



Наредба № 19 от 10 февруари 2006 г. за мерките за профилактика, ограничаване и ликвидиране на болестта инфлуенца (грип) по птиците

**НАРЕДБА № 19 от 10 февруари 2006 г.
за мерките за профилактика, ограничаване и ликвидиране на болестта инфлуенца (грип) по птиците**

**Раздел I
Общи положения**

Чл. 1. (1) С тази наредба се определят:

1. мерките за профилактика, ограничаване и ликвидиране на болестта инфлуенца (грип) по:

- а) домашните птици;
- б) декоративните и състезателните гълъби и волиерните птици, отглеждани в затворени помещения;
2. методите за диагностика на болестта;
3. задълженията на ветеринарномедицинските органи, физическите и юридическите лица по прилагане на мерките и методите по т. 1 и 2.

(2) Тази наредба не се отнася за инфлуенца по птиците, установена при диви, свободно живеещи птици.

Чл. 2. Инфлуенцата по птиците подлежи на задължителна регистрация и обявяване по реда на чл. 50 от Закона за ветеринарномедицинската дейност (ЗВД).

Чл. 3. (1) Генералният директор на Националната ветеринарномедицинска служба (НВМС) утвърждава оперативен план за действие (контингенс план) - приложение № 1, който се изпълнява при съмнение или при възникване на болестта.

(2) Планът по ал. 1 се представя на Европейската комисия (ЕК) за одобрение не по-късно от шест месеца от влизането в сила на тази наредба.

(3) Планът по ал. 1 може да бъде изменен и допълван в зависимост от епизоотичната обстановка и по предложение на ЕК за привеждането му в съответствие с планове на другите държави членки. Всяка промяна или допълване на плана по ал. 1 се представя на ЕК за одобрение.

Чл. 4. Мерките за предпазване, ограничаване и ликвидиране на инфлуенца по птиците се налагат със заповед на генералния директор на НВМС.

**Раздел II
Мерки за предпазване на страната от проникване и разпространение на инфлуенцата по птиците**

Чл. 5. За предпазване на страната от проникване и разпространение на инфлуенца по птиците НВМС провежда следните профилактични мерки:

1. регистрация на животновъдните обекти съгласно чл. 7, ал. 2, т. 1 ЗВД;
2. контрол върху придвижването и търговията с птици и птичи суровини и храни;
3. контрол върху пазарите за птици;
4. контрол на транспортните средства, превозващи птици и птичи суровини и храни;
5. контрол на ферми, люпилни, птицекланици и предприятия за преработка на технически суровини и храни;
6. контрол върху събирането и обезвреждането на отпадъци от животновъдните обекти, люпилните, птицекланици и предприятия за преработка на птичи суровини и храни;
7. периодични дезинфекции, дезинсекции и дератизации в обектите по т. 4 и 5;
8. периодични клинични прегледи и сондажни серологични изследвания на домашни и диви птици за наличието на вирус, причиняващ инфлуенца по птиците, като броят на изследваните проби ежегодно се определя от генералния директор на НВМС в зависимост от епизоотичната обстановка.

Чл. 6. При установяване на инфлуенца по птиците в съседни страни НВМС предприема допълнителни профилактични мерки:

1. в районите, граничещи със засегнатите страни, се извършва допълнителна регистрация на домакинствата, отглеждащи птици за собствена консумация;

2. извършва ежеседмични клинични прегледи, аутопсия на умрели птици и лабораторни изследвания.

Чл. 7. (1) Мерките по чл. 5 се изпълняват от кметовете, ветеринарните лекари, собствениците или управителите на животновъдните обекти и на предприятията за добив и преработка на птичи суровини и храни, както и от търговците на птици и птичи суровини и храни.

(2) Кметовете на общини и населени места:

1. извършват регистрация на домашни птици в населените места;
2. осигуряват условия за извършване на клиничните прегледи на птиците;
3. със заповед въвеждат ограничителните мерки, предписани от органите на НВМС.

(3) Ветеринарните лекари, отговарящи за животновъдния обект:

1. извършват клинични прегледи и аутопсии;
2. вземат и изпращат материали за изследвания в одобрена от НВМС лаборатория;
3. издават ветеринарномедицински свидетелства за придвижване на птици и птичи суровини и храни;
4. незабавно уведомяват съответната регионална ветеринарномедицинска служба (РВМС) при съмнение за възникване на инфлуенца по птиците;

5. контролират изпълнението на мерките, предвидени в тази наредба.

(4) Собствениците или управителите на животновъдните обекти:

1. предоставят информация за броя и вида на птиците или разплодните яйца, инкубирани в люпилните, в съответното кметство и в съответната РВМС;
2. проектират и изграждат животновъдните обекти след предварително съгласуване с органите на НВМС;
3. изпълняват разпорежданията на органите на НВМС по отглеждането и здравеопазването на птиците;
4. предоставят птиците за клинични прегледи и за вземане на проби за лабораторни изследвания;
5. незабавно уведомяват ветеринарния лекар, отговарящ за животновъдния обект, при установяване на повишена заболяемост или смъртност на птиците;
6. предават на екарисаж или обезвреждат трупите на умрели птици под надзора на официален ветеринарен лекар;
7. предприемат мерки за охрана на животновъдните обекти за ограничаване достъпа на животни и хора.

(5) Собствениците и управителите на предприятия за добив и преработка на птичи суровини и храни:

1. приемат за клане и преработка само птици и птичи суровини и храни, придружени със съответните ветеринарномедицински документи;
2. осигуряват условия за дезинфекция на влизащите и излизащите от предприятието транспортни средства и хора;

3. предават на екарисаж за обезвреждане отпадъци и конфискати.

(6) Търговците на птици и птичи суровини и храни:

1. придвижват птиците и птичите суровини и храни, придружени със съответните ветеринарномедицински документи, и извършват търговска дейност само на регламентирани пазари и търговски обекти;
2. при установяване на повишена заболяемост или смъртност на птиците незабавно уведомяват официалния ветеринарен лекар;
3. почистват и дезинфекцират транспортните средства, с които се придвижват птиците и птичите суровини и храни, под надзора на ветеринарния лекар, отговарящ за обекта.

(7) Експерти от ЕК в сътрудничество с експерти на НВМС могат да извършват проверки на животновъдните обекти и на водената документация за спазване разпоредбите на тази наредба.

Раздел III

Мерки при съмнение за инфлуенца по птиците

Чл. 8. При съмнение за инфлуенца по птиците (поява на масова смъртност) собствениците или управителите на животновъдните обекти и търговците на птици:

1. незабавно уведомяват ветеринарния лекар, отговарящ за обекта;
2. до идването на ветеринарния лекар, отговарящ за животновъдния обект:
 - а) изолират обекта и не допускат външни лица в него;
 - б) преустановяват придвижването, разместването и прегрупирането на птиците във и извън обекта;
3. изпълняват разпорежданията на ветеринарния лекар, като му предоставят необходимата информация.

Чл. 9. (1) При съмнение за инфлуенца по птиците официалният ветеринарен лекар незабавно:

1. поставя под възбрана животновъдния обект и дава писмено предписание за необходимите мерки за недопускане разпространението на болестта;
2. проверява изправността на дезинфекционните площадки на входа и изхода на животновъдния обект, както и годността и концентрацията на използвания дезинфекционен разтвор;
3. изисква от собствениците и управителите на животновъдния обект данни за броя и вида на птиците в него, както и броя на умрелите птици, тези, показали признаци на болестта, и тези, които не са показали признаци на болестта, по категории и помещения и документираната информация за определяне на птиците, които са родени или умрели по време на съмнението за инфлуенца по птиците;
4. незабавно уведомява кмета за предприетите мерки и взема решение за евентуалното поставяне под възбрана и на други животновъдни обекти, имащи епизоотична или технологична връзка със засегнатия обект.

(2) При прилагане на мярката по ал. 1, т. 1 в животновъдния обект се преустановява:

1. влизането и излизането на хора, животни и транспортни средства без разрешение на ветеринарния лекар по ал. 1;
2. преместването на:
 - а) птици, птичи суровини и храни и трупове на умрели птици за период 21 дни от уведомяването на официалния ветеринарен лекар за съмнение за наличие на болестта;
 - б) постеля, тор, фуражи, инвентар, обувки, превозни средства, които могат да бъдат преносители на вируса;
3. клането на птици в животновъдния обект;
4. използването на яйца за разплод и консумация, произхождащи от животновъдния обект.

(3) Придвижването на птици за незабавно клане от животновъдния обект, за който има съмнение за болест, се допуска от НВМС при спазване на следните изисквания:

1. в 7-дневен срок от уведомяването на официалния ветеринарен лекар за съмнението птиците не са показали клинични признаци;
2. извършено е клинично изследване на всички птици в животновъдния обект от официален ветеринарен лекар за изключване наличието на болестта;
3. клането се извършва под надзора на официален ветеринарен лекар в посочена от НВМС регистрирана клиника.

Чл. 10. След получаване на сигнал за съмнение за инфлуенца по птиците централното управление (ЦУ) на НВМС незабавно изпраща диагностичен екип на място, който:

1. взема биологичен материал от съмнителни за инфлуенца птици за лабораторно изследване и го транспортира до одобрена от НВМС диагностична лаборатория;
2. извършва епизоотологично проучване;
3. събира информация за броя на излюпените и умрелите птици, броя на птиците с клинични признаци и броя на здравите птици, която ежедневно се осъвременява;
4. преброява възприемчивите птици по категории и видове в засегнатия район;
5. поставя под възбрана и други животновъдни обекти, имащи епизоотична или технологична връзка с обекта.

Чл. 11. Наложените ограничителни мерки върху обектите се отменят от НВМС, ако се установят отрицателни резултати за инфлуенца по птиците след приключване на лабораторните изследвания по раздел IV и отпадне съмнението за болестта.

Чл. 12. Националната ветеринарномедицинска служба може да ограничи мерките, посочени в чл. 9, само за част от животновъдния обект, при условие че съмнителните за инфлуенца птици са били отглеждани и хранени от отделен персонал и отделно от останалите птици.

Чл. 13. Националната ветеринарномедицинска служба разрешава придвижването на яйца от животновъдния обект, в който има съмнение за инфлуенца по птиците, директно до одобрено предприятие за производство на яйчни продукти при спазване на следните изисквания:

1. яйцата не са предназначени за люпене и имат здрава черупка;
2. всяка партида яйца се придружава със съответните ветеринарномедицински документи за придвижване на животински суровини и храни, издадено от официален ветеринарен лекар;
3. да отговарят на изискванията на наредбата, издадена на основание чл. 54 и чл. 64, ал. 2 от Закона за ветеринарномедицинската дейност;
4. всяка партида е запечатана преди изпращането и по време на транспортирането до одобреното предприятие;
5. опаковъчният материал, транспортните средства, използвани за придвижването на яйцата, и помещенията, в които яйцата са съхранявани, се почистват и дезинфекцират по начин, гарантиращ унищожаване на вируса.

Чл. 14. Ветеринарния лекар, отговарящ за животновъдния обект, в който има птици, съмнително болни от инфлуенца, незабавно изпраща съобщение за партидата по чл. 13, т. 2 до ветеринарния лекар, отговарящ за предприятието за производство на яйчни продукти.

Чл. 15. Ветеринарния лекар, отговарящ за предприятието за производство на яйчни продукти, след получаване на пратката по чл. 12, т. 2 следи за спазването на следните изисквания към доставените яйца:

1. да се съхраняват в отделно помещение от другите яйца от момента на доставянето им в предприятието до момента на тяхната преработка;
2. черупките на такива яйца да се унищожават чрез изгаряне или заравяне по реда на наредба на министъра на земеделието и горите за ветеринарно-санитарните изисквания при събирането и обезвреждането на отпадъци от животински произход.

Чл. 16. Ветеринарния лекар по чл. 15:

1. определя начина на преработка на птичите суровини и храни, вида на опаковъчните материали и дезинфекцирането на използваните за превозване на яйцата транспортни средства, както и на сградите, в които яйцата са били складираны;
2. информира ветеринарния лекар, отговарящ за животновъдния обект, в който има съмнение за възникване на инфлуенца по птиците, за всички получени за преработка яйца и начините за тяхното оползотворяване.

Раздел IV

Диагностика на инфлуенцата по птиците

Чл. 17. Диагноза инфлуенца по птиците се поставя въз основа на епизоотичните, клиничните, патологоанатомичните данни и резултатите от лабораторните изследвания по чл. 18.

Чл. 18. Лабораторните изследвания за инфлуенца по птиците се извършват в лаборатория, одобрена по реда на чл. 24, ал. 1 от Закона за ветеринарномедицинската дейност (ЗВД), чрез използване на методите, посочени в приложение № 2.

Чл. 19. Ръководителят на лабораторията по чл. 18:

1. поддържа постоянна диагностична готовност;
2. незабавно изследва получените проби и писмено уведомява за резултата съответната РВМС и ЦУ на НВМС;
3. използва методите за диагностика, посочени в приложение № 2;
4. дава оценка за патогенността на вируса тип А на инфлуенца по птиците и идентификацията на субтипите H5 и H7;
5. изпраща проби за потвърждаване на диагнозата в одобрена лаборатория на страна - членка на ЕС, от посочените в приложение № 4 и участва в сравнителни тестове;
6. съхранява изолираните теренни щамове на вируса на инфлуенцата по птиците;
7. изпитва периодически и контролира качеството на използваните диагностикуми.

Раздел V

Мерки за ограничаване и ликвидиране на инфлуенцата по птиците

Чл. 20. (1) При лабораторно потвърждаване на диагнозата инфлуенца по птиците генералния директор на НВМС със заповед:

1. обявява болестта, като определя:
 - а) предпазна зона с минимален радиус 3 km около заразения обект;
 - б) надзорна зона с минимален радиус 10 km около заразения обект, като в нея се включва и предпазната зона; при определянето на зоните се вземат предвид географските, административните, екологичните и епизоотичните особености на засегнатите райони;
2. свиква централния епизоотичен съвет по чл. 127, ал. 1 ЗВД, който координира и контролира изпълнението на мерките, предприети срещу болестта на национално ниво.
- (2) При лабораторно потвърждаване на диагнозата инфлуенца по птиците освен мерките по чл. 9 и 10 НВМС:
 1. определя епизоотичното огнище на инфлуенца по птиците, което се ограничава и ликвидира чрез безкръвно убиване на всички птици, като унищожаването на трупове и яйца, както и отпадъците, фуражите, торовата постеля и др., се извършва под контрола на официален ветеринарен лекар по начини, гарантиращи унищожаването на вируса;
 2. провежда епизоотично проучване по чл. 24;
 3. установява произхода и местонахождението на добитите месо, яйца и птици суровини и храни от засегнатите обекти, включително и на тези, добити през инкубационния период, както и тяхното обезвреждане по начин, гарантиращ унищожаването на вируса;
 4. извършва проследяване и унищожаване на:
 - а) яйцата за люпене, добити през предполагаемия инкубационен период;
 - б) яйцата, предназначени за консумация, освен ако предварително не са били подложени на дезинфекция;
 5. поставя под възбрана пилета, излюпени от яйцата за люпене, добити през предполагаемия инкубационен период;
 6. извършва дезинфекциране на животновъдния обект, инвентара в него и използваните превозни средства за транспортиране на птици и птици суровини и храни.

Чл. 21. Зареждането с нови птици в засегнатите от болестта сгради се разрешава от директора на съответната РВМС най-рано 21 дни след прекратяване на болестта и извършване на последната дезинфекция.

Чл. 22. При необходимост НВМС може да въведе ограничителни мерки по чл. 20, 21 и 24 и върху други животновъдни обекти, за които се установи, че са в технологична или епизоотична връзка със засегнатия животновъден обект.

Чл. 23. Когато засегнатият животновъден обект се състои от две или повече сгради с отделен цикъл на производство и обслужващ персонал, мерките по чл. 21 не се прилагат, при условие че официалният ветеринарен лекар установи, че има технологично и пространствено разделяне на засегнатите от незасегнатите стада птици и е невъзможно предаването на вируса на инфлуенца по птиците.

Чл. 24. В случаите по чл. 8 НВМС провежда епизоотично проучване за:

1. произхода на болестта;
2. времето и пътя за проникване на вируса на инфлуенца по птиците в животновъдния обект;
3. периода на скрито протичане на болестта;
4. движението на хора, птици, яйца, месо, трупове на птици, транспортни средства и други съоръжения, които могат да бъдат носители на вируса на инфлуенцата по птиците във и извън животновъдния обект;
5. наличието на други животновъдни обекти, имали епизоотична връзка със засегнатия животновъден обект, в които има вероятност от проникване на вируса на инфлуенца по птиците.

Чл. 25. (1) В предпазната зона епизоотичното огнище се поставя под контрола на официален ветеринарен лекар, който разпорежда:

1. пререгистрация на животновъдните обекти в зоната с видовете птици в тях по категории и брой в отделните помещения;
2. ежедневен клиничен преглед на птиците, вземане при необходимост на проби за лабораторно изследване и от други възприемчиви птици за инфлуенца по птиците извън заразената ферма; резултатите от прегледите и лабораторните изследвания се записват в дневник;
3. налагане на възбрана върху всички птици в зоната и изолирането им;
4. изграждане на дезинфекционни площадки на входа и на изхода на животновъдните обекти, в които се поставят разтвори на одобрени от НВМС дезинфектанти с антивирусно действие;
5. контрол върху придвижването на работници в животновъдни обекти, превозни средства, яйца и трупове от птици и налагане на възбрана върху транспортирането на птици, с изключение на транзит по главните пътища или железопътните линии;
6. забрана за придвижване на използвани отпадъци или птици тор извън зоната;
7. забрана за провеждане на панаири, пазари, изложения и други за птици вътре в зоната;
8. забрана за придвижване на разплодни птици и яйца за люпене;
9. след извършване на клиничен преглед може да разреши придвижването на:
 - а) птици, предназначени за клане в одобрена от НВМС птицевъдница, намираща се в предпазната зона, а ако в зоната няма такава, се определя друга извън нея; месото от тези птици се маркира със специален етикет, в който се посочва, че произхожда от птицевъдница, в която не е установена инфлуенца по птиците;
 - б) еднодневни пилета и пронасящи птици от животновъдни обекти в надзорната зона в други празни животновъдни обекти в нея, които се поставят под официален надзор;
 - в) яйца за люпене в люпилия, одобрена от НВМС, като преди изпращането им яйцата и опаковките им задължително се подлагат на дезинфекция;
 - г) придвижването по букви "а", "б" и "в" се осъществява под контрола на официален ветеринарен лекар.

(2) Касите и кафезите, ако не са за еднократна употреба, както и транспортните средства се измиват и дезинфекцират след използването им.

Чл. 26. (1) В надзорната зона официалният ветеринарен лекар:

1. пререгистрира животновъдните обекти и люпилините и извършва ежеседмични клинични прегледи на птиците;
2. упражнява контрол върху придвижването на птици и яйца;
3. забранява придвижване на птици извън зоната през първите 15 дни от възникване на болестта, освен за придвижване директно в клиника, определена от НВМС, разположена извън надзорната зона; в този случай се използва етикет, в който се посочва, че партидата птици произхожда от зона, в която е въведен епизоотичен надзор поради възникване на инфлуенца по птиците;
4. забранява изнасянето на яйца за люпене извън надзорната зона, освен ако предварително се дезинфекцират и насочат за люпилия, определена от НВМС;
5. забранява придвижването на отпадъци от животновъдни обекти и торова постеля и извън надзорната зона;
6. разрешава само транзитното преминаване на птици без спиране по основни пътни магистрали и жп линии;
7. забранява провеждане на панаири, пазари, изложения и други за птици вътре в зоната.

(2) Мерките в надзорната зона се прилагат най-малко 30 дни след последната дезинфекция в засегнатия птицевъден обект.

Чл. 27. Собствениците на животновъдни обекти или техните управители предоставят на органите на НВМС цялата информация относно придвижването на птици, птици суровини и храни и яйца във и от птицевъдните обекти.

Чл. 28. Всички лица, заети с отглеждане, транспорт и търговия с птици и птици суровини и храни, информират органите на НВМС за спазването на въведените ограничителни мерки в предпазната и надзорната зона.

Чл. 29. Когато в предпазната или надзорната зона попада част от територията на съседна страна, мерките по раздел V се съгласуват с държавната ветеринарна служба на съответната страна.

Чл. 30. (1) Използваните дезинфектанти и концентрацията на работните дезинфекционни разтвори се одобряват от НВМС.

(2) Механичното почистване и дезинфекция се извършват под контрола на официален ветеринарен лекар по процедури, посочени в приложение № 3.

Чл. 31. (1) Ветеринарният лекар, контролиращ засегнатия животновъден обект, ежедневно писмено информира съответната РВМС за хода на болестта и изпълнението на мерките за ограничаване и ликвидиране на болестта.

(2) Регионалната ветеринарномедицинска служба ежедневно предоставя писмена информацията по ал. 1 до НВМС.

Чл. 32. За всички проведени мероприятия по ограничаване и ликвидиране на инфлуенцата по птиците се съставят протоколи по образци, утвърдени от генералния директор на НВМС.

Чл. 33. Профилактична ваксинация срещу инфлуенца по птиците не се прилага.

Чл. 34. (1) Принудителна ваксинация се извършва само при лабораторно доказана опасност от широко разпространение на болестта като допълнителна мярка със заповед на министъра на земеделието и горите по предложение на генералния директор на НВМС.

(2) В заповедта по ал. 1 се посочват:

1. районът, в който ще се извършва ваксинацията;
2. видовете птици, подлежащи на ваксинация;
3. субтипът на ваксината;
4. схемата на ваксинация;
5. ограниченията върху придвижването и търговията с ваксинирани птици и птичи суровини и храни.

Чл. 35. Националната ветеринарномедицинска служба изготвя списък на вида и количеството ваксина срещу инфлуенца по птиците, в случай че има решение за поддържане на резерв на ваксини за прилагане на принудителна ваксинация.

Допълнителна разпоредба

§ 1. По смисъла на тази наредба:

1. "Птици" са: кокошки, пуйки, токачки, пауни, яребици, пъдпъдци, патици, гъски, гълъби, фазани, кеклици, отглеждани в затворени помещения и в кафези.
2. "Инфлуенца по птиците" е вирусна инфекция при птиците, причинявана от вирус на инфлуенцата тип А, който има интравенозен патогенен индекс за шестседмични пилета, по-голям от 1,2, или всяка инфекция с вируса на инфлуенца А, субтипове H5 или H7.
3. "Яйца за люпене" са яйца, предназначени за инкубиране и получени от птици по т. 1.
4. "Еднодневни пилета" са незахранени пилета на възраст, по-малка от 72 h.
5. "Стадо птици" са птици, имащи еднакъв здравен и имунен статус, еднакви зоотехнически характеристики, отглеждани в един животновъден обект или люпилня.
6. "Люпилня" е предприятие за инкубация на яйца и получаване на еднодневни пилета.
7. "Одобрена лаборатория" е лаборатория на територията на Република България, одобрена според изискванията на чл. 24, ал. 1 ЗВД.
8. "Заразени птици" са птици, при които лабораторно е поставена диагноза инфлуенца по птиците или в случай на вторично избухване и проявяване на клинични признаци или след смъртни изменения, характерни за инфлуенца по птиците.
9. "Птици, съмнителни за болест" са птици, които показват клинични признаци или следсмъртни изменения, характерни за инфлуенца по птиците или птиците във всеки животновъден обект, в който е констатирано присъствието на вируса на инфлуенца тип А от субтип H5 или H7.
10. "Конфискати" са странични животински продукти, които след кланичния преглед са негодни за човешка консумация.
11. "Животновъдни обекти, имащи епизоотична и технологична връзка с обекта" са животновъдни обекти, месодобивни, месопереработвателни и транжорни; предприятия за преработване на технически животински суровини, събирателни пунктове за яйца, пера и перушина, складове за животински продукти, предприятия за преработване на технически животински суровини; предприятия за обезвреждане на странични животински продукти, трупни ями, трупосъбирателни площадки, цехове за стерилизация на кухненски отпадъци, паркинги, предприятия за производство на имунологични продукти и диагностикуми, ветеринарни институти и станции; обекти за производство и търговия, складове за съхранение на фуражни суровини, фуражни добавки и готови фуражи, и други обекти, където или чрез които може да се разпространят инфекциозни или паразитни агенти.

Заключителни разпоредби

§ 2. Тази наредба се издава на основание чл. 47, ал. 3 ЗВД и отменя Наредба № 47 за профилактика и борба с инфлуенца по птиците (ДВ, бр. 109 от 2002 г.).

§ 3. Тази наредба влиза в сила от 1 май 2006 г.

За министър: **Ст. Юруков**

Приложение № 1 към чл. 3

Съдържание на оперативния план за действие при възникване на инфлуенца по птиците

1. Процедури за създаване на национален кризисен контролен център за координация на мерките по ограничаване и ликвидиране на инфлуенцата по птиците.
2. Процедури по създаване на регионални кризисни контролни центрове към съответните РВМС.
3. Списък на ветеринарни лекари на национално и регионално ниво, участващи в провеждането и контрола на мерките, информация за тяхната квалификация и отговорности.
4. Списък на длъжностните лица от специализираната лаборатория в системата на НВМС, които незабавно се уведомяват при съмнение и при възникване на инфлуенца по птиците.
5. Списък на моторните превозни средства (регистрационни номера и шофьори), дезинфекционна техника, дезинфектанти, инструменти и оборудване, необходими за провеждане на мерките за профилактика и борба с инфлуенца по птиците.
6. Програма за обучение на държавните и частнопрактикуващите ветеринарни лекари по специализирани програми за инфлуенца по птиците.
7. Изисквания към специализираната лаборатория за диагностика на инфлуенцата по птиците.
8. Подробни инструкции за действие при доказване на инфлуенца по птиците, включително и начини за обезвреждане на труповете.
9. Информация за наличните количества ваксина срещу инфлуенца по птиците в случай на предприемане на принудителна ваксинация.
10. Списък на нормативните актове, имащи отношение към борбата с инфлуенцата по птиците.

Приложение № 2 към чл. 18

Методи за диагностика (за потвърждаване и диференциална диагноза) на инфлуенца по птиците

1. Методи за потвърждаване на диагноза инфлуенца по птиците

1. Вземане на материали за лабораторни изследвания:

Вземат се клоакални смивки (или фекалии), трахеални смивки от живи болни птици; черва с чревно съдържание; мозък; трахея, бял дроб; черен дроб; далак; други органи с патологични изменения; цели пресни трупове; трупове на убити с диагностична цел болни птици.

2. Разработване на материалите:

Органите и тъканите по т. 1 могат да бъдат сборни, но при всички случаи фекалиите са в отделна проба. Смивките се поставят в среда с антибиотици, осигуряваща пълното им потапяне. Пробите се хомогенизират чрез стриване или в хаван с пестик и стерилен пясък, или чрез хомогенизатор. Изготвя се 10 - 20 % суспензия в антибиотична среда. Суспензията се инкубира за около 2 h при стайна температура или на 4 °C за 12 - 24 h. Грубите съставки в суспензията се отстраняват чрез центрофугиране на 800 - 1000 g за 10 min.

3. Антибиотична среда:

В отделните лаборатории се използват различни разтвори на антибиотици.

За фекални проби се изисква висока концентрация на антибиотици - най-често 10 000 международни единици пеницилин, 10 mg стрептомицин, 0,25 mg гентамицин и 5000 единици микостатин за 1 ml суспензия във фосфатен буферен разтвор (PBS). Тези нива на антибиотици могат да бъдат намалени 5-кратно за останалите тъкани и трахеални смивки. Хламидиите се обезвреждат чрез добавка на 50 mg/mol окситетрациклин. Киселинността (pH) на средата след прибавяне на антибиотици се коригира до 7,0 - 7,4.

4. Изолiranje на вируса:

Изолirирането на вируса се извършва в осем - десетдневни кокоши ембриона (КЕ), като обработената суспензия (супернатанта) се инокулира алантоисно в обем 0,1 - 0,2 ml/КЕ. За всяка проба се използват минимум 4 КЕ. Предпочитат се КЕ от стада, свободни от патогенна флора (СПФ). При липса на такива се използват КЕ от стада, които не показват наличие на антигела срещу вируса на инфлуенцата. Инокулираните ембриони се инкубират на 37 °C и се овоскопират ежедневно. Умрелите и

умиращи КЕ и всички останали живи след 6-ия ден на инкубацията се убиват чрез охлаждане на 4 °С. Аланто-амнионовите течности се изследват за хемаглутинационна активност (ХА). Ако не се установи хемаглутинация, описаната процедура се повтаря, като за инокулум се използва неразредена аланто-амнионова течност от предходния пасаж. При положителна хемаглутинация трябва да се изключи присъствието в културата на хемаглутиниращи бактерии. При наличие на бактерии течността се пропуска през филтърна мембрана с размер на порите 450 nm, след което към нея се добавят антибиотици и с нея се инокулират ембрионите по начин, посочен по-горе.

II. Методи, прилагани при диференциална диагноза

1. Предварително лабораторно диференциране:

Поради важността на мерките за ограничаване разпространението на вируса на инфлуенцата по птиците (ИП) е необходимо да бъде определена и оборудвана национална референтна лаборатория, в която могат да се идентифицират хемаглутиниращи вирусни изолати на ИП от субтип H5 или H7, както и на вируса на нюкаслската болест по птиците.

За идентифициране на хемаглутинацията се провежда реакция възпиране на хемаглутинацията (РВХА). Използват се събраните хемаглутинационни течности и стандартни положителни и отрицателни серуми съгласно т. 5 и 6.

Основанията за налагане на ограничителни мерки на терена са положителните за инфлуенца титри 2^4 и повече срещу субтиповете H5 и H7. Теренните изолати обикновено показват титри 2^9 и повече.

2. Потвърждаване на предварителната диференциална диагноза:

Тъй като досега са идентифицирани 13 субтипа на основата на хемаглутинацията (от H1 до H15) и 9 субтипа на основата на антиген неураминиоза (от N1 до N9), както и на различни комбинации между тях, не е практично и финансово изгодно националните лаборатории да разполагат с всички субтипове антисеруми, които позволяват да се извърши пълно антигенно характеризирание на изолираните инфлуенчни вируси.

3. Националната референтна лаборатория следва да извърши следното:

- а) потвърждаване на диагнозата чрез използване на двойно дифузионната реакция преципитация в агаров гел (РПАГ), с която се разкрива общият за всички инфлуенчни вируси групов антиген, описан в т. 9; със същата цел могат да бъдат използвани и тестовите ЕЛАЙЗА и имунофлуоресцентният метод (ИФМ);
- б) да потвърди или отхвърли, че изолатът е от субтип H5 и H7;
- в) да определи интравенозната патогенен индекс (ИВПИ) в шестседмични пилета съобразно описанието в т. 7; интравенозен патогенен индекс (ИВПИ), по-висок от 1,2, е показател за налагане на ограничителни мерки срещу установения изолат на инфлуенчния вирус; със същата цел може да се използва тестът за плакообразуване в монослойни клетъчни култури (КК) от ембрионални пилешки фибробласти (ЕПФ);
- г) Националната референтна лаборатория следва незабавно да изпраща до одобрената лаборатория на Европейската общност всички хемаглутиниращи вируси за потвърдително антигенно изучаване; в задълженията на одобрената лаборатория на Европейската общност е провеждането на пълно антигенно типизиране, което се извършва за всички получени инфлуенца вируси; за всички H5 и H7 субтипове, които не са имали интравенозен патогенен индекс, по-голям от 1.2, е нужно допълнително секвениране на хемаглутиновиновия ген, за да се определи наличието или отсъствието на повтарящи се аминокиселинни бази на мястото на разцепване на хемаглутиновиновия протеин.

4. Серологични тестове за разкриване на специфични антитела срещу вируса на инфлуенцата по птиците:

- а) При провеждане на програми за ерадикация (изкореняване) на огнищата на инфлуенцата, за които хемаглутиновиновият субтип на вирусния причинител е установен, той може да бъде използван като антиген в РВХА съобразно т. 5 и 6. Със същата цел за антиген може да бъде използван и всеки друг инфлуенчен вирус от същия (хомоложен) субтип.

В случаите, когато субтипът на вируса - причинител на инфлуенцата, не е известен, диагнозата може да бъде потвърдена чрез разкриване на специфични антитела в серуми от засегнати птици чрез тестовите за доказване на групово специфичните антигени - РПАГ, ЕЛАЙЗА, ИФМ. При провеждане на ЕЛАЙЗА е възможно да възникне проблем в специфичността й във връзка с гостоприемниковите (като вид птици) имуноглобулинови субстанции.

б) Проби.

Кръвни проби за лабораторно изследване се вземат от подкрилната вена, както следва: от всички птици на стада до 20 бр.; по 20 проби от по-големите по размер стада (това гарантира откриване поне на една положителна проба с вероятност 99 %; при заразеност на 25 % от птиците в стадата този брой проби е достатъчен за сигурно откриване на инфекцията независимо от големината им). След съхранение (коагулация) на кръвта в пробите серумите се декапират и съхраняват на 4 °С за изследване до 4 дни.

в) Изследване за наличие на специфични антитела.

Способността на серумите да инхибират (възпират, задържат) хемаглутинационната активност на инфлуенчните вируси се доказва чрез РВХА в постановки, описани в т. 6. Тя може да се проведе чрез използване на 4 или 8 хемаглутинационни единици (ХАЕ) съобразно желанието на Националната референтна лаборатория. За положителна се счита всяка проба с възпиращ (задържащ) титър 2^4 и по-голям в тест с 4 ХАЕ и титър 2^3 и повече в тест с 8 ХАЕ.

5. Реакция хемаглутинация (РХА):

Реагенти:

- а) Фосфатно-буфериран физиологичен разтвор с рН 7,0 - 7,4 (PBS).

- б) Кръв за изготвяне на еритроцитна суспензия се взема от минимум 3 кокошки, доказано свободни за специфични антитела срещу вируса на инфлуенцата по птиците, за предпочитане от СПФ стадо.

Кръвта при вземането се смесва с антикоагулант - равно количество разтвор на Алсевер или 4 % натриев цитрат в съотношение 1:5. Червените кръвни клетки (ЧКК) преди употреба се промиват с PBS 3-кратно в центрофуга при 300 - 500 g. Препоръчва се от промитите ЧКК да се изготви 1 % суспензия в PBS.

- в) За антиген в РВХА се използва птичи инфлуенчен вирус. Референтната лаборатория към Европейския съюз доставя и препоръчва използване като антигени вируси от субтип H5 или H7 с доказана ниска вирулентност.

г) Процедури за изпълнение в микровариант:

- разлива се PBS във всички ямки на микроплаката с V-образни дъна в обем 0,025 ml;
- добавя се 0,025 ml вирусна суспензия (т.е. аланто-амнионова течност от инфектирани КЕ) само в първата ямка от редицата;
- с микротитрационна пипета се изготвят 2-кратно нарастващи разреждания на вирусния антиген - от 1:2 до 1:4096;
- допълнително се поставя PBS към всяка ямка от редицата в обем 0,025;
- добавя се във всяка ямка 1 % суспензия от ЧКК в обем 0,025 ml;
- в няколко (2 - 5 бр.) ямки се поставя контролът на еритроцитите без вирус;
- следва внимателно разклащане на плаката за размесване на инградиентите и инкубиране при 4 °С;
- отчитането на резултатите се извършва след 30 - 40 min, т.е. когато ЧКК в контролните ямки са оформени на дъното във вид на точка; при отчитането плаките се държат в наклонено положение; еритроцитите в контролните ямки и тези с отрицателна хемаглутинация "текат", а ЧКК в ямките с положителна хемаглутинация оформят нежна пелена на дъното и раменете на ямките, без да "текат";
- хемаглутинационният титър на антигена представлява най-високото му разреждане, което аглутинира напълно ЧКК; това разреждане на вируса съдържа 1 ХАЕ; за по-точно определяне на хемаглутинационния титър се препоръчват и паралелни тест-редци от вирус със стартови разреждания от 1:3 и 1:5; това се прави с оглед на по-прецизно изготвяне на работното разреждане на антигени при използване в РВХА.

б. Реакция възпиране (задържа, инхибция) на хемаглутинацията:

Компоненти:

- а) фосфатен буферен физиологичен разтвор (PBS);
- б) вируссъдържаща аланто-амнионова течност, разтворена с PBS, така че да съдържа 4 или 8 ХАЕ антиген в 0,025 ml (антиген);
- в) суспензия от птици ЧКК в 1 % суспензия;
- г) отрицателен контролен серум;
- д) положителен контролен серум.

Процедури за изпълнение в микровариант:

- а) разлива се PBS във всяка ямка на микроплаката с V-образни дъна в обем 0,025 ml;
- б) добавя се 0,025 ml от серума за изследване само в първа ямка от редицата;
- в) с микротитрационна пипета се изготвят двукратно нарастващи разреждания на серума - от 1:2 до 1:4096;
- г) добавя се по 0,025 ml от работното разреждане на антигена, съдържащо 4 или 8 ХАЕ/0,025 ml;
- д) в няколко ямки на отделна редица се поставят по 2 - 5 ямки контроли на ЧКК (без вирус и без серум) и антигенът (без серум);
- е) следва внимателно разклащане на плаката за размесване на инградиентите и инкубиране на 4 °С за минимум 60 min или на стайна температура (18 - 25 °С) за минимум 30 min;
- ж) добавя се във всяка ямка от редицата, вкл. в контролите, 1 % еритроцитна суспензия в обем 0,025 ml;
- з) следва повторно размесване на инградиентите и поставяне на 4 °С; резултатът се отчита след 30 - 40 min или когато ЧКК в контролните ямки за еритроцити са оформени на дъното на ямките във вид на точка; при отчитане плаките се държат в наклонено положение; еритроцитите в ямките за контрол на ЧКК и положителните за специфични антитела серумни разреждания са утаени под формата на точка и "текат", а в контролните ямки за антигена и отрицателните за антитела серумни разреждания образуват нежна пелена на дъното и раменете на ямките и не "текат";
- и) възпиращият титър представлява най-високото разреждане на изследвания серум, което задържа напълно хемаглутинационната активност на антигена в 4 или 8 ХАЕ; препоръчително е да се направи допълнителна проверка, че използваният в теста антиген е в точно изискваното количество (4, респ. 8 ХАЕ);
- й) резултатът от изследването ще бъде валиден, при условие че титърът на отрицателния контролен серум не надхвърля 2^3 при използване антиген с 4 ХАЕ или 2^2 - с 8 ХАЕ, а титърът на положителния контролен серум не се отклонява с повече от едно деление (ямка) в плюс или минус от предварително известния му титър.

7. Интравенозен патогенен индекс:

- а) Тестът ИВПИ се провежда на 10 пилета на шестседмична възраст, чувствителни към вируса на инфлуенцата по птиците.
- б) Пилетата се инокулират интравенозно с вируссъдържаща аланто-аруникова течност от нисък пасаж, от разреждане 10^{-1} в доза 0,1 ml. За разреждател се използва стерилен буфериран физиологичен разтвор (PBS).
- в) За контрола се използват 10 пилета от същата партия, инокулирани по същия начин, и доза от разреждателя, без вирус.
- г) Опитните и контролните пилета ежедневно се наблюдават в продължение на 10 дни и резултатите се регистрират през 24 h.
- д) Резултатите от наблюденията се групират по тежест в 4 групи: нормални - без никакви клинични признаци, оценявани с фактор нула; болни - с фактор 1; тежко болни* - с фактор 2, и умрели - с фактор 3.

е) От отчетените резултати се изчислява ИВПИ, както е показано в таблицата:

Клинични признаци	Дни след инокулацията										Общо резултат
Нормални	10	2	0	0	0	0	0	0	0	0	12 x 0 = 0
Болни	0	4	2	0	0	0	0	0	0	0	6 x 1 = 6
Тежко болни	0	2	2	2	0	0	0	0	0	0	6 x 2 = 12
Умрели	0	2	6	8	10	10	10	10	10	10	76 x 3 = 228 общо: 246
Наблюдения (бр.)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	100

Забележка на редакцията: виж таблицата в PDF-а на броя

$$\text{ИВПИ} = \frac{\text{Общо}}{\text{Наблюдения (бр.)}} = \frac{246}{100} = 2,46$$

* За тежко болно се счита всяко опитно пиле, което показва повече от един от следните клинични признаци: респираторни усложнения, депресия, диария, цианоза на оголените части от кожата и обичите, оток на главата, нервни признаци.

8. **Проучване за плакообразуваща способност:**

- От вируссъдържащата аланто-амнионова течност се изготвят в PBS 10-кратни нарастващи разреждания - 10^{-1} до 10^{-7} . Най-добре е да се използват такива разреждания на вируса, които осигуряват оптимален брой плаки в петриите с възможност за тяхното изброяване.
- Изготвят се първични монослойни КК от ЕПФ или подходяща постоянна клетъчна линия (напр. Madin-Darby bovine kidney) в петриеве панички с размер 5 cm в диаметър.
- От всяко вирусно разреждане се прибавя в две петриеве панички по 0,2 ml инокулум. Петритата се оставят за абсорбция на вируса на стайна температура за 30 min.
- Следва трикратно промиване с PBS на клетъчната повърхност и третирият клетъчен монослой се покрива с 5 ml 1 % W/V разтопен агар, несъдържащ, респ. съдържащ 0,01 mg трипсин за 1 ml среда. Покриващата агарова среда не следва да съдържа никакъв серум.
- Следва инкубация на петритата с култура на 37 °C за 72 h, когато образуваните плаки са достатъчно големи по размер и могат да бъдат изброявани с невъоръжено око. Инкубацията се провежда в среда с 5 % CO₂.

Плаките се виждат най-добре, когато монослойът бъде оцветен. За целта покриващият слой агарова среда от всяка петра внимателно се отстранява, а останалият прикрепен към дъното клетъчен монослой оцветява с кристал виолет - 0,5 % W/V в 25 % V/V етанол.

е) Всички вируси на инфлуенцата по птиците образуват плаки в посочените КК, които съдържат трипсин. Плаки в отсъствие на трипсин образуват само вирулентни за птици вирусни изолати на инфлуенцата.

9. **Двойнодифузионен агар-гел преципитационен тест:**

Имунодифузионният агар-гел преципитационен тест е най-предпочитан за доказване присъствие на нуклеокапсидния (NP) и метричен (M) антиген, които са общи (групови) за всички субтипове на вируса на инфлуенцата по птиците. Това се постига чрез използване като антиген на концентриран вирус или на суспензия от инфектирани хормоалантоисни мембрани (ХАМ).

Вируссъдържащите аланто-амниалови течности се центрофугират при висока скорост на въртене, при което вирусните антигени от вътрешността на капсула и на матрикса се освобождават и допълнително третира с натриев lauroyl sacroginе. Със същата цел може да бъде използван и кисел преципитат, т.е. получен чрез третиране на аланто-амнионовите течности с 1 N солна киселина при крайно pH 3,5 - 4,0, охлаждане за 1 h до 0 °C и центрофугиране при ниска скорост - 1000 g за 10 min.

Следва отстраняване на супернатантата, а вируссъдържащият преципитат се ресуспендира в минимален обем на glycine-Sarcosyl буфер (1 % Sodium lauroyl sacrosinate буферизиран до pH 9,0 с 0,5 M glycine). Така изготвеният препарат съдържа както нуклеокапсидния (NP), така и матриксния (M) антиген.

Beard (1970) описва изготвянето на обогатен нуклеокапсиден антиген от ХАМ на инфектирани с вируса на инфлуенцата KE. Хориолактопните мембрани след отпрепариране от инфектираните KE се хомогенизират в хаван с пестик или хомогенизатор, след което 3-кратно се замразяват и размразяват. Следва нискооборотното центрофугиране - на 1000 g за 10 min. За антиген в теста се използва супернатантата, инактивирана с 0,1 % формалин.

Антигените, изготвени по описаните два метода, могат успешно да бъдат използвани в рутинния двойнодифузионен агар-гел преципитационен тест.

Средата за този тест се изготвя от 1 % агароза при агар плюс 8,0 % натриев хлорид в 0,1 M фосфатен буфер, pH 7,2.

Тестът се провежда в петри или предметни стъкла, поставени в херметизирана стъклена вана, съдържаща достатъчно влага (напоена с вода филтърна хартия).

При положителен резултат ще се наблюдават специфични преципитационни линии между антигена и известния (познат) положителен серум срещу вируса на инфлуенцата по птиците. Резултатът се отчита между 18 и 72 h при наблюдение над светлинен лъч под ъгъл 45°.

Приложение № 3 към чл. 30, ал. 2

Процедури за механично почистване и дезинфекция в засегнати от инфлуенца по птиците птицевъдни обекти

1. Механичното почистване и дезинфекцията се извършват от собственика под контрола на официален ветеринарен лекар, като:

а) след умиряването на болните и контактните птици и изнасянето им възможно най-бързо се извършва намокряне с одобрен от НВМС дезинфектант в необходимата концентрация на всички повърхности на сградите в птицевъдния обект и на други сгради, имащи епизоотична или технологична връзка със засегнатия обект; използваният дезинфекционен разтвор трябва да остане на повърхностите най-малко 24 h;

б) всички птици и яйца, които могат да замърсят сградите, другите помещения в птицевъдния обект, околната среда, съоръжения, инструменти и съдове, се събират и унищожават заедно с труповите.

2. **Заклучително механично почистване и дезинфекция:**

а) всички замърсявания се отстраняват от повърхностите с детергент и се измиват с вода;

б) след измиването по буква "а" почистените обекти по т. 1, буква "а" се подлагат на дезинфекция чрез прилагането на одобрен от НВМС дезинфектант чрез "спрей";

в) след 7 дни помещенията се третира с детергент, поливат се с вода, дезинфекцират се с одобрен от НВМС дезинфектант чрез "спрей" и се поливат отново с вода;

г) използваната торова постеля и тор се третира по метод, гарантиращ унищожаване на вируса по един от следните начини:

- изгаряне или третиране с пара при температура най-малко 70 °C;

- загробване на дълбочина, недопускаща достъп на насекоми и диви птици;

- компостиране по начин, гарантиращ достигане на температура 20 °C на торовата маса за период не по-малко от 42 дни по начин, недопускащ насекоми и диви птици.

Приложение № 4 към чл. 19, т. 5

Одобрени национални лаборатории за диагностика на инфлуенца по птиците

Забележка на редакцията: виж приложението в PDF-а на броя