Šis dokumentas yra skirtas tik informacijai, ir institucijos nėra teisiškai atsakingos už jo turinį

►**B**

KOMISIJOS SPRENDIMAS

2002 m. vasario 1 d.

patvirtinantis Diagnostinį vadovą, nustatantį klasikinio kiaulių maro patvirtinimo diagnostines procedūras, mėginių ėmimo metodus ir laboratorinių tyrimų vertinimo kriterijus

(pranešta dokumentu Nr. C(2002) 381)

(tekstas svarbus EEE)

(2002/106/EB)

(OL L 39, 9.2.2002, p. 71)

iš dalies keičiamas:

		Oficialusis leidinys		
		Nr.	puslapis	data
►**M1**	Komisijos sprendimas 2003/859/EB, 2003 m. gruodžio 5 d.	L 324	55	11.12.2003

▼B

KOMISIJOS SPRENDIMAS

2002 m. vasario 1 d.

patvirtinantis Diagnostinį vadovą, nustatantį klasikinio kiaulių maro patvirtinimo diagnostines procedūras, mėginių ėmimo metodus ir laboratorinių tyrimų vertinimo kriterijus

(pranešta dokumentu Nr. C(2002) 381)

(tekstas svarbus EEE)

(2002/106/EB)

EUROPOS BENDRIJŲ KOMISIJA,

atsižvelgdama į Europos bendrijos steigimo sutartį,

atsižvelgdama į 2001 m. spalio 23 d. Tarybos direktyvą 2001/89/EB dėl Bendrijos klasikinio kiaulių maro kontrolės priemonių [1], ypač į jos 17 straipsnio 3 dalį ir 29 straipsnio 1 dalį,

kadangi:

(1) Būtina Bendrijos lygiu nustatyti klasikinio kiaulių maro patvirtinimo diagnostines procedūras, mėginių ėmimo metodus ir laboratorinių tyrimų rezultatų vertinimo kriterijus.

(2) Direktyvos 2001/89/EB IV priede yra nustatytos Bendrijos etaloninės laboratorijos klasikiniam kiaulių marui tirti funkcijos ir pareigos, siekiant, pasikonsultavus su Komisija, koordinuoti valstybių narių naudojamus ligos diagnozavimo metodus; šios funkcijos ir pareigos – tai periodiškas lyginamųjų tyrimų organizavimas ir standartinių reagentų pateikimas Bendrijos lygiu.

(3) Nemanoma, kad klasikinio kiaulių maro virusas yra pavojingas žmonių sveikatai.

(4) Neseniai buvo sukurti laboratoriniai tyrimai, užtikrinantys greitą klasikinio kiaulių maro diagnostiką.

(5) Pastaruoju metu kontroliuojant klasikinį kiaulių marą įgyta patirtis leido identifikuoti tinkamiausias mėginių ėmimo procedūras ir laboratorinių tyrimų vertinimo kriterijus, užtikrinančius teisingą šios ligos diagnostiką įvairiose situacijose.

(6) Šiame sprendime numatytos priemonės atitinka Veterinarijos nuolatinio komiteto nuomonę,

PRIĖMĖ ŠĮ SPRENDIMĄ:

1 straipsnis

1. Valstybės narės užtikrina, kad klasikinio kiaulių maro patvirtinamas remiasi:

a) klinikinių simptomų ir ligos pomirtinių pakitimų nustatymu;

b) viruso, antigeno arba genomo nustatymu kiaulės audinių, organų, kraujo ar ekskretų mėginiuose;

c) specifinio antikūno atsako kraujo mėginiuose įrodymu,

laikantis prie šio sprendimo pridedamame Diagnostiniame vadove nustatytų procedūrų, mėginių ėmimo metodų ir laboratorinių tyrimų rezultatų vertinimo kriterijų.

[1] OL L 316, 2001 12 1, p. 5.

▼B

2. Tačiau Direktyvos 2001/89/EB III priedo 1 dalyje minimos nacionalinės diagnostikos laboratorijos gali modifikuoti prie šio sprendimo pridedamame Vadove minimus laboratorinius tyrimus arba naudoti kitokius tyrimus, jei galima įrodyti, kad jie yra tokio pat jautrumo ir specifiškumo.

Tokių modifikuotų arba kitokių tyrimų jautrumas ir specifiškumas turi būti įvertinti remiantis Bendrijos etaloninių laboratorijų periodiškai organizuojamais lyginamaisiais klasikinio kiaulių maro tyrimais.

2 straipsnis

Šiuo sprendimu anuliuojami 1980 m. sausio 22 d. Tarybos direktyvos 80/217/EEB dėl klasikinio kiaulių maro kontrolės priemonių [1] su paskutiniais pakeitimais, padarytais Austrijos, Suomijos ir Švedijos Stojimo aktu, I ir IV priedai.

3 straipsnis

Šis sprendimas taikomas nuo 2002 m. lapkričio 1 d.

4 straipsnis

Šis sprendimas skirtas valstybėms narėms.

[1] OL L 47, 1980 2 21, p. 11.

▼B

PRIEDAS

DIAGNOSTINIS KLASIKINIO KIAULIŲ MARO VADOVAS

I SKYRIUS

Įvadas, tikslai ir sąvokų apibrėžimai

1. Tam, kad klasikiniam kiaulių marui diagnozuoti būtų naudojamos vienodos procedūros, šiame vadove:

   a) pateikiamos rekomendacijos ir minimalūs reikalavimai diagnostinėms procedūroms, mėginių ėmimo metodams bei klinikinių ir pomirtinių tyrimų ir laboratorinių tyrimų rezultatų vertinimo kriterijams, siekiant užtikrinti tinkamą klasikinio kiaulių maro diagnostiką ([1]);

   b) nustatomi minimalūs biologinės saugos reikalavimai ir kokybės standartai, kurių turi laikytis klasikinį kiaulių marą diagnozuojančios laboratorijos ir kurie taikomi mėginių vežimui;

   c) nustatomi laboratoriniai tyrimai klasikiniam kiaulių marui diagnozuoti ir laboratoriniai metodai, naudojami išskirto klasikinio kiaulių maro viruso genetiniam tipizavimui.

2. Šis vadovas yra visų pirma skirtas už klasikinio kiaulių maro kontrolę atsakingoms institucijoms. Todėl pabrėžiami laboratorinių tyrimų ir jų rezultatų vertinimo principai bei taikymas, bet ne išsamūs laboratoriniai metodai.

3. Šiame vadove be Direktyvos 2001/89/EB 2 straipsnyje nurodytų sąvokų apibrėžimų taip pat naudojami šie apibrėžimai:

   a) „įtariamas ūkis“ – tai kiaulių ūkis, kuriame viena arba daugiau kiaulių yra įtariamos užsikrėtusios klasikinio kiaulių maro virusu, arba kontaktinis ūkis, kaip apibrėžta Direktyvos 2001/89/EB 2 straipsnio v punkte;

   b) „pavieniai reaktoriai“ – tai bet kurios kiaulės, kurių serologinio tyrimo dėl klasikinio kiaulių maro rezultatas yra teigiamas, bet apie kurią nėra informacijos, kad ji būtų turėjusi sąlytį su klasikinio kiaulių maro virusu ir nėra jokių infekcijos perdavimo sąlytį turėjusioms kiaulėms įrodymų ([2]);

   c) „epidemiologinė teritorija“ arba „teritorija“ – tai netoliese esantis pastatas, vieta arba žemė, kur laikomos ūkio kiaulės turi dažną tiesioginį arba netiesioginį sąlytį viena su kita, tačiau kol kas laikomos atskirtos nuo kitų tame pačiame ūkyje laikomų kiaulių;

   d) „sąlytį turėjusios kiaulės“ – tai kiaulės, kurios pastaraąsias 21 dieną ūkyje turėjo tiesioginį sąlytį su viena ar daugiau kiaulių, įtariamų užsikrėtusiomis klasikiniu kiaulių virusu.

II SKYRIUS

Klasikinio kiaulių maro aprašymas, pabrėžiant diferencinę diagnozę

A. **Įvadas**

1. Klasikinį kiaulių marą sukelia RNR virusas, priklausantis *flaviviridae* šeimos pestivirusų rūšiai. Šis virusas yra gimininga atrajotojų pestivirusams, kurie sukelia galvijų virusinę diarėją (GVDV) ir pasienio ligą (PLV). Šis giminiškumas turi rimtų diagnostinių pasekmių, kadangi galimos kryžminės reakcijos, dėl kurių gali būti gauti klaidingai teigiami laboratorinių tyrimų rezultatai.

2. Klasikinio kiaulių maro virusas yra santykiškai stabilus drėgnose užsikrėtusių kiaulių išskyrose, kiaulių skerdenoje ir šviežioje kiaulienoje bei kai kuriuose kiaulienos produktuose. Jį gerai inaktyvuoja plovikliai, lipidų tirpikliai, proteazės ir įprastos dezinfekavimo priemonės.

3. Pagrindinis natūralus infekcijos patekimo būdas yra per burną ir nosį esant tiesioginiam arba netiesioginiam sąlyčiui su užsikrėtusiomis kiaulėmis arba šeriant virusu užkrėstais pašarais. Teritorijoje esant dideliam kiaulių populiacijos tankumui, virusas paprastai išplinta į gretimus kiaulių ūkius. Infekcija taip pat gali būti perduodama per užkrėstų kuilių spermą.

([1]) Sprendžiant, kiek laboratoriniam tyrimui imti mėginių, taip pat atsižvelgiama į naudojamų tyrimų jautrumą. Jei naudojamų tyrimų jautrumas nėra labai didelis, mėginiams imti naudojama daugiau gyvulių nei nurodyta šiame vadove.

([2]) Pavieniai reaktoriai gali turėti viruso neutralizavimo antikūnų titrų, svyruojančių nuo tarpinių (tai dažniau pasitaiko) iki tvirtai teigiamų.

▼B

4. Atskirų gyvulių inkubacinis laikotarpis trunka maždaug nuo septynių iki dešimt dienų, tačiau natūraliomis sąlygomis klinikiniai požymiai ūkyje gali išryškėti praėjus nuo dviejų iki keturių savaičių po viruso patekimo arba per dar ilgesnį laiką, jei laikomos tik suaugusios veislinės kiaulės arba pasitaiko vidutinio virulentiškumo viruso padermės.

5. Klinikiniai klasikinio kiaulių maro požymiai yra labai įvairūs, juos galima painioti su daugelio kitų ligų klinikiniais požymiais. Klinikiniai požymiai daugiausiai priklauso nuo gyvulio amžiaus ir viruso virulentiškumo. Paršeliai serga sunkiau nei vyresnės kiaulės. Vyresnės veislinės kiaulės serga lengva arba subklinikine forma.

6. Skiriama ūminė, lėtinė ir prenatalinė klasikinio kiaulių maro forma.

B. **Ūmi ligos eiga**

1. Nujunkyti paršeliai ir penimosios kiaulės dažniausiai patiria ūmią klasikinio kiaulių maro eigą. Pirminiai požymiai – tai anoreksija, letargija, karščiavimas, konjunktyvitas, limfmazgių pabrinkimas, kvėpavimo takų uždegimas ir vidurių užkietėjimas, po kurio prasideda viduriavimas.

   Būdingos kraujosruvos paprastai matomos ant ausų, uodegos, pilvo ir vidinėse kojų pusėse. Jos atsiranda praėjus 2–3 savaitėms nuo užsikrėtimo ir išlieka iki mirties. Dažnai būna neurologinių požymių – kiaulės eidamos svirduliuoja, sutrinka judesių koordinacija ir atsiranda konvulsijos.

   Kiaulės nuolat karščiuoja. Kūno temperatūra paprastai yra didesnė kaip + 40 °C, bet suaugusių kiaulių gali neviršyti + 39,5 °C.

2. Klasikinio kiaulių maro virusas sukelia leukopeniją ir imuninės sistemos nepakankamumą, dėl kurių liga komplikuojasi žarnų arba kvėpavimo takų antrine infekcija. Šių antrinių infekcijų požymiai gali paslėpti arba užgožti tipiškiausius KKM požymius ir suklaidinti ūkininką arba veterinarijos gydytoją.

   Dažniausiai kiaulės nugaišta per vieną mėnesį. Kiaulės gali pasveikti, joms susidaro antikūnai. Dažniausiai pasveiksta suaugusios veislinės kiaulės, kurios neturi ryškių klasikinio kiaulių maro klinikinių požymių. Klasikinio kiaulių maro antikūnus galima nustatyti nuo infekcijos praėjus 2–3 savaitėms.

3. Patologiniai pokyčiai patologinio anatominio tyrimo metu dažniausiai nustatomi limfiniuose mazguose ir inkstuose. Limfiniai mazgai sutinsta, pabrinksta, juose matomi pakraujavimai. Pakraujavimai inkstuose būna įvairaus dydžio – nuo vos matomų taškinių iki echimozinių. Panašūs pakraujavimai gali būti šlapimo pūslėje, ryklėje, antgerklyje ir širdyje, kartais jie būna išplitę pilvaplėvėje ir krūtinplėvėje. Taip pat dažnai būna nepūlinis encefalitas. Taip pat gali būti matomi antrinių infekcijų sukelti pakitimai ir tai gali suklaidinti veterinarijos gydytoją. Infarktas blužnyje laikomas patognominiu požymiu, tačiau jis pasireiškia retai.

4. Ūmi afrikinio kiaulių maro eiga savo klinikiniais požymiais ir patologiniais anatominiais pokyčiais yra labai panaši į klasikinį kiaulių marą. Atsiradę lengvai pastebimi pakraujavimai odoje ir ausų odoje leidžia įtarti afrikinį arba klasikinį kiaulių marą. Panašius pokyčius sukelia nedaugelis kitų ligų.

   Ūmus klasikinis kiaulių maras taip pat turi būti įtartas kiaulėms, įtariamoms, kad serga raudonlige, paršelių reprodukcijos ir kvėpavimo sindromu, kad apsinuodijo kumarinu, hemoragine purpura, nujunkytų paršelių multisisteminiu išsekimo sindromu, paršelių dermatito ir nefropatijos sindromu, salmonelių arba *Pasteurella* bakterijų sukeltomis infekcijomis arba bet kokiu žarnų arba kvėpavimo organų uždegimo sindromu, kai jos karščiuoja ir liga nepasiduoda gydymui antibiotikais.

5. Klasikinio kiaulių maro virusas plinta per seiles, šlapimą ir išmatas nuo pat klinikinių simptomų atsiradimo iki gyvulio nugaišimo. Klasikinio kiaulių maro virusas taip pat gali plisti per spermą.

C. **Lėtinė ligos eiga**

1. Lėtinė KKM eiga išsivysto tada, kai kiaulėms nesusidaro pakankamas imunitetas prieš KKM virusą. Pirminiai lėtinės KKM eigos požymiai yra panašūs į ūmios KKM eigos klinikinius požymius. Vėliau išsivysto nespecifiniai požymiai, pvz.: nepastovus karščiavimas, lėtinis enteritas, liesėjimas. Nebūna būdingų odos pakraujavimų.

▼B

Šioms kiaulėms 2–3 mėnesius iki mirties gali reikštis KKM klinikiniai požymiai. KKM virusas yra nuolat išskiriamas nuo klinikinių požymių pradžios iki mirties. Serumo mėginiuose galima laikinai aptikti antikūnus.

2. Patologiniai pokyčiai yra ne tokie tipiški, gali nebūti pakraujavimų organuose ir serozinėse plėvėse. Nuolat viduriuojančioms kiaulėms nekroziniai pažeidimai atsiranda klubinėje žarnoje, klubinės žarnos perėjime į gaubtinę žarną ir tiesiojoje žarnoje.

3. Kadangi KKM klinikiniai požymiai yra gana netipiški, daugelis kitų kiaulių ligų gali būti įtartos. Kūno temperatūra kiekvienai kiaulei gali nepakilti, tačiau KKM užkrėstame ūkyje karščiuoti gali tik pavienės kiaulės.

D. **Prenatalinė ligos eiga ir vėlyva jos pradžia**

1. Paršavedėms, sergančioms subklinikine forma, KKM virusas gali patekti į placentą ir užkrėsti vaisius.

   Transplacentinio vaisių užsikrėtimo baigtis priklauso nuo paršingumo periodo ir viruso virulentiškumo. Ankstyvo nėštumo periodu infekcija gali sukelti abortą, negyvų paršelių gimimus, mumifikaciją ir išsigimimus. Visa tai mažina kiaulių ūkio produktyvumo rodiklius.

   Paršavedėms, užsikrėtusioms iki 90 paršingumo dienos, gimsta KKM virusą išskiriantys paršeliai, kurie gali gimti kliniškai normalūs ir išgyventi keletą mėnesių. Gimę paršeliai blogai auga, būna išsekę, galimas įgimtas raumenų drebėjimas. Tokia infekcijos eiga vadinama vėlyva KKM pradžia. Tokie paršeliai gali platinti KKM ir išlaikyti virusą kiaulių populiacijoje, kadangi iki mirties jie nuolat išskiria virusą į aplinką.

2. KKM gali būti ypač sunku nustatyti veislinių kiaulių ūkiuose, nes KKM eiga gali būti nebūdinga ir painiojama su kitomis patologinėmis būsenomis. Sumažėjusį produktyvumą ir abortus gali sukelti KKM bei parvovirusinė infekcija, paršelių reprodukcijos ir kvėpavimo sindromas, leptospirozė ir Aujeskio liga. Pagal patologinius pokyčius KKM sukelto aborto negalima atskirti nuo aborto, sukelto kitų ligų.

   Įtarus dauginimosi organų pažeidimą dėl infekcinės ligos, reikia nedelsiant atlikti tyrimą dėl KKM, jeigu kiaulių ūkis yra padidintos rizikos zonoje (pvz., kiaulių ūkis yra teritorijoje, kurioje šernai serga KKM) ir bet kuriuo atveju, kai atmetamos kitos dauginimosi organų infekcinės ligos.

III SKYRIUS

Pagrindiniai kriterijai, kuriais remiantis ūkyje įtariamas klasikinis kiaulių maras

Sprendimas pripažinti ūkį įtariamu ūkiu priimami remiantis šiais duomenimis, kriterijais ir priežastimis:

a) klinikiniai požymiai ir patologiniai pokyčiai. Pagrindiniai klinikiniai požymiai ir patologiniai pokyčiai, į kuriuos reikėtų atsižvelgti, yra šie:

   — karščiavimas ir padidėjęs sergamumas bei gaišimas,

   — karščiavimas ir hemoraginis sindromas,

   — karščiavimas ir nervų sistemos pažeidimo požymiai,

   — neaiškios kilmės karščiavimas, kai gydymas antibiotikais neduoda efekto,

   — paskutinius tris mėnesius pastebimi abortai ir reprodukcijos problemos,

   — įgimtas paršelių raumenų drebėjimas,

   — lėtiniai susirgimai,

   — paršelių sulėtėjęs augimas,

   — taškiniai ir dėminiai pakraujavimai, ypač limfiniuose mazguose, inkstuose, blužnyje, šlapimo pūslėje ir ryklėje,

   — infarktas ar hematomos, ypač blužnyje,

   — apskritos opos storosiose žarnose, ypač aklosios ir klubinės žarnų jungties srityje, lėtiniais KKM eigos atvejais;

b) epidemiologiniai duomenys. Pagrindiniai epidemiologiniai duomenys, į kuriuos reikėtų atsižvelgti, yra šie:

▼B

— jei kiaulės turėjo tiesioginį ar netiesioginį sąlytį su kiaulių ūkiu, kuris jau yra patvirtintas užsikrėtęs klasikiniu kiaulių maru,

— jei ūkis išvežė kiaules, kurioms vėliau buvo nustatytas klasikinis kiaulių maras,

— jei paršavedės buvo apsėklintos sperma, kuri buvo gauta iš įtariamos teritorijos,

— buvo tiesioginių ar netiesioginių kontaktų su šernais, kurių populiacijoje pasitaiko klasikinis kiaulių maras,

— kiaulės laikomos lauke regione, kur šernai yra užsikrėtę klasikiniu kiaulių maru,

— kiaulės buvo šeriamos maisto atliekomis, kurios, kaip įtariama, nebuvo taip apdorotos, kad būtų sunaikintas klasikinio kiaulių maro virusas,

— kiaulės galėjo užsikrėsti KKM nuo asmenų ar transporto priemonių, patekusių į ūkį;

c) duomenys, susiję su serologinių tyrimų rezultatais. Pagrindiniai laboratoriniai duomenys, į kuriuos reikėtų atsižvelgti, yra šie:

— teigiama serologinė reakcija gaunama dėl užsikrėtimo KKM virusu ar kiaulių vakcinacijos ([1]),

— tarp KKM viruso ir kitų pestivirusų nustatomos kryžminės reakcijos ([2]),

— nustatomos pavienės teigiamai reaguojančios kiaulės ([3]).

IV SKYRIUS

Tikrinimo ir mėginių ėmimo procedūros

A. **Kiaulių klinikinio tyrimo ir mėginių ėmimo įtariamuose ūkiuose rekomendacijos ir procedūros**

1. Valstybės narės užtikrina, kad atitinkami klinikiniai tyrimai, mėginių ėmimas ir laboratoriniai tyrimai būtų atliekami įtariamame ūkyje, siekiant patvirtinti ar atmesti KKM, pagal rekomendacijas ir procedūras, nurodytus 2–7 punktuose.

   Nepaisant to, ar tikrinamame ūkyje yra patvirtintos Direktyvos 2001/89/EB 4 straipsnio 2 dalyje minimos priemonės ar ne, tos rekomendacijos ir procedūros taikomos taip pat tais atvejais, kai klasikinis kiaulių maras nustatomas taikant diferencinę diagnozę. Tai tokie atvejai, kai kiaulių klinikiniai požymiai ir epidemiologinis ligos modelis rodo esant nedidelę klasikinio kiaulių viruso paplitimo galimybę.

   Visais kitais atvejais, kai įtariama, kad viena ar daugiau kiaulių užsikrėtė klasikiniu kiaulių maro virusu, įtariamame ūkyje patvirtinamos Direktyvos 2001/89/EB 4 straipsnio 2 dalyje minimos priemonės.

   Įtarus klasikinį kiaulių marą skerdykloje arba transporto priemonėse *mutatis mutandis* taip pat taikomos 2–7 punktuose numatytos rekomendacijos ir procedūros.

2. Kai oficialiai paskirtas veterinarijos gydytojas aplanko įtariamą ūkį, norėdamas patvirtinti arba paneigti klasikinį kiaulių marą, turi būti:

   — atliktas produktyvumo ir sveikatos būklės dokumentų patikrinimas, jeigu tokia dokumentacija saugoma,

   — atliktas kiekvieno ūkio padalinio patikrinimas, norint atrinkti kiaules klinikiniam tyrimui.

   Atliekant klinikinį tyrimą turi būti matuojama kūno temperatūra, ypač tokių kiaulių ar jų grupių:

([1]) Jei kiaulės buvo skiepijamos nuo klasikinio kiaulių maro įprastine vakcina, jos gali būti serologiškai teigiamos vien dėl vakcinos arba dėl slaptos infekcijos paskiepytuose gyvuliuose.

([2]) Tam tikromis aplinkybėmis iki 10 % bandos kiaulių gali turėti atrajotojų pestivirusų, sukeliančių galvijų virusinę diarėją ir pasienio ligą, antikūnų. Pavyzdžiui, jei kiaulės turi tiesioginį sąlytį su galvijų virusine diarėja užsikrėtusiais galvijais arba sienos liga užsikrėtusiomis avimis, arba medžiagomis, užkrėstomis šių atrajotojų pestivirusais.

([3]) Atliekant serologinius KKM tyrimus, nedideliam kiaulių skaičiui gali būti nustatoma klaidinga teigiama serologinė reakcija dėl nepakankamo tyrimo metodo specifiškumo arba dėl pavienių teigiamai reaguojančių kiaulių.

▼B

— sergančių arba anoreksiškų kiaulių,

— neseniai pasveikusių kiaulių,

— kiaulių, neseniai atgabentų iš patvirtintų KKM protrūkių vietų ar iš kitų įtariamų ūkių,

— kiaulių, laikomų padaliniuose, kuriuose neseniai lankėsi pašaliniai asmenys, neseniai turėję artimą kontaktą su KKM įtariamomis ar užsikrėtusiomis kiaulėmis, arba asmenys, kurie kontaktavo su potencialiu KKM šaltiniu,

— kiaulių, kurių mėginiai jau buvo paimti ir serologiškai ištirti dėl KKM ir kurioms pagal tyrimo rezultatus negalima atmesti KKM galimybės, taip pat – kontaktavusių kiaulių.

Jeigu patikrinus įtariamą ūkį nenustatoma kiaulių arba jų grupių, nurodytų ankstesnėje pastraipoje, kompetentinga institucija, nepažeisdama kitų pagal Direktyvą 2001/89/EB tokiame ūkyje taikomų priemonių ir atsižvelgdama į epidemiologinę situaciją, turi:

— įtariamame ūkyje atlikti tyrimus pagal tolesnio 3 punkto reikalavimus,

— užtikrinti, kad kiaulėms, laikomoms įtariamame ūkyje, būtų paimti kraujo mėginiai laboratoriniams tyrimams. Šiuo atveju taikomi F.2 dalies 5 punkte nurodyti mėginių ėmimo reikalavimai,

— įdiegti ar toliau vykdyti priemones, nustatytas Direktyvos 2001/89/EB 4 straipsnio 2 dalyje, kol įtariamame ūkyje nebus atlikti tolesni tyrimai, arba

— paneigti įtarimus apie klasikinį kiaulių marą.

3. Kai nuoroda daroma į šį punktą, klinikinis tyrimas atliekamas grupių, kuriose yra nustatytas ar įtariamas KKM viruso patekimo pavojus, atsitiktinai atrinktoms kiaulėms.

Turi būti tiriamas toks minimalus kiaulių skaičius, kad būtų galima nustatyti 10 % kiaulių karščiavimo paplitimą, esant 95 % pasikliovimo lygiui.

Tačiau:

— veislinių paršavedžių atveju mažiausias tiriamų paršavedžių skaičius turi būti toks, kad būtų galima nustatyti 5 % kiaulių karščiavimo paplitimą, esant 95 % pasikliovimo lygiui,

— spermos surinkimo centruosi tiriami visi kuiliai.

4. Jeigu įtariamame ūkyje yra nugaišusių ar sergančių kiaulių, turi būti atliktas bent penkių kiaulių patologinis anatominis tyrimas, kurios:

— prieš mirtį turėjo ar turi ryškių ligos požymių,

— karščiuoja,

— neseniai nugaišo.

Jeigu tyrimų metu nenustatoma būdingų KKM pokyčių, bet dėl epidemiologinės būklės būtina tęsti tyrimus:

— kiaulių grupėse, kuriose buvo laikomos sergančios ar nugaišusios kiaulės, turi būti atliktas klinikinis tyrimas pagal 3 punktą ir pagal 5 punktą turi būti paimti kraujo mėginiai,

— 3–4 kontaktavusioms kiaulėms turi būti atliktas patologinis anatominis tyrimas.

Neatsižvelgiant į tai, ar buvo nustatyti KKM būdingi patologiniai anatominiai pokyčiai, turi būti imami tirtų kiaulių organų ar audinių mėginiai virusologiniams tyrimams atlikti pagal V straipsnio B.1. dalį. Geria imti neseniai nugaišusių kiaulių mėginius.

Kompetentinga institucija turi užtikrinti, kad atliekant patologinį anatominį tyrimą:

— būtų imamasi būtinų apsaugos ir higienos priemonių ligos plitimui išvengti ir

— sergančios kiaulės būtų humaniškai nužudomos pagal Tarybos direktyvos 93/119/EEB reikalavimus.

▼B

5. Jeigu nustatomi klinikiniai požymiai arba patologiniai anatominiai pokyčiai, pagal kuriuos ūkyje galima įtarti KKM, tačiau kompetentinga įstaiga, kad šių duomenų nepakanka klasikinio kiaulių maro protrūkiui patvirtinti ir reikalingi laboratoriniai tyrimai, imami įtariamų kiaulių ir kitų kiekvienos grupės kiaulių, kurios įtariamos KKM, kraujo mėginiai laboratoriniams tyrimams.

   Minimalus serologiniams tyrimams imamų mėginių skaičius turi būti toks, kad tiriamoje kiaulių grupėje būtų galima nustatyti 10 % serologinį paplitimą, esant 95 % pasikliovimo lygiui.

   Tačiau:

   — veislinių paršavedžių atveju mažiausias paršavedžių, iš kurių imami mėginiai, skaičius turi būti toks, kad būti galima aptikti 5 % serologinį paplitimą, esant 95 % pasikliovimo lygiui ([1]),

   — spermos surinkimo centruose turi būti imami visų kuilių kraujo mėginiai.

   Virusologiniams tyrimams imamų mėginių skaičių nustato kompetentinga institucija, atsižvelgusi į ketinamus atlikti tyrimus, laboratorinio tyrimo metodų jautrumą ir epidemiologinę situaciją.

6. Jeigu KKM įtariama ūkyje pagal anksčiau atliktų serologinių tyrimų rezultatus, turi būti imami 2 punkto antros pastraipos penktoje įtraukoje nurodytų kiaulių kraujo mėginiai ir turi būti taikomos tokios priemonės:

   a) jei serologiškai teigiamos yra paršingos paršavedės, kelios jų (geriausia, kad nemažiau kaip trys) yra neskausmingai nužudomos ir joms atliekamas patologinis anatominis tyrimas. Prieš kiaules nužudant reikia paimti kraujo mėginius serologiniams tyrimams. Embrionai turi būti tiriami dėl KKM viruso, viruso antigeno ar viruso genomo, kaip nurodyta VI skyriuje, kad būtų nustatyta intrauterinė infekcija;

   b) jei serologiškai teigiamos yra paršavedės, turinčios žindomų paršelių, turi būti imami visų paršelių kraujo mėginiai ir tiriami dėl KKM viruso, viruso antigeno ar viruso genomo, kaip nurodyta VI skyriuje. Serologiniams tyrimams imami paršavedžių kraujo mėginiai.

7. Jeigu įtariamame ūkyje atlikus tyrimą neaptinkama KKM klinikinių požymių ar patologinių anatominių pokyčių, bet kompetentinga institucija mano, kad reikia atlikti laboratorinius tyrimus, norint atmesti KKM įtarimą, tyrimai atliekami pagal 5 punktą.

B. **Mėginių ėmimas ūkyje patvirtinus ligą**

1. Norint nustatyti, kaip KKM virusas pateko į užkrėstą ūkį, kuriame KKM protrūkis patvirtintas pagal Direktyvos 2001/89/EB 5 straipsnio 1 dalies a punktą, ir kiek laiko praėjo nuo jo patekimo į ūkį iki jo nustatymo, kiaulės žudomos, o nužudytų kiaulių kraujo mėginiai serologiniams tyrimams imami atsitiktinės atrankos būdu.

2. Minimalus serologiniams tyrimams imamų mėginių skaičius turi būti toks, kad būtų galima nustatyti 10 % serologinį paplitimą, esant 95 % pasikliovimo lygiui ([2]).

   Mėginiai virusologiniams tyrimams gali būti imami pagal kompetentingos institucijos nurodymus, kuri turi atsižvelgti į taikytinus tyrimų metodus, jų jautrumą ir epidemiologinę situaciją.

3. Esant antriniams KKM protrūkiams, kompetentinga institucija gali nuspręsti nukrypti nuo 1 ir 2 punktų ir nustatyti *ad hoc* procedūras, atsižvelgdama į turimą epidemiologinę informaciją apie viruso šaltinį ir jo patekimo į ūkį būdą bei apie potencialų viruso išplitimą iš ūkio.

C. **Mėginių ėmimas ūkyje įtarus ligą**

1. Norint patvirtinti ar paneigti KKM susirgimo galimybę ir surinkti papildomos epidemiologinės informacijos, kiaulės prevencijos tikslu žudomos įtariamame ūkyje pagal Direktyvos 2001/89/EB 4 straipsnio 3 dalies a

([1]) Tuo atveju, kai ūkyje laikoma nedaug jaunų kiaulių ir užsikrėtusių kiaulių gali būti nedaug, kraujo mėginius reikia imti didesniam paršavedžių skaičiui.

([2]) Tačiau, jei taikoma Direktyvos 2001/89/EB 6 straipsnio 1 dalyje numatyta leidžianti nukrypti nuostata, mėginiai turi būti imami iš ūkyje laikomų kiaulių grupių, jei kiaulės žudomos nepažeidžiant reikalavimų dėl tolimesnių tyrimų ir mėginių ėmimo, kurie turi būti atliekami pagal kompetentingos institucijos nurodymus kitoms ūkyje laikomoms kiaulėms.

▼B

punkto ar 7 straipsnio 2 dalies nuostatas arba laikantis 2 pastraipoje nustatytos tvarkos imami kraujo mėginiai serologiniams tyrimams, taip pat kraujo ar migdolinių liaukų mėginiai virusologiniams tyrimams atlikti.

2. Mėginiai pirmiausiai turi būti imami:

— kiaulėms, kurios turi KKM klinikinių požymių arba patologinių anatominių pokyčių, ir su jomis kontaktavusioms kiaulėms,

— kitoms kiaulėms, kurios galėjo turėti pavojingų kontaktų su užsikrėtusiomis ar KKM įtariamomis kiaulėmis, ar KKM įtariamomis kiaulėmis.

Šių kiaulių mėginiai turi būti imami pagal kompetentingos institucijos nurodymus, kuri turi atsižvelgti į epidemiologinę situaciją. Šiuo atveju mėginių ėmimo tvarka, kuri nurodyta antroje, trečioje ir ketvirtoje pastraipose, turi būti naudojama preliminariems rezultatams gauti.

Be to, mėginiai turi būti imami pasirinktinai iš kiekvienos grupės kiaulių ([1]). Šiuo atveju minimalus serologiniams tyrimams imamų mėginių skaičius turi būti toks, kad tiriamoje kiaulių grupėje būtų galima nustatyti 10 % serologinį paplitimą, esant 95 % pasikliovimo lygiui.

Tačiau:

— minimalus ištirtų paršavedžių skaičius turi būti toks, kad būtų galima nustatyti 5 % serologinį paplitimą, esant 95 % pasikliovimo lygiui ([2]),

— spermos surinkimo centruose turi būti imami visų kuilių kraujo mėginiai.

Virusologiniams tyrimams mėginiai imami ir tyrimai atliekami pagal kompetentingos institucijos, kuri atsižvelgia į taikytinus tyrimų metodus, jų jautrumą ir epidemiologinę situaciją, nurodymus.

D. **Tikrinimo ir mėginių ėmimo procedūros prieš leidžiant išvežti kiaules iš apsaugos ar priežiūros zonose esančių ūkių, kai tokios kiaulės yra skerdžiamos arba žudomos**

1. Nepažeidžiant Direktyvos 2001/89/EB 11 straipsnio 1 dalies f punkto antrojo papunkčio nuostatų, norint gauti leidimą perkelti kiaules iš apsaugos ar priežiūros zonose esančių ūkių pagal minėtosios direktyvos 10 straipsnio 3 dalį, oficialiai paskirtas veterinarijos gydytojas turi atlikti klinikinį tyrimą

— per 24 valandų laikotarpį iki kiaulių išgabenimo,

— pagal A.2 dalies nuostatas.

2. Jei kiaulės yra perkeliamos į kitą ūkį neatlikus 1 punkte nurodyto klinikinio tyrimo, kiekvienoje ūkio kiaulių grupėje, į kurią atvežtos kiaulės, turi būti atliktas klinikinis kiaulių tyrimas. Jei kiaulės yra vyresnės nei trijų ar keturių mėnesių, atliekant tyrimą tam tikram kiaulių skaičiui turi būti matuojama kūno temperatūra.

Minimalus tiriamų kiaulių skaičius grupėje turi būti toks, kad būtų galima nustatyti karščiavimą 10 % kiaulių 95 % pasikliovimo lygiui.

Tačiau:

— minimalus ištirtų veislinių paršavedžių skaičius turi būti toks, kad būtų galima nustatyti karščiavimą 5 % atvežtų kiaulių 95 % pasikliovimo lygiui,

— tiriami visi atvežti kuiliai.

3. Jeigu kiaulės išvežamos į skerdyklą, perdirbimo įmonę ar kitą vietą paskersti ar nužudyti neatlikus tyrimų, nurodytų 1 punkte, klinikinis tyrimas turi būti atliktas kiekvienoje kiaulių grupėje, į kurią atvežtos tokios kiaulės. Jei kiaulės yra vyresnės nei trijų ar keturių mėnesių, atlie-

([1]) Tačiau, jei kompetentingos institucijos nurodymu pagal Direktyvos 2001/89/EB 4 straipsnio 3 dalies a punktą kiaulės prevencijos tikslu žudomos tik dalyje ūkio, kuriame laikomos KKM įtariamos kiaulės arba užsikrėtusios kiaulės, mėginiai turi būti imami tose kiaulių grupėse, kuriose jos žudomos, nepažeidžiant likusių ūkio kiaulių tolimesnio tyrimo ir mėginių ėmimo tvarkos, kuri turi būti atliekama pagal kompetentingos institucijos nurodymus.

([2]) Tuo atveju, kai KKM įtariamas ūkyje, kuriame laikoma nedaug jaunų kiaulių ir užsikrėtusių paršavedžių skaičius gali būti nedidelis, tiriama daugiau paršavedžių.

▼B

kant tyrimą tam tikram kiaulių skaičiui turi būti matuojama kūno temperatūra.

Minimalus tiriamų kiaulių skaičius turi būti toks, kad galima būtų nustatyti karščiavimą 20 % kiaulių 95 % pasikliovimo lygiu.

Tačiau minimalus tiriamų paršavedžių ar kuilių skaičius turi būti toks, kad būtų galima nustatyti karščiavimą 5 % kiaulių 95 % pasikliovimo lygiui.

4. Prieš 3 punkte nurodytų kiaulių skerdimą ar žudymą imami visos grupės kiaulių kraujo mėginiai serologiniams tyrimams, taip pat kraujo ar migdolinių liaukų mėginiai virusologiniams tyrimams.

   Minimalus imamų mėginių skaičius turi būti toks, kad būtų galima nustatyti 10 % serologinį paplitimą ar KKM virusą kiaulėms 95 % pasikliovimo lygiu kiekvienoje kiaulių grupėje.

   Tačiau minimalus tiriamų paršavedžių ar kuilių skaičius turi būti toks, kad būtų galima nustatyti 5 % serologinį paplitimą ar KKM virusą 95 % pasikliovimo lygiu kiekvienoje laikomų kiaulių grupėje.

   Mėginiai imami ir tyrimai atliekami pagal kompetentingos institucijos, kuri turi atsižvelgti į naudotinų tyrimų metodus, jų jautrumą ir epidemiologinę situaciją, nurodymus.

5. Tačiau, jei skerdžiant arba žudant kiaules nustatomi klasikinio kiaulių maro klinikiniai požymiai arba patologiniai anatominiai pokyčiai, nukrypstant nuo 4 punkto taikoma mėginių ėmimo tvarka, nurodyta C dalyje.

E. **Tikrinimo ir mėginių ėmimo procedūros ūkyje atnaujinant bandą**

1. Kai ūkyje, kuriame buvo likviduotos kiaulės, norima atnaujinti kiaulių bandą pagal Direktyvos 2001/89/EB 13 straipsnio 2 dalies a arba b punktą ir 19 straipsnio 8 dalies antrosios pastraipos b punktą, turi būti imami mėginiai:

   — kai ūkyje pirmiausiai pradedama laikyti kiaules, neturinčias antikūnų prieš KKM virusą, kraujo mėginiai serologiniam tyrimui turi būti imami pasirinktinai tokiam kiaulių skaičiui, kad būtų galima nustatyti 10 % serologinį paplitimą, esant 95 % pasikliovimo lygiui,

   — kai atkuriama visa banda, kraujo mėginiai serologiniam tyrimui turi būti imami pasirinktinai tokiam kiaulių skaičiui, kad būtų galima nustatyti 20 % serologinį paplitimą, esant 95 % pasikliovimo lygiui.

   Reikia imti tokį veislinių kiaulių ar kuilių mėginių skaičių, kad būtų galima nustatyti 10 % serologinį paplitimą, esant 95 % pasikliovimo lygiui.

2. Atkūrus kiaulių bandą, kompetentinga institucija užtikrina, kad ūkyje susirgusios bet kokia liga ar dėl neaiškių priežasčių nugaišusios kiaulės nedelsiant būtų tiriamos dėl KKM. Šios nuostatos taikomos, kol tokiam ūkiui nepanaikinami Direktyvos 2001/89/EB 13 straipsnio 2 dalies antrosios dalies a punkte ir 19 straipsnio 8 dalies antrosios pastraipos b punkte antrame sakinyje minimi apribojimai.

F. **Mėginių ėmimo procedūros apsaugos zonose esančiuose ūkiuose prieš panaikinant apribojimus**

1. Siekiant, kad visuose apsaugos zonoje esančiuose ūkiuose būtų galima panaikinti Direktyvos 2001/89/EB 10 straipsnyje minimas priemones, turi būti:

   — atliktas klinikinis tyrimas pagal A dalies 2 ir 3 punktuose nustatytas procedūras,

   — paimti kraujo mėginiai serologiniams tyrimams, kaip nurodyta 2 pastraipoje.

2. Minimalus imamų mėginių skaičius turi būti toks, kad būtų galima nustatyti 10 % serologinį paplitimą, esant 95 % pasikliovimo lygiui.

   Tačiau:

   — minimalus ištirtų paršavedžių skaičius turi būti toks, kad būtų galima nustatyti 5 % paplitimą, esant 95 % pasikliovimo lygiui,

   — spermos surinkimo centre kraujo mėginiai turi būti imami visiems kuiliams.

▼B

G. **Mėginių ėmimo procedūra priežiūros zonoje esančiuose ūkiuose prieš panaikinant apribojimus**

1. Siekiant, kad visuose priežiūros zonoje esančiuose ūkiuose būtų galima panaikinti Direktyvos 2001/89/EB 11 straipsnyje minimus apribojimus, turi būti atliktas klinikinis tyrimas A dalies 2 punkte nustatyta tvarka.

   Be to, kraujo mėginiai serologiniams tyrimams turi būti imami kiaulėms:

   — visuose ūkiuose, kuriuose nelaikomos 2–8 mėnesių amžiaus kiaulės,

   — jei kompetentinga institucija mano, kad klasikinis kiaulių maras galėjo nepastebimai išplisti tarp paršavedžių kiaulių,

   — ūkyje, kuriame, kompetentingos institucijos nuomone, reikia imti mėginius,

   — visuose spermos surinkimo centruose.

2. Jeigu priežiūros zonos ūkiuose kiaulėms imami kraujo mėginiai serologiniams tyrimams, turi būti imamas toks mėginių skaičius, kaip nurodyta F dalies 2 punkte. Tačiau jei kompetentinga institucija mano, kad klasikinis kiaulių maras galėjo nepastebimai išplisti tarp paršavedžių kiaulių, mėginius galima imti tik paršavedžių grupių kiaulėms

H. **Serologinė stebėsena ir mėginių ėmimo procedūros teritorijose, kuriose klasikinis kiaulių maras įtariamas arba buvo patvirtintas šernams**

1. Jeigu serologinė stebėsena atliekama tose teritorijose, kur buvo patvirtintas ar įtartas KKM, turi būti nustatytas šernų populiacijos dydis ir geografinė teritorija, kad būtų galima nustatyti, kiek mėginių reikia paimti. Mėginių skaičius nustatomas pagal paskaičiuotą teritorijoje esantį gyvų šernų skaičių.

2. Jeigu nėra duomenų apie šernų populiacijos tankumą ir dydį, reikia nustatyti geografinės teritorijos, kurioje bus imami mėginiai, ribas, atsižvelgiant į joje nuolat gyvenančių šernų skaičių bei į esamus natūralius ar dirbtinius barjerus, kurie gali riboti didelio skaičiaus šernų nuolatinį judėjimą. Netaikant minėtų kriterijų arba jeigu teritorijos yra didelės, rekomenduojama nustatyti ne didesnę kaip 200 kvadratinių kilometrų mėginių ėmimo teritoriją, kurioje paprastai nuolat gyvena 400–1 000 šernų.

3. Nepažeidžiant Direktyvos 2001/89/EB 15 straipsnio 2 dalies nuostatų, minimalus tiriamų šernų skaičius turi būti toks, kad būtų galima nustatyti 5 % serologinį paplitimą 95 % pasikliovimo lygiu. Šiuo tikslu kiekvienoje nustatytoje teritorijoje reikia imti ne mažiau kaip 59 žvėrių mėginius.

   Taip pat rekomenduojama, kad:

   — tose teritorijose, kur medžiojama intensyviai ir reguliariai arba vykdoma atrankinė medžioklė dėl KKM stebėsenos, apie 50 % tiriamų žvėrių būtų nuo 3 mėnesių iki vienerių metų amžiaus, 35 % – nuo vienerių iki dvejų metų ir 15 % – vyresni kaip dvejų metų amžiaus,

   — tose teritorijose, kur medžiojama retai ar visai nemedžiojama, būtų ištirta ne mažiau kaip po 32 kiekvienos iš trijų amžiaus grupės žvėris,

   — mėginiai būtų paimti per trumpą laiką, geriausiai ne ilgiau kaip per vieną mėnesį,

   — tiriamų žvėrių amžius būtų nustatomas pagal dantų prasikalimą.

4. Nušautų ar rastų negyvų šernų mėginiai virusologiniams tyrimams turi būti imami kaip nurodyta V skyriaus B dalies 1 punkte.

   Jeigu reikalinga vykdyti nušautų šernų virusologinę stebėseną, ji turi būti atliekama nuo trijų mėnesių iki vienerių metų amžiaus šernams

5. 5.Prie visų į laboratoriją siunčiamų mėginių turi būti pridėtas Direktyvos 2001/89/EB 16 straipsnio 3 dalies 1 punkte nurodytas klausimynas.

V SKYRIUS

Bendrosios mėginių surinkimo ir vežimo procedūros ir kriterijai

A. **Bendrosios procedūros ir kriterijai**

1. Prieš imant mėginius įtariamame ūkyje, turi būti parengtas ūkio planas ir nustatytos ūkyje laikomų kiaulių grupės.

▼B

2. Jei numatoma imti pakartotinius mėginius, visos kiaulės, iš kurių imami mėginiai, turi būti individualiai paženklinamos taip, kad būtų lengva paimti pakartotinius mėginius.

3. Nepažeidžiant IV skyriaus A dalies 5 punkto b papunkčio, mėginiai seroloiniams tyrimams negali būti imami jaunesniems negu aštuonių savaičių paršeliams.

4. Visi mėginiai turi būti siunčiami į laboratoriją kartu su atitinkamos formos lydraščiais pagal kompetentingos institucijos nustatytus reikalavimus. Šiuose lydraščiuose turi būti duomenys apie tiriamas kiaules bei informacija apie pastebėtus klinikinius požymius ar patologinius anatominius pokyčius.

   Jei kiaulės laikomos ūkyje, turi būti nurodyta informacija apie kiaulių amžių, kategoriją ir kilmės vietą. Rekomenduojama nurodyti kiekvienos kiaulės, kuriai buvo paimtas mėginys, unikalų identifikavimo ženklą.

B. **Mėginių surinkimas virusologiniams tyrimams**

1. Norint nustatyti KKM virusą, viruso antigeną ar genomą nugaišusioms ar nužudytoms kiaulėms, geriausia imti migdolinių liaukų, blužnies ir inkstų audinių mėginius. Be to, rekomenduojama paimti du limfinių mazgų mėginius, pvz.: užryklinio, paausinio, pažandinio ar žarnų pasaito ir klubinės žarnos mėginį. Jeigu lavonai suirę, reikia imti ilgųjų kaulų ir krūtinkaulio mėginius.

2. Apdoroto antikoaguliantu ar sukrešėjusio kraujo mėginiai turi būti imami pagal kompetentingos institucijos nurodymus kiaulėms, kurios karščiuoja ar turi kitų ligos požymių.

3. Virusologinius tyrimus patariama atlikti, jei gyvuliai serga. Virusologiniai tyrimai turi nedidelę vertę, jeigu jie atliekami stebėsenos tikslais kiaulėms ar šernams, neturintiems KKM klinikinių požymių. Jeigu stebėsenos tikslais imamas didelis kiekis kiaulių ar šernų mėginių, norint nustatyti KKM virusą ligos inkubaciniu laikotarpiu, geriausia imti migdolinių liaukų mėginius.

C. **Mėginių vežimas**

1. Rekomenduojama, kad visi mėginiai:

   — būtų vežami ir laikomi vandeniui nepralaidžiuose konteineriuose,

   — būtų neužšaldomi, bet laikomi šaltai,

   — būtų pristatomi į laboratoriją kaip galima greičiau,

   — būtų laikomi tokioje pakuotėje, kurioje reikiamai temperatūrai palaikyti naudojami ledo paketai, o ne šlapias ledas,

   — audinių ar organų mėginiai būtų sudėti į atskirą sandarų plastmasinį maišelį ir tinkamai pažymėti; be to, jie turi būti sudėti į didesnius konteinerius ir supakuoti naudojant pakankamą absorbuojančios medžiagos kiekį nuo pažeidimo apsaugoti ir išskyroms sugerti,

   — kai įmanoma, būtų kompetentingo personalo vežami tiesiai į laboratoriją, kad būtų užtikrintas skubus ir patikimas pristatymas.

2. Ant išorinės pakuotės turi būti nurodytas laboratorijos, į kurią gabenama, adresas bei toks užrašas: Gyvūninė patologinė medžiaga. Neatspari. Trapi. Atidaryti tik klasikinio kiaulių maro kontrolinėje laboratorijoje.

3. Laboratorijai, į kurią siunčiami mėginiai, turi būti iš anksto pranešta apie mėginių atgabenimą, pristatymo laiką ir būdą.

4. Oro transportu pristatant mėginius į Bendrijos etaloninę laboratoriją klasikiniam kiaulių marui tirti ([1]) iš valstybių narių, išskyrus Vokietiją, arba iš trečiųjų šalių, pakuotė turi būti paženklinta pagal Tarptautinės oro transporto asociacijos (IATA) nuostatus.

([1]) Bendrijos etaloninė laboratorija turi neribotą leidimą gauti diagnostinius mėginius ir išskirtus klasikinio kiaulių maro virusus. Prieš gabenimą šios laboratorijos galima paprašyti importo leidimo, kurio kopija, įdėjus į voką, prisegama ant pakuotės.

▼B

VI SKYRIUS

Virusologiniai tyrimai ir jų rezultatų įvertinimas

A. **Viruso antigeno nustatymas**

1. *Fluorescuojančių antikūnų tyrimas (FAT)*

   Tyrimo tikslas – nustatyti viruso antigeną plonuose šaldomuoju mikrotomu atpjautuose organų, paimtų KKM įtariamoms kiaulėms, mėginiuose. Viruso antigenas ląstelėse aptinkamas naudojant FITC konjuguotus antikūnus. Teigiamas rezultatas turėtų būti patvirtinamas pakartojant dažymą, naudojant specifinį monokloninį antikūną.

   Tyrimui tinkamiausi organai yra migdolinės liaukos, inkstai, blužnis, įvairūs limfiniai mazgai ir klubinė žarna. Jeigu tiriant šernus šių organų nėra arba jie suirę, galima naudoti kaulų čiulpų ląstelių tepinėlius.

   Tyrimą galima atlikti per vieną dieną. Kadangi organų mėginius galima gauti tik iš negyvų gyvūnų, šio tyrimo naudojimas stebėsenos tikslais yra ribotas. Tyrimo rezultatų patikimumas sumažėja neteisingai atliekant tyrimą, ypač jeigu trūksta patirties arba kai tiriami organai yra suirę.

2. *IFA antigeno nustatymo metodas*

   Virusinis antigenas nustatomas naudojant įvairius imunofermentinės analizės (toliau – IFA) tyrimo metodus. Antigeno IFA jautrumas turėtų būti pakankamai didelis, kad būtų gaunamas teigiamas tyrimo rezultatas tiriant kiaules, kurios turi klinikinių KKM požymių.

   IFA metodą rekomenduojama naudoti tiriant kiaulių, kurios turėjo KKM klinikinių požymių arba patologinių anatominių pokyčių, mėginius. Atskirų gyvūnų tyrimui IFA netinka. IFA tyrimui tinkamiausi yra leukocitų, serumo, nesukrešėjusio kraujo, taip pat organų, nurodytų 1 punkte, suspensijos mėginiai, kurie buvo paimti KKM įtariamoms arba užsikrėtusioms kiaulėms ([1]).

   IFA galima atlikti per vieną dieną. Jai atlikti galima naudoti automatinę įrangą. Šio metodo didžiausias privalumas yra tas, kad per trumpą laiko tarpą galima ištirti didelį mėginių skaičių. Atliekant tyrimą rekomenduojama naudoti teigiamą kontrolinį mėginį. Atliekant tyrimus IFA metodu, būtina atsižvelgti į tai, kad šis metodas yra ne toks jautrus kaip viruso išskyrimas ląstelių kultūroje, bet jo jautrumas yra gerokai didesnis tiriant paršelių kraujo mėginiais negu suaugusių kiaulių kraujo mėginius.

B. **Viruso išskyrimas**

1. Viruso išskyrimas yra pagrįstas mėginių medžiagos inkubavimu KKM virusui jautriose kiaulių ląstelių kultūrose. Jeigu mėginyje yra KKM virusas, jis pasidaugina ląstelėse tokiais kiekiais, kuriuos ląstelėse galima nustatyti imunocitocheminiu tyrimo metodu, naudojant konjuguotus antikūnus. Specifiniai KKM antikūnai yra reikalingi diferencinei kitų pestivirusų diagnostikai.

2. Geriausia KKM virusą išskirti leukocituose, plazmoje arba nesukrešėjusiame kraujyje, arba A dalies 1 punkte minimų organų ląstelių kultūrose.

3. Viruso išskyrimą geriausiai taikyti tiriant nedidelio skaičiaus gyvulių mėginius. Viruso išskyrimo tvarka reikalauja daug darbo ir bent trijų dienų rezultatams gauti. Gali prireikti dar dviejų ląstelių kultūrų virusų pasažui, kol nustatomas nedidelis virusų kiekis mėginyje. Todėl galutinis tyrimo rezultatas gali būti gautas po 10 dienų. Suirę mėginiai gali būti citotoksiški ląstelių kultūroms ir riboti jų naudojimą.

4. Viruso išskyrimą rekomenduojama atlikti tada, kai KKM buvo patvirtintas kitais tyrimo metodais. Jis turi būti naudojamas kaip kontrolinis tyrimas ankstesniems teigiamiems tyrimų rezultatams, gautiems atliekant antigeno IFA, polimerazės grandininę reakciją (toliau – PGR) ar fluorescuojančių antikūnų tyrimą, ar netiesioginę imunoperoksidazės reakciją, patvirtinti.

   Šiuo būdu išskirtas KKM virusas gali būti naudojamas viruso savybėms tirti, genetiniam tipizavimui ir molekulinei epidemiologijai.

5. Visi išskirti KKM virusai pirminių protrūkių atvejais, pirminių šernų susirgimų ar susirgimų skerdyklose ar transporto priemonėse atvejais turi būti genetiškai tipizuoti valstybės narės nacionalinėje etaloninėje laboratorijoje

([1]) Klasikinio kiaulių maro IFA antigenais, tinkančiais įvairiems mėginių tipams, yra prekiaujama.

▼B

arba bet kurioje kitoje tos valstybės narės paskirtoje laboratorijoje, arba Bendrijos etaloninėje laboratorijoje pagal E dalies reikalavimus.

Bet kokiu atveju išskirti virusai turi būti nedelsiant siunčiami į Bendrijos etaloninę laboratoriją.

C. **Viruso genomo nustatymas**

1. Polimerazės grandininė reakcija taikoma viruso genomui nustatyti kraujo, audinių ar organų mėginiuose. Maži virusinių RNR fragmentai paverčiami DNR fragmentais, kurie PGR būdu padauginami iki aptinkamo kiekio. Kadangi šiuo metodu galima aptikti viruso genomo fragmentą, PGR gali būti teigiama net tada, kai nėra KKM galinčio sukelti viruso, pvz., suirusiuose audiniuose ar sveikstančių kiaulių audinių mėginiuose.

2. PGR gali būti naudojama tirti nedideliam mėginių, kurie buvo rūpestingai paimti iš KKM įtariamų kiaulių, skaičiui arba abortuotiems gemalams. PGR galima naudoti šernų mėginiams tirti, jeigu medžiaga yra suirusi ir viruso negalima išskirti ląstelių kultūroje dėl citotoksiškumo.

3. Tinkamiausi PGR tyrimui yra viruso išskyrimui naudojamų organų arba nesukrešėjusio kraujo mėginiai.

4. PGR galima atlikti per 48 valandas. Tyrimui reikalinga atitinkama laboratorinė įranga, atskiros patalpos ir kvalifikuotas personalas. Šiuo tyrimo metodu galima nustatyti KKM virusą esant nedideliam jo kiekiui mėginiuose. Metodas yra labai jautrus, bet gali lengvai įvykti mėginio tarša virusais, dėl kurios galima gauti neteisingus teigiamus rezultatus. Dėl to būtina griežta laboratorinės kokybės kontrolės tvarka. Kai kurie tyrimo metodai yra daugiau pritaikyti tirti pestivirusus ir mažiau specifiški tiriant KKM virusą, todėl reikalingi patvirtinantys tyrimai, pvz., PGR metodu.

D. **Virusologinių tyrimų rezultatų vertinimas**

1. Norint patvirtinti klasikinį kiaulių marą, būtina atlikti virusologinius tyrimus.

Viruso išskyrimas turi būti laikomas kontroliniu virusologiniu tyrimu ir turi būti naudojamas kaip patvirtinantis tyrimas. Jį ypač rekomenduojama naudoti tuo atveju, kai fluorescuojančių antikūnų metodu, IFA ar PGR gaunami teigiami tyrimo rezultatai tiriant mėginius, paimtus kiaulėms, neturėjusioms klinikinių ar patologinių anatominių pokyčių, ar kitais abejotinais atvejais.

Pirminį KKM protrūkį galima patvirtinti, jeigu kiaulėms nustatyti klinikiniai požymiai ar patologiniai anatominiai pokyčiai ir jeigu ne mažiau kaip dviem tyrimo metodais buvo nustatytas antigenas ar viruso genomas.

Antrinį KKM protrūkį galima patvirtinti, jeigu be epidemiologinių sąsajų su patvirtintu protrūkiu ar susirgimu kiaulėms nustatomi ligos klinikiniai požymiai ar patologiniai anatominiai pokyčiai ir antigeno ar viruso genomo tyrimų rezultatai yra teigiami.

Pirminis KKM susirgimas šernams gali būti patvirtintas išskyrus virusą arba jeigu ne mažiau kaip dviem tyrimo metodais buvo nustatytas antigenas ar viruso genomas. Tolesni šernų KKM susirgimai, kuriems nustatyti epidemiologiniai ryšiai su anksčiau patvirtintais susirgimais, gali būti patvirtinti, jeigu antigeno ar viruso genomo tyrimo rezultatai yra teigiami.

2. KKM viruso antigeno ar genomo nustatymas nurodo, kad tyrimas turėjo būti atliktas naudojant specifinius KKM antikūnus ar žymeklius. Jeigu atliktas tyrimas nėra specifinis KKM virusui, o specifinis pestivirusams, jis turi būti pakartotas naudojant specifinius KKM reagentus.

E. **Genetinis išskirtų klasikinio kiaulių maro virusų tipizavimas**

1. Išskirtas KKM virusas genetiškai tipizuojamas nustatant viruso genomo nukleotidų seką 5 nekoduojančio regiono ir (arba) E2 glikoproteino geno specifinėje dalyje. Šių sekų panašumas su anksčiau išskirtų virusų genomo sekomis gali parodyti, ar ligos protrūkį sukėlė naujos ar jau anksčiau tipizuotos virusų padermės. Tuo būdu galima pagrįsti ar atmesti hipotezes apie ligos patekimo būdus, kurie buvo nustatyti epidemiologinio atsekimo būdu.

Išskirto KKM viruso genetinis tipizavimas yra labai svarbus nustatant ligos šaltinį. Tačiau didelis genetinis virusų, gautų skirtingų protrūkių metu, panašumas nėra absoliutus tiesioginio epidemiologinio ryšio įrodymas.

▼B

2. Jeigu nacionalinėje veterinarijos laboratorijoje negalima greitai tipizuoti viruso, mėginys ar išskirtas virusas turi būti nedelsiant siunčiami Bendrijos etaloninei laboratorijai.

Jeigu klasikinį kiaulių marą diagnozuoti įgaliotose laboratorijose negalima greitai tipizuoti viruso, mėginys ar išskirtas virusas turi būti nedelsiant siunčiami į Bendrijos etaloninę laboratoriją, kad ši medžiaga būtų įtraukta į laboratorijoje turimą duomenų bazę.

Į duomenų bazę įtraukta informacija turi būti prieinama visų valstybių narių nacionalinėms etaloninėms laboratorijoms. Jeigu dėl publikacijų moksliniuose žurnaluose nacionalinė laboratorija prašo neviešinti šių rezultatų, Bendrijos etaloninė laboratorija užtikrina duomenų konfidencialumą tol, kol jie nebus paskelbti spaudoje.

VII SKYRIUS

Serologinių tyrimų principai ir naudojimas bei jų rezultatų vertinimas

A. **Pagrindiniai principai ir diagnostinė vertė**

1. KKM virusu užsikrėtusioms kiaulėms antikūnai paprastai nustatomi kraujo serumo mėginiuose 2–3 savaites po infekcijos. Pasveikusioms kiaulėms antikūnai gali būti nustatomi keletą metų arba visą gyvenimą. Antikūnai taip pat kartais aptinkami sporadiškai gaištančioms kiaulėms. Kai kurioms lėtine KKM eiga sergančioms kiaulėms antikūnai gali būti aptinkami kelias dienas, praėjus mėnesiui po užsikrėtimo.

Paršeliai, užsikrėtę paršingumo laikotarpiu, gali toleruoti KKM virusus ir negaminti specifinių antikūnų. Tačiau iš paršavedės gauti antikūnai paršeliams gali būti nustatomi pirmosiomis gyvenimo dienomis. Motininių antikūnų dvigubo sunykimo trukmė sveikų paršelių organizme yra apie dvi savaitės. Jeigu antikūnai nustatomi vyresniems negu trijų mėnesių amžiaus paršeliams, tai gali būti ne motininiai antikūnai.

2. Antikūnų prieš KKM virusą tyrimas serumo ar plazmos mėginiuose atliekamas siekiant diagnozuoti KKM įtariamame ūkyje, nustatyti infekcijos trukmę patvirtintų protrūkių atveju ir stebėsenos bei priežiūros tikslais. Tačiau serologinis tyrimas yra mažiau tinkamas KKM diagnozuoti, kai infekcija neseniai pateko į ūkį.

Keletas serologiškai teigiamų kiaulių, kurios turi nedidelį neutralizuojančių antikūnų titrą, gali rodyti, kad į ūkį neseniai pateko infekcija (prieš 2–4 savaites). Ūkyje esant daug kiaulių, kurios turi didelį neutralizuojančių antikūnų titrą, gali rodyti, kad virusas pateko į ūkį daugiau kaip prieš mėnesį. Serologiškai teigiamų kiaulių išsidėstymas ūkyje gali suteikti vertingos informacijos apie tai, kaip KKM virusas pateko į ūkį.

Tačiau, vertinant serologinių tyrimų rezultatus, turi būti atsižvelgiama į visus klinikinius, virusologinius ir epizootinius duomenis, kurie gaunami atliekant tyrimą, kuris, įtarus ar patvirtinus KKM, turi būti atliekamas pagal Direktyvos 2001/89/EB 8 straipsnį.

B. **Rekomenduojami serologiniai tyrimai**

1. KKM serologiniam diagnozavimui naudojamas viruso neutralizacijos tyrimas (toliau – VNT) ir IFA.

Nacionalinių laboratorijų atlikto serologinio diagnozavimo kokybė ir efektyvumas turi būti reguliariai tikrinami palyginamaisiais tyrimais tarp laboratorijų, kuriuos reguliariai organizuoja Bendrijos etaloninė laboratorija.

2. VNT yra pagrįstas serumo mėginio antikūnų viruso neutralizacinio aktyvumo nustatymu, išreikštu 50 % neutralizacija.

Nuolatinis KKM viruso kiekis inkubuojamas 37 °C temperatūroje su atskiestu serumu. Stebėsenos tikslais serumas pradžioje atskiedžiamas santykiu 1:10. Jeigu reikalingas išsamus titravimas, gali būti paruošiami skiesto serumo mėginiai, pradedant skiesti santykiu 1:2 ar 1:5. Kiekvienas serumo skiedinys sumaišomas su tokios pat apimties viruso suspensija, kurioje yra 100 infekcinių dozių (TCID 50 – vidutinė audinių kultūros infekcinė dozė 50).

Po inkubacijos mišiniu apkrečiamos ląstelių kultūros, kurios inkubuojamos 3–5 dienas. Atlikus inkubaciją, ląstelių kultūros fiksuojamos, ir bet koks viruso pasidauginimas infekuotose ląstelėse nustatomas imunocitocheminėmis reakcijomis. Galima naudoti imunoperoksidazės arba imunofluorescencijos reakcijas.

▼B

VNT rezultatai išreiškiami atitinkamu pirminio serumo atskiedimu, kuriame esantys virusus neutralizuojantys antikūnai apsaugo 50 % ląstelių nuo citopatinio virusų poveikio. Nustatomas taškas tarp dviejų atskiedimo lygių. Galutinio skiedimo sistema yra pagrįsta faktiniu serumo atskiedimu neutralizacijos reakcijos metu, t. y. po viruso įmaišymo, bet prieš ląstelių suspensijos įliejimą.

3. VNT yra jautriausias ir patikimiausias KKM viruso antikūnų nustatymo metodas. Todėl jis rekomenduojamas serologiškai tiriant tiek vieną gyvulį, tiek visą gyvulių bandą. Tačiau šiuo tyrimu kiaulėms galima nustatyti antikūnus, susidariusius prieš atrajotojų pestivirusus.

   Antikūnų prieš galvijų virusinės diarėjos ir sienos ligos virusus nustatymas, naudojant VNT, yra pagrįstas principu, nurodytu 88 punkte, ir naudojamas diferentinei KKM diagnozei.

4. Neutralizacijos tyrimams naudojamos pestivirusų padermės turi atitikti Bendrijos etaloninės laboratorijos rekomendacijas.

5. Tyrimams, naudojant monokloninius antikūnus, gali būti naudojama konkuruojanti arba blokuojanti IFA ir nekonkuruojanti IFA.

   Konkuruojanti arba blokuojanti IFA paremta tuo, kad serumo mėginyje esantys antikūnai prieš KKM virusą nuslopina peroksidaze konjuguotų monokloninių antikūnų prisijungimą prie viruso antigeno, todėl susilpnėja skleidžiamas impulsas.

   Tiriant nekonkuruojančios IFA metodu, serumo antikūnų prisijungimas prie antigeno nustatomas naudojant peroksidaze konjuguotus antikūnus prieš kiaulių antikūnus.

6. Kiekvienos IFA partijos jautrumo ir specifiškumo kokybės kontrolė turi būti reguliariai tikrinama naudojantis Bendrijos etaloninės laboratorijos atsiųstais kontrolinių serumų komplektais, kuriuos sudaro:

   — ankstyvos KKM stadijos kiaulių serumai (gauti praėjus ne daugiau kaip 21 dienai po infekcijos,

   — sveikstančių kiaulių serumai (gauti praėjus 21 dienai po infekcijos),

   — užsikrėtusių atrajotojų pestivirusais kiaulių serumai.

   KKM serologiniam diagnozavimui naudojama IFA turi aptikti visus kontrolinius sveikstančių kiaulių serumus. Turi būti galimybė pakartoti gautus rezultatus, naudojant kontrolinius serumus. Be to, turi būti nustatomi teigiami ankstyvos KKM stadijos kiaulių serumai ir turi būti minimali kryžminė reakcija su atrajotojų pestivirusais infekuotų kiaulių serumu.

   Gauti rezultatai tiriant ankstyvos KKM stadijos kiaulių serumą parodo IFA jautrumą.

7. IFA jautrumas yra mažesnis negu VNT. IFA rekomenduojama naudoti bandų stebėsenai. Tačiau IFA galima atlikti greičiau, nes tam reikia mažiau specializuotų priemonių ir ją gali atlikti automatizuotos sistemos.

   IFA turi užtikrinti KKM nustatymą visomis kiaulių sveikimo stadijomis ir duoti kuo mažiau kryžminių reakcijų su atrajotojų pestivirusais.

C. **Atrajotojų pestivirusų (galvijų virusinės diarėjos ir pasienio ligos) serologinių tyrimų rezultatų interpretavimas ir diferencinė diagnozė**

1. Nepažeidžiant Direktyvos 2001/89/EB 4 straipsnio 3 dalies a punkto ir 7 straipsnio 2 dalies nuostatų, nustačius, kad KKM viruso neutralizacijos titras yra lygus ar didesnis negu 10 ND50 vienos ar daugiau kiaulių serumo mėginiuose ar gautas teigiamas IFA tyrimo rezultatas tiriant grupės kiaulių serumo mėginius, priemonės, nurodytos Direktyvos 2001/89/EB 4 straipsnio 2 dalyje, turi būti pradėtos taikyti įtariamame ūkyje nedelsiant arba jos tęsiamos.

   Tokiame ūkyje surinkti mėginiai turi būti pakartotinai tiriami VNT, atliekant palyginamąjį neutralizuojančių antikūnų prieš KKM virusą ir atrajotojų pestivirusus titravimą.

2. Jeigu palyginamuoju tyrimu nustatomi antikūnai prieš atrajotojų pestivirusus ir nenustatomi antikūnai prieš KKM virusą arba jų titras yra mažas (mažiau negu triskart), KKM įtarimas atmetamas, jeigu nėra kitų priežasčių, dėl kurių laikymo vietoje reikia toliau taikyti Direktyvos 2001/89/EB 4 straipsnio 2 dalyje minimas priemones.

▼B

3. Jeigu palyginamuoju tyrimu nustatoma, kad daugiau negu vienos kiaulės viruso neutralizacijos titras yra lygus ar didesnis negu 10 ND50 ir šis titras yra lygus ar didesnis negu kitų pestivirusų titrai, kompetentinga institucija užtikrina, kad būtų patvirtintas KKM, jeigu yra epidemiologinių ligos įrodymų.

4. Nepažeidžiant Direktyvos 2001/89/EB 4 straipsnio 3 dalies nuostatų, jeigu nenustatoma epidemiologinių ligos įrodymų arba jei ankstesnių tyrimų rezultatai yra abejotini, kompetentinga institucija užtikrina, kad tokiame ūkyje būtų:

   — toliau taikomos Direktyvos 2001/89/EB 4 straipsnio 2 dalyje minimos priemonės,

   — kuo greičiau atlikti kiti tyrimai KKM patvirtinti ar paneigti, kaip nurodyta IV skyriuje.

5. Tačiau, jei papildomi 4 papunktyje minimi patikrinimai ir tyrimai neleidžia atmesti KKM galimybės, ūkyje turi būti toliau imami kraujo mėginiai serologiniam tyrimui praėjus ne mažiau kaip dviem savaitėms nuo ankstesnių tyrimų.

   Tirtoms kiaulėms mėginiai turi būti imami palyginamajam tyrimui, siekiant palyginti antikūnų susidarymo prieš KKM virusą ir atrajotojų pestivirusus kitimą.

   Jei papildomi patikrinimai ir tyrimai neleidžia patvirtinti klasikinio kiaulių maro, Direktyvos 2001/89/EB 4 straipsnyje minimos priemonės gali būti panaikinamos.

▼M1

VIII SKYRIUS

Atskiriamasis tyrimas skubios vakcinacijos atveju

A. **Pagrindiniai principai**

1. Atskiriamasis serologinis ELISA tyrimas (atskiriamasis tyrimas) padeda sėkmingai atskirti žymėtaisiais skiepais, kurie sukelia klasikinio kiaulių maro viruso E2 glikoproteino antikūnus, paskiepytas kiaules nuo kiaulių, užsikrėtusių klasikinio kiaulių maro lauko virusu. Šis tyrimas yra skirtas aptikti klasikinio kiaulių maro viruso E^{ms} glikoproteino antikūnus. Jis yra pagrįstas principu, kad žymėtaisiais skiepais paskiepytuose neužsikrėtusiuose gyvuliuose atsiranda tik klasikinio kiaulių maro viruso E2 glikoproteino antikūnai, o lauko virusu užsikrėtusiuose gyvuliuose vyksta reakcija ir taip pat atsiranda kitų viruso antigenų antikūnai.

   Šis atskiriamasis tyrimas yra jautrus ir specifiškas ([1]). Tačiau ne klasikinio kiaulių maro virusu, bet kitokiais pestivirusais (pvz., GVDV ir PLV) užsikrėtusiose kiaulėse reakcija bus taip pat E^{ms} teigiama. Be to, tyrimo jautrumas nėra idealus, kadangi kai kuriuose žymėtaisiais skiepais paskiepytuose ir vėliau užsikrėtusiuose gyvuliuose gali nebūti E^{ms} teigiamos reakcijos.

   Šiuo metu turimi duomenys rodo, kad atskiriamasis tyrimas negali būti patikimai naudojamas tiriant šernų serumo mėginius.

2. Atskiriamasis tyrimas – tai skystosios fazės blokuojanti IFA. Tirtini mėginiai inkubuojami ant mikrotitrinės plokštelės, padengtos monokloniniais anti-E^{ms} antikūnais, kartu su E^{ms} antigeno nustatytu kiekiu. Bet koks E^{ms} specifiškas antikūnas prisijungia prie E^{ms} antigeno nustatyto kiekio tirpale ir susidaro antigeno/antikūno kompleksas, kuris ant mikrotitrinės plokštelės nereaguoja su anti-E^{ms} antikūnais. Kai, norint pašalinti neprisijungusią medžiagą, plokštelė nuplaunama, įdedama peroksidaze pažymėto anti-E^{ms} konjugato, kuris prisijungia prie E^{ms} antigeno, susijungusio su ant mikrotitrinės plokštelės esančiu antikūnu. Neprisijungęs konjugatas pašalinamas nuplaunant ir įdedama chromogeno turinčio substrato. Išryškėjančios spalvos laipsnis yra atvirkščiai proporcingas mėginyje esančio E^{ms} specifinio antikūno kiekiui. Jei mėginyje nėra antikūnų (neigiamas mėginys), nemažai E^{ms} antigeno nustatyto kiekio gali prisijungti prie plokštelės paviršiuje esančių anti-E^{ms} antikūnų ir bus pastebėta stipri spalvos reakcija.

([1]) Bendrijos etalonėje klasikinio kiaulių maro laboratorijoje ir nacionalinėse klasikinio kiaulių maro laboratorijose atlikto tyrimo rezultatai parodė, kad atskiriamojo tyrimo jautrumas yra maždaug 94 %, specifiškumas – maždaug 98 %.

▼M1

Rezultatas gaunamas lyginant optinį tankį induose, kuriuose laikomi tiriami mėginiai, su mėginiais induose, kuriuose laikomi neigiami ir teigiami kontroliniai junginiai.

B. **Rekomendacijos, kaip naudoti atskiriamąjį tyrimą, kai pagal Direktyvos 2001/89/EB 19 straipsnį kiaulių ūkiuose atliekama skubi vakcinacija žymėtaisiais skiepais**

Atskiriamasis tyrimas yra skirtas patikrinti, ar žymėtaisiais skiepais paskiepytų kiaulių populiacijoje išplitęs klasikinio kiaulių maro virusas. Turimi duomenys rodo, kad tam tikslui jį galima sėkmingai naudoti bandose, bet jis negali patikimai paneigti, kad atskiros kiaulės yra užsikrėtusios klasikinio kiaulių maro virusu. Atskiriamojo tyrimo specifiškumo gali ypač nepakakti, kad žymėtaisiais skiepais paskiepytos kiaulės būtų patikimai atskirtos nuo užsikrėtusių kiaulių, jei skiepijamos suaugusios kiaulės. Tačiau jei rezultatai abejotini, tokios kiaulės turi būti humaniškai paskerstos arba užmuštos, laikantis Direktyvos 93/119/EB, o jų organai ištirti dėl klasikinio kiaulių maro viruso. Tam labiausiai tinka viruso išskyrimas ir PGR.

Į šiuos aspektus reikia labai atsižvelgti kuriant skubios žymėtosios vakcinacijos strategiją ir vėliau vertinant klasikinio kiaulių maro viruso tyrimo žymėtaisiais skiepais paskiepytoje populiacijoje rezultatus.

Prieš panaikinant skiepijimo teritorijoje pagal Direktyvos 2001/89/EB 19 straipsnį taikomus apribojimus, mėginių ėmimo ir tyrimo paskiepytų kiaulių populiacijoje procedūra priklauso nuo paskiepytų kiaulių amžiaus, kiaulių kategorijos (penimos ar skerdžiamos, veisiamos) ir pageidaujamo saugumo lygio, atsižvelgiant į viruso neišplitimą populiacijoje.

Todėl išsami informacija apie mėginių ėmimo ir tyrimo procedūrą turi būti nustatyta skubios vakcinacijos plane, kuris pagal Direktyvos 2001/89/EB 19 straipsnio 3 dalį pateikiamas Komisijai.

▼B

IX SKYRIUS

Minimalūs saugos reikalavimai klasikinio kiaulių maro laboratorijoms

1. Bet kuri laboratorija, kurioje dirbama su klasikinio kiaulių maro virusu (net nedideliu jo kiekiu, reikalingu viruso išskyrimui arba neutralizacijos tyrimams) privalo laikytis minimalių 1 lentelėje nustatytų reikalavimų. Tačiau patologinis anatominis tyrimas, audinių apdorojimas fluorescuojančių antikūnų metodu ir serologiniai tyrimai, naudojant inaktyvuotą antigeną, gali būti atliekami taikant mažesnius saugos reikalavimus, jeigu užtikrinamos higienos sąlygos, atlikus tyrimus atliekama dezinfekcija, saugiai sunaikinami audiniai ir serumas.

2. Bet kuri laboratorija, kurioje ekstensyviai dauginami virusai, turi laikytis 1 lentelėje nurodytų papildomų reikalavimų.

3. Bet kuri laboratorija, kuri atlieka gyvulių eksperimentus su KKM virusu, turi laikytis 2 lentelėje nurodytų reikalavimų.

4. Bet kuriuo atveju visos KKM viruso atsargos turi būti laikomos saugiai, stipriai sušaldytos ar liofilizuotos. Nerekomenduojama šaldiklių ir šaldytuvų naudoti kitais tikslais negu KKM virusams ar kitoms su KKM diagnozavimu nesusijusioms medžiagoms laikyti. Kiekviena atskira ampulė turi būti aiškiai paženklinta ir ant jos turi būti išsami informacija apie viruso atsargas su nurodytomis datomis ir kokybės kontrolės tikrinimų rezultatais. Taip pat turi būti saugomi duomenys apie viruso atsargų papildymą su nurodymais apie jų šaltinį bei informacija apie į kitas laboratorijas atiduotus virusus.

5. Rekomenduojama, kad veterinarijos laboratorijoje būtų patalpa, kurioje dirbama su KKM virusu ir kurioje taikomi biologinės saugos reikalavimai, ir patalpos, kuriose nedirbama su KKM virusu. Šios papildomos patalpos reikalingos laboratorinėms priemonėms, terpėms paruošti, neužkrėstoms ląstelių kultūroms laikyti, serumui paruošti ir serologiniams tyrimams (naudojant inaktyvuotą KKM virusą) atlikti bei administraciniam darbui.

▼B

1 lentelė

Diagnostikos laboratorijoms būdingo biologinio izoliavimo principai

	Papildomi reikalavimai	Minimalūs reikalavimai
Bendroji aplinka	Įprastas atmosferos slėgis. Dvigubas ištraukto oro HEPA filtravimas. Specialios patalpos, skirtos tik klasikinio kiaulių maro diagnozavimo procedūroms.	Įprastas atmosferos slėgis. Specialios patalpos, skirtos tik apibrėžtoms procedūroms.
Laboratoriniai drabužiai	Prieš įeinant į patalpas būtina visiškai persirengti. Laboratoriniai drabužiai dėvimi tik KKM viruso tyrimo patalpose. Bet kokiam darbui su infekuotomis medžiagomis naudojamos vienkartinės pirštinės. Prieš pašalinant iš patalpų drabužiai yra sterilizuojami arba skalbiami patalpose.	Specialūs išoriniai drabužiai, dėvimi tik KKM viruso tyrimo patalpose. Bet kokiam darbui su infekuotomis medžiagomis naudojamos vienkartinės pirštinės. Prieš pašalinant iš patalpų speciaūûs išoriniai drabužiai yra sterilizuojami arba skalbiami patalpose.
Darbuotojų kontrolė	Į patalpas gali įeiti tik įvardinti ir apmokyti darbuotojai. Prieš išeinant iš patalpų plaunamos ir dezinfekuojamos rankos. Darbuotojams neleidžiama prisiartinti prie kiaulių 48 valandas po išėjimo iš patalpų.	Į patalpas gali įeiti tik įvardinti ir apmokyti darbuotojai. Prieš išeinant iš patalpų plaunamos ir dezinfekuojamos rankos. Darbuotojams neleidžiama prisiartinti prie kiaulių 48 valandas po išėjimo iš patalpų.
Įranga	Visiems darbams su gyvu virusu naudojama biologiškai saugi spinta (I arba II klasės). Spintoje turėtų būti dvigubas ištraukto oro HEPA filtravimas. Visa laboratorinėms procedūros reikalinga įranga turi būti laikoma specialioje laboratorijos dalyje.	

2 lentelė

Biologinės saugos reikalavimai patalpoms, kuriose vyksta bandymai su gyvūnais

	Reikalavimai
Bendroji aplinka	Neigiamu slėgiu valdoma ventiliacija. Dvigubas ištraukto oro HEPA filtravimas. Patalpos visiškai fumigacijai arba dezinfekcijai užbaigus bandymą. Visos nuotekos išvalomos, kad būtų inaktyvuojamas klasikinio kiaulių maro virusas (karščiu arba cheminiu būdu).
Laboratoriniai drabužiai	Prieš įeinant į patalpas būtina visiškai persirengti. Visiems darbams naudojamos vienkartinės pirštinės. Prieš pašalinant iš patalpų drabužiai yra sterilizuojami arba skalbiami patalpose.
Darbuotojų kontrolė	Į patalpas gali įeiti tik įvardinti ir apmokyti darbuotojai Prieš išeinant iš patalpų visas kūnas nuprausiamas duše. Darbuotojams neleidžiama prisiartinti prie kiaulių 48 valandas po išėjimo iš patalpų.
Įranga	Visa darbui su gyvūnais reikalinga įranga turi būti laikoma patalpose. Visos medžiagos sterilizuojamos prieš išnešant jas iš patalpų, gyvūnų mėginiai dvigubai supakuojami į vandeniui nelaidžias talpyklas, kurių paviršius yra dezinfekuojamas, ir vežami į klasikinio kiaulių maro laboratoriją.

▼B

	Reikalavimai
Gyvūnai	Visi gyvūnai turi būti paskerdžiami prieš išvežant juos iš patalpų, patologiniai anatominiai tyrimai atliekami biologiškai saugiose patalpose, užbaigus bandymus lavonai sudeginami.