

COMISSÃO DAS COMUNIDADES EUROPEIAS

COM(91) 304 final

Bruxelas, 30 de Julho de 1991

Proposta de

REGULAMENTO (CEE) DO CONSELHO

**que estabelece medidas comunitárias de luta contra a
gripe aviária**

(apresentada pela Comissão)

EXPOSIÇÃO DOS MOTIVOS

A gripe aviária na sua forma altamente patogénica é uma doença contagiosa e grave das aves de capoeira. É causada por um vírus que pode apresentar uma grande variação de patogenicidade e de sinais clínicos provocados em aves susceptíveis. A doença tem uma distribuição universal e o vírus pode alojar-se em aves migratórias, em especial certas aves migratórias aquáticas.

O artigo 19º da Directiva 90/539/CEE do Conselho, de 15 de Outubro de 1990, relativa às condições de polícia sanitária que regem o comércio intracomunitário e as importações de aves de capoeira e de ovos para incubação provenientes de países terceiros⁽¹⁾, prevê a adopção de regras de controlo em matéria de combate à gripe aviária, antes de 1 de Julho de 1991.

As medidas propostas têm por objectivo a erradicação e a prevenção da propagação da gripe aviária em caso de aparecimento de focos. Para tal proceder-se-á ao abate e destruição ("stamping-out"), com ou sem recurso à vacinação, sendo cuidadosamente controlada a circulação de aves de capoeira, produtos de aves de capoeira, veículos e quaisquer outras substâncias susceptíveis de transmitir o vírus da gripe aviária. As medidas devem ser aplicadas logo que se suspeite da presença do vírus da gripe aviária, de modo a levar a cabo uma acção rápida e eficaz.

A fim de assegurar essas acções, a presente proposta define as obrigações dos Estados-membros, que incluem:

- a organização de uma pesquisa que confirme ou infirme a presença de gripe aviária quando se suspeite da infecção das aves de capoeira,
- a vigilância das explorações e proibição da circulação para e das explorações durante o período de vigilância, quando se suspeite de gripe aviária,
- o abate e destruição das aves infectadas em caso de confirmação da gripe aviária,

(1) JO n.º L 303 de 31.10.1990, p. 6.

- a realização de um inquérito epizootiológico completo em caso de suspeita e confirmação da gripe aviária,
- o estabelecimento de zonas de protecção (3 km) e de zonas de vigilância (10 km) em torno das explorações infectadas,
- a designação de laboratórios que forneçam o necessário apoio técnico para a correcta aplicação das medidas de controlo da doença,
- a informação da Comissão sobre programas de vacinação,
- a preparação de um plano de emergência.

- 2 bis -

Proposta
de
Regulamento (CEE) do Conselho
de
que estabelece medidas comunitárias de luta contra
a gripe aviária

O CONSELHO DAS COMUNIDADES EUROPEIAS,

Tendo em conta o Tratado que institui a Comunidade Económica Europeia e, nomeadamente, o seu artigo 43^a,

Tendo em conta a proposta da Comissão,

Tendo em conta o parecer do Parlamento Europeu,

Tendo em conta o parecer do Comité Económico e Social,

Considerando que as aves de capoeira constam da lista estabelecida no Anexo II do Tratado; que o comércio de aves de capoeira constitui uma fonte de rendimentos importante para a população agrícola;

Considerando que é necessário estabelecer a nível comunitário medidas de luta a aplicar em caso de aparecimento de um foco de gripe aviária na forma altamente patogénica, provocada por um vírus da gripe com características específicas, a seguir designada gripe aviária, a fim de assegurar o desenvolvimento nacional do sector das aves de capoeira e contribuir para a protecção da sanidade animal na Comunidade;

Considerando que um foco de gripe aviária pode revestir-se de um carácter epizootico, provocando um nível de mortalidade e de perturbações susceptível de comprometer consideravelmente a rentabilidade do conjunto das explorações avícolas;

Considerando que devem ser tomadas medidas logo que haja suspeitas da presença da doença, a fim de permitir uma luta imediata e eficaz quando tal presença seja confirmada;

Considerando que é necessário evitar qualquer propagação da doença após o seu aparecimento por meio de um controlo preciso da circulação dos animais e da utilização de produtos susceptíveis de serem contaminados e ainda, quando adequado, por meio de um recurso à vacinação;

Considerando que o diagnóstico da doença deve ser efectuado sob a égide de laboratórios responsáveis, cuja coordenação deve ser assegurada por um laboratório de referência comunitário;

Considerando que as medidas comuns de controlo da gripe aviária constituem uma base para a manutenção de um padrão uniforme de sanidade animal;

Considerando que é adequado confiar à Comissão a tarefa de tomar as medidas de aplicação necessárias,

ADOPTOU O PRESENTE REGULAMENTO :

Artigo 1º

1. O presente regulamento define as medidas comunitárias de controlo a aplicar em caso de aparecimento de um foco de gripe aviária nas aves de capoeira, sem prejuízo das disposições comunitárias que regem o comércio intracomunitário.
2. O presente regulamento não é aplicável em caso de detecção da gripe aviária noutras aves; todavia, nesse caso, os Estados-membros informarão a Comissão de quaisquer medidas que tomarem.

- 3/20 -

Artigo 2º

1. Para efeitos de aplicação do disposto no presente regulamento, são aplicáveis, na medida em que tal for necessário, as definições que constam do artigo 2º da Directiva 90/539/CEE do Conselho relativa às condições de polícia sanitária que regem o comércio intracomunitário e as importações de aves de capoeira e de ovos para incubação provenientes de países terceiros⁽¹⁾.

2. Além disso, entende-se por :

a) "Ave de capoeira infectada", qualquer ave de capoeira :

- na qual foi oficialmente confirmada a gripe aviária, na acepção do Anexo I, na sequência de um exame laboratorial por um laboratório aprovado, ou

- no caso de segundo foco e focos subsequentes, em que se verificam sinais clínicos ou lesões pós-morte correspondentes à gripe aviária;

b) "Ave de capoeira suspeita de estar infectada", qualquer ave de capoeira que apresenta sinais clínicos ou lesões pós-morte de tal modo que seja válido suspeitar da presença de gripe aviária, ou em que tenha sido provada a presença do vírus A da gripe dos subtipos H5 ou H7;

c) "Ave de capoeira suspeita de estar contaminada", qualquer ave de capoeira que pode ter sido exposta, directa ou indirectamente, ao vírus da gripe aviária ou ao vírus A da gripe dos subtipos H5 ou H7;

d) "Autoridade competente": autoridade veterinária designada para o efeito pela administração nacional do país em causa, directamente responsável perante a administração nacional nas matérias abrangidas pelo presente regulamento, devendo os seus relatórios ser apresentados através da administração nacional;

e) "Veterinário oficial": o veterinário designado pela autoridade competente do Estado-membro.

(1) JO nº L 303, de 31.10.1990, p. 6.

Artigo 3º

Qualquer caso de suspeita de gripe aviária deve ser imediatamente notificado à autoridade competente.

Artigo 4º

1. Quando numa exploração existam aves de capoeira suspeitas de estarem infectadas ou contaminadas pela gripe aviária, o veterinário oficial deve, imediatamente, organizar uma investigação para confirmar ou infirmar a presença da referida doença; deve, nomeadamente, proceder ou mandar proceder às colheitas de amostras necessárias aos exames laboratoriais.
2. Após a notificação da suspeita, a autoridade competente mandará colocar a exploração sob vigilância oficial e exigirá, nomeadamente, que:
 - a) seja mantido um registo de todas as categorias de aves de capoeira da exploração, com indicação, relativamente a cada categoria, do número de aves de capoeira que morreram, das que apresentam sinais clínicos e das que não apresentam qualquer sinal. Este registo deve ser mantido actualizado e ser apresentado mediante pedido, podendo ser controlado aquando de cada inspecção;
 - b) todas as aves de capoeira da exploração sejam mantidas nos seus locais de alojamento ou em qualquer outro local onde possam estar isoladas e sem contacto com outras aves;
 - c) nenhuma ave de capoeira entre ou sala da exploração;
 - d) qualquer movimento
 - de pessoas, de outros animais e de veículos em proveniência ou com destino à exploração,
 - de carne ou de carcaças de aves de capoeira, alimentos para animais, material, detritos, camas ou tudo o que seja susceptível de transmitir o vírus da gripe aviária da exploração,seja proibido, salvo em caso de autorização emitida pelo veterinário oficial;

- e) não seja autorizada a saída de ovos da exploração, excepto os ovos para consumo que tenham sido desinfectados em conformidade com as exigências do veterinário oficial;
 - f) sejam utilizados meios adequados de desinfectação nas entradas e saídas das instalações de alojamento das aves de capoeira, bem como nas da própria exploração;
 - g) seja realizado um inquérito epizootiológico em conformidade com o artigo 7º.
3. Na pendência da execução das medidas oficiais estabelecidas no nº 2, o proprietário ou o criador de qualquer ave de capoeira suspeita de estar doente deve tomar todas as medidas adequadas para dar cumprimento ao nº 2, em especial, as alíneas b), c), d) e e).
4. A autoridade competente pode aplicar qualquer das medidas previstas no nº 2 a outras explorações caso a sua implantação, a configuração do local ou os contactos com a exploração em que a doença é suspeitada permitam suspeitar de uma eventual contaminação.
5. As medidas referidas nos nºs 2, 3 e 4 só serão levantadas quando a suspeita da gripe aviária for infirmada pela autoridade competente.

Artigo 5º

1. Logo que a presença da gripe aviária for oficialmente confirmada numa exploração, a autoridade competente exigirá, em complemento das medidas enumeradas no nº 2 do artigo 4º, a execução das seguintes medidas:
- a) O abate imediato, no local, de todas as aves de capoeira presentes na exploração. As aves de capoeira que tenham morrido ou sido abatidas, bem como todos os ovos, devem ser destruídos. Estas operações devem ser efectuadas de modo a minimizar o risco de propagação da doença;

- b) A destruição ou o tratamento de todas as substâncias ou detritos, tais como alimentos para animais, camas e chorumes, susceptíveis de estarem contaminados; este tratamento, efectuado em conformidade com as instruções do veterinário oficial, deve assegurar a destruição de qualquer vírus da gripe aviária presente;
 - c) A pesquisa, na medida do possível, e a destruição da carne das aves de capoeira abatidas durante o período provável de incubação da doença;
 - d) A pesquisa e a destruição dos ovos para incubação produzidos durante o período provável de incubação da doença e que tenham saído da exploração; todavia, as aves de capoeira provenientes desses ovos devem ser colocadas sob vigilância oficial; os ovos de mesa produzidos durante o período provável de incubação e retirados da exploração devem ser alvo, sempre que possível, de pesquisa e destruição;
 - e) Após a realização das operações enunciadas na alínea a), e em conformidade com o disposto no artigo 11º, a limpeza e desinfeção das instalações de alojamento das aves de capoeira e dos locais adjacentes, dos veículos de transporte e de qualquer material susceptível de estar contaminado;
 - f) A observância, após a realização das operações previstas na alínea e), de um vazio sanitário de, pelo menos, 21 dias antes da reintrodução de aves de capoeira na exploração;
 - g) A realização de um inquérito epizootiológico em conformidade com o artigo 7º.
2. A autoridade competente pode aplicar as medidas previstas no nº 1 a outras explorações caso a sua implantação, a configuração do local ou os contactos com a exploração em que a doença foi confirmada permitam suspeitar de uma eventual contaminação.

Artigo 6º

1. No caso de uma exploração com dois ou mais bandos distintos, a autoridade competente pode prever derrogações das exigências do nº 1, alínea a), do artigo 5º, no que respeita aos bandos saudáveis de uma exploração infectada, desde que o veterinário oficial tenha confirmado que as operações aí efectuadas são tais que os bandos estão completamente separados no que diz respeito ao alojamento, ao tratamento e à alimentação, de tal modo que o vírus não pode propagar-se de um bando para outro.
2. A Comissão estabelecerá, de acordo com o processo definido no artigo 21º, os critérios a aplicar para a concessão de uma derrogação tal como referido no nº 1.

Artigo 7º

1. O inquérito epizootiológico abrangerá:
 - a duração do período durante o qual a gripe aviária pode ter existido na exploração;
 - a origem possível da gripe aviária na exploração e a determinação das outras explorações em que se encontram aves de capoeira que possam ter sido infectadas ou contaminadas a partir dessa mesma origem;
 - a circulação de pessoas, aves de capoeira ou outros animais, veículos, ovos, carne e carcaças e qualquer material ou substância susceptíveis de terem transportado o vírus da gripe aviária a partir de ou em direcção à exploração em causa.
2. A fim de garantir a coordenação completa de todas as medidas necessárias para assegurar, no mais breve prazo, a erradicação da gripe aviária e para efeitos de realização do inquérito epizootiológico, será estabelecida uma célula de crise.

As regras gerais relativas às células de crise nacionais e comunitárias são as fixadas no Regulamento (CEE) n.º ... do Conselho⁽¹⁾.

Artigo 8.º

1. Quando o veterinário oficial dispuser de razões para suspeitar de que, em qualquer exploração, existem aves de capoeira que possam ter sido contaminadas devido à circulação de pessoas, animais ou veículos ou qualquer outro meio, essa exploração será colocada sob controlo oficial em conformidade com o n.º 2.
2. O controlo oficial tem como objectivo detectar imediatamente qualquer suspeita de gripe aviária, proceder ao recenseamento e ao controlo da circulação de aves de capoeira, bem como, se for caso disso, executar a acção prevista no n.º 3.
3. Quando uma exploração tiver sido submetida ao controlo oficial nos termos do disposto no n.º 2, a autoridade competente proibirá a saída das aves de capoeira da exploração, excepto quando se tratar do transporte directo para o matadouro sob vigilância oficial com vista ao seu abate imediato. Previamente à concessão da autorização supracitada, o veterinário oficial deve ter efectuado um exame clínico de todas as aves de capoeira a fim de infirmar a presença de gripe aviária na exploração. As restrições à circulação atrás referidas serão aplicáveis durante um período de 21 dias a partir da última data de contaminação potencial; no entanto, essas restrições serão aplicáveis durante um período de pelo menos 7 dias.
4. Quando considerar que as condições o permitem, a autoridade competente pode limitar as medidas previstas no presente artigo a uma parte da exploração e às aves de capoeira que aí se encontram, desde que essas aves de capoeira tenham sido alojadas, tratadas e alimentadas de modo totalmente separado e por um pessoal distinto.

(1) JO n.º L ...

Artigo 9º

1. Logo que o diagnóstico da gripe aviária for oficialmente confirmado, a autoridade competente delimitará, em redor da exploração infectada, uma zona infectada que inclui uma zona de protecção de um raio mínimo de 3 km e uma zona de vigilância de um raio mínimo de 10 km. A delimitação dessas zonas deve ter em conta as barreiras naturais e a epidemiologia do foco.

2. As medidas aplicadas na zona de protecção incluirão :
 - a) A identificação de todas as explorações da zona onde existam aves de capoeira;
 - b) Visitas periódicas a todas as explorações onde existam aves de capoeira, exame clínico dessas aves, incluindo, se for caso disso, a colheita de amostras para exames laboratoriais; deve ser mantido um registo das visitas e dos seus resultados;
 - c) A manutenção de todas as aves de capoeira nos seus locais de alojamento ou em qualquer outro local que permita o seu isolamento;
 - d) A utilização de meios de desinfectação adequados nas entradas e saídas das explorações;

 - e) O controlo dos movimentos de pessoas que manipulam as aves de capoeira, os seus respectivos ovos e carcaças, bem como os veículos que transportam as aves de capoeira, carcaças e ovos na zona; de um modo geral, é proibido o transporte de aves de capoeira, excepto em caso de trânsito nos eixos rodoviários ou ferroviários;
 - f) A proibição de saída das aves de capoeira da exploração onde se encontram, bem como dos ovos para incubação, excepto se a autoridade competente tiver autorizado o transporte:

- i) das aves de capoeira, com vista ao seu abate imediato, para um matadouro situado de preferência na zona infectada ou, em caso de impossibilidade, para um matadouro designado pela autoridade situado fora da zona infectada.

A carne dessas aves de capoeira deve ostentar a marca especial de salubridade prevista no nº 1 do artigo 6º do Regulamento (CEE) nº .../... do Conselho relativo às condições de polícia sanitária que regulam o comércio intracomunitário e as importações de carnes frescas de aves de capoeira e de aves de caça de criação provenientes de países terceiros⁽¹⁾;

- ii) dos pintos do dia ou das galinhas prontas para a postura para uma exploração, situada na zona infectada, onde não existam quaisquer outras aves de capoeira. Essa exploração deve ser colocada sob o controlo oficial previsto no nº 2 do artigo 8º⁽²⁾;

- iii) dos ovos para incubação para um centro de incubação situado na zona infectada ou para um centro fora da zona e designado pela autoridade competente; antes da partida, os ovos e as suas embalagens devem ser desinfectados;

Os movimentos previstos nas subalíneas i), ii) e iii) devem ser objecto de transportes directos, sob controlo oficial. Esses movimentos só podem ser autorizados após uma inspecção sanitária da exploração pelo veterinário oficial. Os meios de transporte utilizados devem ser limpos e desinfectados antes e após a sua utilização;

- g) A proibição de transportar ou de espalhar, sem autorização, os estrumes e chorumes de aves de capoeira;

- h) A proibição de feiras, mercados, exposições e outras situações que originem uma concentração de aves de capoeira ou de outras aves.

3. As medidas aplicadas na zona de protecção serão mantidas durante pelo menos 21 dias após a execução das operações preliminares de limpeza e de desinfectação na exploração, nos termos do artigo 11º. A zona de protecção fará então parte da zona de vigilância.

(1) COM(89)507 final.

(2) JO nº L ...

4. As medidas aplicadas na zona de vigilância incluirão :

- a) A identificação de todas as explorações da zona onde existam aves de capoeira;
- b) O controlo da circulação de aves de capoeira e de ovos para incubação na zona;
- c) A proibição da saída de aves de capoeira da zona durante os primeiros 15 dias, excepto para envio directo a um matadouro situado fora da zona de vigilância e designado pela autoridade competente. Essa carne deve ostentar a marca especial de salubridade prevista no artigo 6º do Regulamento CEE nº .../... do Conselho relativo às condições de polícia sanitária que regulam o comércio intracomunitário e as importações de carnes frescas de aves de capoeira e de aves de caça de criação provenientes de países terceiros;
- d) A proibição de saída dos ovos para incubação da zona de vigilância excepto para instalações designadas pela autoridade competente. Antes da partida, os ovos e as suas embalagens devem ser desinfectados;
- e) A proibição de saída de chorumes e estrumes de aves de capoeira da zona;
- f) A proibição de feiras, mercados, exposições e outras situações que originem a concentração de aves de capoeira ou de outras aves;
- g) Sem prejuízo do disposto nas alíneas b) e c), a proibição do transporte das aves de capoeira na zona, com exclusão do trânsito pelos grandes eixos rodoviários ou ferroviários.

5. As medidas aplicadas na zona de vigilância serão mantidas durante pelo menos 30 dias após a execução das operações preliminares de limpeza e desinfectação na exploração infectada, nos termos do artigo 11º.

Artigo 10º

1. A autoridade competente fixará as modalidades que lhe permitam determinar o movimento dos ovos e das aves de capoeira.
2. O proprietário ou o responsável pelas aves de capoeira deve apresentar à autoridade competente, a pedido desta última, as informações relativas às aves de capoeira e aos ovos que entram ou saem da sua exploração.
3. Qualquer pessoa que proceda ao transporte ou ao comércio de aves de capoeira e de ovos deve poder apresentar à autoridade competente as informações relativas aos movimentos das aves de capoeira e dos ovos que transportou ou comercializou e fornecer todos os pormenores relativos a essas informações.

Artigo 11º

1. Os desinfectantes a utilizar bem como as suas concentrações devem ser aprovados pela autoridade competente.
2. As operações de limpeza e desinfeccção devem ser efectuadas sob vigilância oficial, em conformidade com instruções do veterinário oficial.

Artigo 12º

As colheitas de amostras e os exames laboratoriais destinados a detectar a presença do vírus da gripe aviária devem ser efectuados em conformidade com o Anexo I.

Artigo 13º

1. Cada Estado-membro designará:
 - a) Um ou mais laboratórios nacionais em que serão mantidos equipamentos e pessoal especializado a fim de permitir proceder à avaliação da patogenicidade dos isolados do vírus da gripe aviária (Captítulo 7 do Anexo I) e à identificação dos vírus A da gripe dos subtipos H5 ou H7;

- b) Um ou mais laboratórios nacionais encarregados de controlar os reagentes utilizados pelos laboratórios regionais;
 - c) Um ou mais institutos ou laboratórios nacionais em que poderão ser testadas as vacinas autorizadas, para verificar a sua conformidade com as especificações fixadas na autorização de colocação no mercado.
2. Os laboratórios nacionais mencionados no Anexo II serão responsáveis pela coordenação das normas e métodos de diagnóstico, da utilização de reagentes e controlo das vacinas.
3. Os laboratórios nacionais para a gripe aviária referidos no nº 2 serão responsáveis pela coordenação dos padrões e dos métodos de diagnóstico estabelecidos em cada laboratório de diagnóstico da gripe aviária no Estado-membro. Para o efeito :
- a) Podem fornecer reagentes de diagnóstico aos laboratórios regionais;
 - b) Devem controlar a qualidade de todos os reagentes de diagnóstico utilizados nesse Estado-membro;
 - c) Devem organizar periodicamente testes comparativos;
 - d) Devem manter isolados do vírus da gripe aviária a partir de casos confirmados nesse Estado-membro;
 - e) Devem assegurar a confirmação dos resultados positivos obtidos nos laboratórios de diagnóstico regionais.
4. Os laboratórios nacionais mencionados no Anexo II assegurarão a ligação com o laboratório de referência comunitário previsto no artigo 14º.

Artigo 14º

O laboratório de referência comunitário para a gripe aviária é indicado no Anexo III. Os poderes e obrigações do laboratório serão estabelecidos, na medida em que não estejam já abrangidos pelo artigo 28º da Decisão 90/424/CEE do Conselho⁽¹⁾ relativa a determinadas despesas no domínio veterinário, de acordo com o processo previsto no artigo 21º.

(1) JO nº L 224 de 18.08.1990, p. 19.

Artigo 15º

1. A vacinação contra a gripe aviária por meio de vacinas autorizadas pela autoridade competente pode ser praticada apenas em complemento das medidas de controlo tomadas aquando do aparecimento da doença.

2. A decisão de introduzir a vacinação em complemento das medidas de controlo será tomada pela Comissão, em colaboração com o Estado-membro em causa, em conformidade com o processo previsto no artigo 21º. Esta decisão deve atender, em especial:
 - à concentração de aves de capoeira na zona afectada,
 - às características e composição da vacina a utilizar,
 - aos processos de controlo da distribuição, armazenagem e utilização das vacinas,
 - às espécies e categorias de aves de capoeira a submeter à vacinação,
 - às áreas em que a vacinação será levada a cabo.

3. Quando, em conformidade com o disposto no artigo 2º, um Estado-membro seja autorizado a recorrer à vacinação de emergência numa parte limitada do seu território, o estatuto do restante território não será afectado desde que as medidas de imobilização dos animais vacinados sejam aplicadas durante um período de 3 meses após o fim das operações de vacinação.

Artigo 16º

1. Quando, numa região determinada, uma epizootia da gripe aviária apresentar um carácter excepcionalmente grave e uma tendência para a propagação, o Estado-membro em causa :
 - declarará "zona com elevado risco sanitário" uma zona territorialmente delimitada que compreenda, pelo menos, todas as zonas de protecção e de vigilância dessa área,

- tornará as medidas estabelecidas no nº 3 do artigo 9º extensivas à "zona com elevado risco sanitário",
 - proibirá a saída de qualquer ave de capoeira viva e dos ovos para incubação da "zona com elevado risco sanitário",
 - informará a Comissão e os outros Estados-membros, no âmbito do Comité Veterinário Permanente, acerca da situação da doença e das medidas de luta aplicadas.
2. Os limites da "zona com elevado risco sanitário" podem ser revistos com a supressão progressiva das zonas de vigilância. As medidas estabelecidas no nº 1 serão levantadas após a eliminação da última zona de vigilância.
3. Em caso de persistência de uma situação excepcionalmente séria, as medidas a tomar pelo Estado-membro em causa, nomeadamente a determinação da "zona com elevado risco sanitário" e o recurso às disposições do artigo 17º, devem ser decididas de acordo com o processo definido no artigo 21º.

Artigo 17º

1. Cada Estado-membro elaborará um plano de emergência, especificando as medidas nacionais a executar em caso de aparecimento de um foco de gripe aviária.

Este plano deve permitir o acesso a instalações, equipamento, pessoal e outros meios adequados necessários para uma erradicação rápida e eficiente do foco. Deve ainda fornecer uma indicação precisa das exigências relativas à vacina que cada Estado-membro em causa considerar necessárias em caso de vacinação de emergência.

2. Os critérios a aplicar na elaboração do plano de emergência serão os estabelecidos na Decisão 91/42/CEE da Comissão⁽¹⁾, de 8 de Janeiro de 1991, que define os critérios a utilizar para a elaboração dos planos de alerta de luta contra a febre aftosa, em aplicação do disposto no artigo 5º da Directiva 90/423/CEE do Conselho⁽²⁾, que serão aplicáveis mutatis mutandis.

A Comissão pode, de acordo com o processo definido no artigo 21º, alterar ou completar esses critérios, atendendo à natureza específica da gripe aviária.

3. Os planos elaborados em conformidade com os critérios previstos no nº 2 serão submetidos à apreciação da Comissão, o mais tardar, 12 meses após a entrada em vigor do presente regulamento.

4. A Comissão examinará os planos a fim de determinar se os mesmos permitem atingir o objectivo desejado e sugerirá aos Estados-membros em causa quaisquer alterações necessárias, nomeadamente para garantir a sua compatibilidade com os planos dos outros Estados-membros.

A Comissão aprovará os planos, se necessário alterados, de acordo com o processo definido no artigo 21º.

Os planos podem, posteriormente, ser alterados ou completados, de acordo com o mesmo processo, a fim de ter em conta a evolução da situação.

Artigo 18º

Peritos veterinários da Comissão podem, em colaboração com as autoridades competentes do Estado-membro em causa e na medida em que tal for necessário para garantir a aplicação uniforme do presente regulamento, efectuar inspecções no local; a Comissão informará os Estados-membros dos resultados da investigação.

(1) JO nº L 23 de 29.01.1991, p. 29.

(2) JO nº L 224 de 18.08.1990, p. 13.

O Estado-membro em cujo território for efectuada uma inspecção prestará aos peritos veterinários da Comissão toda a assistência necessária para o cumprimento da sua missão.

As regras gerais de execução do presente artigo serão adoptadas de acordo com o processo definido no artigo 23^a.

Artigo 19^a

As modalidades da participação financeira da Comunidade nas acções decorrentes do presente regulamento são fixadas na Decisão 90/424/CEE do Conselho relativa a determinadas despesas no domínio veterinário⁽¹⁾.

Artigo 20^a

Os anexos do presente regulamento podem ser alterados pela Comissão, de acordo com o processo definido no artigo 23^a, nomeadamente a fim de ter em conta a evolução nos processos de diagnóstico.

Artigo 21^a

1. A Comissão é assistida pelo Comité Veterinário Permanente, a seguir designado por "Comité", instituído pela Decisão 68/361/CEE⁽²⁾.
2. Nos casos em que é feita referência ao processo definido no presente artigo, são aplicáveis as regras seguintes.

O representante da Comissão submete à apreciação do Comité um projecto das medidas a tomar. O Comité emite o seu parecer sobre esse projecto num prazo que o presidente pode fixar em função da urgência da questão em causa, se necessário procedendo a uma votação.

Esse parecer deve ser exarado em acta; além disso, cada Estado-membro tem o direito de solicitar que a sua posição conste da acta.

(1) JO n^o L 224 de 18.08.1990, p. 19.

(2) JO n^o L 255 de 18.10.1968, p. 23.

A Comissão tomará na melhor conta o parecer emitido pelo Comité. O Comité será por ela informado do modo como tomou em consideração o seu parecer.

Artigo 22.º

O presente regulamento entra em vigor em 1 de Julho de 1991.

O presente regulamento é obrigatório em todos os seus elementos e directamente aplicável em todos os Estados-membros.

Feito em Bruxelas, em

Pelo Conselho

ANEXO I

PROCESSOS DE DIAGNÓSTICO PARA CONFIRMAÇÃO E
DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DA GRIPE AVIÁRIA

Os processos a seguir indicados de isolamento e caracterização dos vírus da gripe aviária devem ser considerados como directrizes e os processos mínimos a serem aplicados no diagnóstico da doença.

Para efeitos dos processos de diagnóstico para confirmação e do diagnóstico diferencial da gripe aviária, são aplicadas as seguintes definições.

A "gripe aviária" é uma infecção das aves de capoeira provocada por qualquer vírus A da gripe com um índice de patogenicidade intravenosa em frangos com seis semanas superior a 1,2 ou qualquer infecção com vírus A da gripe dos subtipos H5 ou H7 em relação aos quais a sequência de nucleótidos demonstrou a presença de múltiplos aminoácidos básicos no local de clivagem da hemaglutinina.

CAPÍTULO I: Amostragem e tratamento das amostras

1. Amostras

Zaragatoa de cloaca (ou fezes) e zaragatoa de traqueia de aves doentes; fezes ou conteúdo intestinal, tecido cerebral, traqueia, pulmões, fígado, baço e outros órgãos visivelmente afectados provenientes de aves mortas recentemente.

2. Tratamento das amostras

Os órgãos e tecidos atrás enumerados podem ser tratados em conjunto; todavia, é essencial o tratamento separado das substâncias fecais. As zaragatoas devem ser colocadas num meio antibiótico suficiente para assegurar a sua imersão completa. As amostras de fezes e os órgãos devem ser homogeneizados (num misturador fechado ou utilizando um almofariz e pilão e areia estéril) num meio antibiótico, sendo feitas suspensões no meio a 10-20% m/v. As suspensões devem ser mantidas durante cerca de duas horas à temperatura ambiente (ou períodos mais longos a 4°C) e seguidamente clarificadas por centrifugação (e.g. 800 a 1000 rotações durante 10 minutos).

3. Meio antibiótico

Muitos laboratórios têm utilizado, com êxito, várias formulações de meios antibióticos e os laboratórios nacionais poderão proporcionar pareceres para um país em especial. No que respeita às amostras de fezes, são necessárias concentrações elevadas de antibióticos, sendo a mistura típica de : 10 000 unidades/ml de penicilina, 10 mg/ml de estreptomina, 0,25 mg/ml de gentamicina e 5 000 unidades/ml de micostatina numa solução salina tamponada com fosfato. Estes níveis podem ser reduzidos até cinco vezes no caso dos tecidos e das zaragatoas de traqueia. Para o controlo das Chlamydia podem ser adicionados 50 mg/ml de oxitetraciclina. É imperativo, aquando da preparação do meio, que o pH seja verificado após a adição dos antibióticos e reajustado ao pH 7,0 - 7,4.

CAPÍTULO 2: Isolamento do vírus

Isolamento do vírus em ovos de galinha embrionados

O líquido sobrenadante clarificado deve ser inoculado em quantidades de 0,1-0,2 ml na cavidade alantóide de cada um dos, pelo menos, quatro ovos de galinhas embrionados, incubados durante 8-10 dias. De preferência, estes ovos devem ser provenientes de um bando indemne de um organismo patogénico específico; em caso de impossibilidade, podem utilizar-se ovos provenientes de um bando sem anticorpos do vírus da gripe aviária. Os ovos inoculados devem ser mantidos a uma temperatura de 37°C e transiluminados diariamente. Os ovos com embriões mortos ou em vias de morrer, à medida que forem detectados, bem como todos os ovos restantes seis dias após a inoculação, devem ser arrefecidos a uma temperatura de 4°C, sendo testados os líquidos alantóico-amniótico em relação à actividade de hemaglutinação. Caso não seja detectada a hemaglutinação, o processo descrito supra é repetido utilizando como inóculo os líquidos alantóico-amniótico por diluir.

Quando for detectada a hemaglutinação, a presença de bactérias deve ser excluída por meio de cultura. Caso seja detectada a presença de bactérias, os líquidos devem ser passados por um filtro de membrana de 450 nm e após a adição de mais antibióticos devem ser inoculados em ovos embrionados, tal como descrito supra.

CAPÍTULO 3: Diagnóstico diferencial

1. Diferenciação preliminar

Atendendo à importância de introduzir, o mais rapidamente possível, medidas de controlo destinadas a limitar a propagação do vírus, cada laboratório regional deve poder identificar, para além do vírus da doença de Newcastle, qualquer vírus hemaglutinante isolado com sendo um vírus da gripe dos subtipos H5 ou H7. Os líquidos hemaglutinantes devem, pois, ser utilizados num teste de inibição da hemaglutinação, tal como descrito nos Capítulos 5 e 6. Uma inibição positiva, i.e. de 2^4 ou mais, com o anti-soro policlonal específico dos subtipos H5 ou H7 do vírus A da gripe e de título conhecido como sendo, pelo menos, de 2^9 , deveria servir de identificação preliminar e permitir, assim, a imposição de medidas de controlo provisórias.

2. Identificação confirmatória

Uma vez que existem 13 subtipos de hemaglutininas e 9 subtipos de neuraminidase de vírus da gripe e que podem registar-se em cada um destes variações, não é viável nem rentável que cada laboratório nacional mantenha anti-soros que permitam a plena caracterização antigénica dos isolados da gripe. No entanto, cada laboratório nacional deve:

- i) Confirmar que o isolado é um vírus A da gripe, utilizando o teste da dupla difusão imunológica para detectar o grupo de antigénio, tal como descrito no Capítulo 9 do presente Anexo (se o laboratório nacional assim o preferir, podem ser utilizadas as técnicas da imunofluorescência e Elisa para detectar o grupo dos antigénios);
- ii) Determinar se o isolado é ou não do subtipo H5 ou H7;

III) Realizar o teste do índice da patogenicidade intravenosa em frangos com 6 semanas, como descrito no Capítulo 7 do presente Anexo. Os índices de patogenicidade intravenosa superiores a 1,2 indicam a presença do vírus, exigindo a aplicação completa das medidas de controlo (seria útil que os laboratórios nacionais efectuassem igualmente testes para determinar a capacidade de o isolado produzir placas em culturas de células como especificado no capítulo 8).

Os laboratórios nacionais devem enviar imediatamente todos os isolados de gripe aviária e dos subtipos H5 e H7 ao laboratório comunitário de referência, com vista à sua caracterização completa.

3. Outras classificações e caracterizações de isolados

O laboratório de referência comunitário deve receber dos laboratórios nacionais todos os vírus hemaglutinantes, com vista à realização de outros estudos antigénicos e genéticos que permitam uma melhor compreensão da epizootiologia da(s) doença(s) na Comunidade Europeia, respeitando assim as funções e os deveres do laboratório de referência.

Para além destes deveres, o laboratório de referência comunitário deve proceder à definição completa dos tipos antigénicos de todos os vírus de gripe recebidos. Em relação aos vírus H5 e H7, que não apresentam índices de patogenicidade intravenosa superiores a 1,2, deve-se igualmente determinar a sequência de nucleótidos do gene de hemaglutinina, a fim de estabelecer se existem ou não múltiplos aminoácidos básicos no ponto de clivagem da proteína de hemaglutinina. Os vírus que têm múltiplos aminoácidos básicos no ponto de clivagem, apesar de apresentarem índices baixos de patogenicidade, exigem a aplicação completa das medidas de controlo da gripe aviária.

CAPÍTULO 4: Testes sorológicos para os anticorpos do vírus da gripe aviária

1. Durante os programas de erradicação, quando já seja conhecido o subtipo H do vírus responsável, ou utilizando o vírus homólogo como antigénio, pode proceder-se à vigilância serológica relativamente a indícios de infecção, através de testes de inibição da hemaglutinação, como descrito nos Capítulos 5 e 6.

Se for desconhecido o subtipo de hemaglutinina, podem ser obtidos sinais de infecção com os vírus A da gripe através da detecção de anticorpos em relação ao grupo de antigénios específicos. Para tal, podem ser utilizados tanto um teste de dupla difusão imunológica (descrito no Capítulo 9 do presente Anexo), como um teste Elisa (neste caso, há o problema da especificidade do hospedeiro do teste, uma vez que a mesma é dependente da detecção das imunoglobulinas do hospedeiro). As aves aquáticas raramente dão resultados positivos nos testes de dupla difusão imunológica e, a não ser que o subtipo seja conhecido, só é provavelmente viável examinar essas aves relativamente à presença de anticorpos para os subtipos H5 e H7.

2. a) Amostras

Devem ser colhidas amostras de sangue de todas as aves se a dimensão do bando for inferior a 20, ou de 20 aves no caso de bandos maiores (tal dá origem a uma probabilidade superior a 99% de detecção de pelo menos um soro positivo se 25% ou mais do bando for positivo, independentemente da dimensão do bando). Deve deixar-se o sangue coagular, utilizando-se o soro na realização do teste.

- b) Exame dos anticorpos

As amostras individuais de soro devem ser testadas em relação à sua capacidade de inibirem o antigénio hemaglutinante do vírus da gripe aviária em testes-padrão de inibição da hemaglutinação, como definido no Capítulo 6.

Existe alguma polémica sobre se devem ser utilizadas 4 ou 8 unidades de hemaglutinina nos testes de inibição da hemaglutinação. Aparentemente, ambas as doses são válidas e caberia aos laboratórios nacionais a escolha dessa dose. Todavia, o antigénio utilizado afecta o nível em que um soro é considerado positivo: para 4 unidades de hemaglutinina, um soro positivo apresenta um título maior ou igual a 2^4 ; para 8 unidades de hemaglutinina, um soro positivo apresenta um título maior ou igual a 2^3 .

CAPÍTULO 5: teste de hemaglutinação (HA)

Reagentes

1. Solução isotónica salina tamponada com fosfato (0,05M) a pH 7,0-7,4.
2. Colher hemácias de pelo menos três frangos sem organismos patogénicos específicos (se tal não for possível, pode colher-se sangue de aves controladas regularmente e que se tenham apresentado isentas de anticorpos do vírus da gripe aviária) e misturá-las num volume igual de solução de Alsever. As células devem ser lavadas três vezes na solução isotónica salina tamponada com fosfato antes da sua utilização. Para o teste, recomenda-se uma suspensão a 1% (células empacotadas v/v).
3. O laboratório de referência comunitário fornecerá ou recomendará os vírus H5 ou H7, de reduzida virulência, para utilização como antigénios-padrão.

Técnica

1. Colocar 0,025 ml de solução isotónica salina tamponada com fosfato em cada cavidade de uma placa de microtitulação de plástico (devem ser utilizadas cavidades com fundos em "V").
2. Colocar 0,025 ml de suspensão de vírus (i.e. líquido alantóico) na primeira cavidade.
3. Utilizar um diluente de microtitulação para proceder às diluições duplas (1:2 a 1:4096) do vírus de cavidade em cavidade ao longo da placa.
4. Colocar mais 0,25 ml de solução isotónica salina tamponada com fosfato em cada cavidade.
5. Juntar 0,025ml de hemácias a 1% em cada cavidade.

6. Misturar agitando ligeiramente e colocar a 4°C.
7. Ler as placas 30-40 minutos depois, quando as testemunhas tiverem sedimentado. A leitura é feita através da inclinação da placa, observando a presença ou a ausência de um fluxo, em forma de lágrima, das hemácias. As cavidades sem hemaglutinação devem fluir à mesma velocidade que as células testemunha sem vírus.
8. O título de hemaglutinação é a diluição mais elevada que provoca a aglutinação de hemácias. Essa diluição pode ser considerada como contendo uma unidade de hemaglutinação. Um método mais exacto de determinação do título de hemaglutinação consiste na realização de testes de hemaglutinação em vírus provenientes de uma série de diluições iniciais mais próximas, i.e 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, etc. Este método é recomendado para a preparação exacta do antigénio destinado aos testes de inibição da hemaglutinação (Capítulo 6).

CAPÍTULO 6: teste de inibição da hemaglutinação

Reagentes

1. Solução isotónica salina tamponada com fosfato.
2. Líquido alantóico que contenha vírus, diluído na solução isotónica salina tamponada com fosfato para conter 4 ou 8 unidades de hemaglutinação por 0,025 ml.
3. Hemácias de frango a 1%.
4. Soro-testemunha de frango, negativo.
5. Soro-testemunha positivo.

Técnica

1. Colocar 0,025 ml de solução isotónica salina tamponada com fosfato em todas as cavidades de uma placa de microtitulação de plástico (com cavidades com fundos em "V").
2. Colocar 0,025 ml de soro na primeira cavidade da placa.

3. Utilizar um diluente de microtitulação para fazer diluições duplas de soro de cavidade em cavidade ao longo da placa.
4. Juntar 0,025 ml de líquido alantóico diluído que contenha 4 ou 8 unidades de hemaglutinação.
5. Misturar agitando ligeiramente e colocar a placa a 4° C durante pelo menos 60 minutos ou à temperatura ambiente durante pelo menos 30 minutos.
6. Juntar 0,025 ml de hemácias a 1% a todas as cavidades.
7. Misturar agitando ligeiramente e colocar a 4°C.
8. Ler as placas 30-40 minutos depois, quando a testemunha de hemácias tiver sedimentado. A leitura é feita através da inclinação da placa, observando a presença ou a ausência de um fluxo, em forma de lágrima, das hemáceas. As cavidades sem hemaglutinação devem fluir à mesma velocidade que as células testemunha que contêm apenas hemácias (0,025 ml) e solução isotónica salina tamponada com fosfato (0,05 ml).
9. O título da inibição da hemaglutinação é a diluição mais elevada de anti-soro que provoca a inibição completa de 4 ou 8 unidades de vírus (Deveria ser incluída em cada teste uma titulação da hemaglutinação para confirmar a presença da unidade de hemaglutinação exigida).
10. A validade dos resultados depende da obtenção de um título inferior a 2^3 para 4 unidades de hemaglutinação ou 2^2 para 8 unidades de hemaglutinação com o soro-testemunha negativo e de um título conhecido que não exceda o do soro-testemunha positivo.

CAPÍTULO 7: Índice de patogenicidade intravenosa

1. Diluir a 10^{-1} numa solução isotónica salina estéril líquido alantóico infeccioso colhido recentemente, de preferência do isolamento inicial sem qualquer selecção.
2. Injectar intravenosamente 0,1 ml de vírus diluído em cada um dos frangos com 10 semanas (devem ser usadas aves indemnes do patogénio específico).
3. As aves são examinadas com intervalos de 24 horas, durante 10 dias.

4. Em cada observação, cada ave é considerada normal (0), doente (1), muito doente (2) ou morta (3).
5. Neste exemplo são indicados resultados registados e o índice calculado:

Sinais clínicos Dia após a inoculação
 número de aves

	Classificação										Total
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Normal	10	2	0	0	0	0	0	0	0	0	12 x 0 = 0
Doente	0	4	2	0	0	0	0	0	0	0	6 x 1 = 6
Muito doente*	0	2	2	2	0	0	0	0	0	0	6 x 2 = 12
Morta	0	2	6	8	10	10	10	10	10	10	76 x 3 = 228
											TOTAL = 246

Índice = resultado médio por ave e por observação = $\frac{246}{100} = 2,46$

- * Trata-se de um resultado clínico subjectivo, mas que envolve, normalmente, aves que apresentam mais de um dos seguintes sinais: problemas respiratórios, depressão, diarreia, cianose da pele ou da barbela exposta, edema da face e/ou cabeça, sinais nervosos.

CAPÍTULO 8: avaliação da capacidade de formação de placas

1. É geralmente mais aconselhável utilizar uma série de diluições do vírus, a fim de assegurar a presença na placa de Petri de um número óptimo de placas. Devem ser suficientes diluições de 10 vezes até 10^{-7} numa solução isotónica salina tamponada com fosfato.
2. Em placas de Petri de 5 cm de diâmetro, preparam-se camadas simples confluentes de células de embriões de pintos ou linhas adequadas de células (por exemplo, rim de bovino Madin-Darby).
3. Junta-se a cada uma de duas placas de Petri 0,2 ml de cada diluição de vírus; deixa-se o vírus absorver durante 30 minutos.
4. Depois de lavar três vezes com solução isotónica salina tamponada com fosfato, as células infectadas são cobertas com o respectivo meio que contém 1% m/v de ágar e 0,01 mg/ml de tripsina ou sem tripsina; é importante que não seja adicionado soro ao meio de cobertura.

5. Após 72 horas de incubação a 37°C, as placas devem ter a dimensão suficiente. Estas placas são observadas mais correctamente se a camada de ágar for removida e se a camada simples de células for corada com cristal violeta (0,5% m/v) em etanol (25% v/v).
6. Todos os vírus devem originar placas claras quando incubados na presença de tripsina na cobertura. Quando esta não é utilizada na cobertura, apenas os vírus virulentos para os frangos produzirão placas.

CAPÍTULO 9: difusão dupla imunológica

O melhor método para demonstrar a presença do vírus A da gripe consiste na demonstração da existência do nucleocapsídeo ou matriz de antigénios, comum a todos os vírus A da gripe. Para tal, efectua-se geralmente testes de dupla difusão imunológica, recorrendo tanto a preparados concentrados de vírus como a extratos de membranas corioalantóicas infectadas.

Podem obter-se preparados adequados de vírus concentrados através da centrifugação a alta velocidade de fluido alantóico infeccioso e rompimento do vírus para libertar o nucleocapsídeo interno e a matriz de antigénios recorrendo a tratamento com o detergente lauroilsarcosinato de sódio. Pode também ser utilizada a precipitação ácida através de adição de ácido clorídrico 1N ao fluido alantóico infeccioso, para obter um pH final de 3,5 - 4,0, refrigeração durante pelo menos 1 hora a 0°C e centrifugação a baixa velocidade a 1 000 g durante 10 minutos. O sobrenadante pode ser eliminado e o precipitado que contém o vírus de novo suspenso num volume mínimo de tampão de sarcosil-glicina (1% de lauroilsarcosinato de sódio tamponado a pH 9,0 com glicina a 0,5 M). Estes preparados têm tanto o nucleocapsídeo como a matriz de antigénios.

BEARD (1970) descreveu a preparação de um nucleocapsídeo rico em antigénios a partir de membranas corioalantóicas retiradas de ovos infectados. Este método engloba: remoção das membranas corioalantóicas de ovos infectados positivos para a hemaglutinina, trituração ou homogeneização das membranas, congelamento e descongelamento 3 vezes, seguindo-se uma centrifugação a 1 000 g durante 10 minutos. O revestimento exterior é rompido e o sobrenadante tratado com formalina a 0,1% para utilização como antigénio.

Nos testes da dupla difusão imunológica pode ser empregue qualquer um dos dois antigénios, utilizando-se geles de agarose a 1%, ou ágar, que contenham cloreto de sódio a 8,0% perfazendo-se com tampão de fosfato 0,1M, com pH de 7,2. O vírus A da gripe é confirmado através das linhas de precipitina formadas pelo antigénio de teste e pelo antigénio positivo conhecido de um anti-soro positivo conhecido, que se misturam dando origem a uma linha de identidade.

ANEXO II

LISTA DOS LABORATÓRIOS NACIONAIS PARA A GRIPE AVIÁRIA

-Bélgica	Institut National de Recherches Vétérinaires, Groeselenberg 99, B 1180 Bruxelles
-Dinamarca	National Veterinary Laboratory, Poultry Disease Division, Høngøvej 2 DK 8200 Aarhus N.
-República Federal da Alemanha	Institut für Kleinstierzucht der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft, Braunschweig-Völkenrode, Postfach 280, D 3100 Celle
-França	Centre National d'Etudes Vétérinaires et Alimentation - Laboratoire Central de Recherches Agricoles et Porcines, B.P. 53, F 22440 Ploufragan
-Grécia	
-Irlanda	Veterinary Research Laboratory, Abbotstown, Castleknock, Dublin 15
-Itália	Instituto Patologia Aviare, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Napoli, Via Aniello Falcone 394, I 80127 Napoli F Delpino 1
-Luxemburgo	Institut National de Recherches Vétérinaires, Groeselenberg 99, B 1180 Bruxelles
-Países Baixos	Centraal Diergeneeskundig Instituut, Vestiging Virologie, Hourtibweg 39, NL 8221 RA Lelystad
-Portugal	Laboratório Nacional de Investigação Veterinária (LNIV), Estrada de Benfica 701, 1500 Lisboa
-Espanha	
-Reino Unido	Central Veterinary Laboratory, New Haw, Weybridge, GB-Surrey KT15 3NB

ANEXO III

NOME DO LABORATÓRIO DE REFERÊNCIA COMUNITÁRIO PARA

A GRIPE AVIÁRIA

Central Veterinary Laboratory

New Haw

Weybridge

Surrey KT15 3NB

UNITED KINGDOM

ISSN 0257-9553

COM(91) 304 final

DOCUMENTOS

PT

03

N.º de catálogo : CB-CO-91-344-PT-C

ISBN 92-77-74821-4
