

KONINKLIJK BESLUIT HOUDENDE MAATREGELEN VAN DIERGEENEESKUNDIGE POLITIE BETREFFENDE DE AVIAIRE INFLUENZA EN DE ZIEKTE VAN NEWCASTLE 28.11.1994 (B.S. 11.02.1995)

HOOFDSTUK I - Begripsbepalingen

Art. 1. Voor de toepassing van dit besluit gelden de definities gegeven in artikel 1 van het koninklijk besluit van 12 juni 1970, betreffende de bestrijding van de besmettelijke ziekten van pluimvee en andere neerhofdieren, alsook het in de handel brengen van broedeieren, eendagskuikens en fokpluimvee;

Voorts wordt verstaan onder:

1° Reisduif: duif die van zijn duiventil wordt of zal worden weggevoerd, om te worden losgelaten zodat hij zich in vrije vlucht naar zijn duiventil of een andere bestemming kan begeven;

2° Duiventil: een installatie die wordt gebruikt voor het houden of fokken van reisduiven;

3° Bedrijf: elk gebouw of complex van gebouwen, erin begrepen de erbijhorende terreinen, die samen op epidemiologisch gebied een geheel vormen, waar pluimvee of andere vogels worden gehouden, gefokt, of dat daartoe bestemd is, zelfs al gaat het om verscheidene afzonderlijke productie-eenheden waarvoor evenwel de productiemiddelen gemeenschappelijk gebruikt worden;

4° Met aviaire influenza besmet pluimvee:

alle pluimvee waarbij de aanwezigheid van aviaire influenza officieel is bevestigd na een in bijlage I omschreven onderzoek in het NIDO;

ingeval één of meer nieuwe uitbraken volgen, alle pluimvee waarbij klinische symptomen, of na het slachten, laesies zijn geconstateerd die wijzen op aviaire influenza;

5° Met de ziekte van Newcastle besmet pluimvee:

alle pluimvee waarbij de aanwezigheid van de ziekte van Newcastle officieel is bevestigd na in bijlage II omschreven onderzoek in het NIDO;

ingeval één of meer nieuwe uitbraken volgen, alle pluimvee waarbij klinische symptomen of, na het slachten, laesies zijn geconstateerd die wijzen op de ziekte van Newcastle;

6° Verdacht bedrijf: bedrijf waar één of meer stuks van besmetting of van verontreiniging verdacht pluimvee hebben verbleven;

7° Van besmetting met aviaire influenza verdacht pluimvee: alle pluimvee dat klinische symptomen of, na het slachten, laesies vertoont van zodanige aard dat besmetting met aviaire influenza kan worden vermoed, of alle pluimvee waarbij de aanwezigheid van influenza A virus, subtype H5 of H7 is aangetoond;

8° Van besmetting met de ziekte van Newcastle verdacht pluimvee: alle pluimvee dat klinische symptomen of, na het slachten, laesies vertoont van zodanige aard dat besmetting met de ziekte van Newcastle kan worden vermoed;

9° Van verontreiniging met aviaire influenza verdacht pluimvee: alle pluimvee dat rechtstreeks of onrechtstreeks in contact kan zijn geweest met het virus van de aviaire influenza of met het influenza A virus, subtype H5 of H7;

10° Van verontreiniging met de ziekte van Newcastle verdacht pluimvee: alle pluimvee dat rechtstreeks of onrechtstreeks met het virus van de ziekte van Newcastle in contact kan zijn geweest;

11° Haard: bedrijf waar één of meer stuks met aviaire influenza of de ziekte van Newcastle besmet pluimvee verblijven of hebben verbleven, voor zover de maatregelen niet werden opgeheven door de Dienst;

12° Verborgene haard: bedrijf waar de aanwezigheid van aviaire influenza of van de ziekte van Newcastle werd vastgesteld op klinisch ziek pluimvee, waarvan de houder de toestand verbergt door de ziekte niet aan te geven of door het pluimvee niet te laten onderzoeken;

13° Burgemeester: de burgemeester van de gemeente waar de haard gelegen is of waar het pluimvee zich bevindt en, voor zover maatregelen dienen getroffen te worden op het grondgebied van andere gemeenten, de burgemeesters van die gemeenten;

14° Verzamelen: het samenbrengen van pluimvee van verschillende herkomst, zelfs indien ze geladen blijven op voertuigen, inzonderheid op markten, tentoonstellingen, prijskampen en keuringen;

15° Verantwoordelijke: de eigenaar of de houder, die gewoonlijk over het pluimvee een onmiddellijk beheer en toezicht uitoefent;

16° NIDO: het Nationaal Instituut voor Diergeneeskundig Onderzoek van het Ministerie van Landbouw;

17° Minister: de Minister tot wiens bevoegdheid de Landbouw behoort;

18° Inspecteur-dierenarts: de inspecteur-dierenarts bevoegd voor het diergeneeskundig ambtsgebied waar het bedrijf gelegen is of waar het pluimvee zich bevindt;

19° Wet: tenzij anders bepaald de dierengezondheidswet van 24 maart 1987;

20° Dienst: de Dienst voor Diergeneeskundige Inspectie van het Ministerie van Landbouw;

21° Verbond: Verbond tot bestrijding van dierenziekten bedoeld bij hoofdstuk II van de wet;

22° Fonds: Het Fonds voor de Gezondheid en de Productie van de Dieren.

HOOFDSTUK II - Aangifte

Art. 2. Al wie de aanwezigheid van aviaire influenza of de ziekte van Newcastle vermoedt of vaststelt bij pluimvee of andere in gevangenschap gehouden vogels moet de inspecteur-dierenarts hiervan op de hoogte brengen.

HOOFDSTUK III - Verdenking

Art. 3. § 1. Onverminderd het bepaalde in artikel 2 is de verantwoordelijke van het verdacht besmette pluimvee verplicht al het pluimvee op zijn bedrijf af te zonderen en onverwijld te laten onderzoeken door een aangenomen dierenarts.

§ 2. De in toepassing van § 1 opgeroepen dierenarts onderzoekt binnen de 24 uur alle pluimvee van het bedrijf. Hij maakt één of meer levende dieren, krenten, organen of ander diagnostisch materiaal over aan het opsporingscentrum bevoegd voor het gebied waar het bedrijf gelegen is, overeenkomstig de opdeling opgenomen in bijlage III bij dit besluit. Hij brengt op de snelste wijze bij de inspecteur-dierenarts verslag uit over zijn bezoek en zijn vaststellingen.

Art. 4. § 1. Van zodra de inspecteur-dierenarts van de verdenking in kennis is gesteld, bezoekt hij of zijn afgevaardigde zonder uitstel het verdachte bedrijf en plaatst het onder toezicht. Hij gaat onmiddellijk over tot het uitvoeren van het epidemiologisch onderzoek overeenkomstig de bepalingen van hoofdstuk VI.

Hij kan alle monsters nemen of laten nemen nodig voor het stellen van de diagnose, erin begrepen één of meer stuks levend of dood pluimvee.

§ 2. Hij gaat over tot de telling van alle categorieën pluimvee op het bedrijf en geeft voor iedere categorie het aantal stuks pluimvee aan dat reeds gestorven is, klinische symptomen vertoont en hoeveel dieren geen symptomen vertonen.

Deze optekening moet door de verantwoordelijke worden bijgewerkt rekening houdend met het pluimvee dat in de periode dat het vermoeden bestaat, geboren dan wel gestorven is. Deze bijgewerkte gegevens kunnen bij ieder inspectiebezoek worden opgevraagd en gecontroleerd.

§ 3. De inspecteur-dierenarts beveelt alle pluimvee van het bedrijf af te zonderen in de lokalen waarin het is gehuisvest, of onder te brengen op andere plaatsen waar het geïsoleerd kan worden en geen contact heeft met andere vogels. Hij kan daarenboven bevelen alle er gehouden vogels, alsmede de honden en de katten te doen opsluiten. Behoudens zijn toestemming is het verplaatsen van andere dieren van en naar het bedrijf verboden.

§ 4. Het is verboden pluimvee of eendagskuikens op het bedrijf binnen te brengen of van het bedrijf af te voeren.

§ 5. Het is de verantwoordelijke verboden toegang te verlenen tot het verdachte bedrijf aan personen en voertuigen die er niet toe behoren. Dit verbod is niet van toepassing op het personeel van de Dienst, het aangesteld personeel van het destructiebedrijf, de politie, de verzorgers van personen en dieren en de personen die instaan voor de normale bevoorrading van personen en dieren.

Het is verboden aan alle personen die in het van besmetting verdachte bedrijf verblijven of die er de dieren verzorgen, een ander bedrijf te betreden of zich naar gelijk welke verzamelplaats van vogels te begeven.

De wielen en de banden van de voertuigen die het bedrijf verlaten, moeten worden ontsmet met een door de inspecteur-dierenarts aangewezen ontsmettingsmiddel.

§ 6. Het is de verantwoordelijke verboden vlees of kadavers van pluimvee, diervoeders, gereedschap, verpakkingen, dierlijke mest, strooisel, alsmede alle producten, voorwerpen of afvalstoffen die het virus van de aviaire influenza of de ziekte van Newcastle kunnen overbrengen, van het bedrijf af te voeren zonder de uitdrukkelijke en schriftelijke toelating van de inspecteur-dierenarts.

§ 7. Het is verboden eieren van het bedrijf af te voeren, met uitzondering van eieren die rechtstreeks worden gezonden naar een erkende inrichting voor de vervaardiging en de behandeling van eiprodukten, en die vervoerd worden overeenkomstig een door de Dienst verleende vergunning.

§ 8. De inspecteur-dierenarts kan in een bedrijf alle bijkomende maatregelen opleggen om gebeurlijke verspreiding van de ziekte te verhinderen.

§ 9. De inspecteur-dierenarts kan al deze maatregelen doen gelden voor andere bedrijven, wanneer in verband met de ligging ervan, de plaatselijke situatie of de contacten met het bedrijf waar de ziekte vermoedelijk aanwezig is, besmetting moet worden gevreesd.

§ 10. Deze maatregelen blijven van kracht zolang de aanwezigheid van aviaire influenza of de ziekte van Newcastle niet officieel werd weerlegd.

§ 11. De inspecteur-dierenarts betekent de verdenking en de maatregelen van kracht in het verdachte bedrijf, alsmede de opheffing ervan, aan de verantwoordelijke en aan de burgemeester.

HOOFDSTUK IV - Maatregelen in de haard

Art. 5. Van zodra in een bedrijf de aanwezigheid van aviaire influenza of de ziekte van Newcastle op basis van laboratoriumonderzoek, van klinische of epidemiologische gegevens bevestigd wordt, verklaart de inspecteur-dierenarts het bedrijf zonder verwijl tot haard en bepaalt er de grenzen van. Hij betekent de haard en de maatregelen die er van toepassing zijn aan de verantwoordelijke en aan de burgemeester.

Art. 6. In de haard zijn, ter aanvulling van de bepalingen van artikel 4, volgende maatregelen van toepassing:
1° de inspecteur-dierenarts of zijn afgevaardigde stelt een volledige inventaris op van alle pluimvee en alle andere vogels van het bedrijf indien dit nog niet gebeurd is in toepassing van artikel 4, § 2; hij vermeldt hierbij voor iedere

categorie het aantal stuks pluimvee dat reeds gestorven is, hoeveel dieren klinische symptomen vertonen en hoeveel geen symptomen vertonen;

2° de inspecteur-dierenarts beveelt onverwijld de afmaking van alle pluimvee van het bedrijf, overeenkomstig de bepalingen van hoofdstuk V. Alle gestorven dieren, alle afgemaakte dieren en alle eieren op het bedrijf moeten worden vernietigd. Bij het afmaken moet het risico van verspreiding van de ziekte tot een minimum worden beperkt;

3° de inspecteur-dierenarts beveelt alle stoffen of afvalstoffen met name voeder, strooisel en mest, die mogelijk zijn verontreinigd, te vernietigen of aan een behandeling te onderwerpen die de vernietiging van het eventueel aanwezige virus waarborgt;

De waarde van de diervoeders, die aldus aan hersterilisatie of vernietiging worden onderworpen, kan worden vergoed door het Fonds. De Dienst Inspectie van de Grondstoffen van het Ministerie van Landbouw wordt belast met de controle hierop;

4° de inspecteur-dierenarts spoort, met het oog op vernietiging ervan, het vlees op van pluimvee dat in het tijdvak tussen de vermoedelijke insleep van de ziekte in het bedrijf en de toepassing van de officiële maatregelen geslacht werd;

5° de inspecteur-dierenarts gaat over tot de opsporing, met het oog op de vernietiging ervan, van alle broedeieren die gedurende de vermoedelijke incubatieperiode van de ziekte van het bedrijf zijn afgevoerd. Als die eieren reeds zijn uitgekomen, moet het betrokken pluimvee onder officieel toezicht worden geplaatst. Consumptie-eieren die gedurende de vermoedelijke incubatieperiode van de ziekte zijn gelegd en die reeds van het bedrijf zijn afgevoerd, moeten voor zover mogelijk worden opgespoord en vernietigd, tenzij zij voordien afdoende zijn ontsmet en in verloren verpakking werden afgehaald.

Art. 7. De inspecteur-dierenarts voert een epidemiologisch onderzoek uit overeenkomstig de bepalingen van hoofdstuk VI, voor zover dit nog niet of slechts onvolledig is uitgevoerd in toepassing van artikel 4, § 1.

Art. 8. De inspecteur-dierenarts kan bij een representatief aantal dieren bloedmonsters laten nemen met het oog op de opsporing van antistoffen tegen de aviaire influenza of de ziekte van Newcastle. Het NIDO voert deze onderzoeken uit.

Art. 9. Na uitvoering van de in artikel 17 genoemde werkzaamheden moet een leegstand van tenminste eenentwintig dagen in acht worden genomen voordat weer pluimvee op het bedrijf wordt binnengebracht.

Art. 10. De inspecteur-dierenarts betekent de opheffing van de haardmaatregelen aan de verantwoordelijke en aan de burgemeester.

Art. 11. De Dienst kan de in de artikelen 5 tot 10 genoemde maatregelen bevelen voor andere bedrijven wanneer in verband met de ligging daarvan, de plaatselijke situatie of de contacten met het bedrijf waar de aanwezigheid van de ziekte is bevestigd, mogelijke besmetting moet worden gevreesd.

Art. 12. § 1. Ingeval een stam van het virus van de ziekte van Newcastle met een ICPI van meer dan 0,7 en minder dan 1,2 geïsoleerd is in een koppel pluimvee dat geen klinische symptomen van de ziekte van Newcastle vertoont, en door het in bijlage V van de richtlijn 92/66/EEG genoemde communautaire referentielaboratorium is aangetoond dat het betrokken virusisolaat afkomstig is van een verzwakt levend vaccin tegen de ziekte van Newcastle, kan de Dienst toestaan dat wordt afgeweken van de voorschriften van de artikelen 4, 5, 6, 8 en 9.

§ 2. Het bedrijf, waar het koppel bedoeld in § 1 zich bevindt, moet gedurende dertig dagen onder officieel toezicht worden geplaatst.

Tijdens deze periode zijn de maatregelen bedoeld in hoofdstuk III, artikel 4, §§ 2, 3, 5, 6 en 7 van toepassing en mag er geen pluimvee het bedrijf verlaten tenzij om rechtstreeks naar een door de inspecteur-dierenarts aangewezen slachthuis te worden afgevoerd.

De voor dit slachthuis verantwoordelijke ambtenaar van het Instituut voor Veterinaire Keuring moet van de zending van het te slachten pluimvee door de inspecteur-dierenarts op de hoogte worden gesteld.

Art. 13. § 1. Indien er op het bedrijf twee of meer afzonderlijke productie-eenheden zijn, kan de inspecteur-dierenarts in overleg met de Dienst, voor de gezonde koppels van een haard, afwijken van artikel 6, 2°, voor zover door de inspecteur-dierenarts is vastgesteld dat de structuur en de omvang van deze koppels, alsmede de op het bedrijf uitgevoerde verrichtingen van zodanige aard zijn dat de productie-eenheden waarin deze koppels worden gehouden, op het vlak van huisvesting, verzorging en voeding, volledig zijn gescheiden zodat het causaal agens zich niet van het ene koppel naar het andere kan verspreiden.

§ 2. De Minister kan bijkomende voorwaarden opleggen voor de toepassing van de afwijkingen voorzien in § 1.

HOOFDSTUK V - Afmaken op bevel

Art. 14. Voor de toepassing van artikel 6, 2°, betekent de inspecteur-dierenarts het afmakingsbevel aan de verantwoordelijke; hij zendt een afschrift ervan aan de burgemeester.
Het model van het afmakingsbevel is gevoegd in bijlage IV bij dit besluit.

Art. 15. Onmiddellijk na het bevel tot afmaken te hebben gegeven, overeenkomstig de bepalingen van het artikel 6, 2°, verwittigt de inspecteur-dierenarts telefonisch:

1° het hoofd van de Dienst;

2° De directeur van het NIDO.

Hij vordert de deskundige bedoeld in artikel 19.

Hij duidt de juiste ligging van de haard en de naam en het adres van de verantwoordelijke aan en vermeldt het aantal er gehouden pluimvee. Hij bevestigt dit schriftelijk.

Art. 16. De inspecteur-dierenarts kan, indien nodig, beroep doen op de burgemeester voor het treffen van de maatregelen die voor de uitvoering van het afmakingsbevel noodzakelijk zijn.

Art. 17. § 1. Het pluimvee waarop het afmakingsbevel betrekking heeft, wordt ter plaatse afgemaakt volgens de instructies van de Dienst, op zodanige wijze dat alle gevaar voor verspreiding van het causaal virus voorkomen wordt. Het NIDO verleent hieraan zijn medewerking.

§ 2. De krenge van het in de haard afgemaakte pluimvee, de kadavers van het op het bedrijf gestorven pluimvee en andere vogels, het vlees bedoeld in artikel 6, 4°, evenals de eieren bedoeld in artikel 6, 5°, worden weggehaald om op zodanige wijze te worden vernietigd dat alle gevaar voor verspreiding van het causaal virus wordt voorkomen.

§ 3. Nadat alle pluimvee uit de haard werd opgeruimd, voert het NIDO de voorlopige reiniging en ontsmetting uit van de gebouwen waar het betrokken pluimvee is gehuisvest, alsmede de omgeving daarvan, de gebruikte vervoermiddelen en alle ander materieel dat kan zijn verontreinigd.

De reinigings- en ontsmettingswerkzaamheden van de haard worden, indien nodig, voorafgegaan door een bestrijding en verdelging van de er aanwezige knaagdieren, uitgevoerd onder het toezicht en volgens de instructies van de inspecteur-dierenarts.

Art. 18. § 1. Binnen de perken van het begrotingskrediet wordt aan de eigenaar van het op bevel afgemaakte pluimvee een vergoeding toegekend, berekend als volgt:

$V = R \cdot Vw$.

R = Refractiecoëfficiënt.

Vw = Vervangingswaarde.

De vergoeding wordt berekend op basis van de inventaris opgesteld op het ogenblik van de eerste tussenkomst overeenkomstig artikel 4, § 2 of artikel 6, 1°.

De vervangingswaarde kan tot een maximum beperkt worden. De refractiecoëfficiënt en het maximum worden vastgelegd door de Minister.

Voor pluimvee dat klinische symptomen vertoont, wordt deze vergoeding met de helft verminderd. De broedeieren en consumptie-eieren die in toepassing van dit besluit werden vernietigd, worden vergoed volgens dezelfde modaliteiten als voor het pluimvee. Voor pluimvee dat gestorven is wordt geen vergoeding toegekend.

§ 2. De eigenaar verliest elk recht op vergoeding ingeval de inenting tegen de ziekte van Newcastle, overeenkomstig een in toepassing van artikel 40 genomen besluit, verplicht was in het gebied waar de haard zich bevindt en de verantwoordelijke niet kan bewijzen door middel van geldige inentingscertificaten dat hij op het ogenblik van het verschijnen van de ziekte volledig aan de bepalingen inzake de verplichte inenting had voldaan. In elk geval wordt geen enkele vergoeding toegekend wanneer uit de onderzoeken bedoeld in artikel 8 blijkt dat aan de vaccinatieverplichtingen niet, of zeer onvolledig, werd voldaan.

Indien de verantwoordelijke van het pluimvee weigert aan het afmakingsbevel gevolg te geven of indien één of meer overtredingen worden vastgesteld op de bepalingen van artikel 3, artikel 4, §§ 3-7, artikel 21, § 4, artikel 23, §§ 3-5, artikel 25, §§ 3 en 4, de artikelen 39, 40 en 43 of van een besluit genomen ter uitvoering van artikel 41, alsmede in geval van een verborgen haard, wordt de vergoeding bedoeld in § 1 niet toegekend.

§ 3. In geval één of meer overtredingen worden vastgesteld op de andere bepalingen dan deze bedoeld in § 2, wordt de vergoeding bedoeld in § 1 met de helft verminderd.

§ 4. In geval na de toekenning van een vergoeding overtredingen worden vastgesteld vermeld in de §§ 2 en 3, die de toepassing van de §§ 2 of 3 noodzakelijk zouden maken, wordt het bedrag van de vergoeding toegekend overeenkomstig § 1 aangepast volgens de bepalingen van respectievelijk §§ 2 of 3. Reeds betaalde sommen worden in dit geval geheel of gedeeltelijk teruggevorderd.

Art. 19. § 1. De waarde van het af te maken pluimvee en van de te vernietigen eieren wordt door een deskundige vastgesteld.

De deskundigen worden door de Minister benoemd op voordracht van de Raad van het Fonds voor de gezondheid en de productie van de dieren en kunnen door hem worden ontslagen.

De deskundige begeeft zich ter plaatse met de inspecteur-dierenarts of zijn afgevaardigde die hem de te schatten dieren aanduidt.

Hij legt zijn deskundig verslag binnen de 24 uren van de eerste opvordering bij de inspecteur-dierenarts neer.

§ 2. In dringende gevallen bepaalt de inspecteur-dierenarts zelf de waarde van de af te maken dieren.

Art. 20. De schattingskosten worden als volgt bepaald:

1° Vacatiegelden:

Aan de deskundigen wordt een vacatie toegekend van (7,5 EUR) per halfuur. Elk begonnen halfuur wordt volledig

meegeteld. De verplaatsingstijd komt niet in aanmerking voor het toekennen van vacaties. <KB 13.07.2001>
2° Verplaatsingskosten:

De werkelijke onkosten bij gebruik van het openbaar vervoer worden terugbetaald bij het voorleggen van de bewijsstukken. Wanneer een privé-voertuig wordt gebruikt, worden de vergoedingen toegekend welke voorzien zijn in het koninklijk besluit van 18 januari 1965 houdende algemene regeling inzake reiskosten.

3° Verblijfskosten:

De vergoedingen voor het overheidspersoneel van de rangen 10 tot 14, voorzien door het koninklijk besluit van 24 december 1964 tot vaststelling van de vergoedingen wegens verblijfskosten, toegekend aan de leden van het personeel der ministeries, worden toegekend.

HOOFDSTUK VI - Epidemiologisch onderzoek

Art. 21. § 1. Het epidemiologisch onderzoek bedoeld bij artikel 4, § 1 en artikel 7 moet worden uitgevoerd op alle bedrijven waarvan, om welke reden dan ook, vermoed kan worden dat ze de besmettingsbron konden zijn voor een verdacht bedrijf of voor een haard. Een zelfde onderzoek zal plaats hebben op alle bedrijven waarvan, om welke reden dan ook, vermoed kan worden dat ze besmet zouden kunnen zijn vanuit een verdacht bedrijf of een haard.

§ 2. Het epidemiologisch onderzoek heeft met name betrekking op:

- a) de duur van de periode waarin de ziekte op het bedrijf kan aanwezig zijn geweest alvorens de ziekte werd gemeld;
- b) de mogelijke oorsprong van de ziekte op het bedrijf en het opsporen van de andere bedrijven waar zich pluimvee of andere vogels bevinden die uit dezelfde bron kunnen zijn besmet of geïnfecteerd;
- c) het verkeer van personen, pluimvee, andere in gevangenschap gehouden vogels of andere dieren, voertuigen, kadavers, vlees of stoffen waardoor het virus van en naar het bedrijf kan zijn gebracht.

§ 3. Zodra uit één van de overeenkomstig §§ 1 en 2 uitgevoerde onderzoeken blijkt dat het onderzochte bedrijf besmet zou kunnen zijn, wordt het onmiddellijk onder officiële controle geplaatst.

§ 4. Wanneer een bedrijf onder officiële controle is geplaatst als bedoeld in § 3, verbiedt de inspecteur-dierenarts dat pluimvee van het bedrijf wordt afgevoerd, tenzij om onder officieel toezicht rechtstreeks naar een slachthuis te worden afgevoerd en daar onmiddellijk te worden geslacht. Voordat daartoe toestemming wordt gegeven, moet de inspecteur-dierenarts alle pluimvee klinisch hebben onderzocht of doen onderzoeken om de aviaire influenza of de ziekte van Newcastle op dat bedrijf uit te sluiten.

De in dit artikel bedoelde beperkingen op verplaatsingen zijn van toepassing gedurende 21 dagen, te rekenen vanaf de laatste dag waarop verontreiniging kan hebben plaatsgevonden, met een minimum van 7 dagen.

§ 5. In bijzondere gevallen kan de inspecteur-dierenarts de in dit artikel bedoelde maatregelen beperken tot een gedeelte van het bedrijf en tot het pluimvee dat zich in dat gedeelte bevindt, voor zover de dieren er volledig afzonderlijk worden gehuisvest, verzorgd en gevoederd, en het daarbij betrokken personeel alleen daar werkzaam is.

§ 6. Op de bedrijven die hij onder officiële controle heeft geplaatst, kan de inspecteur-dierenarts alle bijkomende maatregelen opleggen die hij nodig acht.

HOOFDSTUK VII - Maatregelen in het beschermingsgebied en in het toezichtsgebied

Art. 22. § 1. De inspecteur-dierenarts bakt rond elke haard van aviaire influenza of van de ziekte van Newcastle een beschermingsgebied af met een straal van ten minste 3 kilometer en een toezichtsgebied met een straal van ten minste 10 km. Hij stelt de burgemeester hiervan in kennis.

§ 2. Bij de instelling van deze gebieden wordt rekening gehouden met:

- 1° de resultaten van het overeenkomstig hoofdstuk VI verrichte epidemiologische onderzoek;
- 2° de beschikbare serologische gegevens;
- 3° de geografische situatie, met name de natuurlijke grenzen;
- 4° gegevens van ecologische aard, de ligging en nabijheid van de bedrijven;
- 5° bestaande handelsstromen in pluimvee en de aanwezigheid van slachthuizen;
- 6° de aanwezige controlevoorzieningen alsmede de aard van de bestrijdingsmaatregelen die worden toegepast.

§ 3. Indien het beschermingsgebied of het toezichtsgebied delen van het Belgisch grondgebied overschrijdt, dan worden deze gebieden in onderling overleg met de bevoegde autoriteiten van het betrokken buurland afgebakend.

§ 4. In bijzondere gevallen, door de Minister bepaald, kan de omvang en de toepassingsduur van de beschermings- en toezichtsgebieden worden beperkt.

Art. 23. In het beschermingsgebied gelden de volgende maatregelen:

§ 1. De burgemeester betekent de afbakening van het beschermingsgebied aan de verantwoordelijken van de erin gelegen bedrijven. Tevens doet hij aan alle wegen op de grens van het beschermingsgebied witte waarschuwingborden aanbrengen op palen, op tenminste twee meter hoogte, met vermelding in zwarte blokletters:

voor aviaire influenza:

"Aviaire Influenza-Beschermingsgebied-verkeer van en handel in pluimvee en broedeieren gereguleerd."

voor de ziekte van Newcastle:

"Ziekte van Newcastle-Beschermingsgebied-verkeer van en handel in pluimvee en broedeieren gereguleerd."

§ 2. De burgemeester doet overgaan tot de administratieve inventarisering van het pluimvee op alle in het beschermingsgebied gelegen bedrijven. Alle bedrijven worden geïdentificeerd.

De inventaris wordt binnen de vijf werkdagen aan de inspecteur-dierenarts overgemaakt.

§ 3. De verantwoordelijken van bedrijven zijn ertoe gehouden om al het pluimvee van hun bedrijf éénmaal per week, met een tussentijd van minstens vier dagen tussen de onderzoeken, te laten onderzoeken door een aangenomen dierenarts.

De aangenomen dierenarts voert bij zijn bezoek een klinisch onderzoek en een telling uit van al het pluimvee op het bedrijf. Voor zover nodig, worden monsters genomen voor laboratoriumonderzoek. De gegevens en het resultaat van die bezoeken moeten worden geregistreerd op de wijze die door de Minister wordt vastgesteld.

§ 4. De burgemeester brengt de verantwoordelijken van de in het beschermingsgebied gelegen bedrijven ervan op de hoogte dat ze gehouden zijn volgende maatregelen na te leven:

1° elke aanvoer of afvoer van pluimvee en broedeieren van de bedrijven, is verboden, met uitzondering van:

a) het rechtstreeks vervoer van pluimvee naar een slachthuis aangeduid door de inspecteur-dierenarts dat bij voorkeur gelegen is in het beschermingsgebied of in het toezichtsgebied, onder de volgende voorwaarden:

i) het vervoer moet plaatshebben tussen 6 en 17 uur;

ii) de vervoermiddelen waarmee het pluimvee wordt vervoerd, worden verzegeld door een afgevaardigde van de inspecteur-dierenarts;

iii) het vervoer moet vergezeld gaan van een vervoerstoeleting afgeleverd door een aangenomen dierenarts;

iv) de keurder van het slachthuis van bestemming gaat de éénvormigheid van de lading na, vervolledigt de toelating en maakt ze binnen de 24 uur over aan de inspecteur-dierenarts van de omschrijving van het bedrijf van herkomst;

b) het rechtstreeks transport van eendagskuikens, legrijpe kippen en ander pluimvee, alsook van broedeieren naar een bedrijf gelegen in het beschermingsgebied of het toezichtsgebied, met akkoord van de inspecteur-dierenarts, onder de volgende voorwaarden:

i) er mag geen ander pluimvee aanwezig zijn op het bedrijf van bestemming;

ii) het vervoer moet vergezeld gaan van een vervoerstoeleting afgeleverd door een aangenomen dierenarts;

iii) het vervoermiddel en de kratten worden grondig gereinigd en ontsmet vóór het verlaten van het bedrijf, of in een aangewezen inrichting;

iv) vóór de verzending van broedeieren naar een aangewezen broederij moeten de eieren en de eindverpakkingen worden ontsmet.

In bijzondere gevallen kan de inspecteur-dierenarts evenwel het vervoer van eendagskuikens, legkippen of broedeieren naar een bedrijf gelegen buiten het toezichtsgebied toelaten. Dit bedrijf wordt dan, onder toepassing van de bepalingen van artikel 23, § 4, onder officiële controle van de inspecteur-dierenarts gesteld;

2° het pluimvee moet afgezonderd worden in de lokalen waarin het is gehuisvest, of op een andere plaats waar het kan worden geïsoleerd;

3° in het beschermingsgebied moeten de vogels van bedrijven die op minder dan 500 meter van een haard zijn gelegen, worden opgesloten;

4° aan de in- en uitgangen van de pluimveehokken en van het bedrijf moet een ontsmettingsvoetbad worden geplaatst met een door de inspecteur-dierenarts toegelaten ontsmettingsmiddel;

5° onverminderd de bepalingen opgelegd door de regeringen van de Gewesten, is het verboden zonder toestemming van de inspecteur-dierenarts pluimvee meest of gebruikt strooisel te vervoeren of te verspreiden.

§ 5. In het beschermingsgebied zijn verboden:

1° het verkeer op de openbare weg en het vervoer van pluimvee; dit verbod geldt niet voor de doorvoer van pluimvee over de autosnelwegen of de hoofdlijnen van het spoorwegnet, op voorwaarde dat de dieren niet worden uitgeladen en dat nergens halt wordt gehouden;

2° verzamelingen van vogels en pluimvee;

3° de toegang tot de gebouwen en terreinen van elk bedrijf en elke inrichting waar pluimvee wordt gehouden, door personen vreemd aan het bedrijf of de inrichting; dit verbod is niet van toepassing op:

a) het personeel van de Diergeneeskundige Dienst en het NIDO of personen opgevorderd door de inspecteur-dierenarts;

b) het personeel aangesteld door het destructiebedrijf;

c) de politie en de rijkswacht;

d) de personen aangesteld om de dieren te verzorgen en die er geroepen zijn voor dienst- of bevoorradingsnoodwendigheden;

4° de toegang tot de pluimveehokken en de voliëres, behalve voor:

a) de verantwoordelijke zelf;

b) de aangenomen dierenarts;

c) het personeel van de Diergeneeskundige Dienst en het NIDO.

Al deze personen zijn verplicht bedrijfskledij te dragen en de laarzen te ontsmetten alvorens de hokken te betreden en bij het verlaten ervan.

Art. 24. De in het beschermingsgebied geldende maatregelen blijven ten minste van kracht tot 21 dagen nadat op het besmette bedrijf de reinigings- en ontsmettingsmaatregelen zijn uitgevoerd onder het toezicht en volgens de instructies van de inspecteur-dierenarts.

Art. 25. In het toezichtsgebied gelden volgende maatregelen:

§ 1. De burgemeester betekent de afbakening van het toezichtsgebied aan de verantwoordelijken van de erin gelegen bedrijven.

§ 2. De burgemeester doet overgaan tot de administratieve inventarisering van het pluimvee op alle in het toezichtsgebied gelegen bedrijven. Alle bedrijven worden geïdentificeerd. De inventaris wordt binnen de vijf werkdagen aan de inspecteur-dierenarts overgemaakt.

§ 3. De verantwoordelijken van bedrijven zijn ertoe gehouden om al het pluimvee van hun bedrijf éénmaal per week, met een tussentijd van minstens 4 dagen tussen de onderzoeken te laten onderzoeken door een aangenomen dierenarts.

De aangenomen dierenarts voert bij zijn bezoek een klinisch onderzoek en een telling uit van al het pluimvee op het bedrijf. Voor zover nodig, worden monsters genomen voor laboratoriumonderzoek. De gegevens en het resultaat van die bezoeken moeten worden geregistreerd op de wijze die door de Minister wordt vastgesteld.

§ 4. De burgemeester brengt de verantwoordelijken van de in het toezichtsgebied gelegen bedrijven op de hoogte van de in het toezichtsgebied geldende maatregelen:

1° pluimvee mag gedurende de eerste vijftien dagen het toezichtsgebied niet verlaten tenzij om rechtstreeks te worden vervoerd naar een door de inspecteur-dierenarts aangeduid slachthuis buiten het toezichtsgebied;

2° het rechtstreeks vervoer van pluimvee naar een slachthuis aangeduid door de inspecteur-dierenarts is slechts toegelaten onder de volgende voorwaarden:

a) het vervoer moet plaatshebben tussen 6 en 17 uur;

b) de vervoermiddelen waarmee het pluimvee wordt vervoerd, wordt verzegeld door een afgevaardigde van de inspecteur-dierenarts;

c) het vervoer moet vergezeld gaan van een vervoerstoeelating afgeleverd door een aangenomen dierenarts;

3° het rechtstreeks vervoer van eendagskuikens, legrijpe kippen en ander pluimvee, alsook van broedeieren naar een bedrijf aangeduid door de inspecteur-dierenarts, is slechts toegelaten onder de volgende voorwaarden:

a) het vervoer moet vergezeld gaan van een vervoerstoeelating afgeleverd door een aangenomen dierenarts, overeenkomstig het model bepaald door de Dienst;

b) het vervoermiddel en de kratten worden grondig gereinigd en ontsmet vóór het verlaten van het bedrijf van bestemming of in een aangewezen inrichting;

c) vóór de verzending moeten de eieren en de eindverpakkingen worden ontsmet.

In bijzondere gevallen kan de inspecteur-dierenarts het vervoer van eendagskuikens, legkippen of broedeieren naar een bedrijf gelegen buiten het toezichtsgebied toelaten. Dit bedrijf wordt dan, onder toepassing van de bepalingen van artikel 21, § 4, onder officiële controle van de inspecteur-dierenarts gesteld;

4° het is verboden pluimvee of gebruik strooisel buiten het toezichtsgebied te brengen;

5° elke andere verplaatsing of vervoer van pluimvee binnen het toezichtsgebied is verboden; dit verbod geldt niet voor de doorvoer van pluimvee over de autosnelwegen of de hoofdlijnen van het spoorwegnet, op voorwaarde dat de dieren niet worden uitgeladen en dat nergens halt wordt gehouden;

6° verzamelingen van pluimvee en vogels zijn verboden.

Art. 26. De in het toezichtsgebied geldende maatregelen worden ten vroegste opgeheven 30 dagen nadat op het besmette bedrijf de reinigings- en ontsmettingsmaatregelen zijn uitgevoerd.

HOOFDSTUK VIII - Maatregelen bij reisduiven en andere vogels met betrekking tot de ziekte van Newcastle

Art. 27. § 1. Wanneer de ziekte van Newcastle wordt vermoed bij reisduiven of andere in gevangenschap gehouden vogels, beveelt de inspecteur-dierenarts dat onverwijld de nodige monsters voor laboratoriumonderzoek worden genomen.

§ 2. Van zodra aangifte is gedaan van de vermoedelijke besmetting, plaatst de inspecteur-dierenarts het bedrijf of de duiventil onder officieel toezicht en eist dat geen enkele duif, of in gevangenschap gehouden vogel of andere mogelijke overbrenger van de ziekte van Newcastle de duiventil of het bedrijf verlaat.

§ 3. De maatregelen van officieel toezicht worden slechts opgeheven van zodra de vermoedelijke aanwezigheid van de ziekte van Newcastle is weerlegd.

Art. 28. § 1. Van zodra de besmetting officieel is bevestigd, voert de inspecteur-dierenarts een epidemiologisch onderzoek uit overeenkomstig de bepalingen van hoofdstuk VI.

§ 2. De inspecteur-dierenarts doet de in de artikelen 6, 2° en 3°, 8 en 9 bedoelde controle- en uitroeiingsmaatregelen toepassen op de met de ziekte van Newcastle besmette reisduiven of in gevangenschap gehouden vogels.

Art. 29. In afwijking van de bepalingen van artikel 28 kan de inspecteur-dierenarts besluiten volgende maatregelen toe te passen:

- i) dat de duiven of in gevangenschap gehouden vogels gedurende ten minste 60 dagen nadat de klinische symptomen van de ziekte van Newcastle verdwenen zijn, niet buiten de duiventil of het bedrijf worden gebracht;
- ii) dat alle stoffen en afvalstoffen die mogelijk zijn verontreinigd, worden vernietigd of behandeld. Deze behandeling

moet garanderen dat het aanwezige virus van de ziekte van Newcastle en alle gedurende de onder i) genoemde periode van 60 dagen verzamelde afvalfen worden vernietigd.

HOOFDSTUK IX - Ambtshalve toe te passen maatregelen

Art. 30. De burgemeester is verantwoordelijk voor de uitvoering van de door de inspecteur-dierenarts in de haard, in het beschermings- en in het toezichtsgebied voorgeschreven maatregelen.

Art. 31. Indien de verantwoordelijke van een pluimveebedrijf, een duiventil, van andere vogels of van een broederij gelegen in een beschermingsgebied of een toezichtsgebied, één of meer maatregelen bepaald door dit besluit of door de uitvoeringsbesluiten ervan of opgelegd door de inspecteur-dierenarts, niet toepast, treft de burgemeester deze maatregelen ambtshalve op kosten van de houder onder het toezicht van de plaatselijke politie. Hij doet, zo nodig, beroep op de rijkswacht.

De kosten veroorzaakt door het ambtshalve toepassen van maatregelen van diergeneeskundige politie worden door het gemeentebestuur teruggevorderd.

Art. 32. De inspecteur-dierenarts spoort de verborgen haarden op.

De verantwoordelijke van een verdacht bedrijf, moet bij de eerste mondelinge of schriftelijke aanmaning, zijn hulp of deze van zijn personeel verlenen voor het onderzoek door de inspecteur-dierenarts van al de in zijn bezit zijnde dieren.

Art. 33. Alle pluimvee waarvan de aanwezigheid op de openbare weg, in een openbare plaats of op andermans eigendom een overtreding van dit besluit uitmaakt, wordt op bevel van de inspecteur-dierenarts onmiddellijk afgemaakt zonder schatting en zonder vergoeding.

HOOFDSTUK X - Verkeer, vervoer en verzamelingen van pluimvee

Art. 34. Onverminderd de bepalingen van artikel 23, § 5 en van artikel 25, § 4, kan de Minister het verzamelen van pluimvee en vogels op het hele grondgebied van het Rijk of op een gedeelte ervan verbieden.

Art. 35. De Minister kan de voorwaarden bepalen voor de openbare verkoop van pluimvee en vogels op markten en voor het verzamelen van pluimvee en vogels.

Art. 36. De inspecteur-dierenarts verbiedt aan handelaars en vervoerders die verdacht besmet pluimvee hebben verkocht of vervoerd, het gebruik van hun voertuigen gedurende de tijd nodig geoordeeld voor de reiniging en ontsmetting.

HOOFDSTUK XI - Diagnostisch onderzoek

Art. 37. De Diergeneeskundige Dienst mag in alle pluimveebedrijven of slachthuizen monsters nemen of doen nemen, met het oog op de opsporing van de aviaire influenza of de ziekte van Newcastle of ter controle op de naleving van de overeenkomstig artikel 40 genomen besluiten.

De inspecteur-dierenarts mag voor het uitvoeren van hoger genoemde staalnamen beroep doen op een aangenomen dierenarts. Voor deze handelingen hebben het personeel van de Diergeneeskundige Dienst en van het NIDO, en de aangenomen dierenartsen vrije toegang tot de betrokken bedrijven. De pluimveehouders zijn verplicht hulp te verlenen aan de personen aangesteld voor de monsternamen en ze mogen zich er niet tegen verzetten.

Art. 38. § 1. Het nemen van monsters en het erop uitvoeren van laboratoriumonderzoeken met het oog op de opsporing van de aviaire influenza, dient te geschieden volgens de technieken vastgelegd in bijlage I.

§ 2. Het nemen van monsters en het erop uitvoeren van laboratoriumonderzoeken met het oog op de opsporing van de ziekte van Newcastle, dient te geschieden volgens de technieken vastgelegd in bijlage II.

§ 3. De Minister kan de bijlage I aanpassen aan de wijzigingen aangebracht aan de bijlage I van richtlijn 92/40/EEG, en kan de bijlage II aanpassen aan de wijzigingen aangebracht aan de bijlage I van richtlijn 92/66/EEG.

§ 4. Het NIDO wordt aangeduid als nationaal referentielaboratorium voor het op elkaar afstemmen van de gebruikte laboratoriumtechnieken bedoeld bij §§ 1 en 2.

HOOFDSTUK XII - Preventieve en curatieve behandeling van aviaire influenza en van de ziekte van Newcastle

Art. 39. Elke preventieve of curatieve behandeling van de aviaire influenza of van de ziekte van Newcastle is verboden.

Art. 40. § 1. In afwijking van artikel 39 kan de Minister de modaliteiten vastleggen die van toepassing zijn wanneer Hij besluit tot verplichte vaccinatie van pluimvee.

Hij kan de vaccinatie verplicht stellen voor geheel of voor een deel van het Rijk.

Hij kan in voorkomend geval de mogelijkheid voorzien voor ontheffing op de verplichte inenting en alternatieve entschema's toelaten.

§ 2. De Minister kan tevens besluiten tot een entingsprogramma voor reisduiven, tentoonstellingsduiven en andere vogels tegen de ziekte van Newcastle. De organisatoren van wedstrijden en tentoonstellingen nemen in overleg met de Dienst de nodige schikkingen om ervoor te zorgen dat alleen reisduiven die door een aangenomen dierenarts tegen de ziekte van Newcastle werden ingeënt tot de wedstrijden of tentoonstellingen worden toegelaten.

§ 3. De Minister bepaalt welke virusstammen voor de inenting van pluimvee en vogels tegen de ziekte van Newcastle mogen worden toegelaten.

HOOFDSTUK XIII - Algemene bepalingen

Art. 41. Bij dreigend gevaar van besmetting met of uitbreiding van de ziekte, kan de Minister alle tijdelijke maatregelen treffen die hij nodig acht om de aviaire influenza of de ziekte van Newcastle te bestrijden en uit te roeien.

Hij kan daarbij de bestaande reglementering hetzij aanvullen, hetzij er geheel of gedeeltelijk van afwijken.

Art. 42. Alle aangenomen dierenartsen dienen de door de inspecteur-dierenarts gegeven instructies met betrekking tot de aviaire influenza of de ziekte van Newcastle nauwkeurig op te volgen en hem ten allen tijde de gevraagde inlichtingen te bezorgen.

Art. 43. De verantwoordelijken en de personen die eendagskuikens, pluimvee en broedeieren vervoeren of doen vervoeren, zijn verplicht aan de bevoegde ambtenaren die erom verzoeken, elke inlichting mede te delen omtrent de oorsprong of de bestemming der eendagskuikens, pluimvee of broedeieren die zij houden, vervoeren of doen vervoeren door op te geven, al naar gelang van het geval, de naam, voornamen en het adres van de verkoper of van de voorgaande verantwoordelijke, de plaats waar de overdracht van eigendom of van bezit plaats had en de plaatsen waar de eendagskuikens, pluimvee of broedeieren sinds de overdracht hebben verbleven. Om deze gegevens te registreren kan de Minister het bijhouden van registers opleggen.

Art. 44. Pluimveevoeder, met inbegrip van granen, die voor pluimveevoeding bestemd zijn, mogen alleen in verloren verpakking of in bulk worden geleverd.

Art. 45. Overtredingen op de bepalingen van dit besluit worden opgespoord, vastgesteld en gestraft overeenkomstig de hoofdstukken V en VI van de wet.

Art. 46. Het koninklijk besluit van 16 juli 1981 houdende maatregelen van gezondheids politie betreffende de vogelpest en de pseudo-vogelpest, gewijzigd bij het koninklijk besluit van 13 mei 1992, wordt opgeheven.

Art. 47. Onze Minister van Landbouw is belast met de uitvoering van dit besluit.

Wijzigingen:

Koninklijk besluit van 13.07.2001 (B.S. 11.08.2001)

Bijlage I

Methoden voor differentiële diagnostiek en bevestiging van de diagnose van aviaire influenza.

De onderstaande methoden voor het isoleren en karakteriseren van virussen van aviaire influenza moeten worden beschouwd als richtsnoeren en minimumeisen die bij het stellen van de diagnose van de ziekte in acht moeten worden genomen.

Voor de differentiële diagnostiek en de bevestiging van de diagnose van aviaire influenza geldt de volgende definitie:

Aviaire influenza is een pluimveeziekte die wordt veroorzaakt door een influenza-A-virus met een intraveneuze pathogeniteitsindex bij zes weken oude kuikens van meer dan 1,2 of door een influenza-A-virus, subtype H5 of H7; door middel van "sequencing" (bepaling van de basenvolgorde) van de nucleotiden is aangetoond dat bij deze subtypes verschillende basische aminozuren aanwezig zijn aan de breukzijde van het hemagglutinine.

HOOFDSTUK I - Bemonstering en behandeling van de monsters.

1. Monsters.

Cloaca-swabs (of faeces) en trachea-swabs van zieke dieren; faeces of inhoud van het spijsverteringskanaal, hersenweefsel, trachea, longen, lever, milt en andere duidelijk aangetaste organen van pas gestorven dieren.

2. Behandeling van de monsters.

De in paragraaf 1 genoemde organen en weefsels mogen worden samengevoegd, met uitzondering van het faecale materiaal, dat apart moet worden behandeld. De swabs moeten volledig worden ondergedompeld in een voldoende hoeveelheid antibiotisch medium. Monsters van faeces en organen moeten worden gehomogeniseerd (in een laboratoriummixer of met stamper en vijzel en steriel zand) in een antibiotisch medium zodat een 10-20%-ige m/v suspensie in het medium ontstaat. De suspensies worden gedurende ongeveer twee uur bij omgevingstemperatuur (of gedurende een langere tijd bij 4°C) gehouden en daarna door middel van centrifugeren (bij voorbeeld 800 tot 1000 g gedurende 10 minuten) geclarificeerd.

3. Antibiotisch medium.

Met diverse formuleringen van antibiotische media zijn goede resultaten verkregen. Monsters van faeces vereisen hoge antibioticaconcentraties; een typische formulering daarvoor is: 10000 eenheden/ml penicilline, 10 mg/ml streptomycine, 0,25 mg/ml gentamycine en 5000 eenheden/ml mycostatine in PBS (phosphate buffered saline-keukenzoutoplossing met fosfaatbuffer). Een vijfvoudige verdunning van deze concentraties volstaat voor weefsels en trachea-swabs. Voor Chlamydia-organismen mag 50 mg/ml oxytetracycline worden toegevoegd. Voor het bereiden van het medium is het van essentieel belang dat na toevoeging van de antibiotica de pH wordt gecontroleerd en op 7,0-7,4 wordt gebracht.

HOOFDSTUK II - Virusisolatie.

Virusisolatie met behulp van bebroede kippeëieren.

Bij ten minste vier geëmbryoneerde kippeëieren die gedurende acht tot tien dagen zijn bebroed, wordt telkens 0,1-0,2 ml van het geclarificeerde en vloeibare supernatant in de allantoïsholte geënt. Deze eieren zijn bij voorkeur afkomstig van een specifiek pathogenvrij koppel (SPF-koppel), maar wanneer dit niet mogelijk is, mogen eieren worden gebruikt van een koppel waarvan is aangetoond dat het vrij is van antistoffen tegen het virus van aviaire influenza. De geënte eieren worden bij 37°C bewaard en dagelijks geschouwd. Eieren waarin bij het schouwen dode of stervende embryo's worden opgemerkt en alle eieren die op de zesde dag na enten nog overblijven, worden gekoeld tot 4°C en het allantoïsof- of amnionvocht daarvan wordt getest op hemagglutinaties. Als geen hemagglutinatie wordt geconstateerd, wordt de hierboven beschreven procedure herhaald met onverdund allantoïsof- of amnionvocht als inoculum.

Wanneer hemagglutinatie wordt geconstateerd, moet de aanwezigheid van bacteriën door middel van kweek worden uitgesloten. Als bacteriën aanwezig zijn, kan het vocht op een membraanfilter van 450 nm worden gefiltreerd; vervolgens worden opnieuw antibiotica toegevoegd en worden bebroede eieren met de aldus verkregen vloeistof geënt volgens de hierboven beschreven methode.

HOOFDSTUK III - Differentiële diagnose.

1. Voorlopige differentiatie.

Aangezien het van belang is dat bestrijdingsmaatregelen om verspreiding van het virus tegen te gaan zo spoedig mogelijk worden toegepast, dient het NIDO in staat te zijn om niet alleen NCD (Newcastle disease)-virus, maar ook elk ander geïsoleerd hemagglutinerend virus, bij voorbeeld influenza-A-virus, subtypes H5 of H7, te identificeren. Met alle vloeistoffen die hemagglutinatie teweegbrengen, moet derhalve een hemagglutineringsremmingstest als beschreven in de hoofdstukken V en VI worden opgezet. Een positieve remming, dat wil zeggen 2 of hoger, met het specifieke polyklonale antiserum voor subtype H5 of H7 van het influenza-A-virus met een titer van ten minste 29, wordt beschouwd als een voorlopige identificatie op grond waarvan tijdelijke bestrijdingsmaatregelen kunnen worden ingesteld.

2. Bevestiging van de identificatie.

Het NIDO dient:

- i) te bevestigen dat het isolaat een influenza-A-virus is, aan de hand van een dubbele immunodiffusietest voor de opsporing van het gemeenschappelijk antigeen, als beschreven in hoofdstuk IX van deze bijlage (indien het nationale laboratorium daaraan de voorkeur geeft, mag voor de opsporing van de gemeenschappelijke antigenen ook gebruik worden gemaakt van de immunofluorescentietest of de Elisa);
- ii) te bepalen of het isolaat al dan niet van het subtype H5 of H7 is;
- iii) bij zes weken oude kuikens een intraveneuze pathogeniteitsindextest te verrichten als beschreven in hoofdstuk 7 van deze bijlage. Een intraveneuze pathogeniteitsindex van meer dan 1,2 wijst op de aanwezigheid van het virus; in dat geval moeten de bestrijdingsmaatregelen volledig worden toegepast (het zou nuttig zijn indien het NIDO ook tests zouden uitvoeren om te bepalen in welke mate een isolaat bij machte is om in celcultures plaques te vormen, overeenkomstig het bepaalde in hoofdstuk 8).

Het NIDO moet alle isolaten van het virus van aviaire influenza en van de subtypes H5 en H7 onmiddellijk naar het communautaire referentielaboratorium zenden voor een volledige karakterisering.

HOOFDSTUK IV - Serologische tests voor de opsporing van antistoffen tegen het virus van aviaire influenza.

1. In het kader van uitroeiingsprogramma's, waarbij reeds bekend is welk subtype H van het virus verantwoordelijk is voor de ziekte of waarbij het homologe virus als antigeen wordt gebruikt, kan als serologische test voor de opsporing van de besmetting gebruik worden gemaakt van de hemagglutinatieremmingstest als beschreven in de hoofdstukken V en VI.

Indien het subtype van het hemagglutinine niet bekend is, kan, om besmetting met influenza-A-virussen aan te tonen, worden gezocht naar tegen de groepspecifieke antigenen gerichte antilichamen.

Daartoe kan gebruik worden gemaakt van de dubbele immunodiffusietest (als beschreven in hoofdstuk IX) of van een Elisa (een probleem bij de Elisa is evenwel de gastheerspecificiteit van de test, aangezien de test gebaseerd is op de opsporing van de gastheer fungerende immunoglobulinen). Watervogels geven zelden positieve resultaten te zien bij de dubbele immunodiffusietest en in de praktijk is het bijgevolg aangewezen om, tenzij het subtype bekend is, dergelijke vogels alleen te onderzoeken op de aanwezigheid van antistoffen bij de subtypes H5 en H7.

2. a) Monsters.

Bloedmonsters worden genomen van alle dieren als het koppel kleiner is dan 20 dieren, en van 20 dieren als het koppel groter is. (Dit geeft ongeacht de grootte van het koppel een waarschijnlijkheid van 99% dat ten minste één positief serum wordt gevonden als 25% of meer van het koppel positief is.) Men laat het bloed stollen en het serum wordt verzameld voor onderzoek.

b) Onderzoek van antistoffen.

De individuele serummonsters worden onderzocht op hun capaciteit om het hemagglutinerende antigeen van het influenzavirus te remmen in een gestandaardiseerde hemagglutinatieremmingstest (HAR) zoals beschreven in hoofdstuk VI.

De keuze over het feit of 4 dan wel 8 hemagglutinine-eenheden (HAE) moeten worden gebruikt bij de HAR-test wordt overgelaten aan het NIDO.

Het gebruikte antigeen bepaalt echter wel bij welk niveau een serum als positief wordt beschouwd: bij gebruik van 4 HAE is een serum positief als het een titer heeft van 2 4 of hoger, bij gebruik van 8 HAE is een serum positief als het een titer heeft van 2 3 of hoger.

HOOFDSTUK V - Hemagglutinatietest (HA-test).

Reagentia.

1. Isotonische zoutoplossing die met fosfaat (0,05 M) is gebufferd op een pH van 7,0-7,4.
2. Rode bloedcellen (RBC) van minimaal drie specifiek pathogeen vrije kippen (of als die niet beschikbaar zijn van vogels die regelmatig zijn gecontroleerd en vrij zijn gebleken van antistoffen tegen aviaire-influenzavirussen) worden samengevoegd en in een zelfde volume Alsever-oplossing gebracht. Vóór gebruik worden de cellen drie keer in PBS gewassen. Voor de test wordt 1%-ige suspensie (packed cells v/v) in PBS aanbevolen.
3. Het communautaire referentielaboratorium levert laagvirulente virussen aan de subtypes H5 en H7 voor gebruik als standaardantigeen, of beveelt het gebruik daarvan aan.

Werkwijze.

1. Breng in ieder putje van een plastic microtiterplaat (met V-vormige putjes) 0,025 ml PBS.
2. Breng 0,025 ml virussuspensie (dat wil zeggen allantoïsvocht) in het eerste putje.
3. Leg een tweevoudige verdunningsreeks aan het virus over de gehele plaat (1: 2 tot en met 1: 4 096) met behulp van een microtitratiediluter.
4. Voeg in ieder putje 0,025 ml PBS toe.
5. Voeg in ieder putje 0,025 ml van de 1%-ige suspensie van rode bloedcellen toe.
6. Meng door zachtjes te tikken en laat de plaat staan bij 4°C.
7. De platen worden 30-40 minuten daarna afgelezen wanneer de RBC-controles tot rust zijn gekomen. Bij het aflezen worden de platen lichtjes schuin gehouden en wordt nagegaan of in de RBC al dan niet een traanvormige stroming optreedt. In putjes waarin geen hemagglutinatatie (HA) optreedt, moet de stroming met dezelfde snelheid geschieden als in de controleputjes met de virusvrije controles.
8. De HA-titer is de hoogste verdunning waarin agglutinatatie van RBC optreedt. Deze verdunning mag worden beschouwd als bevattende 1 HAE. De HA-titer kan nauwkeuriger worden bepaald als in het kader van de HA-test verdunningsreeksen worden aangelegd met een aantal dicht bij elkaar gelegen uitgangsverdunningen van het virus, bij voorbeeld 1: 3, 1: 4, 1: 5, 1: 6, enz. Deze methode wordt aanbevolen voor de accurate bereiding van antigeen voor de hemagglutinatieremmingstests (hoofdstuk VI).

HOOFDSTUK VI - Hemagglutinatieremmingstest (HAR-Test).

Reagentia.

1. PBS.
2. Allantoïsvocht dat virus bevat en met PBS is verdund tot het 4 of 8 HAE per 0,025 ml bevat.
3. 1%-ige suspensie van RBC van kippen.
4. Negatief controleserum van kippen.
5. Positief controleserum.

Werkwijze.

1. Breng in ieder putje van een plastic microtiterplaat (met V-vormige putjes) 0,025 ml PBS.
2. Breng 0,025 ml serum in het eerste putje van de plaat.
3. Leg een tweevoudige verdunningsreeks aan van het serum over de gehele plaat met behulp van een microtitratiediluter.
4. Voeg 0,025 ml verdund allantoïsvocht dat 4 of 8 HAE bevat, toe.
5. Meng door zachtjes te tikken en laat de plaat staan bij 4°C gedurende ten minste 60 minuten of bij kamertemperatuur gedurende ten minste 30 minuten.
6. Voeg aan ieder putje 0,025 ml van de 1%-ige suspensie van RBC toe.
7. Meng door zachtjes te tikken en laat de plaat staan bij 4°C.
8. De platen worden 30-40 minuten daarna afgelezen wanneer de RBC-controles tot rust zijn gekomen. Bij het aflezen worden de platen lichtjes schuin gehouden en wordt nagegaan of in de putjes al dan niet een traanvormige stroming optreedt met dezelfde snelheid als in de controleputjes die uitsluitend RBC (0,025 ml) en PBS (0,05 ml) bevatten.
9. De HAR-titer is de hoogste verdunning van het antiserum die nog in staat is de hemagglutinatie van 4 of 8 eenheden virus volledig te remmen (een HA-titratie om de aanwezigheid van de vereiste HAE te bevestigen, maakt deel uit van iedere test).
10. De resultaten zijn alleen geldig als met het negatieve controleserum, een titer wordt verkregen die lager is dan 2 3 voor 4 HAE of lager dan 2 2 voor 8 HAE en als de titer die met het positieve controleserum wordt verkregen, maximaal 1 verdunning afwijkt van de gekende titer van dat serum.

HOOFDSTUK VII - Intraveneuze pathogeniteitsindex (IVPI).

1. Besmettelijk allantoïsvocht van de laagste passage die beschikbaar is, bij voorkeur van de oorspronkelijke isolatie zonder dat enige selectie heeft plaatsgevonden, wordt tot op 10⁻¹ verdund in een steriele isotonische zoutoplossing.
2. Bij tien zes weken oude kuikens (het gebruik van specifiek pathogeenvrije kuikens is verplicht) wordt telkens 0,1 ml verdunde virusoplossing intraveneus ingespoten.
3. De dieren worden gedurende tien dagen om de 24 uur onderzocht.
4. Bij iedere waarneming wordt voor elk dier één van de volgende aantekeningen gemaakt: normaal (0), ziek (1), ernstig ziek (2) of dood (3).
5. Het registreren van de resultaten en het berekenen van de index vindt plaats overeenkomstig het volgende voorbeeld:

Klinische symptomen	Dagen na inoculatie										Totale score
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Normaal	10	2	0	0	0	0	0	0	0	0	12x0=0
Ziek	0	4	2	2	0	0	0	0	0	0	6x1=6
Ernstig ziek*	0	4	2	2	0	0	0	0	0	0	6x2=12
Dood	0	2	6	8	10	10	10	10	10	10	76x3=228
											Totaal=246

De index is het gemiddelde van het totale aantal punten per dier en per waarneming = 246/100 = 2,46.

* Dit is uiteraard een subjectief klinisch oordeel maar normaal betreft het hier dieren die meer dan één van de volgende symptomen vertonen: ademhalingsstoornissen, depressie, diarree, cyanose van onbeschermdde huid of lellen, oedeem in het gezicht en/of op het hoofd, zenuwsymptomen.

HOOFDSTUK VIII - Bepaling van de capaciteit tot vorming van plaques.

1. Doorgaans kan het best een verdunningsreeks van het virus worden aangelegd om ervoor te zorgen dat in de schaal een optimaal aantal plaques wordt verkregen. Een tienvoudige verdunningsreeks tot en met 10⁻⁷ in PBS zal normaliter voldoende zijn.
2. In petrischalen (met een diameter van 5 cm) worden confluerende vettapijten van kippeëmbryocellen of een andere geschikte cellijn (bij voorbeeld Madin-Darby boviene kidney) aangebracht.
3. Van elke virusverdunding wordt 0,2 ml overgebracht in twee petrischalen en vervolgens laat men het virus gedurende 30 minuten absorberen.
4. Na driemaal wassen met PBS worden de geïnfecteerde cellen bedekt met een geschikt medium dat 1% m/v agar en 0,01 mg/ml trypsine bevat of alleen agar zonder trypsine; het dekmedium mag geen serum bevatten.
5. Na 72 uur incuberen bij 37°C zouden de plaques voldoende groot moeten zijn. Zij zijn het gemakkelijkst waar te nemen als de agardeklaag wordt verwijderd en als het celtapijt wordt gekleurd met in 25%-ige v/v ethanol opgelost crystal violet (0,5% m/v).

6. Alle virussen die met een trypsine bevattende deklaag zijn geïncubeerd, moeten heldere plaques geven. Wanneer de deklaag geen trypsine bevat, worden alleen plaques gevormd door de voor kippen virulente virussen.

HOOFDSTUK IX - Dubbele immunodiffusie.

Om uit te maken of influenza A-virus aanwezig is, wordt bij voorkeur de aanwezigheid aangetoond van de nucleocapside- of matrix-antigenen die gemeenschappelijk zijn aan alle influenza-A-virussen. Daartoe wordt meestal gebruik gemaakt van de dubbele immunodiffusietest met geconcentreerde viruspreparaten of met extracten van geïnfecteerde chorion-allantoïsmembranen.

Geconcentreerde viruspreparaten kunnen worden aangemaakt door eenvoudige hypercentrifugatie van besmet allantoïsvocht en disruptie van het virus ten einde de inwendige nucleocapside- en matrix-antigenen vrij te maken door behandeling met het detergent natriumlaurylsarcosinaat. Ook kan gebruik worden gemaakt van zuurprecipitatie, door aan besmet allantoïsvocht 1 N HCl toe te voegen waardoor de pH op 3,5-4,0 wordt gebracht, gedurende ten minste 1 uur te koelen bij 0°C en vervolgens bij geringe snelheid te centrifugeren (1 000 g gedurende 10 minuten).

Het supernatant kan worden verwijderd en het precipitaat dat het virus bevat weer gesuspenseerd in een minimumhoeveelheid glycine-sarcosylbuffer (1% natriumlaurylsarcosinaat dat met 0,5 M glycine is gebufferd tot een pH van 9,0). Deze preparaten bezitten zowel de nucleocapside- als de matrix-antigenen.

Beard (1970) beschrijft de bereiding van nucleocapsiderijk antigeen uit chorion-allantoïsmembranen afkomstig van besmette eieren. Deze methode bestaat uit verwijdering van de chorion-allantoïsmembranen van besmette eieren die hemagglutinine bevatten, vermaling of homogenisering van de membranen, beveziging en ontddoing (driemaal) gevolgd door centrifugatie bij 1 000 g gedurende 10 minuten. Het vaste gedeelte wordt verwijderd en het supernatant wordt met 0,1% formaline behandeld om vervolgens als antigeen te worden gebruikt.

Deze twee antigenen kunnen zonder onderscheid worden gebruikt bij de dubbele immunodiffusietest, met gebruikmaking van 1% agarose (of agar)-gel die 8,0% natriumchloride bevat en waarvan de pH op 7,2 is gebracht met 0,1 M fosfaatbuffer. Influenza-A-virus is aanwezig wanneer het te onderzoeken antigeen en het positieve controle-antigeen tegenover het positieve antiserum een fuserende precipitatielijijn vormen.

Bijlage II

Methoden voor differentiële diagnostiek en bevestiging van de diagnose van de ziekte van Newcastle.

De onderstaande voorschriften voor het isoleren en karakteriseren van virussen van de ziekte van Newcastle moeten worden beschouwd als richtsnoeren en minimumeisen die bij het stellen van de diagnose van de ziekte in acht moeten worden genomen.

Het voor de ziekte van Newcastle verantwoordelijke virus is het prototype van de paramyxoviridae. Momenteel zijn er negen serologisch onderscheidbare groepen van aviaire paramyxovirussen, aangeduid met de symbolen PMV-1 tot en met PMV-9. Alle virussen van de ziekte van Newcastle behoren tot de groep PMV-1. Voor de differentiële diagnostiek en de bevestiging van de diagnose van de ziekte van Newcastle geldt de volgende definitie:

De ziekte van Newcastle is een infectie die wordt veroorzaakt door een aviaire stam van paramyxovirus 1, met een intracerebrale pathogeniteitsindex (ICPI) bij eendagskuikens van meer dan 0,7.

HOOFDSTUK I - Bemonstering en behandeling van de monsters.

1. Monsters.

Cloaca-swabs (of faeces) en trachea-swabs van zieke dieren; faeces of inhoud van het spijsverteringskanaal, hersenweefsel, trachea, longen, lever, milt en andere duidelijk aangetaste organen van pas gestorven dieren.

2. Behandeling van de monsters.

De in punt 1 genoemde organen en weefsels mogen worden samengevoegd, met uitzondering van het faecale materiaal, dat apart moet worden behandeld. De swabs moeten volledig worden ondergedompeld in een voldoende hoeveelheid antibiotisch medium. Monsters van faeces en organen moeten worden gehomogeniseerd (in een laboratoriummixer of met stamper en vijzel en steriel zand) in een antibiotisch medium zodat een 10-20% m/v suspensie in het medium ontstaat. De suspensies worden gedurende ongeveer twee uur bij omgevingstemperatuur (of gedurende een langere tijd bij 4°C) gehouden en daarna door middel van centrifugeren (bij voorbeeld 800 tot 1 000 g gedurende 10 minuten) geclarificeerd.

3. Antibiotisch medium.

Met diverse formuleringen van antibiotische media zijn in de referentielaboratoria van verschillende Lid-Staten goede resultaten verkregen. Monsters van faeces vereisen hoge antibioticaconcentraties; een typische formulering daarvoor is: 10 000 eenheden/ml penicilline, 10 mg/ml streptomycine, 0,25 mg/ml gentamycine en 5 000 eenheden/ml mycostatine in PBS (phosphate-buffered saline). Een vijfvoudige verdunning van deze concentraties volstaat voor weefsels en trachea-swabs. Voor Chlamydia-organismen mag 50 mg/ml

oxytetracycline worden toegevoegd. Voor het bereiden van het medium is het van essentieel belang dat na toevoeging van de antibiotica de pH wordt gecontroleerd en op 7,0-7,4 wordt gebracht.

HOOFDSTUK II - Virusisolatie.

Virusisolatie met behulp van bebroede kippeëieren.

Bij ten minste vier geëmbryoneerde kippeëieren die gedurende acht tot tien dagen zijn bebroed, wordt telkens 0,1-0,2 ml van het geclarifieerde en vloeibare supernatant in de allantoïsholte geënt. Deze eieren zijn bij voorkeur afkomstig van een specifiek pathogeen vrij koppel (SPF-koppel), maar wanneer dit niet mogelijk is, mogen eieren worden gebruikt van een koppel waarvan is aangetoond dat het vrij is van antistoffen tegen het virus van de ziekte van Newcastle. De geënte eieren worden bij 37°C bewaard en dagelijks geschouwd. Eieren waarin bij het schouwen dode of stervende embryo's worden opgemerkt en alle eieren die op de zesde dag na enten nog overblijven, worden gekoeld tot 4°C en het allantoïsof- of amnionvocht daarvan wordt getest op hemagglutinaties. Als geen hemagglutinaties wordt geconstateerd, wordt de hierboven beschreven procedure herhaald met onverdund allantoïsof- of amnionvocht als inoculum.

Wanneer hemagglutinaties wordt geconstateerd, moet de aanwezigheid van bacteriën door middel van kweek worden uitgesloten. Als bacteriën aanwezig zijn, kan het vocht op een membraanfilter van 450 nm worden gefiltreerd; vervolgens worden opnieuw antibiotica toegevoegd en worden bebroede eieren met de aldus verkregen vloeistof geënt volgens de hierboven beschreven methode.

HOOFDSTUK III - Differentiële diagnose.

1. Eerste differentiatie.

Alle virussen die hemagglutinaties teweegbrengen, moeten in het NIDO worden onderworpen aan volledige identificatie, karakterisering en pathogeniteitstests. Om de verspreiding van het virus tegen te gaan is het van belang dat zo snel mogelijk tijdelijke bestrijdingsmaatregelen worden toegepast, en daarom moet het NIDO in staat zijn de aanwezigheid van het virus van de ziekte van Newcastle aan te tonen. Met alle vloeistoffen die hemagglutinaties teweegbrengen, moet derhalve een hemagglutinatieremmingstest als beschreven in de hoofdstukken 5 en 6 worden opgezet. Een positieve remming, dat wil zeggen, 2⁴ of hoger, met het specifieke polyklonale antiserum voor het virus van de ziekte van Newcastle met een titer van ten hoogste 2⁹, wordt beschouwd als een voorlopige identificatie op grond waarvan tijdelijke bestrijdingsmaatregelen kunnen worden ingesteld.

2. Bevestiging van de identificatie.

Het NIDO moet voor alle hemagglutinerende agentia een volledige differentiële diagnose uitvoeren. De aanwezigheid van het virus van de ziekte van Newcastle moet ook hier worden bevestigd via een onderzoek van de remming in een hemagglutinatieremmingstest met monospecifiek kippenantiserum. Voor alle positieve isolaten moet de intracerebrale pathogeniteitsindex worden bepaald, zoals beschreven in hoofdstuk 7. Wanneer de pathogeniteitsindex hoger is dan 0,7 is het virus aanwezig en moeten de bestrijdingsmaatregelen volledig worden uitgevoerd.

Door recente ontwikkelingen op het gebied van de typering van virussen van de ziekte van Newcastle, met name op het vlak van technieken die gebruik maken van monoklonale antistoffen, is het mogelijk stammen en isolaten te groeperen. Er zijn met name monoklonale antistoffen beschikbaar die specifiek zijn voor de stammen die in de Europese Gemeenschap voor vaccinatie worden aangewend, en die kunnen worden gebruikt in eenvoudige hemagglutinatieremmingstests.

Aangezien dikwijls levende vaccinstammen uit monsters van pluimvee worden geïsoleerd, ligt het voor de hand dat snelle identificatie ervan in het NIDO voordelen biedt. Het communautair referentielaboratorium kan dergelijke monoklonale antistoffen leveren aan het NIDO zodat die kunnen bevestigen of in de isolaten vaccinstammen aanwezig zijn.

Het NIDO moet alle hemagglutinerende agentia aan het communautair referentielaboratorium toezenden.

HOOFDSTUK IV - Tests voor de snelle opsporing van het virus en van de antistoffen van de ziekte van Newcastle.

Tests voor de snelle opsporing van het virus van de ziekte van Newcastle bij gevaccineerde vogels en van antistoffen bij niet-gevaccineerde vogels worden hieronder beschreven.

1. Opsporing van het virus van de ziekte van Newcastle wordt toegepast om besmetting van gevaccineerde dieren te diagnostiseren. Tegenwoordig wordt daarvoor meestal gebruik gemaakt van immunofluorescentietests voor onderzoek van longitudinale secties van trachea en van tests op basis van het peroxidase gemerkte antistoffen, voor onderzoek van de hersenen. Zeer waarschijnlijk zijn ook andere tests die antigenen rechtstreeks aantonen, geschikt voor gebruik bij besmetting met virussen van de ziekte van Newcastle.

Het nadeel van dergelijke tests is echter dat het praktisch niet doenlijk is om alle mogelijke vermeerderingsplaatsen van het virus van de ziekte van Newcastle bij gevaccineerde dieren te onderzoeken. Als bij voorbeeld geen bewijzen voor de aanwezigheid van het virus in de trachea worden gevonden, kan virusvermeerdering in de darm daarom nog niet worden uitgesloten. Hoewel deze directe opsporingsmethoden in

specifieke gevallen bruikbaar kunnen zijn, worden zij niet aanbevolen voor routinegebruik bij het stellen van de diagnose van de ziekte van Newcastle.

2. Opsporing van antistoffen bij niet-ingeënte vogels.

Het NIDO houdt toezicht op het eenvormig toepassen van de hemagglutinatieremmingstest in de erkende provinciale opsporingscentra.

a) Monsters.

Bloedmonsters worden genomen van alle dieren als het koppel kleiner is dan 20 dieren, en van 20 dieren als het koppel groter is. (Dit geeft ongeacht de grootte van het koppel een waarschijnlijkheid van 99% dat ten minste één positief serum wordt gevonden als 25% of meer van het koppel positief is). Men laat het bloed stollen en het serum wordt verzameld voor onderzoek.

b) Onderzoek van antistoffen.

De individuele serummonsters moeten worden onderzocht op hun capaciteit om het hemagglutinerende antigeen van het virus van de ziekte van Newcastle te remmen in een gestandaardiseerde hemagglutinatieremmingstest (HAR) zoals beschreven in hoofdstuk VI.

De keuze over het feit of 4 dan wel 8 hemagglutinine-eenheden moeten worden gebruikt bij de HAR-test wordt overgelaten aan het NIDO. Het gebruikte antigeen bepaalt echter wel bij welk niveau een serum als positief wordt beschouwd: bij gebruik van 4 HAE is een serum positief als het een titer heeft van 2 4 of hoger, bij gebruik van 8 HAE is een serum positief als het een titer heeft van 2 3 of hoger.

HOOFDSTUK V - Hemagglutinatietest (HA-test).

Reagentia.

1. Isotonische zoutoplossing die met fosfaat (0,05 M) is gebufferd op een pH van 7,0-7,4.
2. Rode bloedcellen (RBC) van minimaal drie specifiek pathogeen-vrije kippen (of als die niet beschikbaar zijn van vogels die regelmatig zijn gecontroleerd en vrij zijn gebleken van antistoffen tegen virussen van de ziekte van Newcastle) worden samengevoegd en in een zelfde volume Alsever-oplossing gebracht. Voor gebruik worden de cellen drie keer in PBS gewassen. Voor de test wordt een 1%-ige (packed cells v/v) in PBS aanbevolen.
3. De stam Ulster 2C van het virus van deze ziekte van Newcastle wordt voor gebruik als standaardantigeen aanbevolen.

Werkwijze.

- a) Breng in ieder putje van een plastic microtiterplaat (met V-vormige putjes) 0,025 ml PBS.
- b) Breng 0,025 ml virussuspensie (dat wil zeggen allantoïsvocht) in het eerste putje.
- c) Leg een tweevoudige verdunningsreeks aan van het virus over de gehele plaat (1:2 tot en met 1:4 096) met behulp van een microtitratiediluter.
- d) Voeg in ieder putje 0,025 ml PBS toe.
- e) Voeg in ieder putje 0,025 ml van 1%-ige suspensie van rode bloedcellen toe.
- f) Meng door zachtjes te tikken en laat de plaat staan bij 4°C.
- g) De platen worden 30-40 minuten daarna afgelezen wanneer de RBC-controles tot rust zijn gekomen. Bij het aflezen worden de platen lichtjes schuin gehouden en wordt nagegaan of in de RBC al dan niet een traanvormige stroming optreedt. In putjes waarin geen HA optreedt, moet de stroming tegen dezelfde snelheid geschieden als in de controleputjes met de virusvrije controles.
- h) De HA-titer is de hoogste verdunning waarin agglutinatie van RBC optreedt. Deze verdunning mag worden beschouwd als bevattende 1 HA-eenheid (HAE). De HA-titer kan nauwkeuriger worden bepaald als in het kader van de HA-test verdunningsreeksen worden aangelegd met een aantal dicht bij elkaar gelegen uitgangsverdunningen van het virus, bij voorbeeld 1:3, 1:4, 1:5, 1:6 enz. Deze methode wordt aanbevolen voor de accurate bereiding van antigeen voor de hemmagglutinatieremmingstests (hoofdstuk 6).

HOOFDSTUK VI - Hemagglutinatieremmingstest (HAR-test).

Reagentia (zie hoofdstuk 5).

- a) PBS.
- b) Allantoïsvocht dat virus bevat en met PBS is verdund tot het 4 of 8 HAE per 0,025 ml bevat.
- c) 1%-ige suspensie van RBC van kippen.
- d) Negatief controleserum van kippen.
- e) Positief controleserum.

Werkwijze.

- a) Breng in ieder putje van een plastic microtiterplaat (met V-vormige putjes) 0,025 ml PBS.
- b) Breng 0,025 ml serum in het eerste putje van de plaat.
- c) Leg een tweevoudige verdunningsreeks aan van het serum over de gehele plaat met behulp van een microtitratiediluter.
- d) Voeg 0,025 ml verdund allantoïsvocht dat 4 of 8 HAE bevat.
- e) Meng door zachtjes te tikken en laat de plaat staan bij 4°C gedurende ten minste 60 minuten of bij kamertemperatuur gedurende ten minste 30 minuten.
- f) Voeg aan ieder putje 0,025 ml van de 1%-ige suspensie van RBC toe.

- g) Meng door zachtjes te tikken en laat de plaat staan bij 4°C.
- h) De platen worden 30-40 minuten daarna afgelezen wanneer de RBC-controles tot rust zijn gekomen. Bij het aflezen worden de platen lichtjes schuin gehouden en wordt nagegaan of in de putjes al dan niet een traanvormige stroming optreedt met dezelfde snelheid als in de controleputjes die uitsluitend RBC (0,025 ml) en PBS (0,05 ml) bevatten.
- i) De HAR-titer is de hoogste verdunning van het antiserum die nog in staat is de hemagglutinatie van 4 of 8 eenheden virus volledig te remmen. (Een HA-titratie om de aanwezigheid van de vereiste HAE te bevestigen, maakt deel uit van iedere test).
- j) De resultaten zijn alleen geldig als met het negatieve controleserum een titer wordt verkregen die lager is dan 2³ voor 4 HAE of lager dan 2² voor 8 HAE en als de titer die met het positieve controleserum wordt verkregen, maximaal 1 verdunning afwijkt van de bekende titer van het serum.

HOOFDSTUK VII - Intracerebrale pathogeniteitsindex (ICPI).

1. Besmettelijk pas gewonnen allantoïsvocht (de HA-titer ervan moet hoger zijn dan 2⁴) wordt tot op 1:10 verdund in een steriele isotonische zoutoplossing (antibiotica mogen niet worden gebruikt).
2. Telkens 0,05 ml van de verdunde virusoplossing wordt intracerebraal ingespoten bij 10 ééndagskuikens (dat wil zeggen tussen de 24 en 40 uur na het uitkomen). De kuikens moeten afkomstig zijn van eieren van een specifiek pathogeenvrij koppel.
3. De dieren worden gedurende 8 dagen om de 24 uur onderzocht.
4. Bij iedere waarneming worden aan de dieren de volgende punten toegekend: 0 = normaal, 1 = ziek, 2 = dood.
5. De index wordt berekend als aangegeven in het volgende voorbeeld:

Klinische symptomen	Aantal dagen na inoculatie (aantal dieren)								Totale score
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Normaal	10	4	0	0	0	0	0	0	14x0=0
Ziek	0	10	6	4	0	0	0	0	20x1=20
Dood	0	0	0	6	10	10	10	10	46x2=92
									Totaal=112

De index is het gemiddelde van het totaal aantal punten per dieren per waarneming $112/80 = 1,4$.

HOOFDSTUK VIII - Bepaling van de capaciteit tot vorming van plaques.

1. Doorgaans kan het best een verdunningsreeks van het virus worden aangelegd om ervoor te zorgen dat in de schaal een optimaal aantal plaques wordt verkregen. Een tienvoudige verdunningsreeks tot en met 10⁷ in PBS zal normaliter voldoende zijn.
2. In petrischalen (met een diameter van 5 cm) worden confluerende vettapijten van kippeëmbryocellen of een andere geschikte cellijn (bij voorbeeld Madin-Darby bovine kidney) aangebracht.
3. Van elke virusverdunding wordt 0,2 ml overgebracht in twee petrischalen en vervolgens laat men het virus gedurende 30 minuten absorberen.
4. Na driemaal wassen met PBS worden de geïnfecteerde cellen bedekt met een geschikt medium dat 1% m/v agar en 0,01 mg/ml trypsine of agar alleen zonder trypsine; het dekmedium mag geen serum bevatten;
5. Na 72 uur incuberen bij 37°C zouden de plaques voldoende groot moeten zijn. Zij zijn het gemakkelijkst waar te nemen als de agardeklaag wordt verwijderd en als het celtapijt wordt gekleurd met in 25%-ige v/v ethanol opgelost crystal violet (0,5% m/v).
6. Alle virussen die met een trypsine bevattende deklaag zijn geïncubeerd, moeten heldere plaques geven. Wanneer de deklaag geen trypsine bevat, worden alleen plaques gevormd door de voor kippen virulente virussen.

Bijlage III

De hierna vermelde provinciale opsporingscentra worden, onder wetenschappelijke controle van het Nationaal Instituut voor Diergeneeskundig Onderzoek, erkend voor de uitvoering van het programma van opsporing en van bestrijding van aviaire influenza en van de ziekte van Newcastle:

- voor het grondgebied van de provincie West-Vlaanderen: het Provinciaal Opsporingscentrum te Torhout: Industrielaan 15 - 8820 Torhout.

- voor het grondgebied van de provincie Oost-Vlaanderen en dit van het twaalfde diergeneeskundig district van Brabant: het Provinciaal Opsporingscentrum te Drongen: Drongenstationsstraat 71 - 9031 Drongen.

- voor het grondgebied van de provincies Antwerpen en Limburg en dit van het dertiende diergeneeskundig district van Brabant: het Provinciaal Opsporingscentrum te Lier:
Hagenbroeksesteenweg 167 - 2500 Lier.

- voor de provincies Henegouwen, Luik, Namen, Luxemburg en voor het grondgebied van het veertiende diergeneeskundig district van Brabant: het Provinciaal Opsporingscentrum te Erpent:
Chaussée de Marche, 604 - 5101 Erpent.

Bijlage IV

GEZONDHEIDSPOLITIE

Aviaire Influenza - Ziekte van Newcastle

Toepassing van het K.B. van , houdende maatregelen van diergeneeskundige politie betreffende de aviaire influenza en de ziekte van Newcastle.

AFMAKINGSBEVEL

De ondergetekende, Dr., Inspecteur-dierenarts van de Staat:

1) beveelt op last van de Heer Minister van Landbouw, het afmaken van de hierondervermelde dieren, in toepassing van art. 6, 2° van het bovenvermeld KB, gehouden door:

naam en adres van de verantwoordelijke:

en toebehorende aan:

naam en adres van de eigenaar:

Soort	Ras	Getal	Leeftijd
-------	-----	-------	----------

2) eist, in toepassing van het bovenvermeld koninklijk besluit, van de heer/Mevrouw dat hij/zij voornoemde dieren zonder enige formaliteit aflevert aan de afgevaardigde van het Nationaal Instituut voor Diergeneeskundig Onderzoek, belast met het weghalen ervan;

3) eist in toepassing van het bovenvermeld K.B. van de burgemeester van dat hij met alle rechtsmiddelen het uitvoeren van de hierboven voorgeschreven werkzaamheden verzekert;

4) verklaart het origineel van dit afmakingsbevel te hebben overhandigd aan de heer/Mevrouw hierboven vernoemd, verantwoordelijke van de dieren en tevens een afschrift aan de bevoegde Burgemeester te hebben overhandigd die het afmakingsbevel hebben medeondertekend als bewijs van ontvangst ervan.

Opgemaakt te , de

De verantwoordelijke,

De burgemeester,
Stempel en handtekening

De inspecteur-dierenarts
Stempel en handtekening