip elgtis su mėginiais, kurie įtariami turintys PG viruso, yra pateiktos Pasaulio sveikatos organizacijos (PSO) tinklavietėje:

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