Este documento es un instrumento de documentación y no compromete la responsabilidad de las instituciones

►**B**

DECISIÓN DE LA COMISIÓN

de 1 de febrero de 2002

por la que se aprueba un manual de diagnóstico en el que se establecen procedimientos de diagnóstico, métodos de muestreo y criterios de evaluación de las pruebas de laboratorio con fines de confirmación de la peste porcina clásica

[notificada con el número C(2002) 381]

(Texto pertinente a efectos del EEE)

(2002/106/CE)

(DO L 39 de 9.2.2002, p. 71)

Modificada por:

		Diario Oficial		
		nº	página	fecha
►**M1**	Decisión 2003/859/CE de la Comisión de 5 de diciembre de 2003	L 324	55	11.12.2003

▼B

DECISIÓN DE LA COMISIÓN

de 1 de febrero de 2002

por la que se aprueba un manual de diagnóstico en el que se establecen procedimientos de diagnóstico, métodos de muestreo y criterios de evaluación de las pruebas de laboratorio con fines de confirmación de la peste porcina clásica

[notificada con el número C(2002) 381]

(Texto pertinente a efectos del EEE)

(2002/106/CE)

LA COMISIÓN DE LAS COMUNIDADES EUROPEAS,

Visto el Tratado constitutivo de la Comunidad Europea,

Vista la Directiva 2001/89/CE del Consejo, de 23 de octubre de 2001, relativa a medidas comunitarias de lucha contra la peste porcina clásica ([1]), y, en particular, el apartado 3 de su artículo 17 y el apartado 1 de su artículo 29,

Considerando lo siguiente:

(1) Es necesario establecer a nivel comunitario procedimientos de diagnóstico, métodos de muestreo y criterios para la evaluación de los resultados de las pruebas de laboratorio con fines de confirmación de la peste porcina clásica.

(2) En el anexo IV de la Directiva 2001/89/CE se establecen las competencias y funciones del laboratorio comunitario de referencia para la peste porcina clásica a fin de coordinar, previa consulta con la Comisión, los métodos de diagnóstico de la enfermedad empleados en los Estados miembros. Entre estas competencias y funciones se incluyen la organización periódica de pruebas comparativas y el suministro de reactivos de referencia a nivel comunitario.

(3) El virus de la peste porcina clásica no se considera un peligro para la salud humana.

(4) Recientemente se han elaborado pruebas de laboratorio que permiten un rápido diagnóstico de la peste porcina clásica.

(5) La experiencia obtenida en la lucha contra la peste porcina clásica en los últimos años ha permitido seleccionar los procedimientos de muestreo y los criterios de evaluación de los resultados de las pruebas de laboratorio más adecuados para el diagnóstico correcto de esta enfermedad en diferentes situaciones.

(6) Las medidas previstas en la presente Decisión se ajustan al dictamen del Comité veterinario permanente.

HA ADOPTADO LA PRESENTE DECISIÓN:

Artículo 1

1. Los Estados miembros velarán por que la confirmación de la peste porcina clásica se base en:

a) la detección, en el examen clínico o en la autopsia, de signos y lesiones de la enfermedad;

b) la detección del virus, su antígeno o su genoma en muestras de tejidos, órganos, sangre o excrementos de los cerdos;

c) la demostración de una respuesta de anticuerpos específicos en muestras de sangre,

([1]) DO L 316 de 1.12.2001, p. 5.

▼B

de acuerdo con los procedimientos, métodos de muestreo y criterios de evaluación de los resultados de las pruebas de laboratorio establecidos en el manual que figura anejo a la presente Decisión.

2. No obstante, los laboratorios nacionales de diagnóstico recogidos en el punto 1 del anexo III de la Directiva 2001/89/CE podrán introducir modificaciones en las pruebas de laboratorio contempladas en el manual que figura anejo a la presente Decisión o utilizar pruebas diferentes, siempre que pueda demostrarse que su sensibilidad y su especificidad son equivalentes.

La sensibilidad y la especificidad de estas pruebas modificadas o diferentes deberán evaluarse en el contexto de las pruebas comparativas periódicas organizadas por el laboratorio comunitario de referencia para la peste porcina clásica.

Artículo 2

Quedan derogados los anexos I y IV de la Directiva 80/217/CEE del Consejo, de 22 de enero de 1980, por la que se establecen medidas comunitarias para la lucha contra la peste porcina clásica. Directiva cuya última modificación la constituye el Acta de adhesión de Austria, de Finlandia y de Suecia ([1]).

Artículo 3

La presente Decisión será aplicable a partir del 1 de noviembre de 2002.

Artículo 4

Los destinatarios de la presente Decisión serán los Estados miembros.

([1]) DO L 47 de 21.2.1980, p. 11.

▼B

ANEXO

MANUAL DE DIAGNÓSTICO DE LA PESTE PORCINA CLÁSICA

CAPÍTULO I

Introducción, objetivos y definiciones

1. Con objeto de garantizar procedimientos uniformes de diagnóstico de la peste porcina clásica, el presente manual:

   a) proporciona directrices y condiciones mínimas en relación con los procedimientos de diagnóstico, métodos de muestreo y criterios para la evaluación de los resultados de los exámenes clínicos y autopsias y de las pruebas de laboratorio con vistas al diagnóstico correcto de la peste porcina clásica ([1]);

   b) establece los requisitos de bioseguridad y las normas de calidad mínimos que deben observarse en los laboratorios de diagnóstico de la peste porcina clásica y en el transporte de las muestras;

   c) establece las pruebas de laboratorio que han de utilizarse para el diagnóstico de la peste porcina clásica y las técnicas de laboratorio para la tipificación genética de las cepas aisladas del virus de la peste porcina clásica.

2. El presente manual se dirige principalmente a las autoridades encargadas de la lucha contra la peste porcina clásica; por tanto, se centra en los principios y aplicaciones de las pruebas de laboratorio y en la evaluación de sus resultados, y no en el detalle de las técnicas de laboratorio.

3. A efectos del presente manual, además de las definiciones contenidas en el artículo 2 de la Directiva 2001/89/CE, se entenderá por:

   a) «explotación sospechosa»: toda explotación porcina que contenga uno o más cerdos sospechosos de estar infectados con el virus de la peste porcina clásica, o explotación de contacto según se define en la letra v) del artículo 2 de la Directiva 2001/89/CE;

   b) «animales positivos aislados»: aquellos cerdos que den resultado positivo en pruebas serológicas para la detección de la peste porcina clásica, sin que tengan antecedentes de contacto con el virus de dicha enfermedad, y a partir de los cuales no haya indicios de propagación de la infección a cerdos en contacto ([2]);

   c) «subunidad epidemiológica» o «subunidad»: el local, recinto o terreno circundante en el que se mantengan grupos de cerdos dentro de una explotación, de tal manera que el contacto entre ellos, directo o indirecto, sea frecuente, pero que, al mismo tiempo, se mantengan separados de otros cerdos de esa misma explotación;

   d) «cerdos en contacto»: los cerdos que hayan vivido en una explotación, durante los últimos 21 días, en contacto directo con uno o más cerdos sospechosos de estar infectados con el virus de la peste porcina clásica.

CAPÍTULO II

Descripción de la peste porcina clásica, con especial atención al diagnóstico diferencial

A. **Introducción**

1. La peste porcina clásica es una enfermedad provocada por un virus ARN dotado de envoltura que pertenece al género *Pestivirus*, de la familia *Flaviviridae*. Este virus está relacionado con los *Pestivirus* de rumiantes que provocan la diarrea vírica bovina (DVB) y la enfermedad de frontera («*border disease*»). Tal relación tiene importantes consecuencias desde el punto de vista del diagnóstico, pues se dan reacciones cruzadas que pueden generar falsos resultados positivos en las pruebas de laboratorio.

([1]) A la hora de determinar el número de muestras que deben tomarse para las pruebas de laboratorio, se atenderá, entre otras cosas, a la sensibilidad de las pruebas que vayan a realizarse. Si la sensibilidad de la prueba no es muy elevada, el número de animales de los que se extraigan muestras será superior al indicado en el presente manual.

([2]) Los animales positivos aislados pueden presentar títulos de anticuerpos de neutralización del virus que oscilen desde apenas apreciables (que es el caso más frecuente) hasta claramente positivos. Si se vuelven a tomar muestras, los títulos que presentan estos animales pueden haber disminuido o permanecer constantes. En general, tan sólo unos cuantos cerdos de cualquier piara manifiestan estas falsas reacciones positivas.

▼B

2. El virus de la peste porcina clásica es relativamente estable en las excreciones húmedas de cerdos infectados, en los cuerpos y carnes frescas de cerdo y en algunos de sus productos derivados. Se inactiva fácilmente con detergentes, disolventes de lípidos, proteasas y desinfectantes comunes.

3. La principal vía natural de infección es buconasal, por contacto directo o indirecto con cerdos infectados o por ingestión de piensos contaminados con el virus. En zonas con una elevada densidad de ganado porcino, el virus se propaga fácilmente entre explotaciones vecinas. Es asimismo posible la transmisión de la enfermedad a través del esperma de verracos infectados.

4. Si bien el período de incubación en los animales oscila entre una semana y diez días, en condiciones naturales los síntomas clínicos pueden no manifestarse en una explotación hasta transcurridas entre dos y cuatro semanas desde de la introducción del virus, o incluso más si se trata únicamente de cerdos reproductores adultos o de cepas del virus poco virulentas.

5. Los signos clínicos de la peste porcina clásica son extraordinariamente variables, por lo que puede confundirse con muchas otras enfermedades. La gravedad de los síntomas depende sobre todo de la edad del animal y de la virulencia del virus. Por lo general, la enfermedad afecta de forma más grave a los animales jóvenes que a los de más edad. En los cerdos reproductores de edad más avanzada la evolución de la infección suele ser leve o incluso subclínica.

6. La peste porcina clásica puede presentarse en forma aguda, crónica o congénita.

B. **Forma aguda**

1. Los cochinillos destetados y los cerdos de engorde suelen presentar la forma aguda de la peste porcina clásica. Los signos iniciales son anorexia, letargo, fiebre, conjuntivitis, inflamación de los ganglios linfáticos, problemas respiratorios y estreñimiento seguido de diarrea.

   Las características hemorragias de la piel se observan generalmente en las orejas, el rabo, el abdomen y la cara interior de las extremidades, a partir de la segunda o tercera semanas posteriores a la infección y hasta la muerte del animal. Son frecuentes los signos neurológicos, como el tambaleo de las extremidades posteriores, la descoordinación de los movimientos, y las convulsiones.

   Un signo persistente es la fiebre, generalmente superior a 40 ºC, si bien en los cerdos adultos puede no superar 39,5 ºC.

2. El virus de la peste porcina clásica provoca leucocitopenia severa e inmunosupresión, que a menudo dan lugar a infecciones secundarias entéricas o respiratorias. Los signos de estas infecciones secundarias pueden ocultar los más característicos de la peste porcina clásica, o solaparse con ellos, e inducir así a error al ganadero o al veterinario.

   La muerte se produce generalmente en el plazo de un mes. Los casos de recuperación, con producción de anticuerpos, se dan sobre todo en animales de cría adultos que no presentan signos clínicos graves. Los anticuerpos contra el virus de la peste porcina clásica son detectables a partir de la segunda o tercera semanas posteriores a la infección.

3. Los cambios patológicos visibles al realizar la autopsia se observan sobre todo en los ganglios linfáticos y en los riñones. Los ganglios linfáticos presentan un aspecto inflamado, edematoso y hemorrágico. El tamaño de las hemorragias del riñón puede variar desde petequias apenas apreciables hasta hemorragias equimóticas. Pueden observarse hemorragias similares asimismo en la vejiga urinaria, la laringe, la epiglotis y el corazón y, en ocasiones, generalizadas en las serosas abdominal y torácica. Con frecuencia el cerebro muestra una encefalitis no supurante. También pueden percibirse lesiones debidas a infecciones secundarias, que pueden inducir a error al veterinario. Los infartos en el bazo se consideran lesiones patognomónicas, si bien no se observan con frecuencia.

4. En general, la forma aguda de la peste porcina africana presenta un cuadro clínico y patológico muy parecido al de la peste porcina clásica. De producirse, las hemorragias en la piel y orejas se detectan bastante fácilmente y llevan a sospechar la presencia de peste porcina clásica o de peste porcina africana aguda, ya que pocas otras enfermedades provocan lesiones semejantes.

   Debe considerarse también la posible presencia de peste porcina clásica en su forma aguda cuando existan sospechas de erisipela, síndrome porcino reproductivo y respiratorio, intoxicación por cumarina, púrpura

▼B

hemorrágica, síndrome multisistémico de caquexia posdestete, dermatitis porcina y síndrome de nefropatía, salmonelosis o pasteurelosis o cualquier síndrome entérico o respiratorio que curse con fiebre y no responda al tratamiento con antibióticos.

5. El virus de la peste porcina clásica se elimina a través de la saliva, la orina y las heces, desde la aparición de los signos clínicos y hasta la muerte. Puede eliminarse asimismo a través del esperma.

C. **Forma crónica**

1. La infección presenta un curso crónico cuando los cerdos son incapaces de desarrollar una respuesta inmunitaria eficaz contra el virus de la peste porcina clásica. Los signos iniciales de la infección crónica son similares a los de la forma aguda. Posteriormente, se presentan sobre todo signos inespecíficos, como fiebre intermitente, enteritis crónica y caquexia; están ausentes, en cambio, las características hemorragias de la piel.

   Los cerdos afectados de la forma crónica de la enfermedad pueden mostrar signos clínicos de la misma durante dos o tres meses antes de la muerte. La excreción del virus de la peste porcina clásica es constante, desde la aparición de los signos clínicos hasta la muerte. Pueden detectarse temporalmente anticuerpos en muestras séricas.

2. Menos característicos son los cambios patológicos; en particular, es posible no observar hemorragias en órganos y serosas. En los animales que presentan diarrea crónica, son frecuentes las lesiones necróticas en el íleon, válvula ileocecal y recto.

3. Dado que los signos clínicos de la forma crónica de la peste porcina clásica son más bien inespecíficos, el diagnóstico diferencial debe considerar muchas otras enfermedades. Aunque no todos los animales presentan necesariamente un aumento de la temperatura corporal, en toda explotación infectada puede detectarse fiebre, como mínimo en algunos cerdos.

D. **Forma congénita y aparición tardía de la enfermedad**

1. El virus de la peste porcina clásica puede traspasar la placenta de los animales gestantes e infectar al feto, si bien en las cerdas la enfermedad se presenta a menudo en forma subclínica.

   Las consecuencias de la infección transplacentaria de los fetos dependen en gran medida de la fase de la gestación en que se produzca la infección y de la virulencia del virus. La infección durante las primeras fases de la gestación puede provocar abortos y muerte fetal, así como momificación o malformaciones del feto, con la consiguiente reducción del índice de fertilidad en la explotación.

   Si la infección de las cerdas se produce antes de transcurridos 90 días de gestación, los lechones que nazcan, que pueden ser clínicamente normales al nacer y sobrevivir varios meses, suelen presentar una viremia persistente. Tras el nacimiento, pueden mostrar escaso crecimiento, caquexia u ocasionalmente temblor congénito. Este curso de la infección se conoce como «peste porcina clásica de aparición tardía». Los lechones infectados pueden desempeñar un papel crucial en la propagación de la enfermedad y en la persistencia del virus en una población, ya que lo excretan constantemente hasta que mueren.

2. La detección de la peste porcina clásica puede resultar particularmente difícil en explotaciones de cerdos reproductores, ya que la infección puede cursar de forma muy leve y confundirse con muchas otras afecciones patológicas. La reducción de la fertilidad y los abortos pueden deberse al virus de la peste porcina clásica o a infección por parvovirus, síndrome porcino reproductivo y respiratorio (SPRR), leptospirosis o enfermedad de Aujeszky. El material abortado a consecuencia de la infección de peste porcina clásica no se distingue patológicamente de los abortos debidos a otros agentes patógenos.

   En caso de que se sospeche la presencia de una enfermedad infecciosa del aparato reproductor, debe investigarse inmediatamente la posibilidad de un brote de peste porcina clásica, si cabe considerar que la explotación se encuentra en situación de riesgo (por ejemplo, debido a su ubicación en una zona donde la peste porcina clásica afecte a los jabalíes), y, en todo caso, en cuanto se descarten otras enfermedades infecciosas del aparato reproductor más comunes.

▼B

CAPÍTULO III

Orientaciones sobre los principales criterios aplicables para considerar una explotación sospechosa de estar infectada de peste porcina clásica

La decisión de considerar sospechosa una explotación se basará en las siguientes observaciones y criterios:

a) observaciones clínicas y patológicas en los cerdos; las principales observaciones clínicas y patológicas que habrán de tomarse en consideración son:

   — fiebre, con aumento de la morbilidad y de la mortalidad,

   — fiebre acompañada de síndrome hemorrágico,

   — fiebre acompañada de síntomas neurológicos,

   — fiebre de origen desconocido, sin mejora tras un tratamiento con antibióticos,

   — abortos y aumento de los problemas de fertilidad durante los últimos tres meses,

   — temblor congénito de los lechones,

   — animales con enfermedad crónica,

   — retrasos en el crecimiento de los animales jóvenes,

   — hemorragias petequiales y equimóticas, especialmente en los ganglios linfáticos, riñones, bazo, vejiga y laringe,

   — infarto o hematomas, especialmente en el bazo,

   — úlceras botonosas en el intestino grueso de los casos crónicos, sobre todo alrededor de la válvula ileocecal;

b) observaciones epidemiológicas; las principales observaciones epidemiológicas a las que se deberá atender son:

   — si los cerdos han estado en contacto directo o indirecto con una explotación porcina que, según se haya demostrado, haya estado infectada con peste porcina clásica,

   — si una explotación ha entregado cerdos que, según se haya demostrado posteriormente, estuvieran infectados con peste porcina clásica,

   — si se ha inseminado artificialmente a las cerdas con esperma de origen sospechoso,

   — si ha habido contacto directo o indirecto con jabalíes de una población afectada por la peste porcina clásica,

   — si los cerdos se mantienen al aire libre en una zona en la que haya jabalíes infectados con peste porcina clásica,

   — si se ha alimentado a los cerdos con residuos alimenticios y existe la sospecha de que tales residuos no hayan sido tratados de manera que se inactive el virus de la peste porcina clásica,

   — si cabe la posibilidad de que los cerdos hayan estado expuestos al virus, por ejemplo, debido a la entrada en la explotación de personas o vehículos, etc…;

c) observaciones derivadas de los resultados de pruebas serológicas; los principales resultados de laboratorio que deberán tenerse en cuenta son:

   — reacción serológica provocada por una infección inadvertida con el virus de la peste porcina clásica o por vacunación ([1]),

   — reacción cruzada entre anticuerpos de la peste porcina clásica y de otros *Pestivirus* ([2]),

   — detección de animales positivos aislados ([3]).

([1]) Si los cerdos han sido vacunados contra la peste porcina clásica con una vacuna convencional, pueden resultar seropositivos, simplemente por efecto de la vacuna o debido a una infección asintomática en los animales vacunados.

([2]) En determinadas circunstancias, hasta un 10 % de los cerdos de una piara puede tener anticuerpos contra los *Pestivirus* de rumiantes que provocan la diarrea vírica bovina (DVB) y la enfermedad de frontera («*border disease*»). Tal es el caso, por ejemplo, si los cerdos están en contacto directo con vacas u ovejas infectadas con el virus de la DVB o de la enfermedad de frontera, o si están en contacto con materiales contaminados con los mencionados *Pestivirus*.

([3]) En todas las pruebas serológicas utilizadas actualmente para la detección de la peste porcina clásica, una pequeña proporción de los sueros arroja falsos resultados positivos, bien debido a la falta de especificidad del sistema empleado o a resultas de sueros de animales positivos aislados.

▼B

CAPÍTULO IV

Procedimientos de prueba y muestreo

A. **Directrices y procedimientos de examen clínico y muestreo de cerdos presentes en explotaciones sospechosas**

1. Los Estados miembros velarán por que se lleven a cabo los exámenes clínicos, el muestreo y las investigaciones de laboratorio pertinentes en las explotaciones sospechosas para confirmar o descartar la presencia de peste porcina clásica, de acuerdo con las directrices y procedimientos establecidos en los puntos 2 a 7 que figuran a continuación.

   Independientemente de la adopción de las medidas contempladas en el apartado 2 del artículo 4 de la Directiva 2001/89/CE en la explotación correspondiente, dichas directrices y procedimientos se aplicarán asimismo en caso de enfermedad siempre que se considere la peste porcina clásica en el diagnóstico diferencial. Quedan incluidas aquí las ocasiones en que los signos clínicos y el patrón epidemiológico que se observen en los cerdos sugieran una probabilidad muy baja de presencia de peste porcina clásica.

   En todos los demás casos en que se sospeche que uno o más cerdos están infectados con el virus de la peste porcina clásica, se adoptarán en la explotación sospechosa correspondiente las medidas contempladas en el apartado 2 del artículo 4 de la Directiva 2001/89/CE.

   En caso de sospecha de presencia de peste porcina clásica en cerdos que se encuentren en un matadero o un medio de transporte, se aplicarán asimismo, *mutatis mutandis*, las directrices y procedimientos contemplados en los puntos 2 a 7 siguientes.

2. Cuando un veterinario oficial visite una explotación sospechosa para confirmar o descartar la presencia de peste porcina clásica:

   — se comprobarán los registros de producción y sanitarios de la explotación, en caso de que se disponga de tales registros,

   — se efectuará una inspección de cada subunidad de la explotación para seleccionar los cerdos que se vayan a someter a examen clínico.

   El examen clínico incluirá la toma de la temperatura corporal y se hará principalmente con los siguientes cerdos o grupos de cerdos:

   — cerdos enfermos o anoréxicos,

   — cerdos que se hayan recuperado recientemente de una enfermedad,

   — cerdos que se hayan introducido recientemente desde focos confirmados o desde otros lugares de origen sospechosos,

   — cerdos mantenidos en subunidades visitadas recientemente por visitantes externos que hubieran estado en contacto estrecho y reciente con cerdos infectados o sospechosos de peste porcina clásica, o respecto a los cuales se hubieran detectado otros contactos de riesgo especial con un posible lugar de origen del virus de la peste porcina clásica,

   — cerdos que ya hayan sido objeto de muestreo y pruebas serológicas en relación con la peste porcina clásica, en caso de que los resultados de tales pruebas no permitan descartar la presencia de peste porcina clásica, y cerdos en contacto con ellos.

   Si la inspección de la explotación sospechosa no revela la presencia de los cerdos o grupos de cerdos contemplados en el párrafo anterior, la autoridad competente, sin perjuicio de otras medidas que puedan aplicarse en la explotación de acuerdo con la Directiva 2001/89/CE y teniendo en cuenta la situación epidemiológica:

   — realizará más exámenes en la explotación correspondiente, de acuerdo con el punto 3 siguiente, o

   — velará por que se tomen muestras de sangre para análisis de laboratorio de los cerdos que se encuentren en la explotación correspondiente; en tal caso, se utilizarán como referencia los procedimientos de muestreo establecidos en el punto 5 siguiente y en el punto 2 de la letra F, o

   — adoptará o mantendrá las medidas establecidas en el apartado 2 del artículo 4 de la Directiva 2001/89/CE, a la espera de que se realicen nuevas investigaciones en la explotación correspondiente, o

   — descartará la sospecha de presencia de peste porcina clásica.

3. Cuando se haga referencia al presente punto, el examen clínico de la explotación correspondiente se realizará con cerdos seleccionados aleatoriamente en las subunidades en las cuales se haya determinado, o se

▼B

sospeche que pueda haber, riesgo de introducción del virus de la peste porcina clásica.

El número mínimo de cerdos que se examinen deberá permitir la detección de fiebre en estas subunidades con una confianza del 95 % si se da con una prevalencia del 10 %.

No obstante, en caso de:

— cerdas de cría, el número mínimo de cerdas que se examinen deberá permitir la detección de fiebre con una confianza del 95 % si se da con una prevalencia del 5 %,

— centro de recogida de esperma, se examinarán todos los verracos.

4. Si en una explotación sospechosa se detectan cerdos muertos o moribundos, se realizarán autopsias, preferentemente al menos a cinco de estos cerdos y en particular a cerdos:

— que antes de la muerte hayan mostrado o muestren signos muy evidentes de enfermedad,

— con fiebre elevada,

— recién muertos.

Si estos exámenes no ponen de manifiesto lesiones que sugieran la presencia de peste porcina clásica pero, debido a la situación epidemiológica, se considera necesario proceder a más investigaciones:

— se realizará un examen clínico, según se contempla en el punto 3, y una toma de sangre, según se contempla en el punto 5, en la subunidad en que estuvieran los cerdos muertos o moribundos, y

— podrán realizarse autopsias a tres o cuatro cerdos que estuvieran en contacto.

Independientemente de la presencia o ausencia de lesiones indicativas de peste porcina clásica, se tomarán muestras de los órganos o tejidos de cerdos que se hayan sometido a autopsia, a fin de realizar con ellas pruebas virológicas de acuerdo con el punto 1 de la letra B del capítulo V. Estas muestras se tomarán de preferencia de cerdos recién muertos.

Cuando se realicen autopsias, la autoridad competente debe velar por que:

— se tomen las medidas higiénicas y precauciones necesarias para evitar la propagación de cualquier enfermedad, y

— los cerdos moribundos se maten de forma compasiva con arreglo a la Directiva 93/119/CEE del Consejo.

5. Si en una explotación sospechosa se detectan otros signos clínicos o lesiones que puedan sugerir la presencia de peste porcina clásica, pero la autoridad competente considera que estas observaciones no son suficientes para confirmar un foco de peste porcina clásica y que, por tanto, han de realizarse pruebas de laboratorio, será necesario tomar muestras de sangre, para estas pruebas de laboratorio, de los cerdos sospechosos y de otros cerdos de cada subunidad en que se encuentren cerdos sospechosos, de acuerdo con los procedimientos establecidos más abajo.

El número mínimo de muestras que deben tomarse para realizar pruebas serológicas ha de permitir la detección de una seroprevalencia del 10 % en la subunidad correspondiente con una confianza del 95 %.

No obstante, en caso de:

— cerdas de cría, el número mínimo de cerdas objeto de muestreo debe permitir la detección de una seroprevalencia del 5 % con una confianza del 95 % ([1]);

— centro de recogida de esperma, se tomarán muestras de sangre de todos los verracos.

El número de muestras que se tomen para las pruebas virológicas se ajustará a las instrucciones de la autoridad competente, que tendrán en cuenta la gama de pruebas que puedan realizarse, la sensibilidad de las pruebas de laboratorio que se vayan a utilizar y la situación epidemiológica.

6. Si la sospecha de presencia de peste porcina clásica en la explotación correspondiente está relacionada con los resultados de pruebas serológicas anteriores, además de las muestras de sangre que se deban tomar de los

([1]) En ciertos casos, por ejemplo cuando se sospeche la presencia de peste porcina clásica en una explotación con un número limitado de cerdos de engorde, la proporción de cerdas infectadas puede ser muy pequeña. En tales casos deben tomarse muestras de un número mayor de cerdas.

▼B

cerdos contemplados en el quinto guión del segundo párrafo del punto 2, se seguirán los siguientes procedimientos:

a) si los animales seropositivos son cerdas preñadas, algunas de ellas, de preferencia no menos de tres, se matarán de forma compasiva y se someterán a autopsia; antes de darles muerte, se tomará una muestra de sangre para realizar más pruebas serológicas; se estudiará en los fetos la presencia del virus de la peste porcina clásica, de su antígeno o de su genoma, de acuerdo con el capítulo VI, para detectar una eventual infección intrauterina;

b) si los animales seropositivos son cerdas con lechones, se tomarán muestras de sangre de todos los lechones y se estudiará en ellos la presencia del virus de la peste porcina clásica, de su antígeno o de su genoma según se contempla en el capítulo VI; también se tomarán muestras de sangre de las cerdas para realizar más pruebas serológicas.

7. Si, tras realizar el examen de una explotación sospechosa, no se detectan signos clínicos ni lesiones que sugieran la presencia de peste porcina clásica, pero la autoridad competente considera que han de realizarse más pruebas de laboratorio para excluir la posibilidad de peste porcina clásica, se utilizarán como referencia los procedimientos de muestreo contemplados en el punto 5.

B. **Procedimientos de muestreo en una explotación cuando se maten cerdos previa confirmación de la enfermedad**

1. Para poder determinar la manera de introducción del virus de la peste porcina clásica en una explotación infectada y el período transcurrido desde dicha introducción, cuando se maten cerdos en una explotación tras la confirmación de un foco de acuerdo con la letra a) del apartado 1 del artículo 5 de la Directiva 2001/89/CE, se tomarán aleatoriamente muestras de sangre de los cerdos cuando se maten.

2. El número mínimo de cerdos de los que deben tomarse muestras ha de permitir la detección de una seroprevalencia del 10 % en cada subunidad de la explotación con una confianza del 95 % ([1]).

   El número de muestras que se tomen para hacer pruebas virológicas se ajustará a las instrucciones de la autoridad competente, que tendrán en cuenta la gama de pruebas que puedan realizarse, la sensibilidad de las pruebas de laboratorio que se vayan a utilizar y la situación epidemiológica.

3. Sin embargo, en caso de focos secundarios, la autoridad competente podrá apartarse de lo establecido en los puntos 1 y 2 anteriores y adoptar procedimientos de muestreo especiales, teniendo en cuenta la información epidemiológica ya disponible sobre el lugar de origen y el medio de introducción del virus en la explotación y la posible propagación de la enfermedad a partir de la explotación.

C. **Procedimientos de muestreo cuando se maten cerdos como medida preventiva en una explotación sospechosa**

1. Para poder confirmar o excluir la presencia de peste porcina clásica y obtener información epidemiológica adicional, cuando se maten cerdos como medida preventiva en una explotación sospechosa de acuerdo con lo establecido en la letra a) del apartado 3 del artículo 4 o en el apartado 2 del artículo 7 de la Directiva 2001/89/CE, se tomarán, siguiendo el procedimiento establecido en el punto 2, muestras de sangre para realizar pruebas serológicas, así como muestras de sangre o de amígdalas para realizar pruebas virológicas.

2. Las muestras se tomarán principalmente de:

   — cerdos con signos o con lesiones observadas en la autopsia que indiquen peste porcina clásica y cerdos en contacto con ellos,

   — otros cerdos que puedan haber establecido contacto de riesgo con cerdos infectados o sospechosos, o que sean sospechosos de haberse contaminado con el virus de la peste porcina clásica.

([1]) No obstante, si se ha aplicado la excepción contemplada en el apartado 1 del artículo 6 de la Directiva 2001/89/CE, el muestreo debe hacerse en las subunidades de la explotación en las que se hayan matado cerdos, sin perjuicio de otros exámenes y muestreos que se efectúen con los cerdos restantes de la explotación, los cuales se realizarán de acuerdo con las instrucciones de la autoridad competente.

▼B

Las muestras de estos cerdos se tomarán de acuerdo con las instrucciones de la autoridad competente, que tendrán en cuenta la situación epidemiológica. En tal caso, se utilizarán como referencia los procedimientos de muestreo establecidos en los párrafos segundo, tercero y cuarto a continuación.

Por otra parte, se tomarán aleatoriamente muestras de cerdos procedentes de cada una de las subunidades de la explotación ([1]). En tal caso, el número mínimo de muestras que deben tomarse para realizar pruebas serológicas ha de permitir la detección de una seroprevalencia del 10 % en la subunidad correspondiente con una confianza del 95 %.

No obstante, en caso de:

— cerdas de cría, el número mínimo de cerdas objeto de muestreo debe permitir la detección de una seroprevalencia del 5 % con una confianza del 95 % ([2]),

— centro de recogida de esperma, se tomarán muestras de sangre de todos los verracos.

El tipo de muestras que se tomen para las pruebas virológicas y la prueba que se efectúe se ajustarán a las instrucciones de la autoridad competente, que tendrán en cuenta la gama de pruebas que puedan realizarse, la sensibilidad de estas pruebas y la situación epidemiológica.

D. **Procedimientos de comprobación y muestreo antes de que se conceda la autorización para trasladar cerdos desde explotaciones situadas en zonas de protección o vigilancia y en caso de que estos cerdos se sacrifiquen o maten**

1. Sin perjuicio de lo dispuesto en el segundo párrafo de la letra f) del apartado 1 del artículo 11 de la Directiva 2001/89/CE, para que pueda autorizarse el traslado de cerdos desde explotaciones situadas en zonas de protección o vigilancia de acuerdo con el apartado 3 del artículo 10 de dicha Directiva, el examen clínico que ha de realizar un veterinario oficial deberá:

   — llevarse a cabo en las 24 horas anteriores al traslado de los cerdos;

   — ajustarse a lo dispuesto en el punto 2 de la letra A,

2. En caso de cerdos que se vayan a trasladar a otra explotación, además de las investigaciones que hayan de realizarse de acuerdo con el punto 1 anterior, se llevará a cabo un examen clínico de cerdos de cada subunidad de la explotación en que se encuentren los cerdos que se vayan a trasladar. Cuando se trate de cerdos de más de tres o cuatro meses de edad, este examen incluirá la medida de la temperatura de parte de los cerdos.

   El número mínimo de cerdos que se examinen deberá permitir la detección de fiebre en estas subunidades con una confianza del 95 % si se da con una prevalencia del 10 %.

   No obstante, en caso de:

   — cerdas de cría, el número mínimo de cerdas que se examinen deberá permitir la detección de fiebre con una confianza del 95 % si se da con una prevalencia del 5 % en la subunidad en que se encuentren las cerdas que se vayan a trasladar,

   — verracos, deberán examinarse todos los verracos que se vayan a trasladar.

3. En caso de cerdos que se vayan a trasladar a un matadero, a un centro de transformación o a otro lugar para su matanza o sacrificio, además de las investigaciones que hayan de realizarse de acuerdo con el punto 1 anterior, se llevará a cabo un examen clínico de cerdos de cada subunidad en que se encuentren los cerdos que se vayan a trasladar. Cuando se trate de cerdos de más de tres o cuatro meses de edad, este examen incluirá la medida de la temperatura de parte de los cerdos.

([1]) Sin embargo, si la autoridad competente ha limitado la aplicación de la matanza preventiva sólo a la parte de la explotación en que se encontraban los cerdos sospechosos de estar infectados o contaminados con el virus de la peste porcina clásica, de acuerdo con la letra a) del apartado 3 del artículo 4 de la Directiva 2001/89/CE, el muestreo debe referirse a las subunidades de la explotación en que se haya aplicado esta medida, sin perjuicio de otros exámenes y muestreos que se lleven a cabo con los restantes cerdos de la explotación de acuerdo con las instrucciones de la autoridad competente.

([2]) En ciertos casos, por ejemplo cuando se sospeche la presencia de peste porcina clásica en una explotación con un número limitado de cerdos de engorde, la proporción de cerdas infectadas puede ser muy pequeña. En tales casos deben tomarse muestras de un número mayor de cerdas.

▼B

El número mínimo de cerdos que se examinen deberá permitir la detección de fiebre en las subunidades correspondientes con una confianza del 95 % si se da con una prevalencia del 20 %.

Sin embargo, en caso de cerdas de cría o verracos, el número mínimo de cerdos que se examinen deberá permitir la detección de fiebre con una confianza del 95 % si se da con una prevalencia del 5 % en la subunidad en que se encuentren los cerdos que se vayan a trasladar.

4. Cuando los cerdos contemplados en el punto 3 se sacrifiquen o maten, deberán tomarse muestras de sangre para realizar pruebas serológicas, o muestras de sangre o de amígdalas para realizar pruebas virológicas, de cerdos procedentes de cada una de las subunidades a partir de las cuales se hayan trasladado cerdos.

   El número mínimo de muestras que se tomen deberá permitir la detección, con una confianza del 95 %, de una seroprevalencia o una prevalencia del virus del 10 % en cada subunidad.

   Sin embargo, en caso de cerdas de cría o verracos, el número mínimo de cerdos de los que se tomen muestras deberá permitir la detección, con una confianza del 95 %, de una seroprevalencia o una prevalencia del virus del 5 % en la subunidad en que se encontraban estos cerdos.

   El tipo de muestras que se tomen y la prueba que se efectúe se ajustarán a las instrucciones de la autoridad competente, que tendrán en cuenta la gama de pruebas que puedan realizarse, la sensibilidad de estas pruebas y la situación epidemiológica.

5. Sin embargo, si al matar o sacrificar los cerdos se observan signos clínicos o lesiones en la autopsia que sugieran la presencia de peste porcina clásica, no obstante lo dispuesto en el punto 4 anterior, se aplicarán las disposiciones sobre muestreo contempladas en la letra C.

E. **Procedimientos de comprobación y muestreo en explotaciones en relación con una repoblación**

1. Cuando se reintroduzcan cerdos en una explotación, de acuerdo con las letras a) o b) del apartado 2 del artículo 13 o con la letra b) del párrafo segundo del apartado 8 del artículo 19 de la Directiva 2001/89/CE, deberán seguirse los siguientes procedimientos de muestreo:

   — en caso de que se reintroduzcan cerdos testigo, se tomarán aleatoriamente muestras de sangre para efectuar pruebas serológicas de un número de cerdos que permita la detección de una seroprevalencia del 10 % en cada subunidad de la explotación con una confianza del 95 %,

   — en caso de repoblación total, se tomarán aleatoriamente muestras de sangre para efectuar pruebas serológicas de un número de cerdos que permita la detección de una seroprevalencia del 20 % en cada subunidad de la explotación con una confianza del 95 %.

   Sin embargo, en caso de cerdas de cría o verracos, el número de muestras que se ha de tomar debe permitir la detección de una seroprevalencia del 10 % con una confianza del 95 %.

2. Tras la reintroducción de los cerdos, la autoridad competente velará por que, en caso de cualquier enfermedad o muerte de los cerdos de la explotación por causas desconocidas, los cerdos correspondientes se sometan inmediatamente a pruebas para detectar la presencia de peste porcina clásica. Estas disposiciones serán aplicables hasta que se suspendan en la explotación correspondiente las restricciones contempladas en el párrafo segundo de la letra a) del apartado 2 del artículo 13 y en la segunda frase de la letra b) del párrafo segundo del apartado 8 del artículo 19 de la Directiva 2001/89/CE.

F. **Procedimientos de muestreo en explotaciones de la zona de protección antes de la suspensión de las restricciones**

1. A fin de que las medidas contempladas en el artículo 10 de la Directiva 2001/89/CE puedan suspenderse en una zona de protección, en todas las explotaciones de la zona:

   — deberá realizarse un examen clínico de acuerdo con los procedimientos contemplados en los puntos 2 y 3 de la letra A,

   — deberán tomarse muestras de sangre para realizar pruebas serológicas como se indica en el punto 2 siguiente.

2. El número mínimo de muestras de sangre que se tome ha de permitir la detección de una seroprevalencia del 10 % en cerdos de cada subunidad de la explotación con una confianza del 95 %.

▼B

No obstante, en caso de:

— cerdas de cría, el número mínimo de muestras que se tome debe permitir la detección de una seroprevalencia del 5 % con una confianza del 95 %,

— centro de recogida de esperma, se tomarán muestras de sangre de todos los verracos.

G. **Procedimientos de muestreo en explotaciones de la zona de vigilancia antes de la suspensión de las restricciones**

1. A fin de que puedan suspenderse las restricciones contempladas en el artículo 11 de la Directiva 2001/89/CE en una zona de vigilancia, deberá realizarse un examen clínico en todas las explotaciones de la zona en conformidad con los procedimientos establecidos en el punto 2 de la letra A.

   Por otra parte, se tomarán muestras de sangre de cerdos para realizar pruebas serológicas:

   — en todas las explotaciones en las que no haya cerdos de edad comprendida entre dos y ocho meses,

   — siempre que la autoridad competente considere que la peste porcina clásica puede haberse propagado de forma inadvertida entre cerdas de cría,

   — en toda otra explotación en que la autoridad competente considere necesario proceder a un muestreo,

   — en todos los centros de recogida de esperma.

2. Cada vez que se tomen muestras de sangre para realizar pruebas serológicas en explotaciones situadas en la zona de vigilancia, el número de tales muestras deberá ajustarse a lo establecido en el punto 2 de la letra F. Sin embargo, si la autoridad competente considera que la peste porcina clásica puede haberse propagado de forma inadvertida entre las cerdas de cría, el muestreo podrá efectuarse sólo en las subunidades en que se mantengan tales animales.

H. **Seguimiento serológico y procedimientos de muestreo en zonas en que se sospeche o se haya confirmado la presencia de peste porcina clásica entre jabalíes**

1. En caso de seguimiento serológico de jabalíes en zonas en que se sospeche o se haya confirmado la presencia de peste porcina clásica, deberán definirse previamente el tamaño y la zona geográfica de la población que se vaya a muestrear, a fin de definir el número de muestras que tomar. El tamaño de la muestra debe establecerse en función del número estimado de animales vivos y no en función de los animales abatidos.

2. Si no se dispone de datos sobre el tamaño y la densidad de la población, la zona geográfica dentro de la cual se han de tomar las muestras deberá delimitarse teniendo en cuenta la presencia continua de jabalíes y la existencia de obstáculos naturales o artificiales que puedan impedir el amplio y continuo movimiento de los animales. Cuando no se den tales circunstancias, o en caso de zonas grandes, se recomienda delimitar zonas de muestreo de 200 km^2 como máximo, en las que pueda vivir normalmente una población de entre 400 y 1 000 jabalíes.

3. Sin perjuicio de lo dispuesto en la letra c) del punto 2 del artículo 15 de la Directiva 2001/89/CE, el número mínimo de cerdos de los que se tomen muestras dentro de la zona delimitada de muestreo debe permitir detectar una seroprevalencia del 5 % con una confianza del 95 %. Con este objetivo, deben tomarse muestras de al menos 59 animales dentro de cada zona delimitada.

   Se recomienda asimismo que:

   — en las zonas en que la presión de la caza es superior y se ejerce regularmente, o se efectúa una caza selectiva como medida de lucha contra la enfermedad, aproximadamente el 50 % de los animales muestreados pertenezcan a la categoría de edad de entre tres meses y un año, el 35 % a la categoría de edad de entre uno y dos años y el 15 % a la categoría de más de dos años,

   — en zonas en que la presión de la caza es muy baja o nula, se tomen muestras de al menos 32 animales de cada una de las tres categorías de edad,

   — el muestreo se lleve a cabo en un breve período, de preferencia no superior a un mes,

   — la edad de los animales objeto del muestreo se determine en función de la dentición.

▼B

4. La recogida de muestras para efectuar pruebas virológicas de jabalíes abatidos o encontrados muertos debe ajustarse a lo dispuesto en el punto 1 de la letra B del capítulo V.

   Cuando se considere necesario proceder al seguimiento virológico de los jabalíes abatidos, se efectuará principalmente con animales de entre tres meses y un año de edad.

5. Todas las muestras que se envíen al laboratorio irán acompañadas del cuestionario contemplado en la letra l) del apartado 3 del artículo 16 de la Directiva 2001/89/CE.

CAPÍTULO V

Criterios y procedimientos generales para la recogida y transporte de muestras

A. **Criterios y procedimientos generales**

1. Antes de efectuar el muestreo de una explotación sospechosa, será necesario preparar un plano de la explotación y delimitar las subunidades epidemiológicas de la misma.

2. Cada vez que se considere que puede ser necesario proceder a un nuevo muestreo de cerdos, todos los cerdos de los que se tomen muestras se marcarán inequívocamente de forma que puedan tomarse de ellos nuevas muestras fácilmente.

3. Sin perjuicio de lo dispuesto en la letra b) del punto 5 de la letra A del capítulo IV, no deberán tomarse muestras para las pruebas serológicas de lechones de menos de ocho semanas de edad.

4. Todas las muestras deberán enviarse al laboratorio acompañadas por los documentos apropiados, de acuerdo con los requisitos establecidos por la autoridad competente. Estos documentos contendrán datos de los antecedentes de los cerdos de que procedan las muestras y de los signos clínicos o de las lesiones observadas en la autopsia.

   En caso de cerdos mantenidos en explotaciones, deberá darse información clara sobre la edad, la categoría y la explotación de origen de los cerdos de que procedan las muestras. Se recomienda que, junto con la marca inequívoca de identificación, se registre la ubicación en la explotación de cada cerdo utilizado en el muestreo.

B. **Recogida de muestras para las pruebas virológicas**

1. Para la detección del virus de la peste porcina clásica, de su antígeno o de su genoma, a partir de cerdos muertos o sacrificados, las muestras más adecuadas son los tejidos de las amígdalas, bazo y riñones. Asimismo se recomienda tomar dos muestras de otros tejidos linfáticos, como los ganglios linfáticos retrofaríngeos, parotídeos, mandibulares o mesentéricos, y una muestra de íleon. En caso de cuerpos autolisados, la muestra recomendada será un hueso largo completo o el esternón.

2. De los cerdos que presenten signos de fiebre u otros signos de enfermedad se tomarán muestras de sangre con anticoagulante o de sangre coagulada, de acuerdo con las instrucciones de la autoridad competente.

3. Se recomienda la realización de pruebas virológicas en caso de animales enfermos. Normalmente su valor es limitado cuando se utilizan con fines de seguimiento de animales que no presentan signos clínicos. Sin embargo, si el objetivo de un muestreo a gran escala consiste en detectar el virus de la peste porcina clásica cuando los cerdos están en la fase de incubación, las muestras más adecuadas son las amígdalas.

C. **Transporte de las muestras**

1. Se recomienda que todas las muestras:

   — se transporten y conserven en recipientes estancos,

   — no se congelen sino que se mantengan a temperatura de frigorífico,

   — se entreguen al laboratorio lo antes posible,

   — se conserven en envases con acumuladores de frío más que con hielo en el interior para mantenerlas frías,

   — de tejidos u órganos se coloquen por separado en una bolsa de plástico, que será precintada y etiquetada adecuadamente; después deberán ponerse en recipientes exteriores fuertes más grandes y rodearse de suficiente material absorbente para protegerlas de los golpes y absorber las fugas,

▼B

— siempre que sea posible, sean transportadas directamente al laboratorio por personal competente de forma rápida y fiable.

2. El exterior del envase debe ir etiquetado con la dirección del laboratorio receptor y en él figurará de forma destacada el siguiente rótulo: «Material patológico animal - Perecedero - Frágil - No abrir fuera de un laboratorio de peste porcina clásica».

3. El laboratorio receptor de las muestras será informado con antelación del momento y la forma de llegada de las mismas.

4. Para el transporte aéreo de muestras al laboratorio comunitario de referencia de la peste porcina clásica ([1]) a partir de un Estado miembro distinto de Alemania o a partir de terceros países, el paquete ha de etiquetarse de acuerdo con las normas de la IATA.

CAPÍTULO VI

Principios y utilización de las pruebas virológicas y evaluación de sus resultados

A. **Detección del antígeno vírico**

1. *Prueba de inmunofluorescencia*

La prueba se basa en la detección del antígeno del virus en finas criosecciones de material de órganos de cerdos sospechosos de estar infectados con el virus de la peste porcina clásica. El antígeno intracelular se detecta mediante un anticuerpo conjugado con isotiocianato de fluoresceína. Los resultados positivos deben confirmarse repitiendo la tinción con un anticuerpo monoclonal específico.

Los órganos adecuados son las amígdalas, los riñones, el bazo, diferentes ganglios linfáticos y el íleon. En caso de jabalíes, puede utilizarse asimismo un frotis de células de médula ósea si los citados órganos no están disponibles o están autolisados.

La prueba puede realizarse en un solo día. Como las muestras de órganos sólo pueden obtenerse de animales muertos, su valor con fines de cribado es limitado. La confianza en el resultado de la prueba puede verse limitada si la tinción es dudosa, especialmente cuando no se tiene mucha experiencia con la realización de la prueba o los órganos estudiados están autolisados.

2. *ELISA para la detección del antígeno*

El antígeno vírico se detecta mediante diversas técnicas ELISA. La sensibilidad de la prueba de detección del antígeno debe ser suficiente para dar resultado positivo con animales que presenten signos clínicos de peste porcina clásica.

Se recomienda el uso de ELISA para la detección del antígeno en muestras procedentes de animales con signos clínicos o lesiones patológicas de la enfermedad. No es adecuada esta técnica para la investigación de animales sueltos. Son muestras adecuadas los leucocitos, el suero, la sangre sin coagular y las suspensiones de los órganos contemplados en el punto 1, tomados de cerdos sospechosos de estar infectados con el virus de la peste porcina clásica ([2]).

La prueba ELISA puede realizarse en un solo día y hacerse con equipo automatizado. Su ventaja más importante es que en un breve período se pueden estudiar grandes cantidades de muestras. Se recomienda que se utilicen pruebas ELISA que den resultados satisfactorios con el material de referencia. Sin embargo, actualmente todas las pruebas ELISA del comercio son menos sensibles que el aislamiento del virus en cultivos celulares y su sensibilidad es significativamente mejor con muestras de sangre de lechones que de cerdos adultos.

B. **Aislamiento del virus**

1. El aislamiento del virus se basa en la incubación del material de la muestra en cultivos celulares sensibles de origen porcino. Si el virus de la peste porcina clásica está presente en la muestra, se replicará en las

([1]) El laboratorio comunitario de referencia tiene permiso ilimitado de recibir muestras para diagnóstico y cepas de virus de la peste porcina clásica. Antes del transporte puede pedirse a este laboratorio una copia del permiso de importación para adjuntarlo en un sobre pegado al exterior del paquete.

([2]) Existen en el comercio diversas técnicas ELISA para la detección del antígeno de la peste porcina clásica, que están validadas con diferentes tipos de muestras.

▼B

células hasta alcanzar una cantidad que pueda detectarse por inmunotinción de las células infectadas con anticuerpos conjugados. Es necesario utilizar anticuerpos específicos de la peste porcina clásica para efectuar el diagnóstico diferencial respecto a otros *Pestivirus*.

2. Las mejores muestras para el aislamiento del virus de la peste porcina clásica son los leucocitos, el plasma o la sangre completa obtenidos de muestras de sangre no coagulada o de los órganos contemplados en el punto 1 de la letra A.

3. El aislamiento del virus se presta más a la investigación de muestras de un pequeño número de animales que a la vigilancia en masa. El procedimiento de aislamiento del virus exige mucho trabajo y al menos tres días antes de que se consigan resultados. Puede ser necesario hacer otros dos pases por cultivos celulares para detectar el virus si está presente en la muestra sólo en pequeña cantidad. Esto puede hacer que la investigación se prolongue hasta 10 días antes de la obtención de un resultado final. Las muestras autolisadas pueden ser citotóxicas para el cultivo celular y limitar así su utilidad.

4. Se recomienda realizar el aislamiento del virus también en caso de confirmación previa de la peste porcina clásica por otros métodos. Debe utilizarse como prueba de referencia para la confirmación de resultados positivos obtenidos previamente con métodos ELISA de detección del antígeno, RCP, prueba de inmunofluorescencia o tinción indirecta con la peroxidasa.

   Las cepas así aisladas del virus de la peste porcina clásica son útiles para la caracterización del virus, incluida la tipificación genética y la epidemiología molecular.

5. Todas las cepas de virus de la peste porcina clásica aisladas de todos los focos primarios, casos primarios en jabalíes o casos en mataderos o medios de transporte deben ser tipificadas genéticamente por un laboratorio nacional de referencia de los Estados miembros o por cualquier otro laboratorio autorizado por el Estado miembro correspondiente o por el laboratorio comunitario de referencia, según lo dispuesto en la letra E.

   En cualquier caso, estas cepas de virus deben enviarse inmediatamente al laboratorio comunitario de referencia para su colección de virus.

C. **Detección del genoma vírico**

1. La reacción en cadena de la polimerasa (RCP) se aplica a la detección del genoma vírico en muestras de sangre, tejidos u órganos. Se transcriben a fragmentos de ADN pequeños fragmentos de ARN vírico y luego se amplifican mediante la RCP hasta obtener cantidades detectables. Como estas pruebas sólo detectan una secuencia de genoma del virus, la RCP puede dar resultado positivo incluso aunque no haya presente ningún virus infeccioso (por ejemplo, en tejidos autolisados o en muestras procedentes de cerdos convalecientes).

2. La RCP puede utilizarse con un pequeño número de muestras que se hayan seleccionado cuidadosamente de animales sospechosos o con material procedente de fetos abortados. Con los cuerpos de jabalíes puede ser el mejor método si el material está autolisado y ya no es posible realizar el aislamiento del virus debido a la citotoxicidad.

3. Para el diagnóstico por RCP constituyen un buen material de muestra los órganos descritos para el aislamiento del virus o la sangre sin coagular.

4. La RCP puede llevarse a cabo en 48 horas. Requiere un equipo apropiado de laboratorio, instalaciones aparte y un personal adiestrado. Tiene la ventaja de que no es necesario replicar en el laboratorio partículas víricas infecciosas. El método es muy sensible, pero se producen fácilmente contaminaciones que originan falsos resultados positivos. Por tanto, son imprescindibles unos procedimientos estrictos de control de calidad. Algunos métodos son específicos de *Pestivirus* más que del virus de la peste porcina clásica, lo que exige más pruebas de confirmación, como la secuenciación del producto de la RCP.

D. **Evaluación de los resultados de las pruebas virológicas**

1. Las pruebas virológicas son fundamentales para confirmar la peste porcina clásica.

   El aislamiento del virus debe considerarse la prueba virológica de referencia y utilizarse como prueba de confirmación cuando sea necesario. Se recomienda particularmente en caso de que unos resultados positivos obtenidos con las pruebas de inmunofluorescencia, ELISA o RCP no

▼B

estén relacionados con la detección de signos clínicos o lesiones patológicas, y en cualquier otro caso dudoso.

Sin embargo, es posible confirmar un foco primario de peste porcina clásica si se han detectado en los cerdos correspondientes signos clínicos o lesiones patológicas y han dado resultado positivo al menos dos pruebas de detección del antígeno o del genoma.

Es posible confirmar un foco secundario de peste porcina clásica si, además de la relación epidemiológica con un caso o foco confirmado, se han detectado en los cerdos correspondientes signos clínicos o lesiones patológicas y ha dado resultado positivo una prueba de detección del antígeno o del genoma.

Un caso primario de peste porcina clásica en jabalíes puede confirmarse tras el aislamiento del virus o si han dado resultado positivo al menos dos pruebas de detección del antígeno o del genoma. Pueden confirmarse otros casos de peste porcina clásica en jabalíes cuando se haya encontrado una relación epidemiológica con casos confirmados previamente si ha dado resultado positivo una prueba de detección del antígeno o del genoma.

2. Para considerar un resultado positivo respecto a la peste porcina clásica en una prueba de detección del antígeno o del genoma, es necesario que la prueba correspondiente se haya realizado con anticuerpos o cebadores específicos del virus de la peste porcina clásica. Si la prueba no era específica del virus de la peste porcina clásica sino sólo de *Pestivirus*, debe repetirse utilizando reactivos específicos de la peste porcina clásica.

E. **Tipificación genética de las cepas aisladas del virus de la peste porcina clásica**

1. La tipificación genética de las cepas aisladas del virus de la peste porcina clásica se consigue determinando la secuencia nucleotídica de porciones del genoma vírico, en concreto de partes específicas de la región 5' no codificadora o del gen de la glucoproteína E2. La similitud de estas secuencias con las ya obtenidas de cepas de virus aisladas anteriormente puede indicar si un brote de la enfermedad se debe a una cepa nueva o a una ya conocida. De esta manera se pueden reforzar o rechazar hipótesis sobre vías de transmisión que hayan sugerido los datos epidemiológicos.

   La tipificación genética de las cepas aisladas del virus de la peste porcina clásica reviste una importancia primordial para determinar el origen de la enfermedad. Sin embargo, el que haya una estrecha relación entre virus obtenidos de diferentes focos no constituye una prueba absoluta de relación epidemiológica directa.

2. Si la tipificación del virus no puede realizarse en un laboratorio nacional ni en algún otro laboratorio autorizado para realizar el diagnóstico de la peste porcina clásica en un breve plazo, la muestra original o la cepa aislada se enviará lo antes posible al laboratorio comunitario de referencia para su tipificación.

   Los datos sobre tipificación y secuenciación de las cepas de virus de la peste porcina clásica de que dispongan los laboratorios autorizados para el diagnóstico de la peste porcina clásica deberán enviarse al laboratorio comunitario de referencia a fin de que esta información se introduzca en la base de datos que tiene dicho laboratorio.

   La información incluida en esta base de datos estará a disposición de todos los laboratorios nacionales de referencia de los Estados miembros. Sin embargo, a efectos de publicación en revistas científicas, previa petición del laboratorio correspondiente, el laboratorio comunitario de referencia velará por la confidencialidad de estos datos hasta que estén publicados.

CAPÍTULO VII

Principios y utilización de las pruebas serológicas y evaluación de sus resultados

A. **Principios básicos y valor para el diagnóstico**

1. En los cerdos infectados con el virus de la peste porcina clásica suelen detectarse anticuerpos en muestras de suero al cabo de dos o tres semanas desde la infección. En cerdos que se hayan restablecido de la enfermedad, pueden seguir encontrándose anticuerpos neutralizantes protectores durante varios años o incluso durante toda su vida. También pueden encontrarse esporádicamente anticuerpos en la fase terminal de animales mortalmente enfermos. En algunos cerdos con la forma crónica de la

▼B

peste porcina clásica, pueden detectarse anticuerpos durante varios días al final del primer mes tras la infección.

Los cerdos infectados en el útero pueden ser inmunotolerantes frente al virus homólogo de la peste porcina clásica y no producir anticuerpos específicos. Sin embargo, pueden detectarse anticuerpos de origen materno durante los primeros días de vida. La semivida de los anticuerpos maternos en lechones sanos sin viremia es de unas dos semanas. Es muy poco probable que tengan origen materno los anticuerpos contra la peste porcina clásica encontrados en lechones de más de tres meses.

2. La detección de anticuerpos contra el virus de la peste porcina clásica en muestras de suero o de plasma se lleva a cabo como ayuda al diagnóstico de la peste porcina clásica en explotaciones sospechosas, para establecer la antigüedad de la infección en caso de un foco confirmado y con fines de seguimiento y vigilancia. Sin embargo, las pruebas serológicas tienen un valor limitado para la detección de la peste porcina clásica en caso de infección reciente en una explotación.

   Unos pocos cerdos seropositivos con un título bajo de neutralización pueden indicar una infección reciente (de dos a cuatro semanas). Un número elevado de cerdos con un título alto de neutralización podrían indicar la entrada del virus en la explotación más de un mes antes. La localización de cerdos seropositivos en la explotación puede dar información valiosa sobre cómo se introdujo en ella el virus de la peste porcina clásica.

   Sin embargo, debe realizarse una evaluación precisa de los resultados de las pruebas serológicas teniendo en cuenta todas las observaciones clínicas, virológicas y epidemiológicas, en el marco de la investigación que se realice en caso de sospecha o confirmación de la presencia de peste porcina clásica, de acuerdo con el artículo 8 de la Directiva 2001/89/CE.

B. **Pruebas serológicas recomendadas**

1. La prueba de neutralización del virus (PNV) y la prueba ELISA son las mejores para el diagnóstico serológico de la peste porcina clásica.

   La calidad y la eficacia del diagnóstico serológico realizado por los laboratorios nacionales deben comprobarse periódicamente en el ámbito de una prueba comparativa entre laboratorios organizada regularmente por el laboratorio comunitario de referencia.

2. La PNV se basa en la determinación de la actividad neutralizadora del virus que presentan los anticuerpos de la muestra de suero, expresada con el criterio de neutralización del 50 %.

   Se cultiva a 37 ºC una cantidad constante de virus de la peste porcina clásica con suero diluido. Para el cribado, los sueros se diluirán inicialmente a 1/10. Cuando sea necesaria una titulación completa, se prepararán diluciones de suero a la mitad, empezando por ½ o 1/5. Cada una de las diluciones se mezclará con un volumen igual de suspensión vírica que contenga 100 dosis infecciosas (DICT 50).

   Tras incubarse, la mezcla se inoculará en cultivos celulares que se incubarán durante tres o cinco días. Tras este período de incubación, los cultivos se fijarán y podrá detectarse la eventual replicación vírica en las células infectadas mediante un sistema de marcado inmunológico. Pueden utilizarse tanto las pruebas de neutralización-inmunofluorescencia (NIF) como las del anticuerpo neutralizante unido a la peroxidasa.

   Los resultados de la PNV se expresarán como el inverso de la dilución del suero inicial con la que la mitad de los cultivos celulares inoculados (criterio del 50 %) deje de mostrar replicación vírica (sin marcado específico). Se hará una estimación de los puntos situados entre dos grados de dilución. El sistema de dilución final se basará en la dilución real del suero durante la reacción de neutralización, es decir, tras la adición del virus, pero antes de añadir la suspensión celular.

3. La PNV es la prueba más sensible y fiable para detectar anticuerpos frente al virus de la peste porcina clásica. Por tanto, se recomienda para el examen serológico tanto de animales sueltos como de piaras. No obstante, con esta prueba pueden detectarse anticuerpos neutralizantes cruzados específicos de infecciones de cerdos con *Pestivirus* de rumiantes.

   La PNV para detección de anticuerpos contra el virus de la diarrea vírica bovina y de la enfermedad de frontera («*border disease*») sigue los mismos principios mencionados anteriormente y se realiza para el diagnóstico diferencial de la peste porcina clásica.

▼B

4. Las cepas de *Pestivirus* utilizadas en las pruebas de neutralización deben ajustarse a las recomendaciones del laboratorio comunitario de referencia.

5. Se han desarrollado diversas técnicas ELISA que utilizan anticuerpos monoclonales específicos y son de dos tipos: técnicas ELISA competitivas o de bloqueo y técnicas ELISA no competitivas.

   Las técnicas ELISA competitivas o de bloqueo utilizan generalmente anticuerpos monoclonales. Si la muestra de suero contiene anticuerpos contra el virus clásico, quedará inhibida la unión, con el antígeno vírico, de un anticuerpo monoclonal seleccionado y conjugado con peroxidasa.

   En las técnicas ELISA no competitivas, la unión de los anticuerpos séricos con el antígeno se mide directamente utilizando anticuerpos contra anticuerpos de cerdo conjugados con peroxidasa.

6. Los laboratorios nacionales deben efectuar regularmente un control de la calidad de la sensibilidad y especificidad de cada lote de ELISA, utilizando el grupo de sueros de referencia proporcionado por el laboratorio comunitario de referencia. En este grupo se incluirán:

   — sueros de cerdos en la fase inicial de infección por el virus de la peste porcina clásica (antes de que pasen 21 días desde la infección),
   — sueros de cerdos convalecientes (después de que hayan pasado 21 días desde la infección),
   — sueros de cerdos infectados con *Pestivirus* de rumiantes.

   Las técnicas ELISA utilizadas para el diagnóstico serológico de la peste porcina clásica deben reconocer todos los sueros de referencia procedentes de cerdos convalecientes. Todos los resultados obtenidos con los sueros de referencia deben ser repetibles. Se recomienda asimismo que detecten todos los sueros positivos desde la fase inicial y que presenten un mínimo de reacciones cruzadas con los sueros procedentes de cerdos infectados con *Pestivirus* de rumiantes.

   Los resultados obtenidos con los sueros de referencia procedentes de cerdos en la fase inicial de la infección dan una indicación de la sensibilidad de la prueba ELISA.

7. Se considera que la sensibilidad de la prueba ELISA es inferior a la de la PNV, y se recomienda que se utilice con piaras como prueba de cribado. Sin embargo, las pruebas ELISA requieren instalaciones menos especializadas y pueden realizarse mucho más deprisa, gracias a sistemas automatizados, que la PNV.

   Las pruebas ELISA deben garantizar la identificación de todas las infecciones de peste porcina clásica en la fase de convalecencia y tienen que estar lo más libres posible de interferencias por anticuerpos de reacción cruzada con *Pestivirus* de rumiantes.

C. **Interpretación de resultados serológicos y diagnóstico diferencial con infecciones debidas a *Pestivirus* de rumiantes (diarrea vírica bovina y enfermedad de frontera)**

1. Sin perjuicio de lo dispuesto en la letra a) del apartado 3 del artículo 4 o en el apartado 2 del artículo 7 de la Directiva 2001/89/CE, en caso de detección de un título de neutralización del virus de la peste porcina clásica igual o superior a 10 DN_{50} en muestras de suero tomadas de uno o más cerdos, o de un resultado positivo en una prueba ELISA en muestras de suero de un grupo de cerdos, se aplicarán inmediatamente o seguirán aplicándose en la explotación correspondiente las medidas contempladas en el apartado 2 del artículo 4 de la Directiva 2001/89/CE.

   Las muestras ya tomadas de esta explotación se someterán de nuevo a la PNV mediante la titulación comparativa de los anticuerpos neutralizantes frente al virus de la peste porcina clásica y a los *Pestivirus* de rumiantes.

2. Si las pruebas comparativas ponen de manifiesto anticuerpos contra los *Pestivirus* de rumiantes pero no, o a un nivel claramente más bajo (menos del tercio), anticuerpos contra el virus de la peste porcina clásica, se descartará la sospecha de peste porcina clásica, salvo que haya otras razones para justificar el que sigan aplicándose en la explotación considerada las medidas contempladas en el apartado 2 del artículo 4 de la Directiva 2001/89/CE.

3. Si las pruebas comparativas ponen de manifiesto en más de un cerdo un título de neutralización del virus igual o superior a 10 DN_{50} y este título es igual o superior a los títulos relativos a otros *Pestivirus*, la autoridad competente velará por que se confirme la peste porcina clásica, siempre que en la explotación correspondiente se hayan encontrado indicios epidemiológicos de presencia de la enfermedad.

▼B

4. Sin perjuicio de lo dispuesto en el apartado 3 del artículo 4 de la Directiva 2001/89/CE, si no se han encontrado indicios epidemiológicos de presencia de la enfermedad o si los resultados de las pruebas anteriores no son concluyentes, la autoridad competente velará por que en la explotación correspondiente:

   — sigan aplicándose las medidas contempladas en el apartado 2 del artículo 4 de la Directiva 2001/89/CE,

   — se realicen lo antes posible nuevas investigaciones para confirmar o descartar la presencia de peste porcina clásica, según el capítulo IV.

5. No obstante, si las nuevas pruebas y comprobaciones contempladas en el punto 4 no permiten descartar la presencia de peste porcina clásica, se tomarán en la explotación más muestras de sangre para efectuar pruebas serológicas, una vez hayan pasado al menos dos semanas desde las comprobaciones anteriores.

   En el contexto de este nuevo muestreo, se tomarán de nuevo muestras de los cerdos que ya hayan sido objeto de muestreo y de pruebas para proceder a pruebas serológicas comparativas con las muestras tomadas previamente, a fin de detectar la eventual seroconversión en relación con el virus de la peste porcina clásica o con *Pestivirus* de rumiantes.

   Si estas nuevas pruebas y comprobaciones no permiten confirmar la presencia de peste porcina clásica, podrán suspenderse las medidas contempladas en el artículo 4 de la Directiva 2001/89/CE.

▼M1

CAPÍTULO VIII

Prueba discriminatoria en caso de vacunación de urgencia

A. **Principios fundamentales**

1. Se ha desarrollado una prueba serológica ELISA discriminatoria («prueba discriminatoria») capaz de distinguir los cerdos vacunados con vacunas marcadoras (lo cual induce la producción de anticuerpos únicamente antiglucoproteína E2 del virus de la peste porcina clásica) de los cerdos infectados por el virus silvestre que produce dicha enfermedad. La prueba ha sido diseñada para detectar la presencia de anticuerpos antiglucoproteína E^{rns} del virus de la peste porcina clásica y se basa en el hecho de que los animales sanos vacunados con vacunas marcadoras sólo producen anticuerpos antiglucoproteína E2 del virus de la peste porcina clásica, mientras que los animales infectados por el virus silvestre reaccionan produciendo también anticuerpos frente a otros antígenos víricos.

   Si bien la prueba discriminatoria es sensible y específica1 ([1]), los cerdos infectados por otros virus del género *Pestivirus*, como el virus de la DVB o el de la enfermedad de frontera, también resultan positivos a la glucoproteína E^{rns}. Además de ello, la sensibilidad de la prueba no es total, pues es posible que algunos animales vacunados con vacunas marcadoras y posteriormente infectados no resulten positivos a dicha glucoproteína.

   Los datos disponibles actualmente indican que la prueba discriminatoria no resulta fiable para las muestras de suero procedente de jabalíes.

2. La prueba discriminatoria es un inmunoanálisis de bloqueo de enzima unida en fase líquida. Las muestras por analizar se incuban en placas de microtitulación recubiertas previamente con anticuerpos monoclonales anti-E^{rns} y una cantidad definida de antígeno E^{rns}. Los anticuerpos específicos de la E^{rns} se unen a la cantidad definida de antígeno E^{rns} en la solución y se forman complejos antígeno-anticuerpo, que no podrán reaccionar con los anticuerpos anti-E^{rns} de la placa de microtitulación. Se procede a lavar las placas para eliminar el material libre y se añade un conjugado anti-E^{rns} marcado con peroxidasa, que se une al antígeno E^{rns} del complejo formado con los anticuerpos del recubrimiento de la placa de microtitulación. Se elimina el conjugado libre mediante lavado y se añade un sustrato cromógeno. La intensidad de la coloración que aparece es inversamente proporcional a la cantidad de anticuerpos específicos de la E^{rns} presentes en la muestra. Si la muestra no contiene anticuerpos (muestra negativa), una parte importante de la cantidad definida de antígeno E^{rns} que se había añadido puede unirse a los anticuerpos anti-E^{rns} de la superficie de la placa y se observa entonces una coloración intensa.

([1]) Conforme a los resultados del estudio realizado por el laboratorio comunitario de referencia y los laboratorios nacionales competentes en materia de peste porcina clásica, la prueba discriminatoria presenta una sensibilidad del 94 % y una especificidad del 98 %, aproximadamente.

▼M1

El resultado se obtiene comparando la densidad óptica de los pocillos que contienen las muestras problema con la de los pocillos que contienen los testigos negativo y positivo.

B. **Directrices para la utilización de la prueba discriminatoria en caso de vacunación de urgencia con una vacuna marcadora en explotaciones de porcino, en el marco de lo dispuesto en el artículo 19 de la Directiva 2001/89/CE**

La prueba discriminatoria ha sido diseñada para comprobar la presencia o la ausencia del virus de la peste porcina clásica en una población de cerdos vacunados con una vacuna marcadora. Según los datos disponibles, su empleo puede resultar útil para este fin en piaras, si bien no permite excluir a ciencia cierta que haya cerdos infectados por el virus de la peste porcina clásica. En particular, en caso de vacunación de cerdos adultos, la especificidad de la prueba discriminatoria puede resultar insuficiente para distinguir de manera fiable los animales vacunados con vacunas marcadoras de los animales infectados. No obstante, si los resultados son dudosos, los cerdos de que se trate habrán de ser sacrificados o matados de forma compasiva con arreglo a lo dispuesto en la Directiva 93/119/CE y sus órganos deberán someterse a pruebas de detección del virus de la peste porcina clásica. Las pruebas más adecuadas a tal efecto son el aislamiento del virus y la RCP.

Estos aspectos han de tomarse plenamente en consideración a la hora de elaborar estrategias de vacunación de urgencia con vacunas marcadoras y de interpretar los resultados de los estudios relativos a la presencia del virus de la peste porcina clásica en poblaciones de cerdos vacunados con ese tipo de vacunas.

El procedimiento de muestreo y análisis de la población de cerdos vacunados antes de levantar las restricciones aplicables a la zona vacunada conforme a lo establecido en el artículo 19 de la Directiva 2001/89/CE dependerá de la edad y la categoría (de engorde, reproductores o destinados al sacrificio) de los animales vacunados y del grado de seguridad deseado por lo que respecta a la ausencia del virus en la población.

Así pues, los pormenores relativos a dicho procedimiento deberán recogerse en el plan de vacunación de urgencia que debe presentarse a la Comisión de conformidad con el apartado 3 del artículo 19 de la Directiva 2001/89/CE.

▼B

CAPÍTULO IX

Requisitos mínimos de seguridad de los laboratorios de peste porcina clásica

1. Los requisitos mínimos establecidos en el cuadro 1 deben cumplirse en todos los laboratorios en que se manipule el virus de la peste porcina clásica, incluso aunque sea en pequeñas cantidades, como exigen las pruebas de neutralización y aislamiento del virus. Sin embargo, las autopsias, el tratamiento de tejidos para la prueba de inmunofluorescencia y la serología con antígeno inactivado podrán llevarse a cabo con un nivel inferior de contención, siempre que se apliquen una normas higiénicas básicas y se proceda a la desinfección tras las actividades, con la eliminación segura de los tejidos y sueros.

2. Los requisitos adicionales establecidos en el cuadro 1 deben cumplirse en todos los laboratorios en que las actividades impliquen la multiplicación del virus a gran escala.

3. Los requisitos establecidos en el cuadro 2 deben cumplirse en todos los laboratorios en que se realicen pruebas con animales en que se manipule el virus de la peste porcina clásica.

4. En cualquier caso, todas las existencias de virus de la peste porcina clásica se mantendrán en lugar seguro, sea congeladas o liofilizadas. Se recomienda que los congeladores y frigoríficos no se utilicen para virus distintos del de la peste porcina clásica ni para materiales que no estén relacionados con el diagnóstico de la peste porcina clásica. Cada una de las ampollas debe estar rotulada claramente, y se llevarán registros completos de las existencias de virus junto con las fechas y resultados de las comprobaciones del control de calidad. Se llevarán asimismo registros de los virus añadidos a las existencias, con datos sobre su origen, y de los virus enviados a otros laboratorios.

▼B

5. Se recomienda que la unidad biosegura de trabajo con el virus de la peste porcina clásica cuente con zonas auxiliares en que no se manipule el virus de la peste porcina clásica. Se deberá disponer de dichas zonas para la preparación del material de vidrio y de los medios de cultivo, el mantenimiento y la preparación de cultivos celulares no infectados, el tratamiento de sueros y las pruebas serológicas (que no utilicen virus vivos de la peste porcina clásica), así como labores administrativas.

Cuadro 1

Principios de contención biológica apropiada para los laboratorios de diagnóstico

	Requisitos adicionales	Requisitos mínimos
Entorno general	Presión atmosférica normal Doble filtración HEPA a la salida del aire Salas especiales, utilizadas exclusivamente para el diagnóstico de la peste porcina clásica	Presión atmosférica normal Salas especiales limitadas a procedimientos definidos
Vestimenta de laboratorio	Cambio completo de ropa a la entrada Vestimenta de laboratorio utilizado sólo en la unidad de virus de la peste porcina clásica Guantes desechables para todas las manipulaciones de material infectado Vestimenta esterilizada antes de sacarla de la unidad, o lavada dentro de ella	Vestimenta exterior especial utilizada sólo en la unidad de virus de la peste porcina clásica Guantes desechables para todas las manipulaciones de material infectado Vestimenta exterior esterilizada antes de sacarla de la unidad, o lavada dentro de ella
Control del personal	Entrada a la unidad permitida sólo a personal designado y formado Lavado y desinfección de manos al salir de la unidad No se permite que el personal se acerque a los cerdos durante las 48 horas siguientes a la salida de la unidad	Entrada a la unidad permitida sólo a personal designado y formado Lavado y desinfección de manos al salir de la unidad No se permite que el personal se acerque a los cerdos durante las 48 horas siguientes a la salida de la unidad
Equipo	Campana de seguridad biológica (clase I o II) utilizada para todas las manipulaciones de virus vivos. La campana debe disponer de doble filtración HEPA a la salida del aire Todo el equipo necesario para las actividades del laboratorio debe estar disponible en la zona especial del laboratorio	

Cuadro 2

Requisitos de bioseguridad para los locales de los animales de laboratorio

	Requisitos
Entorno general	Ventilación controlada con presión negativa Doble filtración HEPA a la salida del aire Instalación de fumigación o desinfección completa al final de la prueba Tratamiento térmico o químico de todos los efluentes para inactivar el virus de la peste porcina clásica

▼B

	Requisitos
Vestimenta de laboratorio	Cambio completo de ropa a la entrada Guantes desechables para todas las manipulaciones Vestimenta esterilizada antes de sacarla de la unidad, o lavada dentro de ella
Control del personal	Entrada a la unidad permitida sólo a personal designado y formado Ducha completa a la salida de la unidad No se permite que el personal se acerque a los cerdos durante las 48 horas siguientes a la salida de la unidad
Equipo	Todo el equipo necesario para las actividades con animales debe estar disponible en la unidad Todos los materiales deben esterilizarse al sacarlos de la unidad o, en caso de muestras de animales, ponerse con un doble envoltorio dentro de un envase estanco cuya superficie se desinfecte para el transporte al laboratorio de peste porcina clásica
Animales	Todos los animales han de sacrificarse antes de salir de la unidad, las autopsias deben llevarse a cabo dentro de la zona de bioseguridad y los cuerpos han de incinerarse al término del examen