Tämä asiakirja on ainoastaan dokumentointitarkoituksiin. Toimielimet eivät vastaa sen sisällöstä.

►**B**

KOMISSION PÄÄTÖS,

tehty 1 päivänä helmikuuta 2002,

klassisen sikaruton toteamisessa käytettäviä diagnostisia menettelyjä, näytteenottomenetelmiä ja laboratoriotestien tulosten arviointikriteereitä koskevan taudinmäärityskäsikirjan hyväksymisestä

(tiedoksiannettu numerolla K(2002) 381)

(ETA:n kannalta merkityksellinen teksti)

(2002/106/EY)

(EYVL L 39, 9.2.2002, s. 71)

Muutettu:

		virallinen lehti		
		N:o	sivu	päivämäärä
►**M1**	Komission päätös 2003/859/EY, tehty 5 päivänä joulukuuta 2003	L 324	55	11.12.2003

▼B

KOMISSION PÄÄTÖS,

tehty 1 päivänä helmikuuta 2002,

klassisen sikaruton toteamisessa käytettäviä diagnostisia menettelyjä, näytteenottomenetelmiä ja laboratoriotestien tulosten arviointikriteereitä koskevan taudinmääritys käsikirjan hyväksymisestä

(tiedoksiannettu numerolla K(2002) 381)

(ETA:n kannalta merkityksellinen teksti)

(2002/106/EY)

EUROOPAN YHTEISÖJEN KOMISSIO, joka

ottaa huomioon Euroopan yhteisön perustamissopimuksen,

ottaa huomioon yhteisön toimenpiteistä klassisen sikaruton torjumiseksi 23 päivänä lokakuuta 2001 annetun neuvoston direktiivin 2001/89/EY ([1]), ja erityisesti sen 17 artiklan 3 kohdan ja 29 artiklan 1 kohdan,

sekä katsoo seuraavaa:

(1) On tarpeen säätää yhteisön tasolla diagnostisista menettelyistä, näytteenottomenetelmistä ja laboratoriotestien tulosten arviointikriteereistä klassisen sikaruton toteamiseksi.

(2) Direktiivin 2001/89/EY liitteessä IV säädetään yhteisön klassisen sikaruton vertailulaboratorion tehtävistä ja velvollisuuksista yhteensovittaa, yhteistyössä komission kanssa, jäsenvaltioissa käytettäviä menetelmiä tämän taudin diagnosoinnissa. Näihin tehtäviin ja velvollisuuksiin kuuluu säännöllisten vertailukokeiden järjestäminen ja standardireagenssien toimitus yhteisön tasolla.

(3) Klassisen sikaruton ei katsota vaarantavan ihmisten terveyttä.

(4) Viime aikoina on kehitetty laboratoriotestejä, joilla varmistetaan klassisen sikaruton nopea diagnoosi.

(5) Klassisen sikaruton valvonnasta viime vuosina saatujen kokemusten ansiosta on voitu määritellä sopivimmat näytteenottomenetelmät ja laboratoriotestien tulosten arviointikriteerit tämän taudin oikean diagnoosin tekemiseksi eri tilanteissa.

(6) Tässä päätöksessä säädetyt toimenpiteet ovat pysyvän eläinlääkintäkomitean lausunnon mukaiset,

ON TEHNYT TÄMÄN PÄÄTÖKSEN:

1 artikla

1. Jäsenvaltioiden on varmistettava, että klassisen sikaruton vahvistaminen perustuu

a) taudin kliinisten oireiden ja kuolemanjälkeisten muutosten havaitsemiseen,

b) viruksen, antigeenin tai genomin havaitsemiseen sian kudos-, elin-, veri- tai ulostenäytteistä,

c) spesifisen antigeenivasteen havaitsemiseen verinäytteessä,

tämän päätöksen liitteenä olevassa käsikirjassa säädettyjen menettelyjen, näytteenottomenetelmien ja laboratoriotestien tulosten arviointikriteerien mukaisesti.

2. Direktiivin 2001/89/EY liitteessä III olevassa 1 kohdassa tarkoitetut kansalliset diagnostiset laboratoriot voivat kuitenkin tehdä muutoksia tämän päätöksen liitteenä olevassa käsikirjassa tarkoitet-

([1]) EYVL L 316, 1.12.2001, s. 5.

▼B

tuihin laboratoriotesteihin tai käyttää eri testejä edellyttäen, että voidaan osoittaa vastaava herkkyys ja spesifisyys.

Klassisesta sikarutosta vastaavan yhteisön vertailulaboratorion on arvioitava näiden muutettujen tai eri testien herkkyys ja spesifisyys säännöllisin vertailukokein.

2 artikla

Yhteisön toimenpiteistä klassisen sikaruton torjumiseksi 22 päivänä tammikuuta 1980 annetun neuvoston direktiivin 80/217/ETY ([1]), sellaisena kuin se on viimeksi muutettuna Itävallan, Suomen ja Ruotsin liittymisasiakirjalla, liitteet I ja IV kumotaan tällä päätöksellä.

3 artikla

Tätä päätöstä sovelletaan 1 päivästä marraskuuta 2002.

4 artikla

Tämä päätös on osoitettu kaikille jäsenvaltioille.

([1]) EYVL L 47, 21.2.1980, s. 11.

▼B

LIITE

KLASSISEN SIKARUTON TAUDINMÄÄRITYKSEN KÄSIKIRJA

I LUKU

Johdanto, tavoitteet ja määritelmät

1. Klassisen sikaruton diagnosointimenettelyjen yhdenmukaisuuden varmistamiseksi tässä käsikirjassa

   a) annetaan ohjeet ja vähimmäisvaatimukset klassisen sikaruton asianmukaiseksi määrittämiseksi tehtävistä diagnostisista menettelyistä, näytteenottomenetelmistä sekä kriteereistä arvioida kliinisiä tutkimuksia ja *post mortem* -tutkimuksia sekä laboratoriotestejä ([1]);

   b) vahvistetaan bioturvallisuuden vähimmäisvaatimukset ja laatustandardit, joita on noudatettava klassisen sikaruton diagnosoinnista vastaavissa laboratorioissa ja näytteiden kuljetuksessa;

   c) määritellään klassisen sikaruton diagnosoinnissa käytettävät laboratoriokokeet ja klassisen sikaruton viruseristysten geneettisessä tyypityksessä käytettävät laboratoriotekniikat.

2. Tämä käsikirja on tarkoitettu ensisijaisesti klassisen sikaruton torjunnasta vastaavien viranomaisten käyttöön. Tämän vuoksi pääpaino on laboratoriotestien periaatteissa ja soveltamisessa sekä koetulosten arvioinnissa eikä yksityiskohtaisissa laboratoriomenetelmäohjeissa.

3. Tässä käsikirjassa käytetään direktiivin 2001/89/EY 2 artiklassa tarkoitettujen määritelmien lisäksi seuraavia määritelmiä:

   a) ’epäillyllä tilalla’ tarkoitetaan mitä tahansa sikatilaa, jonka yhden tai useamman sian epäillään saaneen klassisen sikaruttovirustartunnan, tai direktiivin 2001/89/EY 2 artiklan v alakohdassa määriteltyä kontaktitilaa;

   b) ’yksittäisellä reagoijalla’ tarkoitetaan yksittäistä sikaa, jonka klassisen sikaruton serologisten testien tulos on positiivinen, mutta jolla ei ole ollut yhteyttä klassiseen sikaruttovirukseen, ja jonka ei ole todettu levittäneen tautia muihin sikoihin ([2]);

   c) ”epidemiologisella alayksiköllä” tai ’alayksiköllä’ tarkoitetaan rakennusta, paikkaa tai läheistä maa-aluetta, jossa tilan sikaryhmiä pidetään siten, että ne ovat säännöllisesti suorassa tai epäsuorassa kosketuksessa toisiinsa, mutta samalla eristettyinä muista saman tilan sioista;

   d) ’kontaktisioilla’ tarkoitetaan sikoja, jotka ovat olleet tilalla viimeisten 21 päivän aikana suorassa kosketuksessa sellaisen yhden tai useamman sian kanssa, jonka epäillään saaneen klassisen sikaruttovirustartunnan.

II LUKU

Kuvaus klassisesta sikarutosta ja erotusdiagnostiikka taudinmäärityksessä

A. **Johdanto**

1. Klassisen sikaruton aiheuttaa vaipallinen RNA-virus, joka kuuluu *Flaviviridae*-heimon *Pestivirus*-sukuun. Tämä virus on sukua märehtijöiden pestiviruksille, jotka aiheuttavat naudan tarttuvaa virusripulia (BVDV) ja lampaiden border-tautia (BDV). Tämä sukulaisuussuhde vaikeuttaa taudinmääritystä, koska mahdolliset ristireaktiot saattavat aiheuttaa laboratoriotesteissä virheellisiä positiivisia tuloksia.

2. Klassinen sikaruttovirus on suhteellisen kestävä tartunnan saaneiden sikojen kosteissa ulosteissa, sikojen ruhoissa ja tuoreessa sianlihassa sekä joissakin sianlihatuotteissa. Virus on helppo inaktivoida puhdistusaineilla, rasvaliuottimilla, proteaaseilla ja tavanomaisilla desinfiointiaineilla.

3. Tauti tarttuu yleensä nenän ja suun kautta eläinten joutuessa suoraan tai epäsuoraan kosketukseen tartunnan saaneisiin sikoihin tai viruksen saastuttaman rehun välityksellä. Alueilla, joilla on korkea sikatiheys, virus

([1]) Määriteltäessä laboratoriotestejä varten otettavien näytteiden määrää on otettava huomioon myös käytettävien testien herkkyys. Niiden eläinten määrän, joista näytteitä otetaan, on oltava suurempi kuin tässä käsikirjassa ilmoitettu määrä, mikäli käytettävä testi ei ole kovin herkkä.

([2]) Yksittäisten reagoijien virusta tuhoavien vasta-aineiden määrä voi vaihdella rajatapauksista (yleisin tilanne) vahvasti positiiviseen. Uuden näytteenoton yhteydessä yksittäisten reagoijien vasta-aineiden määrä voi olla vähenevä tai sama. Yleensä vain muutama karjan sioista saa tällaisen väärän positiivisen tuloksen.

▼B

leviää helposti toistensa lähellä olevien sikatilojen välillä. Tauti saattaa levitä myös tartunnan saaneiden karjujen siemennesteen välityksellä.

4. Itämisaika on yksittäisissä eläimissä viikosta kymmeneen päivään. Käytännön olosuhteissa kliiniset oireet saattavat kuitenkin ilmetä tilalla vasta 2—4 viikkoa viruksen tarttumisen jälkeen tai vielä tätä myöhemminkin, jos tartunnan saaneet siat ovat kaikki täysikasvuisia tai jos kyseinen viruskanta on lievä.

5. Klassisen sikaruton kliiniset oireet vaihtelevat erittäin paljon, ja ne sekoitetaan helposti moniin muihin sairauksiin. Oireiden vakavuus riippuu pääasiassa eläimen iästä ja viruksen virulenssista. Yleensä nuoret eläimet sairastuvat vakavammin kuin vanhemmat eläimet. Vanhemmilla sioilla tauti on usein lievä tai jopa piilevä.

6. Klassinen sikarutto voi esiintyä akuutissa ja kroonisessa muodossa sekä kohdunsisäisenä infektiona.

B. **Akuutti muoto**

1. Klassisen sikaruton akuutti muoto esiintyy useimmiten vasta vieroitetuissa porsaissa ja lihotussioissa. Taudin ensimmäiset oireet ovat ruokahaluttomuus, uneliaisuus, kuume, sidekalvontulehdus, turvonneet imusolmukkeet, hengitystieoireet ja ummetus, joka muuttuu ripuliksi.

   Taudille ominaisia verenpurkaumia on tavallisesti korvissa, saparossa, vatsassa ja raajojen sisäpuolella tartunnan jälkeisistä toisesta ja kolmannesta viikosta kuolemaan asti. Neurologiset oireet, kuten takaraajojen kankeus, liikkeiden koordinoinnin heikentyminen ja kouristukset, ovat yleisiä.

   Jatkuvasti ilmenevänä oireena on kuume. Kuumetta on yleensä yli 40 ºC; mutta täysikasvuisilla eläimillä kuume ei välttämättä ylitä 39,5 ºC:ta.

2. Klassinen sikaruttovirus aiheuttaa vakavaa leukopeniaa ja vastustuskyvyn heikkenemistä, mikä johtaa usein toissijaisiin suoliston ja hengityselinten tulehduksiin. Näiden toissijaisten tulehdusten oireet voivat peittää klassisen sikaruton tavallisimmat oireet tai olla päällekkäisiä niiden kanssa. Tämä saattaa johtaa kasvattajaa tai eläinlääkäriä harhaan taudinmäärityksessä.

   Tavallisesti kuolemat tapahtuvat kuukauden kuluessa. Vasta-aineiden tuottamisen myötä tapahtuu myös toipumisia, useimmiten sellaisten täysikasvuisten eläinten kohdalla, joilla ei ole vakavia kliinisiä oireita. Klassisen sikaruton vasta-aineet ovat osoitettavissa 2—3 viikon kuluttua tartunnasta.

3. *Post mortem* -tarkastuksessa havaittavat patologiset muutokset todetaan useimmiten imusolmukkeissa ja munuaisissa. Imusolmukkeet ovat paisuneet, ödeemiset, ja niissä on verenpurkaumia. Munuaisten verenpurkaumien koko saattaa vaihdella tuskin nähtävissä olevista pienistä verenpurkaumista mustelmiin. Samanlaisia verenpurkaumia voi olla myös virtsarakossa, kurkunpäässä, kurkunkannessa ja sydämessä sekä joskus laajalti vatsan ja rinnan herakalvojen päällä. Usein todetaan myös märkimätön aivotulehdus. Lisäksi saattaa ilmetä toissijaisten tulehdusten aiheuttamia muutoksia, jotka saattavat johtaa eläinlääkäriä harhaan. Pernassa saattaa olla patognomisia veritulppia, mutta ne ovat epätavallisia.

4. Yleensä akuutti afrikkalainen sikarutto muistuttaa kliinisesti ja patologisesti hyvin paljon klassista sikaruttoa. Kun eläimen iholla ja korvissa on selvästi havaittavia verenpurkaumia, on syytä epäillä akuuttia afrikkalaista sikaruttoa tai klassista sikaruttoa. Samanlaisia muutoksia aiheuttavat vain harvat muut sairaudet.

   Akuuttia klassista sikaruttoa on epäiltävä myös silloin, kun epäillään sikaruusua, PRRS:ää (sian sinikorvatauti), kumariinimyrkytystä, purpura haemorragica -oireita, PMWS-syndroomaa (porsaiden circovirus 2 -infektio), PDNS-syndroomaa, *Salmonella*- tai *Pasteurella*-tartuntaa tai mitä tahansa kuumeista suolisto- tai hengityselinsairautta, johon antibioottihoito ei tehoa.

5. Klassista sikaruttovirusta erittyy sylkeen, virtsaan ja ulosteisiin kliinisten oireiden alkamisesta kuolemaan asti. Klassinen sikaruttovirus voi levitä myös siemennesteen välityksellä.

C. **Krooninen muoto**

1. Sairaus muuttuu krooniseksi, kun siat eivät pysty kehittämään riittävän voimakasta immuunivastetta klassiseen sikaruttovirukseen. Kroonisen taudin ensioireet muistuttavat akuutin taudin oireita. Myöhemmin esiintyy

▼B

pääasiassa epämääräisiä oireita, kuten kuumeilua, kroonista suolistotulehdusta ja laihtumista. Taudille tyypillisiä verenpurkaumia iholla ei ole.

Tällaisilla sioilla voi olla taudin kliinisiä oireita 2—3 kuukauden ajan ennen kuolemaansa. Klassista sikaruttovirusta erittyy jatkuvasti kliinisten oireiden alkamisesta kuolemaan asti. Seeruminäytteissä saattaa ajoittain näkyä vasta-aineita.

2. Patologiset muutokset eivät ole tyypillisiä, erityisesti elinten ja herakalvojen verenpurkaumia ei yleensä havaita. Kroonisesta ripulista kärsivillä eläimillä on usein nekroottisia muutoksia ileumissa, ohut- ja umpisuolen yhtymäkohdassa sekä peräsuolessa.

3. Koska klassisen sikaruton kroonisen muodon kliiniset oireet ovat melko epämääräisiä, erotusdiagnoosissa on otettava huomioon monien muiden sairauksien mahdollisuus. Kaikkien eläinten ruumiinlämpö ei välttämättä nouse, mutta ainakin joillakin tartunnan saaneen tilan sioilla voidaan todeta kuumetta.

D. **Kohdunsisäinen infektio ja taudin myöhäinen ilmeneminen**

1. Klassinen sikaruttovirus läpäisee tiineiden eläinten istukan ja tartuttaa sikiöt. Emakoissa tauti on kuitenkin usein piilevänä.

Istukan kautta tarttuvan infektion voimakkuus määräytyy pääasiassa tiineyden vaiheen ja viruksen virulenssin mukaan. Tiineyden alkuvaiheessa saatu tartunta saattaa johtaa tiineyden keskeytymiseen, tai sikiöt syntyvät kuolleina, muumioituneina ja epämuodostuneina. Kaikki nämä tekijät laskevat tilan hedelmällisyysindeksiä.

Jos emakko saa tartunnan ennen kuin tiineys on kestänyt 90 päivää, syntyvät porsaat saattavat erittää virusta pysyvästi, jolloin ne ovat kliinisesti normaaleja syntyessään ja pysyvät elossa monta kuukautta. Syntymän jälkeen porsaiden kasvu saattaa olla heikkoa, ne voivat laihtua tai niillä voi olla synnynnäistä vapinaa. Tällaista taudinkulkua sanotaan ”klassisen sikaruton myöhäiseksi ilmenemiseksi”. Taudin tätä muotoa sairastavilla porsailla saattaa olla keskeinen osa taudin leviämisen ja viruksen säilymisen kannalta, koska porsaat erittävät virusta eläinkantaan kuolemaansa asti.

2. Klassisen sikaruton havaitseminen voi olla erityisen vaikeaa porsastuotantotiloilla, koska tauti voi esiintyä hyvin lievänä ja oireet on helppo sekoittaa moniin muihin sairauksiin. Klassinen sikarutto kuten myös parvovirusinfektio, PRRS-syndrooma, leptospiroosi tai Aujeszkyn tauti voivat alentaa hedelmällisyyttä tai johtaa luomisiin. Klassisen sikaruttotartunnan vuoksi luotua materiaa ei voida erottaa selvästi muiden taudinaiheuttajien vuoksi tapahtuneista luomisista.

Jos epäillään tartuntaa synnytyskanavassa, klassisen sikaruton mahdollisuus on tutkittava välittömästi, mikäli kyseisen tilan voidaan katsoa olevan alttiina tartunnalle (esimerkiksi jos tila sijaitsee alueella, jonka luonnonvaraisissa sioissa on klassista sikaruttoa), ja joka tapauksessa viimeistään silloin, kun yleisempien synnytyskanavan tartuntatautien mahdollisuus on suljettu pois.

III LUKU

Ohjeet tärkeimmistä huomioon otettavista kriteereistä tutkittaessa, onko tilalla syytä epäillä klassista sikaruttoa

Päätös siitä, epäilläänkö tilalla klassista sikaruttoa, tehdään seuraavien löydösten, kriteerien ja perusteiden pohjalta:

a) kliiniset ja patologiset löydökset sioista. Tärkeimmät huomioon otettavat kliiniset ja patologiset löydökset ovat seuraavat:

— kuume, johon liittyy lisääntynyt sairastumistiheys ja kuolleisuus,

— kuume, johon liittyy verenvuotoa,

— kuume, johon liittyy neurologisia oireita,

— tuntemattomasta syystä aiheutuva kuume, johon antibioottihoito ei auta,

— luomiset ja lisääntyneet hedelmällisyysongelmat viimeisten kolmen kuukauden aikana,

— porsaiden synnynnäinen vapina,

— kroonisesti sairaat eläimet,

— nuorten eläinten hidastunut kasvu (kitukasvuisuus, rääpäleporsaat),

— pienet verenpurkaumat ja mustelmat, erityisesti imusolmukkeissa, munuaisissa, pernassa, virtsarakossa ja kurkunpäässä,

— veritulpat tai hematoomat, erityisesti pernassa,

▼B

— paksusuolen nappimaiset haavaumat kroonisissa tapauksissa, erityisesti ohut- ja umpisuolen yhtymäkohdan lähellä;

b) epidemiologiset löydökset. Tärkeimmät huomioon otettavat epidemiologiset löydökset ovat seuraavat:

— siat ovat olleet suorassa tai epäsuorassa kosketuksessa sikatilaan, jolla todistetusti esiintyy klassista sikaruttoa,

— tila on myynyt sikoja, joiden on myöhemmin todettu sairastuneen klassiseen sikaruttoon,

— emakoita on keinosiemennetty epäillystä toimituslähteestä peräisin olevalla siemennesteellä,

— siat ovat olleet epäsuorassa tai suorassa kosketuksessa sellaisen luonnonvaraisen sikakannan kanssa, jossa esiintyy klassista sikaruttoa,

— sikoja pidetään ulkona alueella, jonka luonnonvaraisissa sioissa esiintyy klassista sikaruttoa,

— sioille on syötetty ruokajätettä, jota ei ehkä ole käsitelty asianmukaisesti klassisen sikaruttoviruksen tuhoamiseksi,

— tila on saattanut altistua tartunnalle, esimerkiksi tilalle tulevien henkilöiden tai kuljetusten kautta jne;

c) serologisten kokeiden tuloksiin liittyvät löydökset. Tärkeimmät huomioon otettavat laboratoriolöydökset ovat seuraavat:

— huomaamatta jääneen klassisen sikaruttotartunnan tai rokotuksen aiheuttama serologinen reaktio ([1]),

— klassisen sikaruton ja muiden pestivirusten vasta-aineiden välinen ristireaktio ([2]),

— yksittäisten reagoijien havaitseminen ([3]).

IV LUKU

Tarkastus- ja näytteenottomenettelyt

A. **Ohjeet ja menettelyt epäiltyjen tilojen sikojen kliinistä tutkimusta ja näytteenottoa varten**

1. Jäsenvaltioiden on varmistettava, että epäillyillä tiloilla suoritetaan asianmukaiset kliiniset tarkastukset, näytteiden otto ja laboratoriotutkimukset klassisen sikaruton esiintymisen varmistamiseksi tai poissulkemiseksi jäljempänä olevissa alakohdissa 2—7 annettujen ohjeiden ja menettelyjen mukaisesti.

   Riippumatta siitä, onko kyseisellä tilalla toteutettu direktiivin 2001/89/EY 4 artiklan 2 kohdassa tarkoitetut toimenpiteet, näitä ohjeita ja menettelyjä on sovellettava myös aina kun klassinen sikarutto on yhtenä osana erotusdiagnoosia. Tämä koskee myös tilanteita, joissa klassisen sikaruton esiintymisen todennäköisyys on havaittujen kliinisten oireiden ja taudin epidemiologisen kulun perusteella hyvin pieni.

   Kaikissa muissa tapauksissa, joissa yhden tai useamman sian epäillään saaneen klassisen sikaruttovirustartunnan, direktiivin 2001/89/EY 4 artiklan 2 kohdassa tarkoitetut toimenpiteet on toteutettava kyseisellä epäilyllä tilalla.

   Jos klassista sikaruttoa epäillään teurastamossa tai kuljetusvälineessä olevissa sioissa, jäljempänä olevissa kohdissa 2—7 annettuja ohjeita ja menettelyjä on myös sovellettava soveltuvin osin.

2. Kun virkaeläinlääkäri käy epäillyllä tilalla klassisen sikaruton esiintymisen varmistamiseksi tai poissulkemiseksi

   — tilan tuotanto- ja terveystiedot on tarkistettava, jos nämä tiedot ovat käytettävissä,

   — tilan kaikki alayksiköt on tarkastettava kliinisesti tutkittavien sikojen valitsemiseksi.

([1]) Jos siat on rokotettu klassista sikaruttoa vastaan perinteisellä rokotteella, ne voivat olla seropositiivisia pelkästään rokotuksen tai rokotetuissa eläimissä ilmenevän oireettoman tartunnan vuoksi.

([2]) Tietyissä olosuhteissa jopa 10 prosenttia karjan sioista saattaa tuottaa vasta-aineita naudan virusripulia ja lampaiden border-tautia aiheuttaville märehtijöiden pestiviruksille. Näin tapahtuu esimerkiksi silloin, kun siat ovat suorassa kosketuksessa nautoihin tai lampaisiin, joilla on BVD- tai BD-virus, tai kun siat ovat kosketuksessa märehtijöiden pestivirusten saastuttaman aineksen kanssa.

([3]) Kaikissa nykyisissä klassisen sikaruton serologisissa testeissä pieni osa seerumeista antaa virheellisen positiivisen tuloksen joko järjestelmän epätarkkuuden tai yksittäisten reagoijien seerumin vuoksi.

▼B

Kliiniseen tutkimukseen on sisällyttävä ruumiinlämmön mittaus, jonka ensisijaisina kohteina ovat seuraavanlaiset siat tai sikaryhmät:

— sairaat tai ruokahaluttomat siat,

— äskettäin sairaudesta toipuneet siat,

— siat, jotka on äskettäin tuotu tilalle paikoista, joissa taudinpurkaus on varmistettu, tai joiden lähtöpaikka on muutoin epäilyksen alainen,

— sellaisissa tilan alayksiköissä pidetyt siat, joissa on äskettäin käynyt ulkopuolisia vierailijoita, jotka ovat puolestaan olleet äskettäin läheisessä kosketuksessa klassiseen sikaruttoon sairastuneisiin tai mahdollisesti sairastuneisiin sikoihin, tai joilla on ollut muita erityisen riskialttiita yhteyksiä mahdolliseen klassisen sikaruton tautipesäkkeeseen,

— siat, joista on jo otettu näytteet ja jotka on tutkittu serologisesti klassisen sikaruton varalta, mikäli näiden testien perusteella ei voida sulkea pois klassista sikaruttoa, sekä kontaktisiat.

Sen estämättä, mitä direktiivissä 2001/89/EY säädettyjä muita toimenpiteitä kyseisellä tilalla toteutetaan, jos epäillyn tilan tarkastuksessa ei löydy edellä mainitussa alakohdassa tarkoitettuja sikoja tai sikaryhmiä, toimivaltaisen viranomaisen on epidemiologisen tilanteen huomioon ottaen toimittava seuraavasti:

— suoritettava kyseisellä tilalla jatkotutkimuksia jäljempänä olevan 3 kohdan mukaisesti, tai

— varmistettava, että kyseisen tilan sioista otetaan verinäytteitä laboratoriokokeita varten. Tällaisessa tapauksessa sovelletaan 5 kohdassa ja F kohdan 2 alakohdassa tarkoitettuihin näytteenottomenettelyihin liittyviä ohjeita, tai

— sovellettava tai toteutettava edelleen direktiivin 2001/89/EY 4 artiklan 2 kohdassa säädettyjä toimenpiteitä, kunnes kyseisen tilan jatkotutkimukset on suoritettu, tai

— suljettava pois klassisen sikaruton epäily.

3. Tähän kohtaan viitattaessa kliininen tutkimus on tehtävä sattumanvaraisesti valituille sioille kyseisen tilan niissä alayksiköissä, joiden on todettu tai epäillään olleen alttiina klassisen sikaruttoviruksen tartunnalle.

Tutkittavien sikojen vähimmäismäärän näissä alayksiköissä on oltava sellainen, että kuumeen 10 %:n esiintyvyys voidaan todeta 95 %:n varmuudella.

Jos kyseessä on kuitenkin

— tuotantoemakot, tutkittavien emakoiden vähimmäismäärän on oltava sellainen, että kuumeen 5 %:n esiintyvyys voidaan todeta 95 %:n varmuudella;

— keinosiemennysasema, kaikki karjut on tutkittava.

4. Jos epäillyltä tilalta löydetään kuolleita tai kuolevia sikoja, on suoritettava *post mortem* -tarkastus mieluiten vähintään viidelle näistä sioista, ja erityisesti sioille:

— joilla on ollut ennen kuolemaa tai on parhaillaan taudin selviä oireita,

— joilla on korkea kuume,

— jotka ovat kuolleet äskettäin.

Jos näissä tutkimuksissa ei ole ilmennyt klassiseen sikaruttoon viittaavia muutoksia, mutta lisätutkimukset katsotaan epidemiologisen tilanteen vuoksi tarpeellisiksi, on otettava huomioon seuraavaa:

— siinä tilan alayksikössä, jossa kuolleita tai kuolevia sikoja pidettiin, on suoritettava 3 kohdan mukainen kliininen tutkimus ja otettava 5 kohdan mukaiset verinäytteet, ja

— *post mortem* -tarkastus voidaan suorittaa 3—4 kontaktisialle.

Riippumatta siitä, onko klassiseen sikaruttoon viittaavia muutoksia havaittu, niiltä sioilta, joille on tehty *post mortem* -tarkastus, on otettava elin- tai kudosnäyte virologisia testejä varten V luvun B kohdan 1 alakohdan mukaisesti. Nämä näytteet on otettava mieluiten äskettäin kuolleista sioista.

Post mortem -tarkastuksia suoritettaessa toimivaltaisen viranomaisen on varmistettava, että

— taudin leviämisen ehkäisemiseksi toteutetaan tarvittavat varo- ja hygieniatoimenpiteet, ja

— kuolevat siat lopetetaan eläinsuojelullisesti hyväksyttävällä tavalla neuvoston direktiivin 93/119/ETY säännösten mukaisesti.

▼B

5. Jos epäillyllä tilalla havaitaan muita klassiseen sikaruttoon viittaavia kliinisiä oireita tai muutoksia, mutta toimivaltainen viranomainen katsoo, että nämä löydökset eivät ole riittäviä klassisen sikaruton esiintymisen varmistamiseksi ja että laboratoriotestit ovat tämän vuoksi tarpeen, epäillyistä sioista ja muista sioista jokaisessa alayksikössä, joissa epäiltyjä sikoja pidetään, on otettava verinäytteet laboratoriotestejä varten jäljempänä esitettävien menettelyjen mukaisesti.

   Serologisia testejä varten otettavien näytteiden vähimmäismäärän on oltava sellainen, että taudin 10 prosentin serologinen esiintyvyys voidaan havaita 95 prosentin varmuudella kyseisessä alayksikössä.

   Jos kyseessä on kuitenkin

   — tuotantoemakot, niiden emakoiden vähimmäismäärän, joista näytteitä otetaan, on oltava sellainen, että voidaan todeta 5 %:n seropositiivisuuden esiintyminen 95 %:n varmuudella ([1]),

   — keinosiemennysasema, verinäytteitä on otettava kaikista karjuista.

   Virologisia testejä varten otettavien näytteiden määrän on oltava toimivaltaisen viranomaisen ohjeiden mukainen. Viranomainen ottaa huomioon testien valikoiman, jotka voidaan toteuttaa, käytettävien laboratoriotestien herkkyyden ja epidemiologisen tilanteen.

6. Jos klassisen sikaruton epäily kyseisellä tilalla liittyy aiempien serologisten testien tuloksiin, 2 kohdan toisen alakohdan viidennessä luetelmakohdassa tarkoitetuista sioista otettavien verinäytteiden lisäksi on noudatettava seuraavia menettelyjä:

   a) Jos seropositiiviset siat ovat tiineitä emakoita, osa niistä, mieluiten vähintään kolme, lopetetaan ja niille tehdään *post mortem* -tarkastus. Ennen lopettamista on otettava verinäyte myöhempiä serologisia testejä varten. Sikiöistä tutkitaan klassinen sikaruttovirus, antigeeni tai genomi VI luvun mukaisesti sen selvittämiseksi, ovatko ne infektoituneet kohdussa.

   b) Jos seropositiiviset siat ovat porsaita imettäviä emakoita, kaikista porsaista on otettava verinäytteet ja näytteistä tutkitaan klassinen sikaruttovirus, antigeeni tai genomi VI luvussa tarkoitetulla tavalla. Myös emakoista on otettava verinäytteet myöhempiä serologisia testejä varten.

7. Jos epäillyn tilan sioilla ei havaita tutkimuksessa klassiseen sikaruttoon viittaavia kliinisiä oireita tai muutoksia, mutta toimivaltainen viranomainen pitää useampia laboratoriokokeita tarpeellisina klassisen sikaruton poissulkemiseksi, 5 kohdassa määriteltyjä näytteenottomenettelyjä käytetään ohjeistuksena.

B. **Näytteenottomenettelyt tilalla, jonka siat lopetetaan, kun tauti on todettu**

1. Kun tilan sikoja lopetetaan taudinpurkauksen toteamisen jälkeen direktiivin 2001/89/EY 5 artiklan 1 kohdan a alakohdan mukaisesti, niistä on otettava pistokokeina verinäytteitä serologisia testejä varten, jotta voidaan määrittää klassisen sikaruttoviruksen kulkeutumistapa tartuntatilalle sekä sen kulkeutumisesta kulunut aika.

2. Tutkittavien sikojen vähimmäismäärän tilan jokaisessa alayksikössä on oltava sellainen, että voidaan havaita 10 %:n seropositiivisuuden esiintyminen 95 %:n varmuudella ([2]).

   Virologisia testejä varten voidaan ottaa näytteitä myös noudattamalla toimivaltaisen viranomaisen ohjeita. Viranomainen ottaa huomioon testien valikoiman, jotka voidaan toteuttaa, käytettävien laboratoriotestien herkkyyden ja epidemiologisen tilanteen.

3. Myöhemmissä taudinpurkauksissa toimivaltainen viranomainen voi kuitenkin poiketa edellä olevien 1 ja 2 kohdan määräyksistä ja ottaa käyttöön erityisiä näytteenottomenettelyjä ottamalla huomioon jo käytettävissä olevat epidemiologiset tiedot viruksen alkuperästä ja kulkeutumistavasta tilalle sekä taudin mahdollisesta leviämisestä tilan ulkopuolelle.

([1]) Tietyissä tapauksissa, esimerkiksi silloin, kun klassista sikaruttoa epäillään tilalla, jossa on pieni määrä nuoria sikoja, tartunnan saaneiden emakoiden osuus voi olla hyvin pieni. Tällaisissa tapauksissa näytteitä on otettava suuremmasta emakkomäärästä.

([2]) Jos direktiivin 2001/89/EY 6 artiklan 1 kohdan poikkeusta on sovellettu, näytteet on otettava sen tilan alayksikön sioista, jonka sikoja on lopetettu, rajoittamatta kuitenkaan tilan jäljellä oleville sioille suoritettavia lisätarkastuksia ja näytteenottoa, jotka suoritetaan toimivaltaisen viranomaisen ohjeiden mukaisesti.

▼B

C. **Näytteenottomenettelyt teurastettaessa epäillyn tilan sikoja ennalta ehkäisevänä toimenpiteenä**

1. Kun epäillyn tilan sikoja teurastetaan ennalta ehkäisevänä toimenpiteenä direktiivin 2001/89/EY 4 artiklan 3 kohdan a alakohdan tai 7 artiklan 2 kohdan mukaisesti, on otettava verinäytteitä serologisia testejä varten ja veri- tai tonsillanäytteitä virologisia testejä varten 2 kohdassa mainitun menettelyn mukaisesti klassisen sikaruton esiintymisen varmistamiseksi tai poissulkemiseksi tai epidemiologisten lisätietojen keräämiseksi.

2. Näytteitä on otettava ensisijaisesti

— sioista, joiden oireet tai kuolemanjälkeiset muutokset viittaavat klassiseen sikaruttoon, sekä näiden kanssa kontaktissa olleista sioista,

— muista sioista, joilla on saattanut olla altistavia kontakteja tartunnan saaneisiin tai mahdollisesti tartunnan saaneisiin sikoihin tai joiden epäillään saaneen klassisen sikaruttoviruksen.

Näistä sioista on otettava näytteet toimivaltaisen viranomaisen ohjeiden mukaisesti. Viranomainen ottaa epidemiologisen tilanteen huomioon. Tällaisessa tapauksessa noudatetaan ohjeistuksena jäljempänä olevia toisessa, kolmannessa ja neljännessä alakohdassa mainittuja näytteenottomenettelyjä.

Lisäksi tilan kunkin alayksikön sioista on otettava näytteitä pistokokeina ([1]). Tällaisessa tapauksessa serologisia testejä varten otettavien näytteiden vähimmäismäärän on oltava sellainen, että kyseisessä alayksikössä voidaan todeta 10 %:n seropositiivisuuden esiintyminen 95 %:n varmuudella.

Jos kyseessä on kuitenkin

— tuotantoemakot, niiden emakoiden vähimmäismäärän, joista näytteitä otetaan, on oltava sellainen, että voidaan todeta 5 %:n seropositiivisuuden esiintyminen 95 %:n varmuudella ([2]),

— keinosiemennysasema, verinäytteitä on otettava kaikista karjuista.

Virologisia testejä varten otettavien näytteiden tyypin ja käytettävän testin on oltava toimivaltaisen viranomaisen ohjeiden mukaisia. Viranomainen ottaa huomioon testit, jotka voidaan toteuttaa, näiden testien herkkyyden ja epidemiologisen tilanteen.

D. **Tarkastus- ja näytteenottomenettelyt ennen kuin saadaan lupa siirtää sikoja pois suoja- tai valvontavyöhykkeillä olevilta tiloilta ja silloin, kun nämä siat teurastetaan tai lopetetaan**

1. Sen estämättä, mitä direktiivin 2001/89/EY 11 artiklan 1 kohdan f alakohdan toisessa luetelmakohdassa säädetään, jotta voidaan myöntää lupa sikojen siirtämiselle pois suoja- ja valvontavyöhykkeiltä mainitun direktiivin 10 artiklan 3 kohdan mukaisesti, virkaeläinlääkärin suorittama kliininen tutkimus

— on suoritettava sikojen siirtoa edeltävien 24 tunnin aikana,

— on suoritettava A kohdan 2 alakohdan määräysten mukaisesti.

2. Jos sikoja siirretään toiselle tilalle, sioille on suoritettava edellä mainitun 1 kohdan mukaisten tutkimusten lisäksi kliininen tutkimus sen tilan jokaisessa alayksikössä, jossa siirrettäviä sikoja pidetään. Jos siat ovat yli kolmen tai neljän kuukauden ikäisiä, osalta sioista on myös mitattava ruumiinlämpö tutkimuksen yhteydessä.

Tutkittavien sikojen vähimmäismäärän näissä alayksiköissä on oltava sellainen, että voidaan todeta kuumeen 10 %:n esiintyvyys 95 %:n varmuudella.

Jos kyseessä on kuitenkin

— tuotantoemakot, tutkittavien emakoiden vähimmäismäärän niissä alayksiköissä, joissa siirrettäviä emakoita pidetään, on oltava sellainen, että voidaan todeta kuumeen 5 %:n esiintyvyys 95 %:n varmuudella,

([1]) Jos toimivaltainen viranomainen on kuitenkin rajoittanut ennalta ehkäisevän tappamisen direktiivin 2001/89/EY 4 artiklan 3 kohdan a alakohdan mukaisesti vain tilan siihen osaan, jonka sikojen epäillään saaneen klassisen sikaruttoviruksen, näytteitä on otettava tilan sen alayksikön sioista, jossa tätä toimenpidettä on sovellettu, sanotun kuitenkaan rajoittamatta tilan muille sioille suoritettavia lisätutkimuksia ja näytteenottoa, jotka suoritetaan toimivaltaisen viranomaisen ohjeiden mukaisesti.

([2]) Tietyissä tapauksissa, esimerkiksi silloin, kun klassista sikaruttoa epäillään tilalla, jossa on pieni määrä nuoria sikoja, tartunnan saaneiden emakoiden osuus voi olla hyvin pieni. Tällaisissa tapauksissa näytteitä on otettava suuremmasta emakkomäärästä.

▼B

— karju, kaikki siirrettävät karjut on tutkittava.

3. Jos sikoja siirretään teurastamoon, prosessointilaitokseen tai muuhun paikkaan teurastettaviksi tai lopetettaviksi, sioille on suoritettava edellä mainitun 1 kohdan mukaisten tutkimusten lisäksi kliininen tutkimus jokaisessa alayksikössä, jossa siirrettäviä sikoja pidetään. Jos siat ovat yli kolmen tai neljän kuukauden ikäisiä, osalta sioista on myös mitattava ruumiinlämpö tutkimuksen yhteydessä.

   Tutkittavien sikojen vähimmäismäärän kyseisessä alayksikössä on oltava sellainen, että voidaan todeta kuumeen 20 %:n esiintyvyys 95 %:n varmuudella.

   Jos kyseessä kuitenkin ovat tuotantoemakot tai karjut, tutkittavien sikojen vähimmäismäärän siinä alayksikössä, jossa siirrettäviä sikoja pidetään, on oltava sellainen, että kuumeen 5 %:n esiintyvyys voidaan todeta 95 %:n varmuudella.

4. Kun 3 kohdassa tarkoitetut siat teurastetaan tai lopetetaan, jokaisen alayksikön, josta sikoja on siirretty, sioista on otettava verinäytteitä serologisia testejä varten tai veri- tai tonsillanäytteitä virologisia testejä varten.

   Otettavien näytteiden vähimmäismäärän jokaisessa alayksikössä on oltava sellainen, että 10 %:n seropositiivisuuden tai viruksen esiintyvyys voidaan todeta 95 %:n varmuudella.

   Jos kyseessä kuitenkin ovat tuotantoemakot tai karjut, tutkittavien sikojen vähimmäismäärän siinä alayksikössä, jossa sikoja oli pidetty, on oltava sellainen, että 5 %:n seropositiivisuuden tai viruksen esiintyvyys voidaan todeta 95 %:n varmuudella.

   Otettavien näytteiden tyypin ja käytettävän testin on oltava toimivaltaisen viranomaisen ohjeiden mukaisia. Viranomainen ottaa huomioon testit, jotka voidaan toteuttaa, näiden testien herkkyyden ja epidemiologisen tilanteen.

5. Jos sikojen teurastuksen tai lopetuksen yhteydessä kuitenkin havaitaan klassiseen sikaruttoon viittaavia kliinisiä oireita tai kuolemanjälkeisiä muutoksia, C kohdassa annettuja näytteenottoa koskevia määräyksiä sovelletaan edellä olevasta 4 kohdasta poiketen.

E. **Tarkastus- ja näytteenottomenettelyt otettaessa sikoja uudelleen tilalle**

1. Kun sikoja tuodaan uudelleen tilalle direktiivin 2001/89/EY 13 artiklan 2 kohdan a alakohdan tai 2 kohdan b alakohdan tai 19 artiklan 8 kohdan toisen alakohdan b alakohdan mukaisesti, on noudatettava seuraavia näytteenottomenettelyjä:

   — jos tilalle tuodaan sentinellisikoja, tilan jokaisessa alayksikössä on otettava verinäytteitä pistokokeina serologisia testejä varten sellaisesta sikamäärästä, että voidaan 10 %:n seropositiivisuuden esiintyvyys todeta 95 %:n varmuudella;

   — jos tila täytetään kokonaan uusilla sioilla, tilan jokaisessa alayksikössä on otettava pistokokeina verinäytteitä serologisia testejä varten sellaisesta sikamäärästä, että voidaan 20 %:n seropositiivisuuden esiintyvyys todeta 95 %:n varmuudella.

   Jos kyseessä ovat tuotantoemakot tai karjut, otettavien näytteiden määrän on oltava sellainen, että 10 %:n seropositiivisuuden esiintyvyys voidaan todeta 95 %:n varmuudella.

2. Kun sikakanta on uusittu, toimivaltaisen viranomaisen on varmistettava, että tilan sikojen sairastuessa tai kuollessa tuntemattomasta syystä kyseiset siat tutkitaan välittömästi klassisen sikaruton varalta. Näitä määräyksiä sovelletaan siihen asti, kunnes direktiivin 2001/89/EY 13 artiklan 2 kohdan a alakohdan toisessa alakohdassa ja 19 artiklan 8 kohdan toisen alakohdan b alakohdan toisessa virkkeessä tarkoitettuja rajoituksia lakataan soveltamasta kyseisen tilan osalta.

F. **Näytteenottomenettelyt suojavyöhykkeellä olevilla tiloilla ennen rajoitusten poistamista**

1. Jotta direktiivin 2001/89/EY 10 artiklassa tarkoitetut toimenpiteet voitaisiin lopettaa suojavyöhykkeellä, kaikilla vyöhykkeen tiloilla on

   — suoritettava kliininen tarkastus A kohdan 2 ja 3 alakohdassa annettujen menettelyjen mukaisesti,

   — otettava verinäytteitä serologisia testejä varten jäljempänä olevan 2 kohdan mukaisesti.

▼B

2. Otettujen verinäytteiden vähimmäismäärän tilan jokaisessa alayksikössä on oltava sellainen, että 10 %:n seropositiivisuuden esiintyvyys voidaan todeta 95 %:n varmuudella.

   Jos kyseessä on kuitenkin

   — tuotantoemakot, otettavien näytteiden vähimmäismäärän on oltava sellainen, että 5 %:n seropositiivisuuden esiintyvyys voidaan todeta 95 %:n varmuudella,

   — keinosiemennysasema, verinäytteitä on otettava kaikista karjuista.

G. **Näytteenottomenettelyt valvontavyöhykkeellä olevilla tiloilla ennen rajoitusten poistamista**

1. Jotta direktiivin 2001/89/EY 11 artiklassa tarkoitetut rajoittavat määräykset voidaan poistaa valvontavyöhykkeellä, vyöhykkeen kaikilla tiloilla on suoritettava A kohdan 2 alakohdan mukainen kliininen tarkastus.

   Lisäksi on otettava verinäytteitä serologisia testejä varten sioista

   — kaikilla tiloilla, joilla ei ole 2—8 kuukauden ikäisiä sikoja,

   — kun toimivaltainen viranomainen epäilee klassisen sikaruttoviruksen saattaneen levitä huomaamattomasti tuotantoemakkojen joukkoon,

   — muilla tiloilla, joilla toimivaltainen viranomainen katsoo näytteenoton tarpeelliseksi,

   — kaikilla keinosiemennysasemilla.

2. Kun verinäytteitä otetaan serologisia testejä varten valvontavyöhykkeellä sijaitsevilla tiloilla, otettavien verinäytteiden määrän on oltava F kohdan 2 alakohdan mukainen. Jos toimivaltainen viranomainen kuitenkin katsoo, että klassinen sikarutto on saattanut levitä huomaamatta tuotantoemakoiden joukossa, näytteitä voidaan ottaa vain niissä alayksiköissä, joissa näitä eläimiä pidetään.

H. **Serologinen valvonta- ja näytteenottomenettelyt alueilla, joiden luonnonvaraisissa sioissa epäillään klassista sikaruttoa tai joiden luonnonvaraisissa sioissa tauti on todettu**

1. Kun luonnonvaraisten sikojen serologista seurantaa tehdään sellaisilla alueilla, joilla klassinen sikarutto on vahvistettu tai sitä epäillään, näytteenoton kohdepopulaation koko ja kohdealue olisi määriteltävä ennalta tarvittavan näytemäärän selvittämiseksi. Näytteiden määrä on laskettava arvioidun elävien eläinten määrän eikä ammuttujen eläinten määrän perusteella.

2. Jos populaation tiheys- ja kokotiedot eivät ole käytettävissä, maantieteellistä näytteenottoaluetta määritettäessä selvitetään alueella jatkuvasti oleskelevien sikojen määrä sekä ne luonnolliset tai keinotekoiset esteet, jotka rajoittavat eläinten laajamittaista ja jatkuvaa liikkumista. Jos tällaisia esteitä ei ole, tai kun kyseessä on suuri alue, näytteenottoalueiksi on suositeltavaa määritellä korkeintaan 200 neliökilometrin suuruisia alueita, joilla elää yleensä 400—1 000 luonnonvaraista sikaa.

3. Niiden sikojen vähimmäismäärän, joista otetaan näytteitä määritellyllä näytteenottoalueella, on oltava sellainen, että 5 %:n seropositiivisuuden esiintyvyys voidaan todeta 95 %:n varmuudella, sanotun kuitenkaan rajoittamatta direktiivin 2001/89/EY 15 artiklan 2 kohdan c alakohdan säännösten soveltamista. Tästä syystä kullakin määritellyllä alueella on otettava näytteet vähintään 59 eläimestä.

   On myös suositeltavaa, että

   — alueilla, joilla metsästyspaine on suurempi ja metsästystä harjoitetaan säännöllisesti tai joilla suoritetaan valikoivaa metsästystä taudin torjumiseksi, noin 50 prosenttia eläimistä, joista näytteitä otetaan, on vähintään kolmen kuukauden ja korkeintaan yhden vuoden ikäisiä, 35 prosenttia puolestaan yhdestä kahteen vuoden ikäisiä ja 15 prosenttia yli kaksivuotiaita,

   — alueilla, joilla metsästyspaine on pieni tai sitä ei ole lainkaan, näytteitä otetaan vähintään 32:sta kunkin kolmen ikäryhmän eläimestä,

   — näytteet otetaan lyhyen ajan kuluessa, mieluiten yhden kuukauden aikana,

   — niiden eläinten ikä, joista näytteitä otetaan, määritetään hampaiden puhkeamisen perusteella.

▼B

4. Ammutuista tai kuolleina löydetyistä luonnonvaraisista sioista on otettava virologisia testejä varten V luvun B kohdan 1 alakohdan mukaiset näytteet.

   Kun ammuttujen luonnonvaraisten sikojen virologinen valvonta katsotaan tarpeelliseksi, se on kohdistettava ensisijaisesti eläimiin, joiden ikä on kolmesta kuukaudesta yhteen vuoteen.

5. Kaikkien laboratorioon lähetettävien näytteiden mukaan on liitettävä direktiivin 2001/89/EY 16 artiklan 3 kohdan 1 alakohdassa tarkoitettu kyselylomake.

V LUKU

Yleiset menettelyt ja kriteerit näytteenottoa ja näytteiden kuljetusta varten

A. **Yleiset menettelyt ja kriteerit**

1. Ennen näytteenottoa saastuneeksi epäillyltä tilalta on laadittava kartta tilasta ja määriteltävä tilan epidemiologiset alayksiköt.

2. Aina, kun katsotaan, että uusintanäytteiden ottaminen saattaa tulla tarpeelliseksi, kaikki siat, joista näytteitä otetaan, on merkittävä yksilöllisesti siten, että niistä on helppo ottaa uusintanäytteet.

3. Serologisia testejä varten tarvittavia näytteitä ei saa ottaa alle kahdeksan viikon ikäisistä porsaista, sanotun kuitenkaan rajoittamatta IV luvun A kohdan 5 alakohdan b alakohdan soveltamista.

4. Kaikkiin laboratorioon lähetettäviin näytteisiin on liitettävä asianmukaiset lomakkeet toimivaltaisen viranomaisen määrittelemien vaatimusten mukaisesti. Näissä lomakkeissa on yksityiskohtaisia taustatietoja niistä sioista, joista näytteitä on otettu, sekä havaituista kliinisistä oireista tai kuolemanjälkeisistä muutoksista.

   Kun kyseessä ovat tiloilla pidetyistä sioista otetut näytteet, on annettava selkeät tiedot sikojen iästä, luokasta ja alkuperätilasta. On suositeltavaa kirjata muistiin jokaisen sian, josta näyte otettu, sijainti tilalla sekä yksilöllinen tunnistemerkki.

B. **Virologisia testejä varten tarvittavien näytteiden kerääminen**

1. Tonsilla-, perna- ja munuaiskudoksista otettavat näytteet soveltuvat parhaiten klassisen sikaruttoviruksen, sen antigeenin tai genomin toteamiseen kuolleista tai lopetetuista sioista. Lisäksi on suotavaa ottaa näytteet kahdesta muusta lymfaattisesta kudoksesta, kuten nielun takaosan, korvasylkirauhasen, leuanalussylkirauhasen tai suoliliepeen imusolmukkeista, sekä ileumista. Jos ruho on autolysoitunut, suositeltava näyte on kokonainen pitkä luu tai rintalasta.

2. Kuumeisista tai taudin muita oireita osoittavista sioista on otettava hyytymättömiä tai hyytyneitä verinäytteitä toimivaltaisen viranomaisen ohjeiden mukaisesti.

3. Sairaiden eläinten osalta suositellaan virologisia testejä. Valvottaessa kliinisesti oireettomia eläimiä virologisista testeistä saatava hyöty on kuitenkin yleensä vähäinen. Jos laajamittaisen näytteenoton tavoitteena on kuitenkin klassisen sikaruttoviruksen toteaminen silloin, kun tauti on sioilla itämisvaiheessa, näytteet kannattaa ottaa tonsillasta.

C. **Näytteiden kuljetus**

1. On suositeltavaa, että kaikki näytteet
   — kuljetetaan ja säilytetään tiiviissä säiliöissä,
   — säilytetään viileässä jääkaappilämpötilassa jäädyttämättä niitä,
   — toimitetaan laboratorioon mahdollisimman pian,
   — säilytetään jäähdytyspussien (ei pelkän jään) avulla viileinä pidettävissä pakkauksissaan;
   — kudos- tai elinnäytteet suljetaan erillisiin muovipusseihin ja merkitään asianmukaisesti nimilapuilla. Tämän jälkeen näytteet on sijoitettava suurempiin, lujiin säiliöihin ja ne on pakattava riittävän imukykyiseen pakkaukseen vaurioiden ja vuotojen estämiseksi,
   — mahdollisuuksien mukaan kuljetetaan pätevän henkilöstön valvonnassa suoraan laboratorioon nopean ja luotettavan kuljetuksen varmistamiseksi.

2. Pakkauksen päälle on merkittävä näkyvästi vastaanottavan laboratorion osoite ja seuraava teksti: Patologisia näytteitä. Helposti pilaantuvaa. Helposti särkyvää. Saa avata vain klassisen sikaruton tutkimuslaboratoriossa.

▼B

3. Vastaanottavalle laboratoriolle on ilmoitettava etukäteen näytteiden saapumisajankohdasta ja -tavasta.

4. Kun näytteitä kuljetetaan lentoteitse yhteisön klassisen sikaruton vertailulaboratorioon ([1]) muista jäsenvaltioista kuin Saksasta tai kolmansista maista, pakkaukseen on tehtävä IATA:n (Kansainvälinen ilmakuljetusliitto) määräysten mukaiset merkinnät.

VI LUKU

Virologisten testien periaatteet ja käyttö sekä tulosten arviointi

A. **Viruksen antigeenien toteaminen**

1. *Immunofluoresenssivärjäys (FAT)*

Kokeen periaatteena on viruksen antigeenien toteaminen sellaisista elimien jääleikkeistä, jotka ovat peräisin sioista, joiden epäillään saaneen klassisen sikaruttoviruksen. Solunsisäinen antigeeni osoitetaan FITC-konjugoidun vasta-aineen avulla. Positiivinen tulos täytyy vahvistaa toistamalla värjäys spesifisen monoklonaalisen vasta-aineen kanssa.

Sopivia elimiä ovat tonsillat, munuaiset, perna, eri imusolmukkeet ja ileum. Jos kyseessä on luonnonvarainen sika, voidaan käyttää myös sivelynäytettä luuydinsoluista, jos mainittuja elimiä ei ole käytettävissä tai ne ovat ehtineet hajota.

Testi voidaan suorittaa yhden päivän aikana. Koska elinnäytteitä voidaan ottaa vain kuolleista eläimistä, niiden käyttö seulonnassa on rajoitettua. Testituloksen luotettavuutta saattaa vähentää epätarkka värjäys, erityisesti silloin, kun merkittävää kokemusta testin suorittamisesta ei ole tai kun testissä käytettävät elimet ovat ehtineet autolysoitua.

2. *ELISA-menetelmä antigeenien toteamista varten*

Viruksen antigeenit osoitetaan erilaisten ELISA-menetelmien avulla. Antigeenien toteamisessa käytettävän ELISA-menetelmän pitää olla niin herkkä, että saadaan positiivinen tulos klassisen sikaruton kliinisistä oireista kärsivistä eläimistä.

ELISA-menetelmien käyttäminen antigeenien osoittamiseen on suositeltavaa silloin, kun kyseessä ovat sellaisten eläinten näytteet, joilla on taudin kliinisiä oireita tai patologisia muutoksia. Menetelmä ei sovi yksittäisten eläinten tutkimiseen. Sopivia näytteitä ovat leukosyytit, seerumi, hyytymätön veri sekä 1 kohdassa tarkoitetut elimet suspensoituina, jotka on otettu sellaisista sioista, joiden epäillään saaneen klassisen sikaruttovirustartunnan ([2]).

ELISA-testi voidaan suorittaa yhden päivän aikana ja voidaan toteuttaa automaattisella laitteistolla. Menetelmän tärkein etu on se, että se mahdollistaa suuren näytemäärän käsittelemisen lyhyessä ajassa. On suositeltavaa käyttää antigeenien toteamiseen sellaisia ELISA-menetelmiä, jotka antavat tyydyttäviä tuloksia vertailumateriaaleilla testattuina. Tällä hetkellä kaikki kaupalliset ELISA-menetelmät eivät ole kuitenkaan niin herkkiä kuin viruksen eristäminen soluviljelmissä, ja niiden herkkyys on huomattavasti parempi porsaiden verinäytteissä kuin täysikasvuisten sikojen verinäytteissä.

B. **Viruksen eristäminen**

1. Viruksen eristäminen perustuu näytemateriaalin inkubointiin sopivissa sikasoluviljelmissä. Jos näytteessä on klassista sikaruttovirusta, virus monistuu soluissa riittävästi, ja se voidaan todeta värjäämällä infektoituneet solut konjugoiduilla vasta-aineilla. Klassisen sikaruton vasta-aineita tarvitaan muiden pestivirusten poissulkemiseksi erotusdiagnoosissa.

2. Suositeltavia näytteitä klassisen sikaruttoviruksen eristämiseen ovat antikoagulanteilla käsitellyistä verinäytteistä otetut leukosyytit, plasma tai kokoveri sekä A kohdan 1 alakohdassa tarkoitetut elimet.

3. Viruksen eristäminen sopii pienen eläinmäärän näytteiden tutkimiseen paremmin kuin joukkoseurantaan. Viruksen eristämisprosessi on työläs, ja tuloksia joudutaan odottamaan vähintään kolme päivää. Kaksi muuta soluviljelyjaksoa saattavat olla tarpeen pienen virusmäärän havaitsemi-

([1]) Yhteisön vertailulaboratoriolla on rajoittamaton lupa vastaanottaa diagnostisia näytteitä ja klassisen sikaruton viruskantoja. Jäljennös tuontiluvasta voidaan pyytää tältä laboratoriolta ennen kuljetusta ja kiinnittää pakkauksen ulkopuolelle kirjekuoressa.

([2]) Markkinoilla on useita klassisen sikaruton antigeenien toteamiseen tarkoitettuja ELISA-menetelmiä, jotka ovat soveltuvia useilla näytetyypeillä.

▼B

seksi näytteestä. Tutkimusaika saattaa tämän vuoksi olla jopa 10 päivää ennen lopullisten tulosten saamista. Autolysoituneilla näytteillä saattaa olla sytotoksisia vaikutuksia soluviljelmään, mikä rajoittaa soluviljelmän käyttöä.

4. Virus on syytä eristää myös silloin, kun klassinen sikarutto on jo todettu muilla menetelmillä. Viruksen eristämistä on käytettävä varmistamaan aiempien antigeenien toteamiseen käytettävien ELISA-, PCR- tai FAT-menetelmien sekä epäsuorien peroksidaasivärjäysmenetelmien positiiviset tulokset.

   Tällä tavalla saaduista klassisen sikaruton viruseristyksistä on hyötyä virusten ominaisuuksien selvittämisessä sekä geneettisen tyypityksen ja molekylaarisen epidemiologian kannalta.

5. Primääritaudinpurkausten, luonnonvaraisten sikojen primääritautitapausten tai teurastamossa tai kuljetusvälineessä ilmenneiden tautitapausten yhteydessä todetut kaikki klassisen sikaruton viruskannat on tyypitettävä geneettisesti jäsenvaltioiden kansallisissa vertailulaboratorioissa tai muussa kyseisen jäsenvaltion hyväksymässä laboratoriossa tai yhteisön vertailulaboratoriossa E kohdan mukaisesti.

   Kaikissa tapauksissa nämä viruskannat on lähetettävä viipymättä yhteisön vertailulaboratorioon viruskantojen keräämistä varten.

C. **Viruksen genomin toteaminen**

1. Polymeraasiketjureaktio (PCR) -menetelmää käytetään viruksen genomin toteamiseen veri-, kudos- tai elinnäytteistä. Pienet viruksen RNA:n osat kopioidaan DNA:n osiin, joita lisätään PCR-menetelmällä havaittavaksi määräksi. Koska tämän testin avulla voidaan selvittää vain osa viruksen genomin koostumuksesta, PCR-testi saattaa olla positiivinen, vaikka tarttuvaa virusta ei olisi (esimerkiksi autolysoituneissa kudoksissa tai toipuvista sioista otetuissa näytteissä).

2. PCR-menetelmää voidaan käyttää pienissä näytemäärissä, jotka on valittu huolellisesti sairastuneiksi epäillyistä eläimistä tai abortoituneista sikiöistä otetusta materiaalista. Tämä saattaa olla paras menetelmä tutkittaessa luonnonvaraisten sikojen ruhoja, jos materiaali on ehtinyt autolysoitua eikä viruksen eristäminen ole enää mahdollista sytotoksisuuden vuoksi.

3. Diagnostiseen PCR-tutkimukseen sopivia näytemateriaaleja ovat viruksen eristämisen yhteydessä kuvatut elimet tai hyytymätön veri.

4. PCR-tutkimus voidaan suorittaa 48 tunnin kuluessa. Tutkimuksen suorittaminen edellyttää asianmukaista laboratoriolaitteistoa, erillisiä tiloja ja pätevää henkilöstöä. Menetelmän etuna on se, että tarttuvia viruspartikkeleita ei tarvitse monistaa laboratoriossa. Menetelmä on hyvin herkkä, mutta kontaminaatiot voivat johtaa virheellisiin positiivisiin tuloksiin. Tämän vuoksi tarkat laadunvalvontamenettelyt ovat välttämättömiä. Jotkin menetelmät on tarkoitettu erityisesti pestiviruksen eikä niinkään klassisen sikaruton viruksen tutkimiseen ja edellyttävät varmistustestejä, esimerkiksi PCR-tuotteen sekventointia.

D. **Virologisten testien tulosten arviointi**

1. Virologiset testit ovat välttämättömiä klassisen sikaruton esiintymisen toteamiseksi.

   Virusten eristämistä on pidettävä virologisena vertailutestinä, ja sitä on käytettävä tarvittaessa varmistustestinä. Menetelmän käyttö on erityisen suositeltavaa silloin, kun positiivisiin FAT-, ELISA- tai PCR-tuloksiin ei liity taudin kliinisiä oireita tai muutoksia, sekä kaikissa muissa epäselvissä tapauksissa.

   Klassisen sikaruton primääri taudinpurkaus voidaan kuitenkin vahvistaa, jos kyseessä olevissa sioissa on havaittu taudin kliinisiä oireita tai muutoksia ja vähintään kaksi antigeenin tai genomin osoittamistestiä ovat antaneet positiivisen tuloksen.

   Klassisen sikaruton toissijainen taudinpurkaus voidaan vahvistaa, jos vahvistettuun taudinpurkaukseen tai tautitapaukseen olemassa olevan epidemiologisen yhteyden lisäksi kyseessä olevissa sioissa on havaittu taudin kliinisiä oireita tai muutoksia ja antigeenin tai genomin osoittamistestistä on saatu positiivinen tulos.

   Klassisen sikaruton primääritaudinpurkaus voidaan vahvistaa luonnonvaraisissa sioissa viruksen eristämisen perusteella tai jos vähintään kaksi antigeenin tai genomin osoittamistestiä ovat antaneet positiivisen tuloksen. Myöhemmät luonnonvaraisten sikojen klassisen sikaruton tapaukset, joilla on epidemiologinen yhteys aiemmin vahvistettuihin

▼B

tapauksiin, voidaan vahvistaa, jos antigeenin tai genomin osoittamistestistä on saatu positiivinen tulos.

2. Genomin tai antigeenin osoittamistestin positiivinen tulos klassisen sikaruton osalta edellyttää, että kyseinen testi on suoritettu käyttämällä klassiselle sikaruttovirukselle ominaisia vasta-aineita tai alukkeita. Jos käytetty testi on spesifinen vain pestiviruksille eikä klassiselle sikaruttovirukselle, testi on uusittava käyttäen klassiselle sikarutolle ominaisia reagensseja.

E. **Klassisen sikaruton viruseristysten geneettinen tyypitys**

1. Klassisen sikaruton viruseristysten geneettinen tyypitys suoritetaan määrittämällä nukleotidijakso osassa viruksen genomia, erityisesti tietyissä genomin 5'-pään osissa ja/tai E2-glykoproteiinigeenin osissa. Näiden jaksojen samankaltaisuus aiemmista viruseristyksistä saatujen jaksojen kanssa voi osoittaa, aiheutuiko taudinpurkaus uudesta vai jo tunnistetusta viruskannasta. Tämän tiedon avulla voidaan vahvistaa tai kumota epidemiologisen jäljityksen avulla saadut oletukset tarttumisreiteistä.

   Klassisen sikaruton viruseristysten geneettinen tyypitys on erittäin tärkeää taudin lähteen määrittämisen kannalta. Eri taudinpurkauksista saatujen virusten läheinen suhde ei kuitenkaan ole täysin varma todiste suorasta epidemiologisesta yhteydestä.

2. Jos virusten tyypitystä ei voida suorittaa kansallisessa laboratoriossa tai muussa klassisen sikaruton diagnosoimiseen valtuutetussa laboratoriossa viipymättä, alkuperäinen näyte tai viruseristys on lähetettävä yhteisön vertailulaboratorioon tyypitystä varten mahdollisimman pian.

   Ne klassisen sikaruton viruseristyksien tyypitystä ja sekvenointia koskevat tiedot, jotka klassisen sikaruton diagnosoinnista valtuutetuilla laboratorioilla on käytettävissään, on lähetettävä edelleen yhteisön vertailulaboratorioon, jotta nämä tiedot voidaan syöttää tämän laboratorion ylläpitämään tietokantaan.

   Tietokannan sisältämien tietojen on oltava kaikkien jäsenvaltioiden kansallisten vertailulaboratorioiden käytettävissä. Jos tiedot aiotaan julkaista tieteellisessä julkaisussa, yhteisön vertailulaboratorio takaa tietojen luottamuksellisuuden niiden julkaisemiseen asti, jos kyseinen laboratorio pyytää tätä.

VII LUKU

Serologisten testien periaatteet ja käyttö sekä tulosten arviointi

A. **Perusperiaatteet ja merkitys taudinmäärityksen kannalta**

1. Vasta-aineet voidaan havaita klassisen sikaruttoviruksen saaneiden sikojen seeruminäytteissä yleensä kaksi tai kolme viikkoa tartunnan jälkeen. Taudista toipuneissa sioissa voidaan havaita suojaavia, virusta tuhoavia vasta-aineita usean vuoden ajan tai jopa sian koko loppuelämän ajan. Vasta-aineita voidaan ajoittain havaita myös parantumattomasti sairaissa eläimissä, joiden tauti on terminaalivaiheessa. Joissakin klassisen sikaruton krooniseen muotoon sairastuneissa sioissa saatetaan havaita vasta-aineita muutaman päivän ajan ensimmäisen tartunnan jälkeisen kuukauden lopussa.

   Kohdussa tartunnan saaneet siat saattavat olla sietokykyisiä homologiselle klassisen sikaruton virukselle, eivätkä ne tällöin tuota erityisiä vasta-aineita. Emältä saatuja vasta-aineita voidaan kuitenkin havaita ensimmäisten elinpäivien aikana. Emältä saatujen vasta-aineiden puoliintumisaika on terveissä porsaissa, jotka eivät eritä virusta, noin kaksi viikkoa. Jos klassisen sikaruton vasta-aineita löytyy yli kolmen kuukauden ikäisistä porsaista, ne eivät todennäköisesti ole emältä saatuja.

2. Seerumi- tai plasmanäytteistä tutkitaan klassisen sikaruttoviruksen vasta-aineita klassisen sikaruton diagnosoinnin helpottamiseksi epäillyillä tiloilla, tartunnan keston määrittämiseksi taudin vahvistetun puhkeamisen yhteydessä sekä valvontaa ja seurantaa varten. Serologisten testien hyöty on kuitenkin vähäinen klassisen sikaruton toteamisen kannalta, jos tartunta on tullut tilalle vasta äskettäin.

   Jos seropositiivisia sikoja on vähän ja niiden vasta-aineiden määrä on vähäinen, tartunta saattaa olla tuore (saatu kahdesta neljään viikkoa aikaisemmin). Jos monella sialla on runsaasti vasta-aineita, virus on saattanut kulkeutua tilalle yli kuukautta aikaisemmin. Seropositiivisten sikojen paikka tilalla voi antaa arvokasta tietoa siitä, miten klassinen sikaruttovirus on kulkeutunut tilalle.

▼B

Serologisten kokeiden tulokset on kuitenkin arvioitava oikein ottamalla huomioon kaikki kliiniset, virologiset ja epidemiologiset löydökset, jotka saadaan direktiivin 2001/89/EY 8 artiklan mukaisesti klassisen sikaruton epäilyn poissulkemiseksi tai varmistamiseksi toteutettavien tutkimusten yhteydessä.

B. **Suositeltavat serologiset testit**

1. Virusten neutralisaatiotesti (VNT) ja ELISA ovat sopivimmat testit klassisen sikaruton serologista diagnosointia varten.

   Kansallisten laboratorioiden tekemän serologisen diagnoosin laatu ja tehokkuus on tarkistettava säännöllisesti yhteisön vertailulaboratorion kausittain järjestämän laboratorioiden välisen vertailukokeen avulla. Virusten neutralisaatiotesti perustuu seeruminäytteen vasta-aineiden virusta tuhoavaan ominaisuuteen.

2. Vasta-aineiden määrä ilmoitetaan sen laimennoksen käänteislukuna, joka neutraloi viruksen 50 %:n testikuoppia.

   Vakiomäärä klassisen sikaruton virusta inkuboidaan 37 °C:ssa seerumista tehdyn laimennussarjan kanssa. Seulontaa varten seerumien laimennussuhde on aluksi 1/10. Kun täydellinen titraus on välttämätöntä, seerumista voidaan valmistaa kaksinkertaisia laimennoksia siten, että laimennussuhde on aluksi 1/2 tai 1/5. Kukin laimennos sekoitetaan yhtä suureen määrään virussuspensiota, joka sisältää 100 soluja tartuttavaa yksikköä virusta (TCID 50).

   Inkuboinnin jälkeen seos pipetoidaan soluviljelmiin, joita inkuboidaan kolmesta viiteen päivään. Tämän inkubointiajan jälkeen viljelmät kiinnitetään ja virusten monistuminen infektoituneissa soluissa todetaan immunovärjäysmenetelmällä. Tällöin voidaan käyttää joko neutralointiperoksidaasikonjugaattivärjäys- tai neutralointi-immunofluoresenssivärjäysyhdistelmiä.

   Virusten neutralisaatiotestin tulokset ilmaistaan sen alkulaimennoksen käänteisarvona, jossa puolet viljellyistä soluviljelmistä (50 prosentin päätepiste) ei osoita virusten monistuneen (ei spesifistä värjäytymistä). Kahden laimennostason välinen piste arvioidaan. Lopullinen laimennosjärjestelmä perustuu seerumin todelliseen laimentumiseen neutralointireaktion aikana eli viruksen lisäämisen jälkeen mutta ennen solususpension lisäämistä.

3. Virusten neutralisaatiotesti on herkin ja luotettavin koe klassisen sikaruttoviruksen vasta-aineiden osoittamiseen. Tämän vuoksi sen käyttöä suositellaan sekä yksittäisten eläinten että karjojen serologiseen tutkimukseen. Tällä kokeella saatetaan kuitenkin havaita sioilla ilmenevien märehtijöiden pestivirustartuntojen ristireagoivia vasta-aineita.

   BVD- ja BD-virusten vasta-aineiden osoittamiseen käytettävissä virusten neutralisaatiotesteissä noudatetaan myös edellä mainittuja periaatteita, ja ne suoritetaan klassisen sikaruton erotusdiagnoosia varten.

4. Neutralisaatiotesteissä käytettävien pestiviruskantojen on oltava yhteisön vertailulaboratorion suositusten mukaisia.

5. On myös kehitetty useita spesifisiä monoklonaalisia vasta-aineita käyttäviä ELISA-tekniikoita. Menetelmiä on kahdentyyppisiä: kilpailuun tai estoon perustuvat ELISA-menetelmät ja muut kuin kilpailuun perustuvat ns. suorat ELISA-menetelmät.

   Kilpailuun perustuva eli esto-ELISA perustuu yleensä monoklonaalisiin vasta-aineisiin. Jos seeruminäytteessä on klassisen viruksen vasta-aineita, valikoitujen peroksidaasikonjugoitujen monoklonaalisten vasta-aineiden sitoutuminen viruksen antigeeneihin estyy, mikä johtaa heikentyneeseen reaktioon.

   Muissa kuin kilpailuun perustuvissa ELISA-menetelmissä seerumin vasta-aineiden sitoutuminen antigeeneihin mitataan suoraan käyttämällä peroksidaasikonjugoituja vasta-aineita.

6. Kansallisten laboratorioiden on tarkistettava säännöllisesti ELISA-kokeen kunkin erän herkkyyden ja spesifisyyden taso yhteisön vertailulaboratorion toimittaman vertailuseerumivalikoiman avulla. Tämän valikoiman on sisällettävä

   — niiden sikojen seerumia, joiden klassinen sikaruttovirustartunta on aikaisessa vaiheessa (alle 21 päivää tartunnasta),

   — toipuvien sikojen seerumia (yli 21 päivää tartunnasta),

   — sellaisten sikojen seerumia, joilla on märehtijöiden pestiviruksien aiheuttamia tartuntoja.

▼B

Klassisen sikaruton serologisessa diagnosoinnissa käytettävien ELISA-testien on tunnistettava toipilassikojen kaikki vertailuseerumit. Kaikki vertailuseerumien kanssa saadut tulokset on voitava toistaa. Lisäksi on suositeltavaa, että testien avulla voidaan määrittää kaikki taudin aikaisen vaiheen positiiviset seerumit ja että testit tuottavat vähimmäismäärän ristireaktioita märehtijöiden pestivirustartunnan saaneiden sikojen seerumien kanssa.

Tulokset, jotka saadaan sairauden alkuvaiheessa olevien sikojen vertailuseerumin kanssa, antavat viitteitä ELISAn herkkyydestä.

7. Virusten neutralisaatiotestejä pidetään herkempinä kuin ELISA-testejä, ja ELISA-testejä suositellaankin käytettäviksi kokonaisten karjojen seulontaan. Toisaalta ELISA-testit eivät kuitenkaan edellytä erityistiloja, ja ne voidaan automaattisten järjestelmien ansiosta suorittaa paljon nopeammin kuin virusten neutralisaatiotesti.

   ELISA-testien on varmistettava kaikkien klassisen sikaruttotartuntojen tunnistaminen toipilasvaiheessa, ja testit tuottavat mahdollisimman vähän ristireaktioita märehtijöiden pestivirusten vasta-aineiden kanssa.

C. **Serologisten tulosten tulkinta ja märehtijöiden pestivirusten (BVDV ja BDV) aiheuttamien tautien erotusdiagnoosi**

1. Jos vähintään yhdestä siasta otetussa seeruminäytteessä havaittu klassisen sikaruttoviruksen neutralisoivien vasta-aineiden määrä on yhtä suuri tai suurempi kuin 10 ND_{50} tai sikaryhmästä otettujen seeruminäytteiden ELISA-tulos on positiivinen, direktiivin 2001/89/EY 4 artiklan 2 kohdassa tarkoitettuja toimenpiteitä aletaan välittömästi soveltaa tai niiden soveltamista jatketaan kyseessä olevalla tilalla, sanotun kuitenkaan rajoittamatta direktiivin 2001/89/EY 4 artiklan 3 kohdan a alakohdan tai 7 artiklan 2 kohdan säännösten soveltamista.

   Kyseiseltä tilalta jo kerätyt näytteet on tutkittava uudelleen virusten neutralisaatiotestillä ja neutraloiva tiitteri on määritettävä sekä klassisella sikaruttoviruksella että märehtijöiden pestiviruksella.

2. Jos vertailukokeissa näkyy vasta-aineita märehtijöiden pestiviruksille ja ei lainkaan tai vain vähän (alle kolminkertaisia) klassisen sikaruttoviruksen vasta-aineita, klassisen sikaruton epäily on suljettava pois, elleivät muut syyt edellytä direktiivin 2001/89/EY 4 artiklan 2 kohdassa tarkoitettujen toimenpiteiden soveltamisen jatkamista kyseisellä tilalla.

3. Jos useamman kuin yhden sian virusta tuhoavien vasta-aineiden määrä on vertailukokeissa yhtä suuri tai suurempi kuin 10 ND_{50} ja vasta-aineiden määrä on yhtä suuri tai suurempi kuin muiden pestivirusten vasta-aineiden määrä, toimivaltaisen viranomaisen on varmistettava klassisen sikaruton esiintymisen toteaminen edellyttäen, että kyseessä olevalta tilalta on löydetty epidemiologisia todisteita taudista.

4. Sen estämättä, mitä direktiivin 2001/89/EY 4 artiklan 3 kohdassa säädetään, jos epidemiologisia todisteita taudista ei ole löytynyt tai aiempien testien tulokset ovat epäselviä, viranomaisen on varmistettava, että kyseisellä tilalla toimitaan seuraavasti:

   — direktiivin 2001/89/EY 4 artiklan 2 kohdassa tarkoitettujen toimenpiteiden soveltamista jatketaan,

   — lisätutkimukset suoritetaan mahdollisimman pian klassisen sikaruton esiintymisen varmistamiseksi tai poissulkemiseksi IV luvun mukaisesti.

5. Jos klassisen sikaruton epäilyä ei kuitenkaan voida sulkea pois 4 kohdassa tarkoitettujen lisätutkimusten ja -kokeiden perusteella, tilalta on otettava serologisia testejä varten lisää verinäytteitä, kun aiemmista tutkimuksista on kulunut vähintään kaksi viikkoa.

   Tällöin aiemmin tutkituista sioista otetaan uudet näytteet ja suoritetaan serologinen vertailukoe aiemmin kerättyjen näytteiden kanssa klassisen sikaruttoviruksen tai märehtijöiden pestivirustenmahdollisen serokonversion havaitsemiseksi.

   Jos klassisen sikaruton esiintymistä ei voida näiden lisätutkimusten ja -kokeiden perusteella vahvistaa, direktiivin 2001/89/EY 4 artiklassa tarkoitetut toimenpiteet voidaan lopettaa.

▼M1

VIII LUKU

Erotusdiagnostiikka hätärokotustapauksissa

A. **Perusperiaatteet**

1. Serologinen erotusdiagnostiikka ELISA (jäljempänä 'erotusdiagnostiikka') on käytettävissä niiden sikojen erottamiseksi, jotka on rokotettu merkityillä rokotteilla, joissa on vasta-aineita klassisen sikaruton E2-glykoproteiinille, sellaisista sioista, jotka ovat saaneet klassisen sikaruton luonnonvaraisen virustartunnan. Diagnostiikka on tarkoitettu klassisen sikaruttoviruksen E^{rns}-glykoproteiinin vasta-aineiden jäljittämiseen. Se perustuu periaatteeseen, jonka mukaan merkityillä rokotteilla rokotetut terveet eläimet tuottavat vasta-aineita vain klassisen sikaruttoviruksen E2-glykoproteiinia vastaan, kun taas luontokantavirusinfektion saaneet eläimet reagoivat myös muiden virusten vasta-aineisiin ja tuottavat niitä.

   Tämä erotusdiagnostiikka on herkkä ja spesifinen. ([1]) Sikojen, jotka ovat saaneet muun pestivirustartunnan kuin klassisen sikaruton, kuten BVD-viruksen ja BD-viruksen, testitulos on kuitenkin myös E^{rns}-positiivinen. Diagnostiikan herkkyys ei myöskään ole paras mahdollinen, koska joidenkin merkityllä rokotteella rokotettujen ja sen jälkeen tartunnan saaneiden eläinten testitulos ei aina ole E^{rns}-positiivinen.

   Tätä nykyä saatavilla olevien tietojen perusteella näyttää siltä, että erotusdiagnostiikkaa ei voi luotettavasti käyttää luonnonvaraisen sikakannan seeruminäytteiden tutkimiseen.

2. Erotusdiagnostiikka on nestefaasin estoon perustuva entsyymi-immunologinen testi. Testattavat näytteet sekä määritelty määrä E^{rns}-antigeeniä inkuboidaan mikrotiitterilevyillä, jotka on peitetty monoklonaalisilla anti-E^{rns} -vasta-aineilla. E^{rns}:lle spesifiset vasta-aineet sitoutuvat määriteltyyn määrään E^{rns}-antigeeniä liuoksessa muodostaen antigeeni—vasta-aine -kompleksin, joka ei reagoi mikrotiitterilevyllä anti-E^{rns}-vasta-aineiden kanssa. Levyt pestään sitoutumattoman materiaalin poistamiseksi, ja sen jälkeen lisätään peroksidaasilla leimattu anti-E^{rns}-konjugaatti, joka sitoutuu mikrotiitterilevyn pinnan peittävään vasta-aineeseen kompleksoituneeseen E^{rns}-antigeeniin. Sitoutumaton konjugaatti poistetaan pesemällä, ja lisätään kromogeeniä sisältävä substraatti. Kehittyvä väriaste on käänteisessä suhteessa E^{rns}-spesifisen vasta-aineen määrään. Jos näyte ei sisällä vasta-aineita (negatiivinen näyte), suuri osa lisätystä määritellystä E^{rns}-antigeenin määrästä voi sitoutua anti-E^{rns}-vasta-aineisiin levyn pinnalla, jolloin havaitaan voimakas värireaktio.

   Tulos saadaan vertaamalla testinäytteet sisältävien kuoppien optista tiheyttä negatiiviset ja positiiviset kontrollit sisältävien kuoppien optiseen tiheyteen.

B. **Suuntaviivat erotusdiagnostiikan käytölle sikatiloilla direktiivin 2001/89/EY 19 artiklan mukaisesti merkityillä rokotteilla tehtävän hätärokotuksen yhteydessä**

Erotusdiagnostiikka on tarkoitettu klassisen sikaruttoviruksen esiintymisen tarkistamiseen sioilla, jotka on rokotettu merkityllä rokotteella. Saatavilla olevien tietojen perusteella näyttää siltä, että erotusdiagnostiikkaa voidaan onnistuneesti käyttää tässä tarkoituksessa sikakarjan tarkistamiseen, mutta sen avulla ei voida luotettavasti sulkea pois yksittäisten sikojen klassisen sikaruttovirustartunnan mahdollisuutta. Etenkään erotusdiagnostiikan spesifisyys ei ehkä ole riittävän luotettava merkityllä rokotteella rokotettujen sikojen erottamiseksi tartunnan saaneista sioista täysikasvuisten rokotettujen sikojen tapauksessa. Jos saatu tulos on epäselvä, kyseiset siat on kuitenkin teurastettava tai lopetettava eläinsuojelullisesti hyväksyttävällä tavalla direktiivin 93/119/ETY mukaisesti, ja klassisen sikaruttoviruksen esiintyminen elimissä on testattava. Viruseristys ja PCR-menetelmä ovat tähän tarkoitukseen sopivimmat testit.

Nämä näkökohdat on otettava kaikilta osin huomioon merkityllä rokotteella tehtävää hätärokotusta koskevan strategian suunnittelussa ja sitä seuraavassa klassisen sikaruttovirustutkimuksen tulosten soveltamisessa merkityn rokotteen saaneisiin eläimiin.

Kun on kyse sellaisesta rokotettujen sikojen näytteenotto- ja testausmenettelystä, joka toteutetaan ennen kuin direktiivin 2001/89/EY 19 artiklan mukaiset rokotuksen käyttöalueeseen sovellettavat rajoitukset poistetaan,

([1]) Yhteisön klassisen sikaruton vertailulaboratorion ja kansallisten klassisen sikaruton laboratorioiden tutkimuksen tulosten perusteella erotusdiagnoosin herkkyys on noin 94 % ja spesifisyys noin 98 %.

▼M1

menettelyn on oltava sidoksissa rokotettujen sikojen ikään, luokkaan (lihotus-/teuras-, jalostuseläimet) sekä turvatasoon, joka halutaan saavuttaa sen suhteen, että sioissa ei esiinny virusta.

Näytteenotto- ja testausmenettelyjä koskevia yksityiskohtaisia tietoja on esitettävä hätärokotussuunnitelmassa, joka on toimitettava komissiolle direktiivin 2001/89/ETY 19 artiklan 3 kohdan mukaisesti.

▼B

IX LUKU

Klassisen sikaruton tutkimisesta vastaavien laboratorioiden vähimmäisturvavaatimukset

1. Kaikkien laboratorioiden, joissa käsitellään klassista sikaruttovirusta, vaikka vain pieniäkin määriä, kuten viruksen eristämistestien ja neutralisaatiotestien osalta vaaditaan, on täytettävä taulukossa 1 esitetyt vähimmäisvaatimukset. *Post mortem* -tutkimukset, kudosten käsittely FAT-testejä varten ja inaktivoitua antigeeniä hyödyntävät serologiset testit voidaan kuitenkin suorittaa tiloissa, joiden suojaustaso on alhaisempi, jos toimenpiteiden jälkeen huolehditaan perushygieniasta ja desinfioinnista ja kudokset ja seerumit hävitetään turvallisesti.

2. Kaikkien laboratorioiden, joissa suoritetaan viruksen laajaa lisäystä sisältäviä toimenpiteitä, on täytettävä taulukossa 1 esitetyt lisävaatimukset.

3. Laboratorioiden, joissa suoritetaan eläinkokeita klassisella sikaruttoviruksella, on täytettävä taulukossa 2 esitetyt vaatimukset.

4. Klassisen sikaruttoviruksen varastot on säilytettävä kaikissa tapauksissa turvallisesti joko syväjäädytettyinä tai kylmäkuivattuina. On suositeltavaa, että pakastimissa ja jääkaapeissa ei säilytetä muita viruksia kuin klassista sikaruttovirusta eikä mitään materiaaleja, jotka eivät liity klassisen sikaruton diagnosointiin. Kaikki yksittäiset ampullit on merkittävä selkeästi nimilapuilla, ja virusvarastojen tiedot sekä laatutarkistusten päivämäärät ja tulokset on kirjattava tarkasti muistiin. Kirjanpitoa on pidettävä myös varastoon lisättävistä viruksista mukaan lukien tiedot niiden lähteistä sekä muihin laboratorioihin lähetetyistä viruksista.

5. On suositeltavaa, että klassista sikaruttovirusta käsittelevällä bioturvallisella yksiköllä on käytössään tiloja, joissa ei käsitellä klassista sikaruttovirusta. Tällaisia tiloja tulisi olla etenkin lasiesineiden ja välineiden preparointia, tautivapaiden soluviljelmien ylläpitoa ja valmistusta, seerumien käsittelyä ja serologisten testien (muiden kuin elävää klassisen sikaruton virusta käyttävien menetelmien) suorittamista sekä hallinto- ja toimistotehtäviä varten.

Taulukko 1

Biologisen eristyksen periaatteet diagnostisissa laboratorioissa

	Lisävaatimukset	Vähimmäisvaatimukset
Yleinen ympäristö	Normaali ilmanpaine Kaksinkertainen poistoilman HEPA-filtterisuodatus Pelkästään klassisen sikaruton diagnosointitoimenpiteisiin varatut tilat.	Normaali ilmanpaine. Pelkästään määrättyihin toimenpiteisiin varatut tilat.
Laboratoriovaatetus	Kaikki vaatteet vaihdetaan laboratorioon tultaessa. Laboratoriovaatetusta käytetään ainoastaan klassisen sikaruttoviruksen käsittely-yksikössä. Kertakäyttöiset käsineet aina käsiteltäessä saastunutta materiaalia. Vaatteet steriloidaan ennen niiden vientiä pois yksiköstä tai pestään yksikön sisällä.	Päällysvaatetusta käytetään ainoastaan klassisen sikaruttoviruksen yksikössä. Kertakäyttöiset käsineet aina käsiteltäessä saastunutta materiaalia. Päällysvaatteet steriloidaan ennen niiden vientiä pois yksiköstä tai pestään yksikön sisällä.

▼B

	Lisävaatimukset	Vähimmäisvaatimukset
Henkilöstön valvonta	Yksikköön pääsee vain nimetty, koulutettu henkilöstö. Kädet pestään ja desinfioidaan yksiköstä poistuttaessa. Henkilöstö ei saa mennä sikojen lähelle 48 tuntiin yksiköstä poistumisen jälkeen.	Yksikköön pääsee vain nimetty, koulutettu henkilöstö. Kädet pestään ja desinfioidaan yksiköstä poistuttaessa. Henkilöstö ei saa mennä sikojen lähelle 48 tuntiin yksiköstä poistumisen jälkeen.
Varusteet	Kaikessa elävien virusten käsittelyssä käytetään suojaavaa laminaarivirtauskaappia (luokka I tai II). Kaapissa olisi oltava kaksinkertainen poistoilma HEPA-filtterisuodatus. Kaikkien laboratoriotoimenpiteisiin tarvittavien varusteiden on oltava käytettävissä pelkästään näitä toimenpiteitä varten varatun laboratorioyksikön sisällä.	

Taulukko 2

Bioturvallisuuden vähimmäisvaatimukset koe-eläinhuoneita varten

	Vaatimukset
Yleinen ympäristö	Alipaineilmastointi Kaksinkertainen poistoilman HEPA-filtterisuodatus. Mahdollisuus tilojen täydelliseen kaasutukseen/desinfiointiin kokeen jälkeen. Klassinen sikaruttovirus inaktivoidaan kaikista jätevesistä (kuumentamalla tai kemiallisesti).
Laboratorio-vaatetus	Kaikki vaatteet vaihdetaan laboratorioon tultaessa. Kaikissa toimenpiteissä käytetään kertakäyttöisiä käsineitä. Vaatteet steriloidaan ennen niiden vientiä pois yksiköstä tai pestään yksikön sisällä.
Henkilöstön valvonta	Yksikköön pääsee vain nimetty, koulutettu henkilöstö. Perinpohjainen peseytyminen suihkussa yksiköstä poistuttaessa. Henkilöstö ei saa mennä sikojen lähelle 48 tuntiin yksiköstä poistumisen jälkeen.
Varusteet	Kaikkien eläimille tehtäviin toimenpiteisiin tarvittavien varusteiden on oltava käytettävissä yksikön sisällä. Kaikki materiaalit steriloidaan ennen niiden vientiä pois yksiköstä. Eläinperäiset näytteet kääritään kaksinkertaisiin kääreisiin ennen sulkemista tiiviiseen säiliöön, jonka pinta desinfioidaan, kuljetettavaksi klassisen sikaruton tutkimuksesta vastaavaan laboratorioon.
Eläimet	Kaikki eläimet teurastetaan ennen niiden vientiä pois yksiköstä, *post mortem* -tarkastukset suoritetaan bioturvallisella alueella ja ruhot poltetaan tarkastuksen jälkeen.