

Art. 3. Notre Ministre de l'Emploi et du Travail et Notre Ministre des Affaires sociales sont chargés, chacun en ce qui le concerne, de l'exécution du présent arrêté.

Donné à Bruxelles, le 19 janvier 1995.

ALBERT

Par le Roi :

La Ministre de l'Emploi et du Travail,
Mme M. SMET

La Ministre des Affaires sociales,
Mme M. DE GALAN

Art. 3. Onze Minister van Tewerkstelling en Arbeid en Onze Minister van Sociale Zaken zijn, ieder wat hem betreft, belast met de uitvoering van dit besluit.

Gegeven te Brussel, 19 januari 1995.

ALBERT

Van Koningswege :

De Minister van Tewerkstelling en Arbeid,
Mevr. M. SMET

De Minister van Sociale Zaken,
Mevr. M. DE GALAN

MINISTERE DE L'AGRICULTURE

F. 95 — 350

[C — 16192]

28 NOVEMBRE 1994. — Arrêté royal portant des mesures de police sanitaire relatives à l'influenza aviaire et à la maladie de Newcastle

Vu la loi du 24 mars 1987, relative à la santé des animaux, modifiée par les lois des 29 décembre 1990, 20 juillet 1991 et 6 août 1993;

Vu la Directive 92/40/CEE du Conseil du 19 mai 1992 établissant des mesures communautaires de lutte contre l'influenza aviaire;

Vu la Directive 92/66/CEE du Conseil du 14 juillet 1992 établissant des mesures communautaires de lutte contre la maladie de Newcastle;

Vu l'avis du Conseil du Fonds de la santé et de la production des animaux;

Vu l'accord de Notre Ministre du Budget;

Vu les lois sur le Conseil d'Etat, coordonnées le 12 janvier 1973, notamment l'article 3, § 1er, modifié par les lois des 9 août 1980, 16 juin 1989 et 4 juillet 1989;

Vu l'urgence;

Considérant qu'il est de la plus grande urgence que les dispositions des directives 92/40/CEE et 92/66/CEE qui sont d'application soient transcrites sans délai dans la législation nationale;

Sur la proposition de Notre Ministre de l'Agriculture,

Nous avons arrêté et arrêtons :

CHAPITRE I^{er}. — Définitions

Article 1^{er}. Pour l'application du présent arrêté, sont valables les définitions de l'article 1^{er} de l'arrêté royal du 12 juin 1970 relatif à la lutte contre les maladies contagieuses des volailles et autres animaux de basse-cour ainsi qu'à la mise dans le commerce d'œufs à couver, de poussins d'un jour et de volailles d'élevage;

De plus, on entend par :

1^o Pigeon voyageur : tout pigeon qui est transporté ou qui est destiné à être transporté hors de son pigeonnier pour être lâché de manière à ce qu'il puisse rejoindre librement, en volant, son pigeonnier ou toute autre destination;

2^o Pigeonnier : toute installation utilisée en vue de la détention ou de l'élevage des pigeons voyageurs;

3^o Exploitation : tout bâtiment ou complexe de bâtiments, y compris les terrains annexes, constituant une unité sur le plan épidémiologique et où des volailles ou d'autres oiseaux sont détenus ou élevés, ou qui sont destinés à cette fin, même s'il s'agit d'unités de production différentes utilisant cependant en commun les moyens de production;

4^o Volaille infectée d'influenza aviaire :

toute volaille sur laquelle la présence d'influenza aviaire a été officiellement confirmée à la suite d'un examen effectué à l'INRV tel que défini à l'annexe I;

toutefois s'il s'agit d'un ou de plusieurs nouveaux foyers, toute volaille sur laquelle des symptômes cliniques ou des lésions post mortem propres à l'influenza aviaire ont été constatés;

5^o Volaille infectée de la maladie de Newcastle :

toute volaille sur laquelle la présence de la maladie de Newcastle a été officiellement confirmée à la suite d'un examen effectué à l'INRV tel que défini à l'annexe II;

MINISTERIE VAN LANDBOUW

N. 95 — 350

[C — 16192]

28 NOVEMBER 1994. — Koninklijk besluit houdende maatregelen van diergeneskundige politie betreffende de aviaire influenza en de ziekte van Newcastle

Gelet op de diergezondheidswet van 24 maart 1987, gewijzigd bij de wetten van 29 december 1990, 20 juli 1991 en 6 augustus 1993;

Gelet op de Richtlijn 92/40/EEG van de Raad van 19 mei 1992 tot vaststelling van communautaire maatregelen voor de bestrijding van aviaire influenza;

Gelet op de Richtlijn 92/66/EEG van de Raad van 14 juli 1992 tot vaststelling van communautaire maatregelen voor de bestrijding van de ziekte van Newcastle;

Gelet op het advies van de Raad van het Fonds voor de gezondheid en de produktie van de dieren;

Gelet op het akkoord van Onze Minister van Begroting;

Gelet op de wetten op de Raad van State, gecoördineerd op 12 januari 1973, inzonderheid op artikel 3, § 1, gewijzigd bij de wetten van 9 augustus 1980, 16 juni 1989 en 4 juli 1989;

Gelet op de dringende noodzakelijkheid;

Overwegende dat de hoogdringendheid voortvloeit uit het feit dat de bepalingen van de richtlijnen 92/40/EEG en 92/66/EEG nu reeds van toepassing zijn en onverwijld in de nationale reglementering moeten worden omgezet;

Op de voordracht van Onze Minister van Landbouw,

Hebben Wij besloten en besluiten Wij :

HOOFDSTUK I. — Begripsbepalingen

Artikel 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 neerhoofdieren, alsook het in de handel brengen van broedeieren, eendagskuikens en fokpluimvee;

Voorts wordt verstaan onder :

1^o 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^o Duiventil : een installatie die wordt gebruikt voor het houden of fokken van reisduiven;

3^o 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 produktie eenheden waarvoor evenwel de produktie-middelen gemeenschappelijk gebruikt worden;

4^o 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^o 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;

toutefois s'il s'agit d'un ou de plusieurs nouveaux foyers, toute volaille sur laquelle des symptômes cliniques ou des lésions post mortem propres à la maladie de Newcastle ont été constatés;

6° Exploitation suspecte : exploitation où ont séjourné une ou plusieurs volailles suspectes d'être infectées ou d'être contaminées;

7° Volaille suspecte d'être infectée d'influenza aviaire : toute volaille présentant des symptômes cliniques ou des lésions post mortem permettant de suspecter une infection par l'influenza aviaire, ou toute volaille sur laquelle la présence du virus A, sous type H5 ou H7 de l'influenza a été détectée;

8° Volaille suspecte d'être infectée par la maladie de Newcastle : toute volaille présentant des symptômes cliniques ou des lésions post mortem permettant de suspecter une infection par la maladie de Newcastle;

9° Volaille suspecte d'être contaminée par l'influenza aviaire : toute volaille susceptible d'avoir été directement ou indirectement au contact du virus de l'influenza aviaire ou du Virus A, sous types H5 ou H7, de l'influenza;

10° Volaille suspecte d'être contaminée par la maladie de Newcastle : toute volaille susceptible d'avoir été directement ou indirectement au contact du virus de la maladie de Newcastle;

11° Foyer : exploitation où une ou plusieurs volailles infectées par l'influenza aviaire ou la maladie de Newcastle séjournent ou ont séjourné, pour autant que les mesures n'aient pas été levées par le Service;

12° Foyer caché : exploitation où la présence de l'influenza aviaire ou de la maladie de Newcastle a été constatée chez des volailles cliniquement malades dont le détenteur dissimule l'état en négligeant de déclarer la maladie ou de faire examiner ses volailles;

13° Bourgmestre : le bourgmestre de la commune où se situe le foyer ou de la commune où se trouve la volaille et, pour autant que des mesures doivent être prises sur le territoire d'autres communes, les bourgmestres de ces communes;

14° Rassemblement : le rassemblement de volailles de provenances différentes, même si elles restent chargées dans des véhicules, en particulier sur les marchés, dans les expositions, concours et expertises;

15° Responsable : le propriétaire ou le détenteur, qui exerce habituellement une gestion et une surveillance directe sur la volaille;

16° INRV : l'Institut national de Recherches vétérinaires du Ministère de l'Agriculture;

17° Ministre : le Ministre qui a l'Agriculture dans ses attributions;

18° Inspecteur vétérinaire : l'inspecteur vétérinaire compétent pour la circonscription où se situe l'exploitation ou celle où se trouvent les volailles;

19° Loi : sauf stipulation contraire, la loi du 24 mars 1987 relative à la santé des animaux;

20° Service : le Service de l'Inspection vétérinaire du Ministère de l'Agriculture;

21° Fédération : Fédération de lutte contre les maladies des animaux visée au chapitre II de la loi;

22° Fonds : le Fonds de la Santé et de la Production des Animaux.

CHAPITRE II. — Déclaration

Art. 2. Quiconque suspecte ou constate la présence de l'influenza aviaire ou de la maladie de Newcastle chez les volailles ou autres oiseaux détenus en captivité, est tenu d'en informer sans délai l'inspecteur vétérinaire.

CHAPITRE III. — Suspicion

Art. 3. § 1er. Sans préjudice des dispositions de l'article 2, le responsable des volailles suspectes d'être infectées est tenu d'isoler toutes les volailles présentes dans son exploitation et de les faire examiner sans délai par un vétérinaire agréé.

§ 2. Le vétérinaire appelé en application du § 1er examine dans les 24 heures toutes les volailles de l'exploitation. Il transmet un ou plusieurs animaux vivants, cadavres, organes ou autres matériel de diagnostic au centre de dépistage compétent pour le territoire ou l'exploitation est située conformément à la répartition reprise à l'annexe III du présent arrêté. Il fait rapport par la voie la plus rapide de sa visite et de ses constatations à l'inspecteur vétérinaire.

Art. 4. § 1er. Dès que l'inspecteur vétérinaire a été informé de la suspicion, lui ou son délégué visite sans retard l'exploitation suspecte et la place sous surveillance.

Il procède immédiatement à l'enquête épidémiologique conformément aux dispositions du chapitre VI.

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 zieke 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 diergezondheidswet 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, krengen, 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.

Il peut prélever ou faire prélever tous les échantillons nécessaires au diagnostic, y compris une ou plusieurs volailles vivantes ou mortes.

§ 2. Il procède au recensement de toutes les catégories de volailles présentes à l'exploitation et indique le nombre de volailles qui sont mortes, le nombre de celles qui présentent des symptômes cliniques et le nombre de celles qui n'en présentent aucun.

Ce recensement doit être mis à jour par le responsable en tenant compte des volailles nées et mortes pendant la période de suspicion. Ces données tenues à jour peuvent être réclamées et contrôlées à chaque visite d'inspection.

§ 3. L'inspecteur vétérinaire ordonne l'isolement de toutes les volailles de l'exploitation dans leurs locaux d'hébergement ou leur confinement dans d'autres lieux permettant leur isolement hors du contact d'autres oiseaux. De plus, il peut ordonner de faire enfermer tous les oiseaux qui y sont détenus, ainsi que les chiens et les chats. Sauf avec son autorisation, le mouvement d'autres animaux vers l'exploitation ou à partir de celle-ci est interdit.

§ 4. Tout mouvement de volailles ou de poussins d'un jour en provenance ou à destination de l'exploitation est interdit.

§ 5. Il est interdit au responsable d'accorder l'accès à l'exploitation suspecte aux personnes et véhicules qui y sont étrangers. Cette interdiction n'est pas d'application au personnel du Service, aux préposés du clos d'équarrissage, à la police, aux personnes qui prodiguent des soins aux gens et aux animaux et aux personnes qui assurent l'approvisionnement normal des gens et des animaux.

Il est interdit à toutes les personnes qui séjournent dans l'exploitation suspecte ou qui y soignent les animaux de pénétrer dans une autre exploitation ou de se rendre dans n'importe quel lieu de rassemblement d'oiseaux.

Les roues et les pneus des véhicules qui quittent l'exploitation doivent être désinfectés au moyen d'un désinfectant désigné par l'inspecteur vétérinaire.

§ 6. Il est interdit au responsable de transporter en dehors de l'exploitation sans l'autorisation formelle et écrite de l'inspecteur vétérinaire, de la viande ou des cadavres de volailles, des aliments pour animaux, du matériel, des emballages, du fumier animal, de la litière ainsi que tous produits, objets ou déchets susceptibles de transmettre le virus de l'influenza aviaire ou de la maladie de Newcastle.

§ 7. Il est interdit de transporter des œufs en dehors de l'exploitation à l'exception des œufs qui sont directement envoyés dans un établissement agréé de fabrication et de traitement de produits à base d'œufs et qui sont transportés conformément à une autorisation accordée par le Service.

§ 8. L'inspecteur vétérinaire peut imposer dans une exploitation suspecte toutes les mesures supplémentaires propres à empêcher une éventuelle propagation de la maladie.

§ 9. L'inspecteur vétérinaire peut faire appliquer toutes ces mesures à d'autres exploitations si leur localisation, la situation locale ou les contacts avec l'exploitation suspecte de présence de la maladie font craindre une contamination.

§ 10. Ces mesures restent d'application tant que la présence de l'influenza aviaire ou de la maladie de Newcastle n'a pas été officiellement infirmée.

§ 11. L'inspecteur vétérinaire responsable notifie au bourgmestre la suspicion et les mesures qui sont d'application dans l'exploitation suspecte, ainsi que leur levée.

CHAPITRE IV. — Mesures dans le foyer

Art. 5. Dès que dans une exploitation, la présence de l'influenza aviaire ou de la maladie de Newcastle est confirmée sur base d'un examen de laboratoire ou de données cliniques ou épidémiologiques, l'inspecteur vétérinaire déclare sans délai l'exploitation comme étant un foyer et en détermine les limites. Il notifie le foyer et les mesures qui y sont d'application au responsable et au bourgmestre.

Art. 6. En complément des dispositions de l'article 4, les mesures suivantes sont d'application dans le foyer :

1^o l'inspecteur vétérinaire ou son délégué dresse un inventaire complet de toutes les volailles et de tous les autres oiseaux de l'exploitation, si cela n'a pas encore été fait en application de l'article 4, § 2; il y mentionne pour chaque catégorie le nombre de volailles qui sont mortes, qui présentent des symptômes cliniques et le nombre de celles qui n'en présentent aucun;

2^o l'inspecteur vétérinaire ordonne sans délai l'abattage de toutes les volailles de l'exploitation, conformément aux dispositions du chapitre V. Tous les animaux morts, tous les animaux abattus et

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 eiproducten, 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 ophëfing 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 verwijf 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^o 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^o de inspecteur-dierenarts beveelt onverwijfd de afmaking van alle pluimvee van het bedrijf, overeenkomstig de bepalingen van hoofdstuk V. Alle gestorven dieren, alle afgemaakte dieren en alle

tous les œufs de l'exploitation doivent être détruits. Lors de l'abattage, les risques de propagation de la maladie doivent être réduits au minimum;

3° l'inspecteur vétérinaire ordonne soit de détruire toutes les matières ou tous les déchets, tels les aliments, litières et fumiers susceptibles d'être contaminés, soit de les soumettre à un traitement qui garantit la destruction du virus éventuellement présent.

La valeur des aliments pour animaux qui sont ainsi soumis à une nouvelle stérilisation ou à une destruction, peut être remboursée par le Fonds. Le Service de l'Inspection des Matières premières du Ministère de l'Agriculture est chargée du contrôle de ces opérations;

4° l'inspecteur vétérinaire recherche, en vue de leur destruction, les viandes de volailles qui ont été abattues dans la période comprise entre l'introduction présumée de la maladie dans l'exploitation et l'application des mesures officielles;

5° l'inspecteur vétérinaire procède à la recherche, en vue de leur destruction, de tous les œufs à couver pondus pendant la période présumée d'incubation de la maladie et sortis de l'exploitation. Si des œufs sont déjà éclos, les volailles issues de ces œufs doivent être placés sous surveillance officielle. Les œufs de consommation qui ont été pondus durant la période présumée d'incubation de la maladie et qui sont déjà sortis de l'exploitation doivent autant que possible être recherchés et détruits, sauf s'ils ont été préalablement, correctement désinfectés et vendus en emballage perdu.

Art. 7. L'inspecteur vétérinaire effectue une enquête épidémiologique conformément aux dispositions du chapitre VI, pour autant qu'elle n'ait pas encore été effectuée, ou qu'elle ne l'ait été que de façon incomplète en application de l'article 4, § 1er.

Art. 8. L'inspecteur vétérinaire peut faire prélever sur un nombre représentatif d'animaux des échantillons de sang en vue de la recherche d'anticorps contre l'influenza aviaire ou la maladie de Newcastle. L'INRV effectue ces analyses.

Art. 9. Après l'exécution des opérations visées à l'article 17, un vide sanitaire d'au moins vingt et un jours doit être respecté avant la réintroduction de volailles dans l'exploitation.

Art. 10. L'inspecteur vétérinaire notifie au responsable et au bourgmestre la levée des mesures prises dans le foyer.

Art. 11. Le Service peut étendre les mesures citées dans les articles 5 à 10 à d'autres exploitations dans le cas où leur implantation, leur topographie ou le contact avec l'exploitation où la présence de la maladie a été confirmée peuvent faire craindre une contamination éventuelle.

Art. 12. § 1er. Dans le cas où une souche du virus de la maladie de Newcastle ayant un ICPI supérieur à 0,7 et inférieur à 1,2 a été isolée dans un troupeau de volailles ne présentant aucun signe clinique de la maladie de Newcastle, et qu'il a été démontré par le laboratoire communautaire de référence visé à l'annexe V de la directive 92/66/CEE que l'isolat du virus en question provient d'un vaccin vivant atténué de la maladie de Newcastle, le Service peut accorder une dérogation aux exigences des articles 4, 5, 6, 8 et 9.

§ 2. L'exploitation, où se trouve le troupeau visé au § 1er, doit être placée sous surveillance officielle pendant une période de trente jours.

Pendant cette période, les mesures visées au chapitre III, article 4, §§ 2, 3, 5, 6 et 7 sont d'application et aucune volaille ne peut quitter l'exploitation, sauf pour être conduite directement à un abattoir désigné par l'inspecteur vétérinaire.

Le fonctionnaire de l'Institut d'Expertise vétérinaire responsable de cet abattoir doit être informé par l'inspecteur vétérinaire de l'envoi de ces volailles à abattre.

Art. 13. § 1er. Dans le cas d'exploitations comprenant deux ou plusieurs unités de production distinctes, l'inspecteur vétérinaire peut, en concertation avec le Service, déroger aux exigences de l'article 6, 2°, en ce qui concerne les troupeaux sains d'un foyer, pour autant que l'inspecteur vétérinaire ait constaté que la structure et l'importance de ces troupeaux ainsi que les opérations qui sont effectuées à l'exploitation sont telles que les unités de production dans lesquelles sont détenus ces troupeaux sont totalement séparées sur le plan de l'hébergement, de l'entretien et de l'alimentation de telle sorte que l'agent causal ne puisse pas se propager d'un troupeau à l'autre.

§ 2. Le Ministre peut imposer des conditions supplémentaires à l'application des dérogations visées au § 1er.

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 afvalen 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 produktie-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.

CHAPITRE V. — *Abattage sur ordre*

Art. 14. Pour l'application de l'article 6, 2°, l'inspecteur vétérinaire notifie au responsable l'ordre d'abattage; il en envoie une copie au bourgmestre.

Le modèle de l'ordre d'abattage est joint en annexe IV du présent arrêté.

Art. 15. Immédiatement après avoir donné l'ordre d'abattage, conformément aux dispositions de l'article 6, 2°, l'inspecteur vétérinaire avertit par téléphone :

- 1° le chef du Service;
- 2° Le directeur de l'INRV.

Il convoque l'expert mentionné à l'article 19.

Il précise la situation exacte du foyer et les nom et adresse du responsable et signale le nombre de volailles qui y sont détenues. Il confirme ces données par écrit.

Art. 16. Si nécessaire, l'inspecteur vétérinaire peut faire appel au bourgmestre pour prendre les mesures qui sont nécessaires à l'exécution de l'ordre d'abattage.

Art. 17. § 1er. Les volailles concernées par l'ordre d'abattage sont mises à mort selon les instructions du Service, de manière telle que tout risque de propagation du virus causal soit évité. L'INRV y apporte sa coopération.

§ 2. Les cadavres des volailles mises à mort dans le foyer, les cadavres des volailles et des autres oiseaux morts à l'exploitation, la viande visée à l'article 6, 4°, ainsi que les oeufs visés à l'article 6, 5°, sont enlevés afin d'être détruits de telle manière que tout risque de propagation du virus causal soit évité.

§ 3. Après l'évacuation de toutes les volailles du foyer, l'INRV effectue le nettoyage et la désinfection provisoire des bâtiments où les volailles en question étaient hébergées, ainsi que du voisinage de ces bâtiments, des moyens de transport utilisés et de tout autre matériel susceptible d'avoir été contaminé.

Les opérations de nettoyage et de désinfection du foyer sont si nécessaire précédées d'une destruction des rongeurs présents effectuée sous la surveillance et selon les instructions de l'inspecteur vétérinaire.

Art. 18. § 1er. Dans les limites des crédits budgétaires une indemnité est allouée au propriétaire des volailles mises à mort sur ordre et calculée comme suit :

$$I = R \cdot V_r$$

R = Coefficient de réfaction

V_r = Valeur de remplacement

L'indemnité est calculée sur base de l'inventaire dressé au moment de la première intervention de l'inspecteur vétérinaire conformément à l'article 4, § 2 ou à l'article 6, 1°.

La valeur de remplacement peut être plafonnée. Le coefficient de réfaction et le maximum sont fixés par le Ministre.

Pour les volailles qui montrent des symptômes cliniques, l'indemnité est diminuée de la moitié. Les oeufs à couver et les oeufs de consommation détruits en application du présent arrêté sont indemnisés selon les modalités appliquées à l'indemnisation des volailles. Pour les volailles mortes, aucune indemnité n'est octroyée.

§ 2. Le propriétaire perd tout droit à l'indemnité au cas où la vaccination contre la maladie de Newcastle était obligatoire dans la zone où se trouve le foyer, conformément à un arrêté pris en application de l'article 40, et que le responsable ne peut pas prouver au moyen de certificats de vaccination valables qu'au moment où la maladie est apparue, il avait satisfait aux dispositions en matière de vaccination obligatoire. Toutefois au cas où il ressort des examens visés à l'article 8 qu'il n'a pas été satisfait, ou alors de façon très incomplète, aux obligations de vaccination, aucune indemnité n'est octroyée.

Si le responsable des volailles refuse de donner suite à l'ordre d'abattage, ou si on constate une ou plusieurs infractions aux dispositions de l'article 3, de l'article 4, §§ 3 à 7, de l'article 21, § 4, de l'article 23, §§ 3 à 5, de l'article 25, §§ 3 et 4, des articles 39, 40, 43 ou d'un arrêté pris en exécution de l'article 41, ainsi qu'en cas d'un foyer caché, l'indemnité visée au § 1er n'est pas octroyée.

§ 3. Au cas où une ou plusieurs infractions aux autres dispositions que celles visées au § 2 sont constatées, l'indemnité visée au § 1er est diminuée de moitié.

§ 4. Au cas où, après l'octroi d'une indemnité, des infractions mentionnées aux §§ 2 et 3, sont constatées, qui nécessitent l'application des §§ 2 ou 3, le montant de l'indemnité allouée conformément au § 1er est adapté respectivement selon les modalités du § 2 ou du § 3. Dans ce cas, les sommes déjà payées seront entièrement ou partiellement recouvrées.

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 krennen 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 verdeling 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 :

$$V = R \cdot V_w$$

R = Refactiecoëfficiënt

V_w = 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 refactiecoëfficiënt 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. § 1er. La valeur des volailles à abattre et des oeufs à détruire est fixée par un expert.

Les experts sont nommés par le Ministre sur proposition du Conseil du Fonds de la santé et de la production des animaux et révoqués par lui.

L'expert se rend sur place avec l'inspecteur vétérinaire ou son délégué, qui lui désigne les animaux à évaluer.

Il dépose son rapport d'expertise chez l'inspecteur vétérinaire dans les 24 heures de la première réquisition.

§ 2. Dans les cas urgents, l'inspecteur vétérinaire fixe lui-même la valeur des animaux à mettre à mort.

Art. 20. Les frais d'expertise sont fixés comme suit :

1° Vacations :

Il est alloué aux experts, une vacation de 300 francs par demi-heure; toute demi-heure commencée est comptée en entier. Les temps de déplacement ne rentrent pas en ligne de compte pour l'octroi de vacations.

2° Frais de parcours :

Les débours réels en cas d'utilisation d'un moyen de transport en commun sont remboursés sur présentation des pièces justificatives. Lorsqu'une voiture personnelle est utilisée, sont allouées les indemnités prévues par l'arrêté royal du 18 janvier 1965 portant réglementation en matière de frais de parcours.

3° Frais de séjour :

Sont allouées les indemnités prévues pour les agents de l'Etat des rangs 10 à 14 par l'arrêté royal du 24 décembre 1964 fixant les indemnités pour frais de séjour des membres du personnel des Ministères.

CHAPITRE VI. — Enquête épidémiologique

Art. 21. § 1er. L'enquête épidémiologique visée à l'article 4, § 1er et à l'article 7, doit être effectuée dans toutes les exploitations dont on peut soupçonner, pour quelque raison que ce soit, qu'elles ont pu être la source de contamination pour une exploitation suspecte ou pour un foyer. Une même enquête aura lieu dans toutes les exploitations dont on peut soupçonner, pour quelque raison que ce soit, qu'elles auraient pu être contaminées à partir d'une exploitation suspecte ou d'un foyer.

§ 2. L'enquête épidémiologique porte notamment sur :

a) la durée de la période pendant laquelle la maladie peut avoir existé dans l'exploitation avant que la maladie n'ait été signalée;

b) l'origine possible de la maladie dans l'exploitation, et l'identification des autres exploitations dans lesquelles se trouvent des volailles et autres oiseaux qui ont pu être infectés ou contaminés à partir de la même source;

c) les mouvements des personnes, des volailles, d'autres oiseaux maintenus en captivité ou d'autres animaux, des véhicules, des cadavres, des viandes ou des matières susceptibles d'avoir transporté le virus à partir ou en direction de l'exploitation.

§ 3. Dès qu'il ressort d'une des enquêtes réalisées conformément aux §§ 1er et 2, que l'exploitation examinée pourrait avoir été contaminée, elle est immédiatement placée sous contrôle officiel.

§ 4. Lorsqu'une exploitation a été placée sous contrôle officiel conformément au § 3, l'inspecteur vétérinaire interdit la sortie des volailles de l'exploitation, si ce n'est pour le transport direct et sous contrôle officiel vers un abattoir en vue de leur abattage immédiat. Préalablement à l'octroi de ladite autorisation, l'inspecteur vétérinaire doit avoir effectué un examen clinique des volailles permettant d'exclure la présence de l'influenza aviaire ou de la maladie de Newcastle dans l'exploitation.

Les restrictions de mouvements visées dans le présent article sont d'application pendant une période de 21 jours à compter du dernier jour de contamination potentielle, avec un minimum de 7 jours.

§ 5. Dans des cas particuliers, l'inspecteur vétérinaire peut limiter les mesures prévues au présent article à une partie de l'exploitation et aux volailles qui s'y trouvent, pour autant que lesdites volailles y aient été hébergées, entretenues et alimentées de façon totalement séparée et par un personnel distinct.

§ 6. Dans les exploitations qu'il a placées sous contrôle officiel, l'inspecteur vétérinaire peut imposer toutes les mesures supplémentaires qu'il juge nécessaires.

CHAPITRE VII. — Mesures dans la zone de protection et dans la zone de surveillance

Art. 22. § 1er. L'inspecteur vétérinaire délimite autour de chaque foyer d'influenza aviaire ou de la maladie de Newcastle une zone de protection d'un rayon minimal de 3 kilomètres et une zone de surveillance d'un rayon minimum de 10 km. Il en informe le bourgmestre.

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 opvoering 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 300 frank per halfuur. Elk begonnen halfuur wordt volledig meegeteld. De verplaatsingstijd komt niet in aanmerking voor het toekennen van vacaties.

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. Pour l'installation de ces zones, il est tenu compte des éléments suivants :

- 1° les résultats des enquêtes épidémiologiques effectuées conformément au chapitre VI;
- 2° les données sérologiques disponibles;
- 3° la situation géographique notamment les frontières naturelles;
- 4° des données de nature écologique, la situation et la proximité des exploitations;
- 5° les échanges commerciaux de volailles et la présence d'abattoirs;
- 6° les équipements de contrôle présents ainsi que la nature des mesures de lutte qui sont appliquées.

§ 3. Si la zone de protection ou la zone de surveillance dépasse certaines parties du territoire belge, les zones sont délimitées en concertation avec l'autorité compétente du pays limitrophe concerné.

§ 4. Dans les cas particuliers fixés par le Ministre, la dimension et la durée d'application des zones de protection et de surveillance peuvent être réduites.

Art. 23. Dans la zone de protection, les mesures suivantes sont d'application :

§ 1er. Le bourgmestre notifie la délimitation de la zone de protection aux responsables des exploitations situées dans cette zone. En même temps, il fait apposer sur toutes les routes à la limite de la zone de protection des panneaux d'avertissement blancs montés sur des poteaux à une hauteur minimale de deux mètres, portant l'inscription suivante en lettres capitales noires :

- pour l'influenza aviaire :
 - « Influenza aviaire-zone de protection-transport et commerce de volailles et d'oeufs à couver réglementés ».
- pour la maladie de Newcastle :
 - « Maladie de Newcastle-zone de protection-transport et commerce de volailles et d'oeufs à couver réglementés ».

§ 2. Le bourgmestre fait procéder à l'inventaire administratif des volailles dans toutes les exploitations situées dans la zone de protection. Toutes les exploitations sont identifiées.

L'inventaire est transmis à l'inspecteur vétérinaire dans les cinq jours ouvrables.

§ 3. Les responsables des exploitations sont tenus de faire examiner par un vétérinaire agréé toutes les volailles de leur exploitation une fois par semaine avec un intervalle d'au moins quatre jours entre les examens.

Le vétérinaire agréé effectue lors de sa visite un examen clinique et un recensement de toutes les volailles de l'exploitation. Si nécessaire, des échantillons sont prélevés en vue d'un examen de laboratoire. Les données et le résultat de ces visites doivent être enregistrés de la manière arrêtée par le Ministre.

§ 4. Le bourgmestre informe les responsables des exploitations situées dans la zone de protection de ce qu'ils sont tenus de respecter les mesures suivantes :

1° toute entrée ou sortie de volailles et d'oeufs à couver des exploitations est interdite à l'exception :

a) du transport direct de volailles à destination d'un abattoir désigné par l'inspecteur vétérinaire et situé de préférence dans la zone de protection ou dans la zone de surveillance; ce transport doit avoir lieu dans les conditions suivantes :

- i) le transport doit avoir lieu entre 6 et 17 heures;
- ii) les véhicules servant au transport des volailles sont scellés par un délégué de l'inspecteur vétérinaire;

iii) le transport doit être accompagné d'une autorisation de transport délivrée par un vétérinaire agréé;

iv) l'expert de l'abattoir de destination vérifie l'uniformité du chargement, complète l'autorisation et la transmet dans les 24 heures à l'inspecteur vétérinaire de la circonscription de l'exploitation d'origine;

b) du transport direct de poussins d'un jour, de poulettes prêtes à la ponte et d'autres volailles ainsi que d'oeufs à couver, vers une exploitation située dans la zone de protection ou la zone de surveillance, avec l'accord de l'inspecteur vétérinaire, dans les conditions suivantes :

- i) il ne peut pas y avoir d'autres volailles à l'exploitation de destination;
- ii) le transport doit être accompagné d'une autorisation de transport délivrée par un vétérinaire agréé;
- iii) le véhicule et les caisses sont nettoyés et désinfectés à fond avant de quitter l'exploitation, ou dans une installation appropriée;

§ 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 handelstromen 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 vervoerstoeating afgeleverd door een aangenomen dierenarts;

iv) de keurder van het slachthuis van bestemming gaat de éénzijdigheid 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 vervoerstoeating 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) avant l'expédition d'œufs à couvrir vers un couvoir désigné, les œufs et leurs emballages définitifs doivent être désinfectés.

Dans des cas particuliers, l'inspecteur vétérinaire peut cependant autoriser le transport de poussins d'un jour, de poules pondeuses ou d'œufs à couvrir à destination d'une exploitation située en dehors de la zone de surveillance. Cette exploitation est alors mise sous contrôle officiel par l'inspecteur vétérinaire, en application des dispositions de l'article 23, § 4.

2° les volailles doivent être confinées dans leurs locaux d'hébergement ou dans tout autre lieu permettant leur isolement;

3° dans la zone de protection, les oiseaux des exploitations situées à moins de 500 mètres d'un foyer doivent être enfermés;

4° aux entrées et sorties des poulaillers et de l'exploitation doit être placé un pédiluve contenant un produit désinfectant autorisé par l'inspecteur vétérinaire;

5° sans préjudice des dispositions imposées par les gouvernements des Régions, il est interdit de transporter ou d'épandre des fumiers de volailles ou des litières usées sans l'autorisation de l'inspecteur vétérinaire.

§ 5. Sont interdits dans la zone de protection :

1° la circulation sur la voie publique et le transport de volailles; cette interdiction n'est pas applicable au transit de volailles par les autoroutes ou les lignes principales du réseau de chemins de fer, à condition que les animaux ne soient pas déchargés et qu'il n'y ait aucun arrêt;

2° les rassemblements de volailles et d'oiseaux;

3° l'accès aux bâtiments et terrains de toute exploitation et de toute installation où sont détenues des volailles, à des personnes étrangères à l'exploitation ou à l'installation en question; cette interdiction n'est pas d'application aux personnes suivantes :

a) le personnel du Service vétérinaire et de l'INRV ou les personnes réquisitionnées par l'inspecteur vétérinaire;

b) les préposés du clos d'équarrissage;

c) la police et la gendarmerie;

d) les personnes préposées aux soins des animaux et qui y sont appelées pour les besoins du service ou du ravitaillement;

4° l'accès aux poulaillers et aux volières, sauf pour :

a) le responsable lui-même;

b) le vétérinaire agréé;

c) le personnel du Service vétérinaire, et de l'INRV;

Toutes ces personnes sont tenues de porter des vêtements de travail et de désinfecter leurs bottes avant d'entrer ou de sortir des poulaillers.

Art. 24. La levée des mesures en vigueur dans la zone de protection intervient au plus tôt 21 jours après l'exécution, dans l'exploitation infectée, des mesures de nettoyage et de désinfection sous la surveillance et selon les instructions de l'inspecteur vétérinaire.

Art. 25. Dans la zone de surveillance, les mesures suivantes sont d'application :

§ 1er. Le bourgmestre notifie la délimitation de la zone de surveillance aux responsables des exploitations situées dans cette zone.

§ 2. Le bourgmestre fait procéder à l'inventaire administratif des volailles dans toutes les exploitations situées dans la zone de surveillance. Toutes les exploitations sont identifiées. L'inventaire est transmis à l'inspecteur vétérinaire dans les cinq jours ouvrables.

§ 3. Les responsables des exploitations sont tenus de faire examiner par un vétérinaire agréé toutes les volailles de leur exploitation une fois par semaine avec un intervalle d'au moins 4 jours entre les examens.

Le vétérinaire agréé effectue, lors de sa visite, un examen clinique et un recensement de toutes les volailles de l'exploitation. Si nécessaire, des échantillons sont prélevés en vue d'un examen de laboratoire. Les données et le résultat de ces visites doivent être enregistrés de la manière arrêtée par le Ministre.

§ 4. Le bourgmestre informe les responsables des exploitations situées dans la zone de surveillance des mesures en vigueur dans cette zone :

1° les volailles ne peuvent pas quitter la zone de surveillance pendant les quinze premiers jours, sauf pour être acheminées directement vers un abattoir désigné par l'inspecteur vétérinaire, situé en dehors de la zone de surveillance;

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 pluimveemest 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 ergeroepen zijn voor dienst- of bevoorradingsnoodwendigheden;

4° de toegang tot de pluimveehokken en de volières, 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 te 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 onderzoekers 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° le transport direct de volailles à destination d'un abattoir désigné par l'inspecteur vétérinaire n'est autorisé qu'aux conditions suivantes :

a) le transport doit avoir lieu entre 6 et 17 heures;
b) les véhicules servant au transport des volailles sont scellés par un délégué de l'inspecteur vétérinaire;

c) le transport doit être accompagné d'une autorisation de transport délivrée par un vétérinaire agréé;

3° le transport direct de poussins d'un jour, de poulettes prêtes à la ponte et d'autres volailles, ainsi que d'œufs à couver à destination d'une exploitation désignée par l'inspecteur vétérinaire n'est autorisée qu'aux conditions suivantes :

a) le transport doit être accompagné d'une autorisation de transport délivrée par un vétérinaire agréé, conformément au modèle fixé par le Service;

b) le véhicule et les caisses sont nettoyés et désinfectés à fond avant de quitter l'exploitation de destination ou dans une installation désignée;

c) avant leur expédition, les œufs et leurs emballages doivent être désinfectés.

Dans des cas particuliers, l'inspecteur vétérinaire peut autoriser le transport de poussins d'un jour, de poules pondeuses ou d'œufs à couver à destination d'une exploitation située en dehors de la zone de surveillance. Cette exploitation est alors mise sous contrôle officiel par l'inspecteur vétérinaire, en application des dispositions de l'article 21, § 4.

4° il est interdit d'acheminer des fumiers de volailles ou des litières usées en dehors de la zone de surveillance;

5° tout autre déplacement ou transport de volailles à l'intérieur de la zone de surveillance est interdit; cette interdiction ne s'applique pas au transit de volailles par les autoroutes ou les voies principales du réseau de chemin de fer, à condition que les animaux ne soient pas déchargés et qu'il n'y ait aucun arrêt;

6° les rassemblements de volailles et d'oiseaux sont interdits.

Art. 26. La levée des mesures en vigueur dans la zone de surveillance intervient au plus tôt 30 jours après l'exécution, dans l'exploitation infectée, des mesures de nettoyage et de désinfection.

CHAPITRE VIII. — Mesures relatives à la maladie de Newcastle chez les pigeons voyageurs et autres oiseaux

Art. 27. § 1er. Lorsque des pigeons voyageurs ou d'autres oiseaux maintenus en captivité sont suspectés d'être infectés par la maladie de Newcastle, l'inspecteur vétérinaire ordonne que soient prélevés sans délai les échantillons nécessaires aux examens de laboratoire.

§ 2. Dès la notification de la suspicion, l'inspecteur vétérinaire place l'exploitation ou le pigeonier sous surveillance officielle et ordonne qu'aucun pigeon ou tout autre élément susceptible de transmettre la maladie de Newcastle ne quitte le pigeonier ou l'exploitation.

§ 3. Les mesures de surveillance officielle ne sont levées que lorsque la suspicion de la maladie de Newcastle est infirmée.

Art. 28. § 1er. Dès que l'infection est officiellement confirmée, l'inspecteur vétérinaire effectue une enquête épidémiologique conformément aux dispositions du chapitre VI.

§ 2. L'inspecteur vétérinaire fait appliquer les mesures de contrôle et d'éradication visées aux articles 6, 2° et 3°, 8 et 9 aux pigeons voyageurs ou aux oiseaux maintenus en captivité infectés par la maladie de Newcastle.

Art. 29. En dérogation aux dispositions de l'article 28, l'inspecteur vétérinaire peut décider d'appliquer les mesures suivantes :

i) que les pigeons ou les oiseaux maintenus en captivité ne quittent pas le pigeonier ou l'exploitation durant au moins 60 jours après la disparition des symptômes cliniques de la maladie de Newcastle;

ii) que toutes les matières et déchets susceptibles d'avoir été contaminés soient détruits ou traités. Ce traitement doit garantir la destruction du virus de la maladie de Newcastle présent et de tous les déchets accumulés pendant la période de 60 jours citée au point i).

CHAPITRE IX. — Mesures applicables d'office

Art. 30. Le bourgmestre est responsable de l'exécution des mesures prescrites par l'inspecteur vétérinaire dans le foyer, dans la zone de protection et dans la zone de surveillance.

Art. 31. Si le responsable d'une exploitation avicole, d'un pigeonier, d'autres oiseaux ou d'un couvoir situé dans une zone de protection ou dans une zone de surveillance n'applique pas une ou

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 vervoerstoeating 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 vervoerstoeating 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 pluimveemest of gebruikt 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 spoorwagetrack, 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 afvalstoffen 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 maatre-

plusieurs des mesures prescrites par le présent arrêté ou par ses arrêtés d'exécution ou imposées par l'inspecteur vétérinaire, le bourgmestre prend d'office ces mesures aux frais du détenteur, sous la surveillance de la police locale. Au besoin, il fait appel à la gendarmerie.

Les frais occasionnés par l'application d'office de mesures de police vétérinaire sont recouverts par l'administration communale.

Art. 32. L'inspecteur vétérinaire recherche les foyers cachés.

Tout responsable doit prêter son concours ou celui de son personnel à la première injonction orale ou écrite, pour l'examen par le Service de tous les animaux en sa possession.

Art. 33. Toutes les volailles dont la présence sur la voie publique, en un lieu public ou sur la propriété d'autrui constitue une infraction au présent arrêté, sont immédiatement mises à mort sur ordre de l'inspecteur vétérinaire sans expertise et sans indemnisation.

CHAPITRE X

Echanges, transport et rassemblements de volailles

Art. 34. Sans préjudice des dispositions de l'article 23, § 5 et de l'article 25, § 4, le Ministre peut interdire le rassemblement de volailles et d'oiseaux sur tout le territoire du Royaume ou sur une partie du territoire.

Art. 35. Le Ministre peut arrêter les conditions pour la vente publique de volailles et d'oiseaux sur les marchés et pour le rassemblement de volailles et d'oiseaux.

Art. 36. L'inspecteur vétérinaire interdit aux commerçants et transporteurs qui ont vendu ou transporté des volailles suspectes d'infection, l'usage de leurs véhicules durant le temps jugé nécessaire au nettoyage et à la désinfection.

CHAPITRE XI. — Examen de diagnostic

Art. 37. Le Service vétérinaire peut prélever ou faire prélever dans toutes les exploitations de volailles ou abattoirs des échantillons en vue de la recherche de l'influenza aviaire ou de la maladie de Newcastle, ou en vue du contrôle du respect des décisions prises conformément à l'article 40.

Pour l'exécution des échantillonnages précités, l'inspecteur vétérinaire peut faire appel à un vétérinaire agréé. Pour ces opérations, le personnel du Service vétérinaire et de l'I.N.R.V. et les vétérinaires agréés ont libre accès aux exploitations en cause. Les éleveurs de volailles sont tenus d'accorder leur aide aux personnes préposées à l'échantillonnage, et ils ne peuvent pas s'y opposer.

Art. 38. § 1er. Le prélèvement d'échantillons et les examens de laboratoire en vue de la détection de l'influenza aviaire doivent se faire selon les techniques arrêtées à l'annexe I.

§ 2. Le prélèvement d'échantillons et les examens de laboratoire en vue de la détection de la maladie de Newcastle doivent se faire selon les techniques arrêtées à l'annexe II.

§ 3. Le Ministre peut adapter l'annexe I aux modifications apportées à l'annexe I de la directive 92/40/CEE, et il peut adapter l'annexe II aux modifications apportées à l'annexe I de la directive 92/66/CEE.

§ 4. L'INRV est désigné comme laboratoire national de référence pour l'harmonisation des techniques de laboratoire utilisées visées aux §§ 1er et 2.

CHAPITRE XII

Traitement préventif et curatif de l'influenza aviaire et de la maladie de Newcastle

Art. 39. Tout traitement préventif ou curatif de l'influenza aviaire ou de la maladie de Newcastle est interdit.

Art. 40. § 1er. Le Ministre peut, en dérogation de l'article 39 fixer les modalités qui sont d'application lorsqu'il décrète la vaccination obligatoire des volailles.

Il peut décréter la vaccination obligatoire pour l'ensemble ou pour une partie du Royaume.

Le cas échéant, il peut prévoir la possibilité d'une dispense de la vaccination obligatoire et autoriser des schémas de vaccination alternatifs.

§ 2. Le Ministre peut également arrêter un programme de vaccination contre la maladie de Newcastle pour des pigeons voyageurs, pigeons d'expositions et des autres oiseaux. Les organisateurs de concours et expositions prennent, en concertation avec le Service,

gelen 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 N.I.D.O., 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 enteschema's toelaten.

§ 2. De Minister kan tevens besluiten tot een entingsprogramma voor reisdieven, tentoonstellingsduiven en andere vogels tegen de ziekte van Newcastle. De organisatoren van wedstrijden en tentoonstellingen nemen in overleg met de Dienst de nodige schik-

les dispositions nécessaires afin que seuls soient admis aux compétitions ou expositions les pigeons voyageurs ou autres oiseaux qui ont été vaccinés contre la maladie de Newcastle par un vétérinaire agréé.

§ 3. Le Ministre détermine quelles souches de virus peuvent être autorisées pour la vaccination des volailles et des oiseaux contre la maladie de Newcastle.

CHAPITRE XIII. — Dispositions générales

Art. 41. Lorsqu'il y a menace d'infection ou d'extension de la maladie, le Ministre peut prendre toutes mesures temporaires qu'il juge nécessaires en vue de combattre et d'éradiquer l'influenza aviaire ou la maladie de Newcastle.

Il peut à cette occasion, soit compléter la réglementation existante, soit s'en écarter entièrement ou partiellement.

Art. 42. Tous les vétérinaires agréés doivent suivre scrupuleusement les instructions données par l'inspecteur vétérinaire concernant l'influenza aviaire ou la maladie de Newcastle, et lui fournir à tout moment les renseignements demandés.

Art. 43. Les responsables et les personnes qui transportent ou font transporter des poussins d'un jour, des volailles et des œufs à couvrir sont tenus de communiquer aux autorités compétentes qui en font la demande, tout renseignement concernant l'origine ou la destination des poussins d'un jour, volailles ou œufs à couvrir qu'ils détiennent, transportent ou font transporter, en indiquant, selon le cas, les nom, prénom et adresse du vendeur ou du responsable précédent, le lieu où s'est fait le transfert de propriété ou de possession et les lieux où ont séjourné les poussins d'un jour, volailles ou œufs à couvrir depuis le transfert.

Le Ministre peut imposer la tenue de registres aux fins d'enregistrement de ces données.

Art. 44. Les aliments pour volailles, y compris les céréales destinées à l'alimentation des volailles, ne peuvent être livrés qu'en emballage perdu ou en vrac.

Art. 45. Les infractions aux dispositions du présent arrêté sont recherchées, constatées et punies conformément aux chapitres V et VI de la loi.

Art. 46. L'arrêté royal du 16 juillet 1981 portant des mesures de police sanitaire relatives à la peste aviaire et à la pseudo peste aviaire, modifié par l'arrêté royal du 13 mai 1992 est abrogé.

Art. 47. Notre Ministre de l'Agriculture est chargé de l'exécution du présent arrêté.

Donné à Bruxelles, le 28 novembre 1994.

ALBERT

Par le Roi :

Le Ministre de l'Agriculture,
A. BOURGEOIS

Annexe I à l'arrêté royal du 28 novembre 1994
portant des mesures de police sanitaire
relatives à l'influenza aviaire et à la maladie de Newcastle

Méthodes de diagnostic pour la confirmation et le diagnostic différentiel de l'influenza aviaire

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

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

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

kingen 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 gezondheidspolitie 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.

Gegeven te Brussel, 28 november 1994.

ALBERT

Van Koningswege :

De Minister van Landbouw,
A. BOURGEOIS

Bijlage I bij het koninklijk besluit van 28 november 1994 houdende maatregelen van diergeneeskundige politie betreffende de aviaire influenza en de ziekte van Newcastle

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.

CHAPITRE Ier. — Echantillonnage et traitement des échantillons

1. Echantillons

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

2. Traitement des échantillons

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

3. Milieu antibiotique

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

CHAPITRE II. — Isolement du virus

Isolement du virus dans les œufs embryonnés de poules.

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

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

CHAPITRE III. — Diagnostic différentiel

1. Différentiation préliminaire

Étant donné qu'il est important de mettre en oeuvre, dès que possible, des mesures de lutte contre l'influenza aviaire visant à limiter la propagation du virus, l'INRV doit être en mesure d'identifier tout virus hémagglutinant isolé comme étant un virus grippal de sous-type H5 ou H7, en plus du virus de la maladie de Newcastle. Les liquides hémagglutinants doivent donc être utilisés dans un test d'hémagglutination tel qu'il est décrit aux chapitres V et VI. Une inhibition positive, c'est-à-dire 2⁺ ou plus, à l'aide d'antisérums polyclonaux spécifiques de sous-type H5 ou H7 de la grippe de type A, d'un titre d'au moins 2⁺, pourra servir d'identification préliminaire permettant la mise en oeuvre de mesures de contrôle intermédiaires.

2. Confirmation

L'INRV doit :

i) confirmer le fait que l'isolat est un virus grippal de type A, à l'aide d'un test d'immunodiffusion double, afin de détecter les groupements d'antigènes, selon la méthode décrite au chapitre IX (le laboratoire national pourra utiliser, s'il le préfère, l'immunofluorescence ou les techniques ELISA pour détecter les groupements d'antigènes);

ii) déterminer si l'isolat est ou n'est pas de sous-type H5 ou H7;

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 1 000 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 : 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-keukenzoutoplossing met fosfaatbuffer). Een vijf-voudige 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. — Virusisotatie

Virusisotatie met behulp van bebroede kippeieren

Bij ten minste vier geëmbryoneerde kippeieren 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 pathogeen-vrij koppel (SFF-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-amnionvocht daarvan wordt getest op hemagglutinatie. Als geen hemagglutinatatie wordt geconstateerd, wordt de hierboven beschreven procedure herhaald met onverdund allantoïsof-amnionvocht als inoculum.

Wanneer hemagglutinatatie 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 hemagglutinatatie teweegbrengen, moet derhalve een hemagglutinatieremmingstest 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 2⁺, 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) effectuer un test de recherche de l'indice de pathogénicité intraveineux chez les poulets âgés de six semaines, selon la méthode décrite au chapitre 7. Des indices de pathogénicité intraveineux supérieurs à 1,2 indiquent la présence du virus et exigent la pleine application des mesures de contrôle (il serait utile que l'INRV effectue également des tests, en vue de déterminer la capacité d'un isolat de produire des plages dans les cultures cellulaires, comme prévu au chapitre 8.

L'INRV doit immédiatement soumettre tous les isolats de l'influenza aviaire et les isolats de sous-type H5 ou H7 au laboratoire communautaire de référence à des fins de caractérisation complète.

CHAPITRE IV

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

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

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

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

2. a) Échantillons

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

b) Recherche des anticorps

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

Le choix quant à la question de savoir s'il convient d'utiliser, pour le test d'inhibition de l'hémagglutination, 4 ou 8 unités hémagglutinantes doit être laissé à la discrétion de l'INRV.

Toutefois, l'antigène utilisé affectera le niveau auquel un sérum est considéré positif : pour 4 unités hémagglutinantes, est considéré positif tout sérum dont le titre est égal ou supérieur à 2¹, pour 8 unités hémagglutinantes, tout sérum dont le titre est égal ou supérieur à 2².

CHAPITRE V. — Test d'hémagglutination (HA)

Réactifs

1. Solution isotonique tamponnée au phosphate (STP) (0,05M), avec pH compris entre 7,0 et 7,4.

2. Prélever des hématies en mélange provenant d'au moins 3 poules exemptes d'organisation pathogènes spécifiques (si l'on n'en dispose pas, prélever du sang sur des oiseaux régulièrement contrôlés et reconnus exempts d'anticorps du virus de l'influenza aviaire) et les placer dans un volume égal de solution d'Alsever. Laver les cellules trois fois dans la STP avant l'utilisation. Pour l'autre test, une suspension à 1 % (valeur hématocrite) dans le PBS est recommandée.

3. Le laboratoire de référence communautaire fournira ou recommandera les virus H5 et H7 de faible virulence pour servir d'antigènes standard.

Méthode

1. Distribuer 0,025 ml de STP dans chaque puits d'une microplaque en plastique (utiliser des fonds en V).

2. Verser 0,025 ml de suspension du virus (c'est-à-dire de liquide allantoïdien) dans le premier puits.

3. Utiliser un microdilueur ou réaliser des dilutions par dédoublement du virus (1/2 à 1/4096) de puits en puits.

iii) bij zes weken oude kuikens een intraveneuze pathogeniteitstest 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 uitroeiprogramma'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 hemagglutina-tieremmingstest 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 2¹ of hoger, bij gebruik van 8 HAE is een serum positief als het een titer heeft van 2¹ of hoger.

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

CHAPITRE VI. — Test d'inhibition de l'hémagglutination (HI)

Reactifs

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

Méthode

1. Distribuer 0,025 ml de STP dans tous les puits d'une microplaque plastique (puits à fond en V).
2. Verser 0,025 ml de sérum dans le premier puits de la plaque.
3. Utiliser un microdilueur pour réaliser les dilutions doubles de sérum de puits en puits.
4. Ajouter (0,025 ml de liquide allantoïdien dilué contenant 4 ou 8 unités hémagglutinantes.
5. Mélanger en tapotant doucement et laisser reposer la plaque à 4 °C pendant un minimum de 60 minutes ou à la température ambiante pendant un minimum de 30 minutes.
6. Ajouter 0,025 ml d'hématies à 1 % dans tous les puits.
7. Mélanger en tapotant doucement et laisser reposer à 4 °C.
8. Lire les plaques après 30 à 40 minutes lorsque la sédimentation des hématies témoins est terminée. Lire en inclinant la plaque pour observer la présence ou l'absence d'un flux en forme de larme s'écoulant au même rythme que les puits témoins contenant des hématies (0,025 ml) et du PBS (0,05 ml) uniquement.
9. Le titre HI correspondant à la dilution la plus élevée d'antiserum entraînant une inhibition complète de 4 à 8 unités du virus (le titrage du HA pour confirmer la présence du nombre requis d'unités hémagglutinantes doit être inclus pour chaque test HI).
10. La validité des résultats dépend de l'obtention d'un titre inférieur à 2^e pour 4 unités hémagglutinantes ou 2^e pour 8 unités hémagglutinantes avec le sérum témoin négatif et d'un titre d'une dilution immédiatement supérieure ou immédiatement inférieure au titre connu du sérum témoin positif.

CHAPITRE VII. — Indice de pathogénicité intraveineuse (IPIC)

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

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 0,0205 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 (0,025 ml) bevatten.
9. De HAR-titer is de hoogste verdunning van het antiserum die nog in staat is de hemagglutinatatie 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^e voor 4 HAE of lager dan 2^e 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. Enregistrer les résultats et calculer l'indice selon l'exemple indiqué ci-dessous :

5. Het registreren van de resultaten en het berekenen van de index vindt plaats overeenkomstig het volgende voorbeeld :

Klinische symptomen Signes cliniques	Dagen na inoculatie Jours suivant l'inoculation										Totale score Total score
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Normaal Normaux	10	2	0	0	0	0	0	0	0	0	12 x 0 = 0
Ziek Malades	0	4	2	2	0	0	0	0	0	0	6 x 1 = 6
Ernstig ziek (*) Gravement malade (*)	0	2	2	2	0	0	0	0	0	0	6 x 23 = 12
Dood Morts	0	2	6	8	10	10	10	10	10	10	76 x 3 = 228
Totaal/Total = 246											

Indice = résultat moyen par animal et par observation :

$$\frac{246}{100} = 2,46$$

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

De index is het gemiddelde van het totale aantal punten per dier en per waarneming = $\frac{246}{100} = 2,46$

(*) 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.

CHAPITRE VIII

Evaluation de la capacité à former des plages

1. Il est généralement préférable d'utiliser une gamme de dilution du virus pour faire en sorte d'obtenir un nombre optimum de plages sur la plaque. Des dilutions décuplées allant jusqu'à 10^{-7} dans le PBS devraient être suffisantes.

2. Des cultures monocouches confluentes de cellules d'embryon de poulet ou une lignée cellulaire appropriée (par exemple, Madin-Darby bovine kidney) sont préparées dans des boîtes de Petri de 5 cm de diamètre.

3. Ajouter 0,2 ml de chaque dilution du virus dans chacune des deux boîtes de Petri et laisser reposer 30 minutes pour l'absorption du virus.

4. Après avoir été lavées trois fois dans la STP, les cellules infectées sont recouvertes d'un milieu approprié contenant de l'agar à 1 % p/v et éventuellement 0,01 mg/ml de trypsine. Il est important de n'ajouter aucun sérum au milieu d'immersion.

5. Après une incubation de 72 heures à 37 °C, les plages devraient être d'une taille suffisante. Pour une meilleure observation, enlever la couverture d'agar et colorer la culture monocouche à l'aide de crystal violet (0,5 % p/v) dans 25 % p/v d'éthanol.

6. Tous les virus doivent présenter des plages claires lorsqu'ils sont incubés dans un milieu contenant de la trypsine. Lorsque les milieux de couverture ne contiennent pas de trypsine, seuls les virus virulents pour les poulets formeront des plages.

CHAPITRE IX. — Immunodiffusion double

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

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

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 confluente vettapjes van kippeembryocellen 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 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 chorio-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 natriumlaurisolsarcosinaat. 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 centrifugereren (1 000 g gedurende 10 minuten).

Le liquide surnageant peut être jeté et le précipité contenant du virus remis en suspension dans un volume minimum de tampon sarkosyl-glycine (1 % de sarcosinate-lauroyl de sodium tamponné à un pH de 8,0 avec 0,5 M de glycine. Ces préparations possèdent à la fois les nucléocapsides et les antigènes de la matrice.

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

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

Vu pour être annexé à Notre arrêté du 28 novembre 1994.

ALBERT

Par le Roi :

Le Ministre de l'Agriculture,
A. BOURGEOIS

Annexe II à l'arrêté royal du 28 novembre 1994 portant des mesures de police sanitaire relatives à l'influenza aviaire et à la maladie de Newcastle

Méthodes de diagnostic pour la confirmation et diagnostics différentiels de la maladie de Newcastle

Les procédures d'isolement et de caractérisation des virus de la maladie de Newcastle exposées ci-après doivent être considérées comme des orientations et comme les minima à appliquer pour les diagnostics de la maladie.

Le virus responsable de la maladie de Newcastle est le virus prototype des Paramyxoviridae. A l'heure actuelle, il existe neuf groupes de paramyxovirus aviaires pouvant être distingués sur le plan sérologique, dénommés en conséquence PMV-1, PMV-2, ..., PMV-9. Tous les virus de la maladie de Newcastle sont classés dans le groupe PMV-1. Pour les besoins des techniques de diagnostic permettant de confirmer la maladie de Newcastle et pour le diagnostic différentiel, la définition suivante est applicable :

On entend par maladie de Newcastle une infection provoquée par toute souche aviaire du paramyxovirus 1 ayant, chez les poussins d'un jour, un indice de pathogénie intracérébrale (ICPI) supérieur à 0,7.

CHAPITRE I^{er}. — Echantillonnage et traitement des échantillons

1. Echantillons

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

2. Traitement des échantillons

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

3. Milieu antibiotique

Diverses formulations de milieux antibiotiques ont été utilisées avec succès. Des concentrations élevées d'antibiotiques sont nécessaires pour les échantillons de fèces. Le mélange suivant est typique : 10 000 unités/ml de pénicilline, 10 mg/ml de streptomycine, 0,25 mg/ml de gentamycine et 5 000 unités/ml de mycostatine dans une solution tamponnée au phosphate (STP). Ces taux peuvent être cinq fois moins élevés pour les tissus et les écouvillonnages

Het supernatant kan worden verwijderd en het precipitaat dat het virus bevat weer gesuspendeerd in een minimumhoeveelheid glycine-sarcosylbuffer (1 % natriumlauroilsarcosinaat dat met 0,5 M glycine is gebufferd tot een pH van 8,0). Deze preparaten bezitten zowel de nucleocapside- als de matrix-antigenen.

Beard (1970) beschrijft de bereiding van nucleocapsiderijk antigen uit chorio-allantoïsmembranen afkomstig van besmette eieren. Deze methode bestaat uit verwijdering van de chorio-allantoïsmembranen van besmette eieren die hemagglutinine bevatten, vermalen of homogeneren van de membranen, bevriezen en ontdooien (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 antigen 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 antigen en het positieve controle-antigen tegenover het positieve antiserum een fusierende precipitatielijnen vormen.

Gezien om te worden gevoegd bij Ons besluit van 28 november 1994.

ALBERT

Van Koningswege :

De Minister van Landbouw,
A. BOURGEOIS

Bijlage II bij het koninklijk besluit van 28 november 1994 houdende maatregelen van diergeneeskundige politie betreffende de aviaire influenza en de ziekte van Newcastle

Methoden voor differentiële diagnostiek en bevestiging van de diagnose van de ziekte 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 %-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 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 weef-

trachéaux. Pour le contrôle des Chlamydia, l'addition de 50 mg/ml d'oxytétracycline est autorisée. Lors de la confection du milieu, il est impératif que le pH soit contrôlé après addition des antibiotiques et ajusté pour obtenir un pH compris entre 7,0 et 7,4.

CHAPITRE II. — Isolement du virus

Isolement du virus dans les œufs embryonnés de poules.

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

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

CHAPITRE III. — Diagnostic différentiel

1. Différentiation préliminaire

Tous les virus hémagglutinants sont soumis à l'INRV à des tests d'identification complète, de caractérisation et de tests de pathogénicité. Il est important de mettre en œuvre, dès que possible, des mesures intérimaires de lutte contre la maladie de Newcastle visant à limiter la propagation du virus, et l'I.N.R.V. devrait être en mesure d'identifier la présence du virus de cette maladie. Les liquides hémagglutinants doivent donc être utilisés dans un test d'hémagglutination tel qu'il est décrit aux chapitres 5 et 6. Une inhibition positive, c'est-à-dire 2⁺ ou plus, à l'aide d'un antisérum polyclonal spécifique du virus de la maladie de Newcastle, d'un titre d'au moins 2⁺, pourra servir d'identification préliminaire permettant la mise en œuvre de mesures de contrôle intérimaires.

2. Confirmation

L'INRV effectuée le diagnostic différentiel complet et tout agent hémagglutinant. La confirmation du virus de la maladie de Newcastle doit à nouveau se faire par inhibition à l'aide de tests d'inhibition de l'hémagglutination avec des antisérums monospécifiques de poulet. Des tests de recherche de l'indice de pathogénicité intracérébral selon la procédure décrite au chapitre 7 doivent être effectués sur tous les isolats positifs. Des indices de pathogénicité supérieurs à 0,7 indiquent la présence du virus et exigent la pleine application de mesures de contrôle.

Des développements récents dans le typage des virus de la maladie de Newcastle, notamment les techniques faisant appel à des anticorps monoclonaux, ont permis le groupage des souches et des isolats. En particulier, il existe des anticorps monoclonaux spécifiques des souches vaccinales utilisées dans la Communauté qui peuvent être employés dans des tests simples d'inhibition de l'hémagglutination.

Étant donné que des souches de vaccins vivants peuvent souvent être isolées à partir d'échantillons de volailles, les avantages que présente leur identification rapide par l'INRV sont évidents. Ces anticorps monoclonaux pourraient être obtenus du laboratoire communautaire de référence et être fournis à l'INRV pour permettre la confirmation de l'isolement des virus vaccinaux.

L'INRV soumet tous les agents d'hémagglutination au laboratoire communautaire de référence.

CHAPITRE IV. — Tests rapides de détection du virus et des anticorps de la maladie de Newcastle

Tests rapides de détection du virus de la maladie de Newcastle chez les oiseaux vaccinés et de détection des anticorps chez les oiseaux non vaccinés.

1. Détection du virus de la maladie de Newcastle Différents tests rapides permettant de détecter directement les antigènes de la maladie de Newcastle ont été utilisés dans le diagnostic des infections chez les oiseaux vaccinés. Les plus couramment utilisés jusqu'à présent sont les tests aux anticorps fluorescents sur des

sels 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 kippeieren

Bij ten minste vier geëmbryoneerde kippeieren 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 pathogeenvrij 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 amnionvocht daarvan wordt getest op hemagglutinatatie. Als geen hemagglutinatatie wordt geconstateerd, wordt de hierboven beschreven procedure herhaald met onverdund allantoïsof amnionvocht als inoculum.

Wanneer hemagglutinatatie 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 hemagglutinatatie tweeebrengen, 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 hemagglutinatatie tweeebrengen, moet derhalve een hemagglutinatieremmingstest als beschreven in de hoofdstukken 5 en 6 worden opgezet. Een positieve remming, dat wil zeggen, 2⁺ of hoger, met het specifieke polyklonale antiserum voor het virus van de ziekte van Newcastle met een titer van ten minste 2⁺, 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 monospécifiek 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-gevacineerde vogels worden hieronder beschreven.

1. Opsporing van het virus van de ziekte van Newcastle wordt toegepast om besmetting van gevaccineerde dieren te diagnosticeren. Tegenwoordig wordt daarvoor meestal gebruik gemaakt van immunofluorescentietests voor onderzoek van longitudinale secties van trachea en van tests op basis van met peroxidase gemerkte anti-

sections longitudinales de la trachée et les tests aux anticorps à la peroxydase sur l'encéphale. Il n'y a aucune raison de douter que d'autres tests de détection directe de l'antigène puissent être utilisés pour les infections dues au virus de la maladie de Newcastle.

L'inconvénient de ces tests est que l'examen de tous les sites potentiels de réplication du virus de la maladie de Newcastle chez les oiseaux vaccinés est irréalisable. Par exemple, l'absence de l'évidence du virus dans la trachée n'exclut pas la réplication du virus dans l'intestin. Aucune méthode directe de détection de la maladie de Newcastle même si, dans des circonstances bien spécifiques, de tels tests peuvent jouer un rôle utile.

2. Détection d'anticorps chez les oiseaux non vaccinés

L'INRV contrôle l'utilisation uniforme du test d'inhibition de l'hémagglutination dans des centres provinciaux de dépistage agréés.

a) Echantillons

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

b) Recherche des anticorps

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

Le choix pour le test d'inhibition de l'hémagglutination, quatre ou huit unités hémagglutinantes est laissé à la discrétion de l'INRV. Toutefois, l'antigène utilisé affectera le niveau auquel un sérum est considéré positif : pour quatre unités hémagglutinantes, est considéré positif tout sérum dont le titre est égal ou supérieur à 2^e et, pour huit unités hémagglutinantes, tout sérum dont le titre est égal ou supérieur à 2^e.

CHAPITRE V. — Test d'hémagglutination (HA)

Réactifs

1. Solution isotonique tamponnée au phosphate (STP) (0,05M), avec pH compris entre 7,0 et 7,4.

2. Prélever des hématies en mélange provenant d'au moins 3 poules exemptes d'organisation pathogènes spécifiques (si l'on n'en dispose pas, prélever du sang sur des oiseaux régulièrement contrôlés et reconnus exempts d'anticorps antivirux de la maladie de Newcastle et les placer dans un volume égal de solution d'Alsever. Laver les cellules trois fois dans la STP avant l'utilisation. Pour l'autre test, une suspension à 1 % (valeur hématocrite) dans le PBS est recommandée.

3. La souche Ulster 2C du virus de la maladie de Newcastle est recommandée pour servir d'antigènes standard.

Méthode

a) Distribuer 0,025 ml de STP dans chaque puits d'une microplaque en plastique (utiliser des fonds en V).

b) Verser 0,025 ml de suspension du virus (c'est-à-dire de liquide allantoïdien) dans le premier puits.

c) Utiliser un microdilueur ou réaliser des dilutions par dédoublement du virus (1/2 à 1/4096) de puits en puits.

d) Ajouter 0,025 ml de STP dans chaque puits.

e) Ajouter 0,025 ml d'hématies à 1 % dans chaque puits.

f) Mélanger en tapotant doucement et laisser reposer à 4 °C.

g) Lire les plaques 30 à 40 minutes plus tard lorsque la sédimentation des témoins est achevée. Lire en inclinant la plaque pour observer la présence ou l'absence d'un flux en forme de larme des hématies. Les puits sans hémagglutination devraient s'écouler au même rythme que les cellules témoins sans virus.

h) Le titre hémagglutinant correspond à la dilution la plus élevée entraînant l'agglutination des hématies. Cette dilution peut être considérée comme contenant une unité hémagglutinante. Une méthode plus précise pour déterminer le titre hémagglutinant consiste à réaliser les tests HA sur des virus provenant d'une gamme complète de dilution initiale du type 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, etc. Cette méthode est recommandée pour la préparation précise de l'antigène destiné aux tests d'inhibition de l'hémagglutination (chapitre 6).

stoffen, 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^e of hoger, bij gebruik van 8 HAE is een serum positief als het een titer heeft van 2^e 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 zefde 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 allantoïsovocht) in het eerste putje.

c) Leg een tweevoudige verdunningsreeks aan van het virus over de gehele plaat (1:2 tot en met 1:4096) 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 hemagglutinatieremmingstests (hoofdstuk 6).

CHAPITRE VI. — Test d'inhibition de l'hémagglutination (HI) test

Réactifs (voir chapitre 5)

- Solution tamponnée au phosphate (STP).
- Liquide allantoïdien contenant le virus, dilué dans la STP et contenant quatre ou huit unités hémagglutinantes par 0,025 ml.
- Hématies de poulet à 1 %.
- Sérum témoin négatif de poulet.
- Sérum témoin positif.

Méthode

- Distribuer 0,025 ml de STP dans tous les puits d'une microplaque plastique (puits à fond en V).
- Verser 0,025 ml de sérum dans le premier puits de la plaque.
- Utiliser un microdilueur pour réaliser les dilutions doubles de sérum de puits en puits.
- Ajouter 0,025 ml de liquide allantoïdien dilué contenant quatre ou huit unités hémagglutinantes.
- Mélanger en tapotant doucement et laisser reposer la plaque à 4 °C pendant un minimum de 60 minutes ou à la température ambiante pendant un minimum de 30 minutes.
- Ajouter 0,025 ml d'hématies à 1 % dans tous les puits.

g) Mélanger en tapotant doucement et laisser reposer à 4 °C.

h) Lire les plaques après 30 à 40 minutes lorsque la sédimentation des hématies témoins est terminée. Lire en inclinant la plaque pour observer la présence ou l'absence d'un flux en forme de larme s'écoulant au même rythme que les puits témoins contenant des hématies (0,025 ml) et du PBS (0,05 ml) uniquement.

i) Le titre HI correspondant à la dilution la plus élevée d'anti-sérum entraînant une inhibition complète de quatre à huit unités du virus (le titrage du HA pour confirmer la présence du nombre requis d'unités hémagglutinantes doit être inclus pour chaque test HI).

j) La validité des résultats dépend de l'obtention d'un titre inférieur à 2ⁱ pour quatre unités hémagglutinantes ou 2ⁱ pour huit unités hémagglutinantes avec le sérum témoin négatif et d'un titre d'une dilution immédiatement supérieure ou immédiatement inférieure au titre connu du sérum témoin positif.

CHAPITRE VII. — Indice de pathogénicité intraveineux (IPIC)

1. Diluer à 1:10 dans du liquide physiologique stérile du liquide allantoïdien infectieux fraîchement récolté (le titre HA doit être supérieur à 2ⁱ) (l'emploi d'antibiotiques est interdits).

2. Injecter par voie intracrânienne 0,05 ml du virus dilué à dix poussins d'un jour (c'est-à-dire âgés de plus de 24 heures et de moins de 40 heures après l'éclosion); ces poussins doivent être issus d'œufs provenant d'un troupeau exempt d'organismes pathogènes spécifiques.

3. Examiner les sujets à 24 heures d'intervalle pendant huit jours.

4. A chaque observation, attribuer un coefficient à chaque animal (0: normal, 1: malade, 2: mort).

5. Calculer l'indice selon l'exemple indiqué ci-dessous :

HOOFDSTUK VI. — Hemagglutineremmingstest (HAR-test)

Reagentia (zie hoofdstuk 5)

- PBS
 - Allantoïsvocht dat virus bevat en met PBS is verdund tot het 4 of 8 HAE per 0,025 ml bevat.
 - 1 %-ige suspensie van RBC van kippen.
 - Negatief controleserum van kippen.
 - Positief controleserum.
- Werkwijze
- Breng in ieder putje van een plastic microtiterplaat (met V-vormige putjes) 0,025 ml PBS.
 - Breng 0,025 ml serum in het eerste putje van de plaat.
 - Leg een tweevoudige verdunningsreeks aan van het serum over de gehele plaat met behulp van een microtitratiediluter.
 - 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 hemagglutinatieve 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 2ⁱ voor 4 HAE of lager dan 2ⁱ 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. — Intracrâniale pathogeniteitsindex (ICPI)

1. Besmettelijk pas gewonnen allantoïsvocht (de HA-titer ervan moet hoger zijn dan 2ⁱ) 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 intracrânieraal 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 Signes cliniques	Dagen na inoculatie (aantal dieren)								Totale score Total score
	Jours suivant l'inoculation (nombre d'oiseaux)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Normaal Normaux	10	4	0	0	0	0	0	0	14 x 0 = 0
Ziek Malades	0	6	10	4	0	0	0	0	20 x 1 = 20
Dood Morts	0	0	0	6	10	10	10	10	46 x 2 = 92
	Totaal/Total = 112								

Indice = resultat moyen par animal et par observation : 112/80 = 1,4

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

CHAPITRE VIII

Evaluation de la capacité à former des plaques

1. Il est généralement préférable d'utiliser une gamme de dilution du virus pour faire en sorte d'obtenir un nombre optimal de plaques de plaques sur la plaque. Des dilutions décuplées allant jusqu'à 10⁷ dans la STP devraient être suffisantes.

2. Des cultures monocouches confluentes de cellules d'embryon de poulet ou une lignée cellulaire appropriée (par exemple, Madin-Darby bovine kidney) sont préparées dans des boîtes de Petri de 5 cm de diamètre.

3. Ajouter 0,2 ml de chaque dilution du virus dans chacune des deux boîtes de Petri et laisser reposer 30 minutes pour l'absorption du virus.

4. Après avoir été lavées trois fois dans la STP, les cellules infectées sont recouvertes d'un milieu approprié contenant de l'agar à 1 % p/v et éventuellement 0,01 mg/ml de trypsine. Il est important de n'ajouter aucun sérum au milieu d'immersion.

5. Après une incubation de 72 heures à 37 °C, les plaques devraient être d'une taille suffisante. Pour une meilleure observation, enlever la couverture d'agar et colorer la culture monocouche à l'aide de crystal violet (0,5 % p/v) dans 25 % p/v d'éthanol.

6. Tous les virus doivent présenter des plaques claires lorsqu'ils sont incubés dans un milieu contenant de la trypsine. Lorsque les milieux de couverture ne contiennent pas de trypsine, seuls les virus virulents pour les poulets formeront des plaques.

Vu pour être annexé à Notre arrêté du 28 novembre 1994.

ALBERT

Par le Roi :

Le Ministre de l'Agriculture,
A. BOURGEOIS

Annexe III à l'arrêté royal du 28 novembre 1994 portant des mesures de police sanitaire relatives à l'influenza aviaire et à la maladie de Newcastle

Les centres provinciaux de dépistage désignés ci-après sont les seuls reconnus compétents sous le contrôle scientifique de l'Institut national de Recherches vétérinaires, pour mettre en application le programme de détection et de lutte contre l'influenza aviaire et la maladie de Newcastle :

— pour le territoire de la province de Flandre occidentale : le centre de dépistage provincial à Torhout :

Industrielaan, 15 — 8820 Torhout

— pour le territoire de la province de Flandre orientale et celui de la douzième circonscription vétérinaire du Brabant : le centre de dépistage provincial à Drongen :

Drongenstationsstraat, 71 — 9031 Drongen

— pour le territoire des provinces d'Anvers et de Limbourg et celui de la treizième circonscription vétérinaire du Brabant : le centre de dépistage provincial à Lier :

Hagenbroeksesteenweg, 167 — 2500 Lier

— pour les provinces de Hainaut, de Liège, de Namur, de Luxembourg, et pour le territoire de la quatorzième circonscription du Brabant : le centre de dépistage provincial à Erpent :

Chaussée de Marche, 604 — 5101 Erpent

Vu pour être annexé à Notre arrêté du 28 novembre 1994.

ALBERT

Par le Roi :

Le Ministre de l'Agriculture,
A. BOURGEOIS

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 confluente vettapijten van kippeembryocellen 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 vettapijt 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 geïnfecteerd, moeten heldere plaques geven. Wanneer de deklaag geen trypsine bevat, worden alleen plaques gevormd door de voor kippen virulente virussen.

Gezien om te worden gevoegd bij Ons besluit van 28 november 1994.

ALBERT

Van Koningswege :

De Minister van Landbouw,
A. BOURGEOIS

Bijlage III bij het koninklijk besluit van 28 november 1994 houdende maatregelen van diergeneeskundige politie betreffende de aviaire influenza en de ziekte van Newcastle

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

Gezien om te worden gevoegd bij Ons besluit van 28 november 1994.

ALBERT

Van Koningswege :

De Minister van Landbouw,
A. BOURGEOIS

Annexe IV à l'arrêté royal du 28 novembre 1994 portant des mesures de police sanitaire relatives à l'influenza aviaire et à la maladie de Newcastle

POLICE SANITAIRE

Influenza aviaire — Maladie de Newcastle

Application de l'A.R. du portant des mesures de police sanitaire relatives à l'influenza aviaire et à la maladie de Newcastle.

ORDRE D'ABATTAGE

Le soussigné, Dr....., Inspecteur vétérinaire de l'Etat :

1) Ordonne l'abattage des animaux mentionnés ci-après en application de l'article 6, 2° de l'arrêté royal susmentionné et détenus par :

nom et adresse du responsable :

et appartenant à :

nom et adresse du propriétaire :

Espèce Race Nombre Age

2) en application de l'arrêté royal susmentionné, exige de M./Mme

qu'elle/il délivre sans aucune formalité les animaux précités au délégué de l'Institut national de Recherches vétérinaires, chargé de leur enlèvement;

3) en application de l'arrêté royal susmentionné, demande au bourgmestre de

qu'il veuille à l'exécution des mesures prescrites;

4) déclare avoir remis l'original de cet ordre d'abattage à Mme/M.

précité(e), responsable des animaux et une copie au bourgmestre compétent, qui ont contresigné l'ordre d'abattage « pour réception ».

Fait à, le

Le responsable, le bourgmestre, l'inspecteur vétérinaire
Cachet et signature Cachet et signature

Vu pour être annexé à Notre arrêté royal du 28 novembre 1994.

ALBERT

Par le Roi :

Le Ministre de l'Agriculture,
A. BOURGEOIS

Bijlage IV bij het koninklijk besluit van 28 november 1994 houdende maatregelen van diergeneeskundige politie betreffende de aviaire influenza en de ziekte van Newcastle

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 K.B., 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, de inspecteur-dierenarts
Stempel en handtekening Stempel en handtekening

Gezien om te worden gevoegd bij Ons besluit van 28 november 1994.

ALBERT

Van Koningswege :

De Minister van Landbouw,
A. BOURGEOIS

**GOUVERNEMENTS DE COMMUNAUTE ET DE REGION — GEMEENSCHAPS- EN GEWESTREGERINGEN
GEMEINSCHAFTS- UND REGIONALREGIERUNGEN**

**DEUTSCHSPRACHIGE GEMEINSCHAFT
COMMUNAUTE GERMANOPHONE — DUITSTALIGE GEMEENSCHAP**

MINISTERIUM DER DEUTSCHSPRACHIGEN GEMEINSCHAFT

D. 95 — 351

[C — 33100]

27. JUNI 1994. — Dekret über die Finanzierung und Subventionierung von Infrastrukturmaßnahmen in dem von der Deutschsprachigen Gemeinschaft organisierten und subventionierten Unterrichtswesen (1)

Der Rat der Deutschsprachigen Gemeinschaft hat das Folgende angenommen und Wir, Regierung, sanktionieren es:

KAPITEL I. — Anwendungsbereich

Artikel 1. Das vorliegende Dekret regelt die Finanzierung und Subventionierung von Infrastrukturmaßnahmen, die für Unterrichtseinrichtungen, deren Verwaltung, die Internate und die Psycho-Medizinisch-Sozialen Zentren des Gemeinschaftsunterrichtswesens, des offiziellen subventionierten und des freien subventionierten Unterrichtswesens bestimmt sind.

(1) *Sitzungsperiode 1993-1994.*

Dokumente des Rates. — 126 (1993-1994) Nr. 1. Dekretvorschlag. — 126 (1993-1994) Nr. 2. Abänderungsvorschlag. — 126 (1993-1994) Nr. 3. Bericht.

Ausführlicher Bericht. — Diskussion und Abstimmung. Sitzung vom 27. Juni 1994.