**Dit document vormt slechts een documentatiehulpmiddel en verschijnt buiten de verantwoordelijkheid van de instellingen**

►**B**

# BESCHIKKING VAN DE COMMISSIE

**van 1 februari 2002**

**houdende goedkeuring van een diagnosehandboek tot vaststelling van diagnostische procedures, bemonsteringsprocedures en criteria voor de evaluatie van de resultaten van laboratoriumtests voor de bevestiging van klassieke varkenspest**

*(kennisgeving geschied onder nummer C(2002) 381)*

**(Voor de EER relevante tekst)**

(2002/106/EG)

(PB L 39 van 9.2.2002, blz. 71)

Gewijzigd bij:

| | | Publicatieblad | | |
|---|---|---|---|---|
| | | nr. | blz. | datum |
| ►**M1** | Beschikking 2003/859/EG van de Commissie van 5 december 2003 | L 324 | 55 | 11.12.2003 |

▼B

# BESCHIKKING VAN DE COMMISSIE

**van 1 februari 2002**

**houdende goedkeuring van een diagnosehandboek tot vaststelling van diagnostische procedures, bemonsteringsprocedures en criteria voor de evaluatie van de resultaten van laboratoriumtests voor de bevestiging van klassieke varkenspest**

*(kennisgeving geschied onder nummer C(2002) 381)*

**(Voor de EER relevante tekst)**

(2002/106/EG)

DE COMMISSIE VAN DE EUROPESE GEMEENSCHAPPEN,

Gelet op het Verdrag tot oprichting van de Europese Gemeenschap,

Gelet op Richtlijn 2001/89/EG van de Raad van 23 oktober 2001 tot vaststelling van communautaire maatregelen ter bestrijding van klassieke varkenspest [1], inzonderheid op artikel 17, lid 3, en artikel 29, lid 1,

Overwegende hetgeen volgt:

(1) Het is nodig dat op het niveau van de Gemeenschap diagnostische procedures, bemonsteringsprocedures en criteria voor de evaluatie van de resultaten van laboratoriumtests voor de bevestiging van klassieke varkenspest worden vastgelegd.

(2) In bijlage IV bij Richtlijn 2001/89/EG zijn de taken en bevoegdheden van het communautaire referentielaboratorium voor klassieke varkenspest vastgesteld teneinde, in overleg met de Commissie, de in de lidstaten toegepaste procedures voor de diagnose van deze ziekte te coördineren; deze taken en bevoegdheden omvatten de organisatie van periodieke vergelijkende tests en de levering van standaardreagentia in de hele Gemeenschap.

(3) Het virus van klassieke varkenspest vormt geen gevaar voor de volksgezondheid.

(4) Recentelijk zijn laboratoriumtests ontwikkeld waarmee klassieke varkenspest snel kan worden gediagnosticeerd.

(5) De ervaring die is opgedaan met de bestrijding van klassieke varkenspest, heeft geleid tot de vaststelling van bemonsteringsprocedures en van criteria voor de evaluatie van de resultaten van laboratoriumtests, die het meest geschikt zijn om in uiteenlopende situaties de juiste diagnose van deze ziekte te stellen.

(6) De in deze beschikking vastgestelde maatregelen zijn in overeenstemming met het advies van het Permanent Veterinair Comité,

HEEFT DE VOLGENDE BESCHIKKING GEGEVEN:

*Artikel 1*

1. De lidstaten zorgen ervoor dat de bevestiging van klassieke varkenspest wordt gebaseerd op:

a) de opsporing van klinische symptomen en post-mortemlaesies;

b) de opsporing van virus, antigeen of genoom in monsters van varkensweefsel, organen, bloed of excreta;

c) de aantoning van een specifieke antilichaamrespons in bloedmonsters,

een en ander volgens de in de handleiding in de bijlage bij deze beschikking vastgestelde diagnostische procedures, bemonsteringsprocedures en criteria voor de evaluatie van de resultaten van laboratoriumtests.

[1] PB L 316 van 1.12.2001, blz. 5.

▼B

2. De in bijlage III, punt 1, van Richtlijn 2001/89/EG vermelde nationale diagnoselaboratoria mogen echter wijzigingen aanbrengen in de laboratoriumtests waarvan sprake is in het handboek in de bijlage bij deze beschikking, of andere tests gebruiken, op voorwaarde dat kan worden aangetoond dat die even gevoelig en specifiek zijn.

De gevoeligheid en de specificiteit van de gewijzigde of de andere tests moeten worden geëvalueerd in het kader van de periodieke vergelijkende tests die worden georganiseerd door het communautair referentielaboratorium voor klassieke varkenspest.

*Artikel 2*

De bijlagen I en IV bij Richtlijn 80/217/EEG van de Raad van 22 januari 1980 tot vaststelling van gemeenschappelijke maatregelen ter bestrijding van klassieke varkenspest ([1]), Richtlijn laatstelijk gewijzigd bij de Akte van Toetreding van Oostenrijk, Finland en Zweden, worden ingetrokken.

*Artikel 3*

Deze beschikking is van toepassing met ingang van 1 november 2002.

*Artikel 4*

Deze beschikking is gericht tot de lidstaten.

([1]) PB L 47 van 21.2.1980, blz. 11.

▼B

*BIJLAGE*

# HANDBOEK VOOR DE DIAGNOSE VAN KLASSIEKE VARKENSPEST

## HOOFDSTUK I

### *Inleiding, doelstellingen en definities*

1. Teneinde te garanderen dat bij de diagnose van klassieke varkenspest uniforme procedures worden toegepast, biedt dit handboek:

   a) richtsnoeren en minimumvoorschriften met betrekking tot diagnostische procedures, bemonstering en criteria voor de evaluatie van de resultaten van klinische en post-mortemonderzoeken en laboratoriumtests voor een juiste diagnose van klassieke varkenspest ([1]);

   b) voorschriften inzake bioveiligheid en kwaliteitsnormen waaraan ten minste moet worden voldaan door de diagnoselaboratoria voor klassieke varkenspest, en die ook bij het vervoer van monsters in acht moeten worden genomen;

   c) laboratoriumtests voor de diagnose van klassieke varkenspest en laboratoriumtechnieken voor de genetische typering van virusisolaten van klassieke varkenspest.

2. Dit handboek is in de eerste plaats bedoeld voor de autoriteiten die verantwoordelijk zijn voor de bestrijding van klassieke varkenspest. Daarom ligt de nadruk op de principes en toepassingen van laboratoriumtests en de evaluatie van de resultaten daarvan en niet zozeer op gedetailleerde beschrijvingen van laboratoriumtechnieken.

3. In het kader van dit handboek gelden naast de definities in artikel 2 van Richtlijn 2001/89/EG de volgende definities:

   a) „verdacht bedrijf”: elk varkensbedrijf met één of meer varkens waarvan vermoed wordt dat ze zijn besmet met het virus van klassieke varkenspest, of een contactbedrijf zoals gedefinieerd in artikel 2, onder v), van Richtlijn 2001/89/EG;

   b) „singletonreactor”: elk varken dat bij serologisch onderzoek op klassieke varkenspest een positief resultaat oplevert, maar dat niet eerder in aanraking is geweest met het virus van klassieke varkenspest en waarvan niet is aangetoond dat het de besmetting heeft verspreid naar varkens waarmee het in contact is geweest ([2]);

   c) „epizoötiologische subeenheid” of „subeenheid”: het gebouw, de locatie of het stuk land vlakbij, waar groepen varkens van een bedrijf zo worden gehouden dat zij regelmatig direct of indirect in contact komen met elkaar maar wel gescheiden blijven van andere varkens binnen hetzelfde bedrijf;

   d) „contactvarkens”: varkens die in de afgelopen 21 dagen op een bedrijf direct contact hebben gehad met een of meer van besmetting met het virus van klassieke varkenspest verdachte varkens.

## HOOFDSTUK II

### *Beschrijving van klassieke varkenspest met de nadruk op differentiële diagnose*

#### A. **Inleiding**

1. Klassieke varkenspest wordt veroorzaakt door een omhuld RNA-virus dat behoort tot het genus Pestivirus van de familie der Flaviviridae. Het virus is verwant aan de pestivirussen die bij herkauwers voorkomen en die boviene virusdiarree (BVD) en border disease (BD) veroorzaken. Deze verwantschap heeft grote gevolgen voor de diagnose omdat er kruisreacties optreden, die kunnen leiden tot vals-positieve laboratoriumresultaten.

([1]) Bij het bepalen van het aantal monsters dat ten behoeve van de laboratoriumtests moet worden genomen, moet ook rekening worden gehouden met de gevoeligheid van de gebruikte tests. Indien de gevoeligheid van de test niet erg hoog is, moet het aantal dieren waarbij monsters worden genomen, groter zijn dan aangegeven wordt in dit handboek.

([2]) Singletonreactoren hebben mogelijk een titer van virusneutraliserende antilichamen variërend van twijfelachtig (wat het vaakst voorkomt) tot sterk positief. Het is mogelijk dat singletonreactoren bij de herbemonstering een afnemende of constante titer vertonen. Over het algemeen zijn er maar weinig varkens in een beslag die deze vals-positieve reacties veroorzaken.

▼B

2. Het virus van klassieke varkenspest (KVP-virus) is relatief stabiel in de vochtige excreta van besmette varkens, in varkenskadavers en vers varkensvlees, en in bepaalde varkensvleesproducten. Het wordt snel geïnactiveerd door detergenten, vetoplossers, protease en gewone ontsmettingsmiddelen.

3. De belangrijkste natuurlijke besmettingsroute is via de mond en neus door direct of indirect contact met besmette varkens of door het eten van voeder dat verontreinigd is met het virus. In gebieden met een hoge varkensdichtheid kan het virus zich gemakkelijk verspreiden onder de nabijgelegen varkensbedrijven. De ziekte kan ook worden verspreid via sperma van besmette beren.

4. De incubatieperiode bedraagt zeven tot tien dagen, maar in bedrijfsomstandigheden is het mogelijk dat de klinische symptomen zich pas twee tot vier weken na de virusinsleep manifesteren. Als het volwassen fokvarkens of een milde virusstam betreft, kan het nog langer duren voordat de besmetting tot uiting komt.

5. De klinische symptomen van klassieke varkenspest kunnen zeer sterk variëren en de ziekte kan met andere ziekten worden verward. De ernst van de symptomen hangt in hoofdzaak af van de leeftijd van het dier en de virulentie van het virus. Jonge dieren vertonen gewoonlijk heviger symptomen dan oudere. Bij oudere fokvarkens verloopt de ziekte vaak minder hevig en soms zelfs subklinisch.

6. Er wordt onderscheid gemaakt tussen een acute, een chronische en een prenatale vorm van klassieke varkenspest.

B. **Acute vorm**

1. De acute vorm van klassieke varkenspest komt het vaakst voor bij speen- en mestvarkens. De eerste symptomen zijn anorexie, lethargie, koorts, conjunctivitis, opgezwollen lymfklieren, ademhalingsproblemen en constipatie gevolgd door diarree.

   De typische bloedingen van de huid worden doorgaans waargenomen op het oor, de staart, de buik en de binnenzijde van de ledematen en manifesteren zich vanaf de tweede en derde week na de besmetting totdat het dier dood is. Ook worden er vaak neurologische symptomen waargenomen, zoals een wankelende achterhand, ongecoördineerde bewegingen en stuiptrekkingen.

   Koorts is constant aanwezig. Deze is gewoonlijk hoger dan 40 ºC; bij volwassen varkens echter soms niet hoger dan 39,5 ºC.

2. Het KVP-virus veroorzaakt ernstige leukopenie en immunosuppressie, die vaak leiden tot secundaire infecties van de darmen en de luchtwegen. De symptomen van deze secundaire infecties kunnen de meest kenmerkende symptomen van klassieke varkenspest verhullen of overlappen waardoor de varkenshouder of dierenarts mogelijk op een dwaalspoor wordt gebracht.

   De dood volgt gewoonlijk binnen één maand. Herstel met productie van antilichamen komt voor, maar meestal bij volwassen fokvarkens die geen hevige klinische symptomen vertonen. Antilichamen tegen het KVP-virus zijn opspoorbaar vanaf twee tot drie weken na de besmetting.

3. Pathologische veranderingen die tijdens het post-mortemonderzoek kunnen worden geconstateerd, komen het vaakst voor in de lymfklieren en de nieren. De lymfklieren zwellen op en worden oedemateus en hemorragisch. Bloedingen in de nieren kunnen in omvang variëren van nauwelijks waarneembare petechie tot ecchymose. Soortgelijke bloedingen kunnen ook worden waargenomen in de urineblaas, het strottenhoofd, het strotklepje en het hart en zijn soms ook uitgebreid aanwezig op de serosa van het abdomen en de borst. Vaak is er sprake van encefalitis zonder pusvorming. Ook is het mogelijk dat laesies worden waargenomen die veroorzaakt zijn door secundaire infecties. Deze kunnen de dierenarts misleiden. Miltinfarcten worden als pathognomonisch beschouwd, maar komen zelden voor.

4. Doorgaans leidt de acute vorm van Afrikaanse varkenspest tot een klinisch en pathologisch ziektebeeld dat grote gelijkenissen vertoont met dat van de klassieke varkenspest. Bloedingen van de huid en oren zijn, indien aanwezig eenvoudig op te sporen en doen veronderstellen dat er sprake is van een acuut geval van Afrikaanse of klassieke varkenspest. Er zijn maar weinig andere ziekten die dezelfde laesies veroorzaken.

▼B

Er moet ook rekening worden gehouden met acute klassieke varkenspest in geval van verdenking van erysipelas, abortus blauw, coumarinevergiftiging, purpura, wegkwijnziekte (post-weaning multisystemic wasting syndrome), varkensdermatitis en nefrotisch syndroom, salmonella- of pasteurella-infecties of infecties aan de darmen of luchtwegen in combinatie met koorts waarbij een antibioticumkuur niet aanslaat.

5. Het KVP-virus wordt vanaf het begin van de klinische verschijnselen tot aan de dood van het dier uitgescheiden via slijm, urine en uitwerpselen. Het virus kan ook worden uitgescheiden via sperma.

C. **Chronische vorm**

1. Er is sprake van de chronische vorm wanneer varkens niet in staat zijn een effectieve immuunrespons te ontwikkelen tegen het KVP-virus. Aanvankelijk lijken de symptomen van een chronische besmetting veel op die van een acute besmetting. Later worden vooral aspecifieke symptomen waargenomen, namelijk intermitterende koorts, chronische enteritis en wegkwijnen. De typische bloedingen van de huid ontbreken.

   Deze varkens kunnen gedurende twee tot drie maanden vóór hun dood klinische symptomen van de ziekte vertonen. Het KVP-virus wordt constant verspreid, vanaf het begin van de klinische symptomen tot aan de dood. In serummonsters kunnen tijdelijk antilichamen worden aangetroffen.

2. Pathologische veranderingen zijn minder typisch, vooral bloedingen in organen en serosa worden niet altijd waargenomen. Bij dieren met chronische diarree zijn necrotische laesies in de ileum, de ileocaecale klep en het rectum niet ongewoon.

3. Aangezien symptomen van chronische klassieke varkenspest tamelijk aspecifiek zijn, moet bij de differentiële diagnose rekening worden gehouden met vele andere ziekten. De stijging van de lichaamstemperatuur komt niet per definitie bij elk dier voor, maar in elk besmet bedrijf zijn er wel een paar varkens met koorts.

D. **Prenatale vorm en late manifestatie van de ziekte**

1. Het KVP-virus kan via de placenta van drachtige dieren foetussen infecteren, maar bij zeugen is de ziekte vaak subklinisch.

   De gevolgen van foetusbesmetting via de placenta hangen grotendeels af van de leeftijd van het foetus (dus hoelang de zeug al drachtig is) en de virulentie van het virus. Besmetting in de beginperiode van de dracht kan leiden tot vruchtafdrijving, doodgeboorte, mummificatie en misvorming. Dit alles leidt tot een lagere vruchtbaarheidsindex van het bedrijf.

   Besmetting van zeugen tot de negentigste dag van de dracht kan leiden tot de geboorte van blijvend viremische biggen, die bij de geboorte klinisch normaal zijn en een paar maanden oud kunnen worden. Na de geboorte kunnen de volgende verschijnselen optreden: groeiachterstand, wegkwijning en soms aangeboren trillen (trilbiggen). Dit verloop van de ziekte wordt „late manifestatie van klassieke varkenspest" genoemd. Deze biggen kunnen een cruciale rol spelen bij de verspreiding van de ziekte en bij het in stand houden van het virus binnen de populatie, omdat zij tot aan hun dood constant virus uitscheiden.

2. Met name in fokvarkensbedrijven kan de opsporing van klassieke varkenspest problemen opleveren, omdat het verloop van de besmetting erg mild kan zijn en verward kan worden met vele andere pathologische aandoeningen. Verminderde vruchtbaarheid en vruchtafdrijving kunnen wijzen op klassieke varkenspest, maar ook op besmetting met het parvovirus, abortus blauw, leptospirose en de ziekte van Aujeszky. Een als gevolg van klassieke varkenspest geaborteerde foetus kan uit pathologisch oogpunt niet worden onderscheiden van een als gevolg van een ander ziekteagens geaborteerde foetus.

   Wanneer het bestaan van een infectieziekte in het voortplantingskanaal wordt vermoed, moet onmiddellijk worden onderzocht of het gaat om klassieke varkenspest indien het betreffende bedrijf beschouwd kan worden als risicobedrijf (bijvoorbeeld omdat het bedrijf is gevestigd in een gebied waar klassieke varkenspest voorkomt bij wilde varkens) en in elk geval wanneer vaker voorkomende infecties in het voortplantingskanaal zijn uitgesloten.

▼B

HOOFDSTUK III

***Richtsnoeren met betrekking tot de belangrijkste criteria op grond waarvan wordt bepaald of een bedrijf ervan verdacht wordt met klassieke varkenspest te zijn besmet***

Het besluit om een bedrijf te bestempelen als verdacht bedrijf, wordt genomen op basis van de volgende bevindingen, criteria en redenen:

a) klinische en pathologische bevindingen bij varkens. De belangrijkste klinische en pathologische bevindingen die in aanmerking moeten worden genomen, zijn:

   — koorts in combinatie met hogere ziekte- en sterftecijfers;

   — koorts in combinatie met bloedingen;

   — koorts in combinatie met neurologische symptomen;

   — koorts zonder duidelijke aanleiding, waarbij behandeling met antibiotica geen verbetering oplevert;

   — abortussen in combinatie met toenemende vruchtbaarheidsproblemen in de afgelopen drie maanden;

   — aangeboren trillen (trilbiggen);

   — chronisch zieke dieren;

   — groeiachterstand bij jonge dieren;

   — petechie en ecchymose, met name in de lymfklieren, de nieren, de milt, de blaas en het strottenhoofd;

   — infarct of hematomen, met name in de milt;

   — knoopvormige zweren in de dikke darm bij chronische gevallen, met name nabij de verbinding met de ileum;

b) epizoötiologische bevindingen. De belangrijkste epizoötiologische bevindingen die in aanmerking moeten worden genomen, zijn:

   — varkens zijn direct of indirect in contact geweest met een varkensbedrijf waar klassieke varkenspest is geconstateerd en bevestigd;

   — een bedrijf heeft biggen geleverd waarvan later is gebleken dat ze besmet waren met klassieke varkenspest;

   — zeugen zijn kunstmatig geïnsemineerd met sperma dat afkomstig is van een verdachte bron;

   — er is indirect of direct contact geweest met wilde varkens van een populatie waarbij klassieke varkenspest voorkomt;

   — varkens worden in de openlucht gehouden in een gebied waar wilde varkens zijn besmet met klassieke varkenspest;

   — varkens zijn gevoed met spoeling en het vermoeden bestaat dat deze spoeling geen behandeling heeft ondergaan waarmee eventueel aanwezig virus van klassieke varkenspest wordt geïnactiveerd;

   — het vermoeden bestaat dat er blootstelling is geweest, bijvoorbeeld via personen die het bedrijf hebben betreden, transporten, enz.;

c) bevindingen in verband met resultaten van serologisch onderzoek. De belangrijkste bevindingen van laboratoriumtests die in aanmerking moeten worden genomen, zijn:

   — serologische reactie als gevolg van een onopgemerkte besmetting met het KVP-virus of van vaccinatie ([1]);

   — kruisreactie tussen antilichamen tegen klassieke varkenspest en tegen andere pestivirussen ([2]);

   — detectie van singletonreactoren ([3]).

([1]) Indien varkens met een conventioneel vaccin tegen klassieke varkenspest zijn ingeënt, kunnen zij seropositief worden bevonden als gevolg van de vaccinatie alleen of als gevolg van een latente besmetting van de ingeënte dieren.

([2]) Onder bepaalde omstandigheden kan maximaal 10 % van de varkens binnen een beslag antilichamen bezitten tegen pestivirussen die bij herkauwers boviene virusdiarree (BVD) en border disease (BD) veroorzaken. Dit kan bijvoorbeeld voorkomen wanneer varkens direct in contact zijn geweest met vee of schapen die besmet zijn met het BVD- of het BD-virus, of wanneer varkens in aanraking zijn geweest met materiaal dat besmet is met pestivirussen die voorkomen bij herkauwers.

([3]) In alle huidige serologische tests op klassieke varkenspest geeft een klein deel van de sera vals-positieve resultaten te zien, omdat het testsysteem niet specifiek genoeg is of omdat serum is gebruikt van singletonreactoren.

▼B

HOOFDSTUK IV

*Controle- en bemonsteringsprocedures*

A. **Richtsnoeren en procedures met betrekking tot klinisch onderzoek en bemonstering van varkens in verdachte bedrijven**

1. De lidstaten moeten ervoor zorgdragen dat in de verdachte bedrijven de juiste klinische onderzoeken, bemonsteringen en laboratoriumtests worden uitgevoerd om klassieke varkenspest te kunnen bevestigen of uitsluiten, overeenkomstig de richtsnoeren en procedures in de punten 2 tot en met 7.

   Ongeacht of de in artikel 4, lid 2, van Richtlijn 2001/89/EG vastgestelde maatregelen op de betrokken bedrijven al dan niet worden toegepast, zijn deze richtsnoeren en procedures in elk geval van toepassing wanneer het gaat om een ziekte waarbij in de differentiële diagnose rekening moet worden gehouden met klassieke varkenspest. Deze regel geldt ook voor gevallen waarbij de klinische symptomen en het epizoötiologische patroon van de ziekte die bij varkens worden waargenomen, doen vermoeden dat besmetting met klassieke varkenspest weinig waarschijnlijk is.

   In alle andere gevallen waarbij één of meer varkens ervan worden verdacht met het KVP-virus te zijn besmet, moeten de in artikel 4, lid 2, van Richtlijn 2001/89/EG vastgestelde maatregelen op het betrokken bedrijf worden toegepast.

   Indien het vermoeden bestaat dat varkens in een slachthuis of een vervoermiddel besmet zijn met klassieke varkenspest, zijn de in de punten 2 tot en met 7 vastgestelde richtsnoeren en procedures van overeenkomstige toepassing.

2. Indien een officiële dierenarts een verdacht bedrijf bezoekt teneinde klassieke varkenspest te bevestigen of uit te sluiten:

   — moet hij de met betrekking tot de productie en de gezondheid op het bedrijf geregistreerde gegevens controleren, indien die beschikbaar zijn;

   — moet hij elke subeenheid van het bedrijf inspecteren teneinde de varkens te selecteren die klinisch moeten worden onderzocht.

   In het kader van het klinisch onderzoek moet o.a. de lichaamstemperatuur worden gemeten en vooral de volgende varkens of groepen van varkens moeten worden onderzocht:

   — varkens die ziek zijn of lijden aan anorexie;

   — varkens die pas zijn hersteld van een ziekte;

   — varkens die recentelijk zijn aangevoerd uit bedrijven waar een uitbraak van de ziekte is bevestigd of uit een andere verdachte plaats van herkomst;

   — varkens die in subeenheden worden gehouden die recentelijk zijn bezocht door externe bezoekers die kort daarvoor in contact zijn geweest met varkens waarbij besmetting met klassieke varkenspest wordt vermoed of is bevestigd, dan wel met varkens waarbij is vastgesteld dat ze andere bijzonder risicovolle contacten hebben gehad met een potentiële bron van het KVP-virus;

   — varkens die reeds zijn bemonsterd en serologisch getest op klassieke varkenspest, voorzover uit de testresultaten is gebleken dat klassieke varkenspest niet kan worden uitgesloten, en contactvarkens.

   Indien bij de inspectie van het verdachte bedrijf geen varkens of groepen van varkens zijn aangetroffen zoals bedoeld in het voorgaande punt, moet de bevoegde autoriteit, onverminderd de andere maatregelen die overeenkomstig Richtlijn 2001/89/EG op het betrokken bedrijf worden toegepast en met inachtneming van de epizoötiologische situatie:

   — verder onderzoek verrichten op het betrokken bedrijf overeenkomstig punt 3, of

   — ervoor zorgen dat bij de varkens op het betrokken bedrijf bloedmonsters worden genomen voor laboratoriumtests. In dat geval moeten de in punt 5 en deel F, punt 2, vastgestelde bemonsteringsprocedures als richtsnoer worden gebruikt, of

   — de in artikel 4, lid 2, van Richtlijn 2001/89/EG vastgestelde maatregelen invoeren of handhaven, in afwachting van verder onderzoek op het betrokken bedrijf, of

   — het vermoeden van besmetting met klassieke varkenspest weerleggen.

3. Indien wordt verwezen naar dit punt, moet het klinisch onderzoek in het betrokken bedrijf worden uitgevoerd bij varkens die willekeurig worden

▼B

geselecteerd in de subeenheden waarvan is vastgesteld dat zij mogelijk met het KVP-virus zijn besmet.

Het minimumaantal te onderzoeken varkens moet voldoende zijn om koorts in deze subeenheden op te sporen met een betrouwbaarheidsinterval van 95 % bij een prevalentie van 10 %.

Wanneer het evenwel gaat om:

— fokzeugen, moet het minimumaantal te onderzoeken zeugen voldoende zijn om koorts op te sporen met een betrouwbaarheidsinterval van 95 % bij een prevalentie van 5 %;

— een spermacentrum, moeten alle beren worden onderzocht.

4. Indien op een verdacht bedrijf dode of stervende varkens worden aangetroffen, moet een post-mortemonderzoek worden uitgevoerd, bij voorkeur bij minimaal vijf van deze varkens en in het bijzonder bij varkens:

— die vóór of na hun dood duidelijke symptomen van de ziekte vertoonden, respectievelijk vertonen;

— die hoge koorts hadden;

— die pas gestorven zijn.

Indien bij deze onderzoeken geen laesies worden aangetroffen die wijzen op klassieke varkenspest, maar — in verband met de epizoötiologische situatie — verder onderzoek toch noodzakelijk wordt geacht:

— moeten in de subeenheid waar de dode of stervende varkens werden gehouden, een klinisch onderzoek zoals bedoeld in punt 3 en een serologische bemonstering zoals bedoeld in punt 5 worden uitgevoerd, en

— mag bij drie tot vier contactvarkens een post-mortemonderzoek worden uitgevoerd.

Ongeacht de aan- of afwezigheid van laesies die wijzen op klassieke varkenspest, moeten de organen of weefsels van varkens die aan een post-mortemonderzoek zijn onderworpen, overeenkomstig hoofdstuk V, deel B, punt 1, worden bemonsterd ten behoeve van virologisch onderzoek. Deze monsters worden bij voorkeur genomen bij pas gestorven varkens.

Wanneer een post-mortemonderzoek wordt uitgevoerd, moet de bevoegde autoriteit erop toezien dat:

— de nodige hygiëne- en voorzorgsmaatregelen worden genomen om verspreiding van de ziekte te voorkomen, en dat

— stervende varkens op een humane wijze worden gedood overeenkomstig Richtlijn 93/119/EEG van de Raad (PB L 340 van 31.12.1993, blz, 21).

5. Indien op een verdacht bedrijf verdere klinische symptomen of laesies worden geconstateerd die weliswaar kunnen wijzen op klassieke varkenspest, maar die volgens de bevoegde autoriteit onvoldoende bewijskracht hebben om besmetting met klassieke varkenspest te bevestigen, zodat alsnog laboratoriumtests vereist zijn, moeten bloedmonsters worden genomen bij de verdachte varkens en bij andere varkens in elke subeenheid waarin de verdachte varkens worden gehouden, overeenkomstig de hieronder beschreven procedures.

Het minimumaantal monsters dat moet worden genomen voor serologisch onderzoek, moet voldoende zijn voor de detectie, in de betrokken subeenheid, van een seroprevalentie van 10 % met een betrouwbaarheidsinterval van 95 %.

Wanneer het evenwel gaat om:

— fokzeugen, moet het minimumaantal te bemonsteren zeugen voldoende zijn voor de detectie van een seroprevalentie van 5 % met een betrouwbaarheidsinterval van 95 % ([1]);

— een spermacentrum, moet bij alle beren een bloedmonster worden genomen.

Het aantal monsters dat wordt genomen voor virologisch onderzoek, moet in overeenstemming zijn met de instructies van de bevoegde autoriteit, waarbij rekening moet worden gehouden met de verschillende tests die

([1]) In bepaalde gevallen, bijvoorbeeld wanneer een bedrijf met een beperkt aantal jonge varkens ervan verdacht wordt met klassieke varkenspest te zijn besmet, kan het aantal besmette zeugen in verhouding heel klein zijn. In deze gevallen moet een groot aantal zeugen worden bemonsterd.

▼B

kunnen worden uitgevoerd, met de gevoeligheid van de gebruikte laboratoriumtests en met de epizoötiologische situatie.

6. Indien de verdenking van besmetting met klassieke varkenspest op het betrokken bedrijf verband houdt met de resultaten van eerder serologisch onderzoek, moeten, onverminderd het nemen van bloedmonsters bij de in punt 2, tweede alinea, vijfde streepje, bedoelde varkens, de volgende procedures worden toegepast:

   a) indien de seropositieve varkens drachtige zeugen zijn, wordt een aantal van hen, bij voorkeur ten minste drie, geëuthanaseerd en onderworpen aan een post-mortemonderzoek. Voordat euthanasie wordt toegepast, wordt er een bloedmonster genomen voor verder serologisch onderzoek. De foetussen worden onderzocht op het KVP-virus, op virusantigeen of op virusgenoom overeenkomstig hoofdstuk VI, teneinde intra-uteriene infecties op te sporen;

   b) indien de seropositieve varkens zeugen zijn met zogende biggen, moet bij alle biggen een bloedmonster worden genomen. Deze monsters moeten worden onderzocht op het KVP-virus, op virusantigeen of op virusgenoom, overeenkomstig hoofdstuk VI. Ook bij de zeugen moet een bloedmonster worden genomen voor verder serologisch onderzoek.

7. Indien bij het onderzoek op een verdacht bedrijf geen klinische symptomen of laesies zijn aangetroffen die zouden kunnen wijzen op klassieke varkenspest, maar de bevoegde autoriteit verder laboratoriumonderzoek noodzakelijk acht om besmetting met klassieke varkenspest te kunnen uitsluiten, moeten de in punt 5 vastgestelde bemonsteringsprocedures als richtsnoer worden gebruikt.

B. **Bemonsteringsprocedures in bedrijven waar varkens worden gedood nadat de ziekte is bevestigd**

1. Teneinde na te gaan hoe het KVP-virus in een besmet bedrijf is binnengebracht en hoelang het virus al op het bedrijf aanwezig was, moeten, wanneer varkens worden gedood op het bedrijf waar een uitbraak is bevestigd overeenkomstig artikel 5, lid 1, onder a), van Richtlijn 2001/89/EG, bij die varkens op aselecte wijze bloedmonsters worden genomen voor serologisch onderzoek.

2. Het minimumaantal te bemonsteren varkens moet voldoende zijn voor de detectie, in elke subeenheid van het bedrijf, van een seroprevalentie van 10 % met een betrouwbaarheidsinterval van 95 % ([1]).

   Het nemen van monsters voor virologisch onderzoek mag ook plaatsvinden volgens de instructies van de bevoegde autoriteit, waarbij rekening moet worden gehouden met de verschillende tests die kunnen worden uitgevoerd, met de gevoeligheid van de gebruikte laboratoriumtests en met de epizoötiologische situatie.

3. In het geval van secundaire uitbraken kan de bevoegde autoriteit besluiten om af te wijken van de punten 1 en 2 en kan zij ad-hocbemonsteringsprocedures vaststellen. Hierbij moet rekening worden gehouden met de epizoötiologische informatie die reeds beschikbaar is met betrekking tot de herkomst van het virus, de wijze waarop het virus op het bedrijf is binnengebracht en de potentiële verspreiding van de ziekte vanuit het bedrijf.

C. **Bemonsteringsprocedures ingeval varkens op verdachte bedrijven preventief zijn gedood**

1. Teneinde besmetting met klassieke varkenspest te bevestigen of uit te sluiten en meer epizoötiologische informatie te verkrijgen, moeten, wanneer varkens op een verdacht bedrijf preventief worden gedood overeenkomstig het bepaalde in artikel 4, lid 3, onder a), of artikel 7, lid 2, van Richtlijn 2001/89/EG, bloedmonsters voor serologisch onderzoek en bloed- of tonsilmonsters voor virologisch onderzoek worden genomen overeenkomstig de in punt 2 vastgestelde procedure.

([1]) Indien echter gebruik is gemaakt van de in artikel 6, lid 1, van Richtlijn 2001/89/EG vastgestelde afwijking, moet de monsterneming betrekking hebben op de subeenheden van het bedrijf waar varkens zijn gedood, onverminderd verder onderzoek en bemonstering van de overige varkens op het bedrijf, overeenkomstig de instructies van de bevoegde autoriteit.

▼B

2. De bemonstering moet vooral worden uitgevoerd bij:

— varkens die symptomen of post-mortemlaesies vertonen die mogelijk wijzen op klassieke varkenspest, en de varkens die met deze dieren in contact zijn geweest;

— andere varkens die mogelijk risicovol contact hebben gehad met besmette of verdachte varkens of waarvan wordt vermoed dat ze met het KVP-virus zijn verontreinigd.

Deze varkens moeten worden bemonsterd volgens de instructies van de bevoegde autoriteit, die daarbij rekening houdt met de epizoötiologische situatie. In dit geval moeten de in de tweede, derde en vierde alinea hieronder vastgestelde bemonsteringsprocedures als richtsnoer worden gebruikt.

Bovendien moeten de varkens uit elk van de subeenheden van het bedrijf aselect worden bemonsterd ([1]). In dat geval moet het minimumaantal voor serologisch onderzoek te nemen monsters voldoende zijn voor de detectie in de betrokken subeenheid van een seroprevalentie van 10 % met een betrouwbaarheidsinterval van 95 %.

Wanneer het evenwel gaat om:

— fokzeugen, moet het minimumaantal te bemonsteren zeugen voldoende zijn voor de detectie van een seroprevalentie van 5 % met een betrouwbaarheidsinterval van 95 % ([2]);

— een spermacentrum, moet bij alle beren een bloedmonster worden genomen.

Het soort monsters dat moet worden genomen voor virologisch onderzoek en de te gebruiken test moet in overeenstemming zijn met de instructies van de bevoegde autoriteit, waarbij rekening moet worden gehouden met de verschillende tests die kunnen worden uitgevoerd, met de gevoeligheid van deze tests en met de epizoötiologische situatie.

D. **Controle- en bemonsteringsprocedures die van toepassing zijn voordat toestemming wordt verleend om varkens van bedrijven binnen beschermings- en toezichtsgebieden te vervoeren en ingeval deze varkens worden geslacht of gedood**

1. Onverminderd het bepaalde in artikel 11, lid 1, onder f), tweede alinea, van Richtlijn 2001/89/EG kan het vervoer, overeenkomstig artikel 10, lid 3, van genoemde richtlijn, van varkens, afkomstig van in een beschermings- of een toezichtsgebied gelegen bedrijven, alleen worden toegestaan indien het door een officiële dierenarts te verrichten klinisch onderzoek:

— wordt uitgevoerd in de laatste 24 uur voordat de varkens worden vervoerd;

— voldoet aan het bepaalde in deel A, punt 2.

2. Indien varkens naar een ander bedrijf moeten worden vervoerd, moet, onverminderd de op grond van punt 1 te verrichten onderzoeken, een klinisch onderzoek worden uitgevoerd bij varkens in elke subeenheid van het bedrijf, waar de te vervoeren varkens worden gehouden. Wanneer de varkens ouder zijn dan drie tot vier maanden, moet bij een deel van de varkens ook de temperatuur worden gemeten.

Het minimumaantal te onderzoeken varkens moet voldoende zijn om koorts in deze subeenheden op te sporen met een betrouwbaarheidsinterval van 95 % bij een prevalentie van 10 %.

Wanneer het evenwel gaat om:

— fokzeugen, moet het minimumaantal te onderzoeken zeugen voldoende zijn om koorts in de subeenheid waar de te vervoeren zeugen worden gehouden, op te sporen met een betrouwbaarheidsinterval van 95 % bij een prevalentie van 5 %;

— beren, moeten alle te vervoeren beren worden onderzocht.

([1]) Als de bevoegde autoriteit overeenkomstig artikel 4, lid 3, onder a), van Richtlijn 2001/89/EG de toepassing van preventief doden echter heeft beperkt tot dat deel van het bedrijf waar varkens worden gehouden die ervan worden verdacht met het KVP-virus te zijn besmet of verontreinigd, moet de bemonstering betrekking hebben op de subeenheden van het bedrijf waar deze maatregel is toegepast, onverminderd verder onderzoek en bemonstering van de overige varkens op het bedrijf overeenkomstig de instructies van de bevoegde autoriteit.

([2]) In bepaalde gevallen, bijvoorbeeld wanneer een bedrijf met een beperkt aantal jonge varkens ervan verdacht wordt met klassieke varkenspest te zijn besmet, kan het aantal besmette zeugen in verhouding heel klein zijn. In deze gevallen moet een groot aantal zeugen worden bemonsterd.

▼B

3. Indien varkens moeten worden vervoerd naar een slachthuis, een verwerkingsbedrijf of een andere locatie waar ze worden gedood of geslacht, moet, onverminderd de op grond van punt 1 te verrichten onderzoeken, een klinisch onderzoek worden uitgevoerd bij varkens in elke subeenheid waar de te vervoeren varkens worden gehouden. Wanneer de varkens ouder zijn dan drie tot vier maanden, moet bij een deel van de varkens ook de temperatuur worden gemeten.

   Het minimumaantal te onderzoeken varkens moet voldoende zijn om koorts in de betrokken subeenheden op te sporen met een betrouwbaarheidsinterval van 95 % bij een prevalentie van 20 %.

   Wanneer het evenwel gaat om fokzeugen of beren, moet het minimumaantal te onderzoeken varkens voldoende zijn om koorts in de subeenheid waar de te vervoeren varkens worden gehouden, op te sporen met een betrouwbaarheidsinterval van 95 % bij een prevalentie van 5 %.

4. Indien de in punt 3 bedoelde varkens worden geslacht of gedood, moeten bij varkens afkomstig uit elk van de subeenheden waarvan varkens zijn afgevoerd, bloedmonsters voor serologisch onderzoek en tonsilmonsters voor virologisch onderzoek worden genomen.

   Het minimumaantal te nemen monsters moet voldoende zijn voor de detectie, in elke subeenheid, van een seroprevalentie of een virusprevalentie van 10 % met een betrouwbaarheidsinterval van 95 %.

   Wanneer het evenwel gaat om fokzeugen of beren moet het minimumaantal te bemonsteren varkens voldoende zijn voor de detectie, in de subeenheid waar deze varkens werden gehouden, van een seroprevalentie of een virusprevalentie van 5 % met een betrouwbaarheidsinterval van 95 %.

   Het soort monsters dat moet worden genomen en de te gebruiken test moeten in overeenstemming zijn met de instructies van de bevoegde autoriteit, waarbij rekening moet worden gehouden met de verschillende tests die kunnen worden uitgevoerd, met de gevoeligheid van de gebruikte laboratoriumtests en met de epizoötiologische situatie.

5. Indien echter bij het slachten of doden klinische symptomen of postmortemlaesies worden waargenomen die zouden kunnen wijzen op klassieke varkenspest, zijn, in afwijking van punt 4, de in deel C vastgestelde bemonsteringsvoorschriften van toepassing.

E. **Controle- en bemonsteringsprocedures in een bedrijf met betrekking tot de herbevolking**

1. Wanneer in een bedrijf weer varkens worden binnengebracht overeenkomstig artikel 13, lid 2, onder a) of b), of artikel 19, lid 8, tweede alinea, onder b), van Richtlijn 2001/89/EG, moeten de volgende bemonsteringsprocedures worden toegepast:

   — indien verklikkervarkens worden binnengebracht, moeten bij een aantal varkens op aselecte wijze bloedmonsters worden genomen voor serologisch onderzoek, en wel voldoende voor de detectie, in elke subeenheid van het bedrijf, van een seroprevalentie van 10 % met een betrouwbaarheidsinterval van 95 %;

   — in geval van een totale herbevolking, moeten bij een aantal varkens op aselecte wijze bloedmonsters worden genomen voor serologisch onderzoek, en wel voldoende voor de detectie, in elke subeenheid van het bedrijf, van een seroprevalentie van 20 % met een betrouwbaarheidsinterval van 95 %.

   Wanneer het evenwel gaat om fokzeugen of beren moet het aantal te nemen monsters voldoende zijn voor de detectie van een seroprevalentie van 10 % met een betrouwbaarheidsinterval van 95 %.

2. Nadat weer varkens zijn binnengebracht, moet de bevoegde autoriteit erop toezien dat, wanneer varkens op het bedrijf om een onbekende reden ziek worden of doodgaan, de betrokken varkens onmiddellijk worden getest op klassieke varkenspest. Deze bepalingen zijn van toepassing totdat de beperkingen zoals bedoeld in artikel 13, lid 2, onder a), tweede alinea, en artikel 19, lid 8, tweede alinea, onder b), tweede volzin, van Richtlijn 2001/89/EG, voor het betrokken bedrijf worden opgeheven.

▼B

F. **Bemonsteringsprocedures in bedrijven in het beschermingsgebied voordat de beperkingen worden opgeheven**

1. Teneinde ervoor te zorgen dat de in artikel 10 van Richtlijn 2001/89/EG bedoelde maatregelen in een beschermingsgebied kunnen worden opgeheven:

   — moet in alle bedrijven in het gebied een klinisch onderzoek worden uitgevoerd overeenkomstig de in deel A, punten 2 en 3, vastgestelde procedures;

   — moeten in alle bedrijven in het gebied bloedmonsters voor serologisch onderzoek worden genomen overeenkomstig het bepaalde in punt 2.

2. Het minimumaantal te nemen bloedmonsters moet voldoende zijn voor de detectie, in elke subeenheid van het bedrijf, van een seroprevalentie van 10 % met een betrouwbaarheidsinterval van 95 %.

   Wanneer het evenwel gaat om:

   — fokzeugen, moet het minimumaantal te nemen monsters voldoende zijn voor de detectie van een seroprevalentie van 5 % met een betrouwbaarheidsinterval van 95 %;

   — een spermacentrum, moeten bij alle beren bloedmonsters worden genomen.

G. **Bemonsteringsprocedures in bedrijven in het toezichtsgebied voordat de beperkingen worden opgeheven**

1. Teneinde ervoor te zorgen dat de in artikel 11 van Richtlijn 2001/89/EG bedoelde beperkingen in een toezichtsgebied kunnen worden opgeheven, moet in alle bedrijven in het gebied een klinisch onderzoek worden uitgevoerd overeenkomstig de in deel A, punt 2, vastgestelde procedures.

   Daarnaast moeten er bloedmonsters voor serologisch onderzoek worden genomen bij varkens:

   — op alle bedrijven waar geen varkens in de leeftijd van twee tot acht maanden worden gehouden;

   — indien de bevoegde autoriteit vreest dat klassieke varkenspest zich ongemerkt onder fokzeugen kan hebben verspreid;

   — op elk ander bedrijf waar bemonstering noodzakelijk wordt geacht door de bevoegde autoriteit;

   — in alle spermacentra.

2. Wanneer in bedrijven in het toezichtsgebied bloedmonsters voor serologisch onderzoek worden genomen, moet het aantal in deze bedrijven te nemen bloedmonsters in overeenstemming zijn met deel F, punt 2. Indien de bevoegde autoriteit echter vreest dat klassieke varkenspest zich ongemerkt onder fokzeugen kan hebben verspreid, mag de bemonstering worden beperkt tot de subeenheden waar deze dieren worden gehouden.

H. **Serologische bewaking en bemonsteringsprocedures in gebieden waar klassieke varkenspest vermoedelijk voorkomt of reeds is bevestigd bij wilde varkens**

1. In het geval van serologische bewaking van wilde varkens in gebieden waar klassieke varkenspest is bevestigd of vermoedelijk voorkomt, moeten de omvang en het geografische gebied van de te bemonsteren doelpopulatie vooraf worden bepaald, teneinde te kunnen vaststellen hoeveel monsters er moeten worden genomen. Het aantal te nemen monsters moet worden vastgesteld op grond van het geschatte aantal levende dieren en niet op grond van het aantal afgeschoten dieren.

2. Indien gegevens over populatiedichtheid en omvang niet beschikbaar zijn, moet eerst het geografische gebied worden bepaald waarbinnen monsters moeten worden genomen, waarbij rekening moet worden gehouden met de continue aanwezigheid van wilde varkens en de aanwezigheid van natuurlijke of kunstmatige obstakels die het continu vervoeren van grote groepen dieren onmogelijk maken. In alle andere gevallen of wanneer het gaat om grote gebieden wordt aanbevolen om een bemonsteringsgebied niet groter te maken dan 200 $km^2$; bij een dergelijke grootte ligt het aantal wilde varkens gewoonlijk tussen 400 en 1 000.

3. Onverminderd het bepaalde in artikel 15, lid 2, onder c), van Richtlijn 2001/89/EG, moet het minimumaantal te bemonsteren varkens in het vooraf bepaalde gebied voldoende zijn voor de detectie van een seroprevalentie van 5 % met een betrouwbaarheidsinterval van 95 %. Dat betekent dat in elk van de hierboven bedoelde gebieden ten minste 59 dieren moeten worden bemonsterd.

▼B

Ook worden de volgende aanbevelingen gedaan:

— in gebieden waar de jachtdruk hoog is en waar regelmatig wordt gejaagd, of waar selectief wordt gejaagd in het kader van de ziektebestrijding, zou ongeveer 50 % van de bemonsterde dieren moeten behoren tot de categorie drie tot twaalf maanden, 35 % tot de categorie één tot twee jaar en 15 % tot de categorie ouder dan twee jaar;

— in gebieden waar de jachtdruk laag of afwezig is, zouden ten minste 32 dieren van elke leeftijdscategorie moeten worden bemonsterd;

— de bemonstering zou op korte tijd moeten worden voltooid, bij voorkeur binnen één maand;

— de leeftijd van bemonsterde dieren wordt bepaald aan de hand van het doorkomen van de tanden.

4. Het verzamelen van monsters voor virologisch onderzoek bij wilde varkens die zijn afgeschoten of dood worden aangetroffen, moet worden uitgevoerd overeenkomstig het bepaalde in hoofdstuk V, deel B, punt 1.

   Indien virologische bewaking op afgeschoten wilde varkens noodzakelijk wordt geacht, moet dit vooral geschieden bij dieren van drie tot twaalf maanden oud.

5. Bij alle monsters die naar het laboratorium worden gestuurd, moet een vragenlijst worden gevoegd zoals bedoeld in artikel 16, lid 3, onder l), van Richtlijn 2001/89/EG.

## HOOFDSTUK V

### *Algemene procedures en criteria voor het verzamelen en het vervoeren van monsters*

A. **Algemene procedures en criteria**

1. Voordat op een verdacht bedrijf monsters worden genomen, moet een plattegrond worden gemaakt van het bedrijf, waarop de epizoötiologische subeenheden van het bedrijf worden aangegeven.

2. Telkens wanneer men vermoedt dat varkens later wellicht opnieuw moeten worden bemonsterd, moeten alle bemonsterde varkens worden voorzien van een unieke identificatiecode waardoor zij bij de tweede monsterneming gemakkelijk herkenbaar zijn.

3. Onverminderd hoofdstuk IV, deel A, punt 5, onder b), mogen geen monsters voor serologisch onderzoek worden genomen bij biggen van minder dan acht weken oud.

4. Bij alle monsters die naar het laboratorium worden gestuurd, moeten de nodige formulieren worden gevoegd, overeenkomstig de voorschriften van de bevoegde autoriteit. De formulieren bevatten gegevens over de geschiedenis van de bemonsterde varkens en de klinische symptomen of post-mortemlaesies die zijn waargenomen.

   Wanneer de varkens op een bedrijf worden gehouden, moeten gegevens worden vermeld over de leeftijd, de categorie en het bedrijf van herkomst van de bemonsterde varkens. Aanbevolen wordt dat van elk varken waarbij een monster is genomen, de plaats wordt geregistreerd waar het in het bedrijf wordt gehouden, samen met de unieke identificatiecode van het dier.

B. **Bemonstering voor virologisch onderzoek**

1. Voor de opsporing van KVP-virus, antigeen of genoom bij dode of geëuthanaseerde varkens is weefsel van de tonsillen, de milt en de nieren het meest geschikt als monster. Bovendien wordt aanbevolen om twee monsters van andere lymfweefsels, zoals retrofaryngeale, parotide, mandibulaire of mesenterische lymfklieren, en een monster van de ileum te nemen. In het geval van kadavers die autolyse hebben ondergaan, wordt bij voorkeur een compleet lang bot of het sternum genomen.

2. Bij varkens die koorts of andere ziektesymptomen vertonen, moeten monsters van niet-gecoaguleerd of van gestold bloed worden genomen overeenkomstig de instructies van de bevoegde autoriteit.

3. Virologisch onderzoek wordt aanbevolen in het geval van zieke dieren. Dit onderzoek is gewoonlijk minder waardevol als het wordt gebruikt in het kader van de bewaking van dieren die geen klinische symptomen vertonen. Indien een grootschalig bemonsteringsproject er evenwel op gericht is het virus van klassieke varkenspest bij varkens tijdens de incubatieperiode op te sporen, dan zijn de tonsillen de meest geschikte monsters.

▼B

C. **Vervoer van de monsters**

1. Aanbevolen wordt om alle monsters:
   — in lekvrije recipiënten te vervoeren en op te slaan;
   — niet in te vriezen maar op koelkasttemperatuur te bewaren;
   — zo snel mogelijk bij het laboratorium af te leveren;
   — te bewaren in een verpakking die bij voorkeur ijskompressen in plaats van nat ijs bevat om de monsters koel te houden;
   — van weefsel of organen in een aparte verzegelde plastic tas met een duidelijk etiket te vervoeren. Vervolgens moeten ze in een grotere en sterkere recipiënt worden geplaatst, die voorzien is van voldoende absorberend materiaal om schade te voorkomen en weglekkend vocht op te nemen;
   — indien mogelijk, direct, door bevoegd personeel naar het laboratorium te laten vervoeren teneinde een snel en betrouwbaar transport te waarborgen.
2. De buitenzijde van de verpakking moet voorzien zijn van het adres van het ontvangende laboratorium en op een in het oog vallende plaats moet de volgende vermelding zijn aangebracht: „Dierlijk pathologisch materiaal; beperkt houdbaar; fragiel; niet openen buiten een laboratorium voor klassieke varkenspest”.
3. Het laboratorium waar de monsters naar toe worden gestuurd, moet vooraf in kennis worden gesteld van het tijdstip en de wijze waarop de monsters aankomen.
4. Indien de monsters uit een andere lidstaat dan Duitsland of uit een derde land door de lucht naar het communautair referentielaboratorium voor klassieke varkenspest ([1]) worden vervoerd, moeten de verpakkingen worden voorzien van een etikttering overeenkomstig de voorschriften van de IATA.

HOOFDSTUK VI

***Principes en gebruik van virologische tests en evaluatie van de resultaten***

A. **Opsporen van virusantigeen**

1. *Immunofluorescentietest (FAT)*

   Het principe van de test is het opsporen van virusantigeen op dunne cryosecties van orgaanweefsel van varkens waarvan vermoed wordt dat ze met het KVP-virus zijn besmet. Het intracellulaire antigeen kan worden opgespoord door middel van een FITC-geconjugeerd antilichaam. Een positief resultaat moet worden bevestigd door middel van herhaling van de kleuring met een specifiek monoklonaal antilichaam.

   Geschikte organen hiervoor zijn de tonsillen, de nieren, de milt, verschillende lymfklieren en de ileum. In het geval van wilde varkens mag, wanneer die organen niet beschikbaar zijn of autolyse hebben ondergaan, ook een uitstrijkje van beenmergcellen worden gebruikt.

   De test kan binnen één dag worden uitgevoerd. Omdat orgaanmonsters alleen kunnen worden verkregen uit dode dieren, zijn ze niet echt geschikt voor screeningonderzoek. De betrouwbaarheid van de testresultaten kan afnemen indien de kleuring twijfelachtig is, vooral wanneer er nog geen gedegen ervaring is opgedaan met het uitvoeren van deze test of wanneer de te testen organen autolyse hebben ondergaan.

2. *ELISA voor de opsporing van antigeen*

   Virusantigeen kan worden opgespoord door middel van uiteenlopende ELISA-technieken. De gevoeligheid van de antigeen-ELISA moet hoog genoeg zijn voor het verkrijgen van een positief resultaat bij dieren met klinische symptomen van klassieke varkenspest.

   Het gebruik van ELISA's voor de opsporing van antigeen wordt aanbevolen bij monsters van dieren met klinische symptomen of pathologische laesies. ELISA's zijn niet geschikt voor onderzoek van afzonderlijke dieren. Geschikte monsters zijn leukocyten, serum, niet-gecoaguleerd bloed, maar ook suspensies van de in punt 1 genoemde organen van

([1]) Het communautair referentielaboratorium beschikt over een onbeperkte vergunning voor het ontvangen van diagnostische monsters en virusisolaten van klassieke varkenspest. Om de lading naar het laboratorium te kunnen vervoeren, is mogelijk een importvergunning vereist. Deze moet meegezonden worden in een envelop op de buitenzijde van de verpakking.

▼B

varkens waarvan vermoed wordt dat ze met het KVP-virus zijn besmet ([1]).

De ELISA kan binnen één dag en met geautomatiseerde apparatuur worden uitgevoerd. Het belangrijkste voordeel is dat in zeer korte tijd een groot aantal monsters kan worden verwerkt. Aanbevolen wordt gebruik te maken van antigeen-ELISA's die bevredigende resultaten hebben opgeleverd met referentiemateriaal. Momenteel zijn echter alle commerciële ELISA's minder gevoelig dan virusisolatie op celculturen, maar de gevoeligheid is aanzienlijk beter bij bloedmonsters van biggen dan bij bloedmonsters van volwassen varkens.

B. **Virusisolatie**

1. Virusisolatie is gebaseerd op de incubatie van monsters op gevoelige celculturen afkomstig van varkens. Indien het monster het virus van klassieke varkenspest bevat, zal het virus zich in de cellen vermeerderen totdat het kan worden opgespoord door middel van immunokleuring van de geïnfecteerde cellen met geconjugeerde antilichamen. Voor de differentiële diagnose ten aanzien van andere pestivirussen zijn antilichamen nodig die specifiek zijn voor klassieke varkenspest.

2. Voor het isoleren van het KVP-virus wordt de voorkeur gegeven aan monsters van leukocyten, plasma of volbloed afkomstig van niet-gecoaguleerd bloed of aan monsters van in deel A, punt 1, genoemde organen.

3. Virusisolatie is beter geschikt voor onderzoek van monsters van een klein aantal dieren dan voor grootschalig onderzoek. De virusisolatieprocedure is arbeidsintensief en het duurt minimaal drie dagen voordat de resultaten beschikbaar zijn. Mogelijk zijn er nog twee passages over de celcultuur nodig voordat in het monster een kleine hoeveelheid virus kan worden opgespoord. Daardoor kan het tot tien dagen duren voordat definitieve resultaten bekend zijn. Monsters die autolyse hebben ondergaan, kunnen een cytotoxisch effect hebben op de celcultuur en daardoor de bruikbaarheid van de celcultuur beperken.

4. Aanbevolen wordt om virusisolatie ook toe te passen indien klassieke varkenspest reeds is bevestigd door middel van andere methoden. De virusisolatiemethode moet als referentietest worden gebruikt voor de bevestiging van positieve resultaten van een eerdere antigeen-ELISA, PCR (polymerasekettingreactie), FAT of indirecte peroxidasekleuring.

   Virusisolaten van klassieke varkenspest die op deze wijze worden verkregen, kunnen worden gebruikt voor virustypering, met inbegrip van genetische typering en moleculaire epidemiologie.

5. Alle KVP-virusisolaten van primaire uitbraken, van primaire gevallen bij wilde varkens of van gevallen in slachthuizen of vervoermiddelen moeten, overeenkomstig het bepaalde in deel E, genetisch getypeerd worden door een nationaal referentielaboratorium in de lidstaat, door een ander laboratorium dat daartoe door de betrokken lidstaat bevoegd is verklaard, of door het communautair referentielaboratorium.

   Deze virusisolaten moeten altijd onverwijld toegezonden worden aan het communautair referentielaboratorium voor het verzamelen van virus.

C. **Opsporen van virusgenoom**

1. PCR wordt toegepast om virusgenoom in bloed-, weefsel- of orgaanmonsters op te sporen. Kleine fragmenten viraal RNA worden omgezet in DNA-fragmenten, die door PCR worden vermeerderd zodat er opspoorbare hoeveelheden ontstaan. Omdat deze test enkel een genoomvolgorde van het virus opspoort, kan de PCR ook positief zijn als er geen besmettelijk virus aanwezig is (bijvoorbeeld in weefsel dat autolyse heeft ondergaan of monsters van herstellende varkens).

2. PCR kan worden toegepast op kleine hoeveelheden zorgvuldig gekozen monsters van verdachte dieren of op materiaal van geaborteerde foetussen. Bij kadavers van wilde varkens kan dit de aangewezen methode zijn indien het materiaal autolyse heeft ondergaan en virusisolatie niet meer mogelijk is in verband met cytotoxiciteit.

3. Geschikt monstermateriaal voor een diagnostische PCR zijn de voor virusisolatie genoemde organen of niet-gecoaguleerd bloed.

([1]) Een aantal KVP-antigeen-ELISA's is in de handel verkrijgbaar. Zij worden gevalideerd met verschillende soorten monsters.

▼B

4. PCR kan binnen 48 uur worden uitgevoerd. Geschikte laboratoriumapparatuur, gescheiden faciliteiten en ervaren personeel zijn essentieel. Een voordeel van deze methode is dat besmettelijke virusdeeltjes niet hoeven te worden vermeerderd in het laboratorium. De methode is uiterst gevoelig, maar de kans op verontreinigingen, waardoor vals-positieve resultaten ontstaan, is zeer groot. Strenge kwaliteitscontroleprocedures zijn daarom essentieel. Sommige methoden zijn meer specifiek voor pestivirussen dan voor klassieke varkenspest, waardoor er extra confirmatietests nodig zijn, zoals de sequencing van het PCR-product.

D. **Evaluatie van de resultaten van virologische tests**

1. Virologische tests zijn essentieel voor de bevestiging van klassieke varkenspest.

   Virusisolatie moet worden overwogen als virologische referentietest en indien nodig moet deze methode ook worden gebruikt als confirmatietest. Virusisolatie wordt met name aanbevolen wanneer positieve FAT-, ELISA- of PCR-resultaten niet worden geassocieerd met de opsporing van klinische symptomen of laesies en in andere twijfelgevallen.

   Een primaire uitbraak van klassieke varkenspest kan echter worden bevestigd indien bij de betrokken varkens klinische symptomen of laesies zijn gevonden en de dieren positief zijn gebleken bij ten minste twee antigeen- of genoomdetectietests.

   Een secundaire uitbraak van klassieke varkenspest kan worden bevestigd indien niet alleen een epizoötiologisch verband met een bevestigde uitbraak of een bevestigd geval is geconstateerd, maar bij de betrokken varkens bovendien klinische symptomen of laesies zijn gevonden en een antigeen- of genoomdetectietest een positief resultaat heeft opgeleverd.

   Een primair geval van klassieke varkenspest bij wilde varkens kan worden bevestigd na virusisolatie of indien minimaal twee antigeen- of genoomdetectietests een positief resultaat hebben opgeleverd. Andere gevallen van klassieke varkenspest bij wilde varkens waarbij een epizoötiologisch verband met reeds bevestigde gevallen is geconstateerd, kunnen worden bevestigd indien een antigeen- of genoomdetectietest een positief resultaat heeft opgeleverd.

2. Het resultaat van een genoom- of antigeendetectietest kan alleen dan positief zijn voor klassieke varkenspest, indien de betrokken test is uitgevoerd met behulp van antilichamen of primers die specifiek zijn voor klassieke varkenspest. Indien de gebruikte test niet specifiek is voor het virus van klassieke varkenspest, maar alleen voor pestivirussen, moet de test worden herhaald met reagentia die wel specifiek zijn voor klassieke varkenspest.

E. **Genetische typering van virusisolaten van klassieke varkenspest**

1. Voor de genetische typering van virusisolaten van klassieke varkenspest wordt de nucleotidenvolgorde van delen van het virusgenoom bepaald, namelijk de specifieke delen van het 5' niet-coderende deel en/of het E2-glycoproteïnegen. Uit de overeenkomsten van deze sequenties met die welke reeds zijn verkregen uit eerdere virusisolaten kan blijken of ziekte-uitbraken zijn veroorzaakt door nieuwe, dan wel door reeds bekende stammen. Hiermee kunnen de hypotheses inzake transmissieroutes die verkregen zijn door epizoötiologische tracering, worden bevestigd of weerlegd.

   Genetische typering van virusisolaten van klassieke varkenspest is van groot belang voor het bepalen van de oorsprong van de ziekte. Grote overeenkomsten tussen virussen van verschillende uitbraken vormen geen betrouwbaar bewijs voor een direct epizoötiologisch verband.

2. Indien virustypering niet op korte termijn kan worden uitgevoerd in een nationaal laboratorium of een ander laboratorium dat bevoegd is om klassieke varkenspest te diagnosticeren, moet het originele monster of het virusisolaat zo spoedig mogelijk naar het communautair referentielaboratorium worden gezonden om daar te worden getypeerd.

   De gegevens over de typering en de sequencing van virusisolaten van klassieke varkenspest, waarover de laboratoria beschikken die bevoegd zijn om klassieke varkenspest te diagnosticeren, moeten worden doorgestuurd naar het communautair referentielaboratorium, zodat deze gegevens kunnen worden ingevoerd in de database die door dit laboratorium wordt beheerd.

▼B

De gegevens in deze database moeten beschikbaar zijn voor alle nationale referentielaboratoria in de lidstaten. Het communautair referentielaboratorium moet, indien het betrokken laboratorium hierom verzoekt, garanderen dat gegevens die bestemd zijn voor publicatie in een wetenschappelijk tijdschrift, vertrouwelijk blijven in afwachting van de publicatie.

HOOFDSTUK VII

***Principes en gebruik van serologische tests en evaluatie van de resultaten***

A. **Basisprincipes en diagnostische waarde**

1. Bij varkens die besmet zijn met het virus van klassieke varkenspest, kunnen antilichamen in serummonsters meestal worden opgespoord vanaf twee tot drie weken na de besmetting. Bij varkens die van de ziekte zijn hersteld, kunnen nog jarenlang of zelfs tot aan hun dood beschermende neutraliserende antilichamen worden gevonden. Antilichamen kunnen ook sporadisch worden aangetroffen tijdens de terminale fase van dodelijk zieke dieren. Bij sommige varkens met een chronische vorm van klassieke varkenspest is het mogelijk dat antilichamen worden gedetecteerd gedurende een paar dagen aan het einde van de eerste maand na besmetting.

   Varkens die in utero besmet zijn, zijn mogelijk immunotolerant ten aanzien van het homologe KVP-virus en maken geen specifieke antilichamen aan. Gedurende de eerste levensdagen kunnen echter antilichamen worden gedetecteerd die afkomstig zijn van het moederdier. De halveringstijd van maternale antilichamen in niet-viremische gezonde biggen bedraagt ongeveer twee weken. Antilichamen tegen klassieke varkenspest die worden aangetroffen bij biggen van meer dan drie maanden, zijn zeer waarschijnlijk niet van maternale oorsprong.

2. Het opsporen van antilichamen tegen het KVP-virus in serum- of plasmamonsters wordt uitgevoerd ter ondersteuning van de diagnose van klassieke varkenspest op verdachte bedrijven, om vast te stellen hoelang de besmetting al bestaat in geval van een bevestigde uitbraak, en voor toezichts- en bewakingsdoeleinden. Serologisch onderzoek is evenwel maar beperkt bruikbaar voor de opsporing van klassieke varkenspest als het bedrijf nog maar pas besmet is.

   Een gering aantal seropositieve varkens met een lage neutralisatietiter kan indicatief zijn voor een recente besmetting (twee tot vier weken). De aanwezigheid van veel seropositieve varkens met een hoge neutralisatietiter kan erop duiden dat het bedrijf langer dan een maand geleden met het virus is besmet. De locatie van seropositieve varkens in het bedrijf kan waardevolle informatie bieden over de wijze waarop het KVP-virus het bedrijf is binnengekomen.

   In het kader van het onderzoek dat overeenkomstig artikel 8 van Richtlijn 2001/89/EG wordt uitgevoerd in verband met een vermoedelijke of een bevestigde uitbraak van klassieke varkenspest, moeten de resultaten van de serologische tests nauwkeurig worden geëvalueerd, waarbij rekening moet worden gehouden met alle klinische, virologische en epizoötiologische bevindingen.

B. **Aanbevolen serologische tests**

1. Voor de serologische diagnose van klassieke varkenspest worden bij voorkeur de virusneutralisatietest (VNT) en de ELISA gebruikt.

   De kwaliteit en de doelmatigheid van de serologische diagnose die door de nationale laboratoria wordt uitgevoerd, moeten regelmatig worden gecontroleerd in het kader van de vergelijkende proeven die geregeld door het communautair referentielaboratorium worden georganiseerd en waaraan door verschillende laboratoria wordt meegewerkt.

2. De VNT is gebaseerd op de bepaling van de virusneutralisatieactiviteit van de antilichamen van het serummonster, uitgedrukt als neutraliserend 50 % eindpunt.

   Bij een temperatuur van 37 ºC wordt een constante hoeveelheid KVP-virus met verdund serum geïncubeerd. Voor screeningdoeleinden worden de sera aanvankelijk verdund in de verhouding 1:10. Indien een volledige titratie noodzakelijk is, worden tweevoudige verdunningen van het serum beginnende met 1:2 of 1:5 geprepareerd. Elke verdunning wordt vermengd met een gelijk volume virussuspensie dat 100 infectieuze doses (TCID 50) bevat.

▼B

Na de incubatie wordt het mengsel in celculturen geïnoculeerd en volgt er een incubatietijd van drie tot vijf dagen. Daarna worden de culturen gefixeerd en wordt virusvermeerdering in de besmette cellen opgespoord door middel van een immunologisch gemerkt systeem. Daarbij mag worden gebruikgemaakt van de NPLA-analyse (neutralisation peroxidase-linked antibody) of de NIF-analyse (neutralisation-immunofluorescence).

De resultaten van de VNT worden weergegeven als de reciproke van de aanvankelijke serumverdunning waarbij de helft van de geïnoculeerde celculturen (50 % eindpunt) geen virusvermeerdering vertoont (geen bepaalde kleuring). Tussen twee verdunningen wordt een eindpunt geïnterpoleerd. Het uiteindelijke verdunningssysteem is gebaseerd op de werkelijke verdunning van het serum tijdens de neutralisatiereactie, d.w.z. na toevoeging van het virus, maar vóór toevoeging van de celsuspensie.

3. De VNT is de meest gevoelige en betrouwbare test voor het opsporen van antilichamen tegen het KVP-virus. Deze test wordt daarom aanbevolen voor serologisch onderzoek bij zowel individuele dieren als een compleet varkensbeslag. Met deze test worden echter mogelijk ook kruislings neutraliserende antilichamen opgespoord die specifiek zijn voor pestivirussen die normaal voorkomen bij herkauwers maar waarmee varkens zijn besmet.

   De VNT voor de opsporing van antilichamen tegen het BVD- en het BD-virus wordt volgens bovenstaand principe uitgevoerd ten behoeve van de differentiële diagnose van klassieke varkenspest.

4. De pestivirusstammen die moeten worden gebruikt voor de neutralisatietests, moeten in overeenstemming zijn met de aanbeveling van het communautair referentielaboratorium.

5. Er zijn verschillende ELISA-technieken ontwikkeld die gebruikmaken van specifieke monoklonale antilichamen; zij zijn gebaseerd op twee methoden: competitieve of „blocking” ELISA en niet-competitieve ELISA.

   De competitieve of „blocking” ELISA is gewoonlijk gebaseerd op monoklonale antilichamen. Als het serummonster antilichamen tegen het KVP-virus bevat, zal de binding van een geselecteerd peroxidasegeconjugeerd monoklononaal antilichaam aan het virusantigeen worden geïnhibeerd waardoor het signaal minder sterk wordt.

   In niet-competitieve ELISA's wordt de binding van serumantilichamen aan het antigeen direct gemeten aan de hand van peroxidasegeconjugeerde anti-varken antilichamen.

6. De nationale laboratoria moeten regelmatig kwaliteitscontroles met betrekking tot de gevoeligheid en de specificiteit van elke batch van een ELISA uitvoeren met gebruikmaking van de referentiesera die door het communautair referentielaboratorium beschikbaar worden gesteld, namelijk:

   — sera van varkens in de vroege fase van besmetting met het KVP-virus (binnen 21 dagen na besmetting);

   — sera van herstellende varkens (na 21 dagen na besmetting);

   — sera van varkens die zijn besmet met pestivirussen die voorkomen bij herkauwers.

   De ELISA's die moeten worden gebruikt voor de serologische diagnose van klassieke varkenspest, moeten alle referentiesera van de herstellende varkens herkennen. Alle resultaten die aan de hand van de referentiesera worden verkregen, moeten herhaalbaar zijn. Voorts verdient het aanbeveling dat zij alle positieve sera van de vroege fase opsporen en een minimum aan kruisreactie aantonen met de sera van varkens die zijn besmet met pestivirussen die voorkomen bij herkauwers.

   De resultaten die zijn verkregen met de referentiesera van varkens in de vroege fase van de besmetting, geven een indicatie van de gevoeligheid van de ELISA.

7. De gevoeligheid van de ELISA's wordt geacht lager te zijn dan die van de VNT en aanbevolen wordt ELISA's alleen toe te passen als screeningtest bij hele varkensbeslagen. De ELISA's vereisen echter minder gespecialiseerde voorzieningen en kunnen dankzij automatisatie sneller worden uitgevoerd dan de VNT.

▼B

De ELISA's moeten de zekerheid bieden dat alle besmettingen met klassieke varkenspest in de herstelfase worden geïdentificeerd en moeten zo min mogelijk onderhevig zijn aan interferentie van aan kruisreactie blootgestelde antilichamen tegen pestivirussen bij herkauwers.

C. **Interpretatie van de serologische resultaten en differentiële diagnose bij besmetting met pestivirussen die voorkomen bij herkauwers (BVD-virus en BD-virus)**

1. Onverminderd het bepaalde in artikel 4, lid 3, onder a), of artikel 7, lid 2, van Richtlijn 2001/89/EG moeten, wanneer een neutralisatietiter van het KVP-virus van ten minste 10 $ND_{50}$ wordt gevonden in serummonsters van één of meer varkens, dan wel een positief ELISA-resultaat in serummonsters van een groep varkens, onmiddellijk de in artikel 4, lid 2, van Richtlijn 2001/89/EG vastgestelde maatregelen van toepassing worden of van toepassing blijven op het betrokken bedrijf.

   De monsters die reeds op dit bedrijf zijn verzameld, moeten opnieuw met de VNT worden getest aan de hand van vergelijkende eindpunttitraties van de neutraliserende antilichamen tegen het KVP-virus en tegen pestivirussen bij herkauwers.

2. Indien uit de vergelijkende tests blijkt dat er wel antilichamen zijn tegen pestivirussen die voorkomen bij herkauwers, en geen antilichamen of een beduidend lagere (ten minste driemaal lager) antilichaamtiter tegen het KVP-virus, wordt het vermoeden van besmetting met klassieke varkenspest als weerlegd beschouwd, tenzij er andere redenen zijn om de in artikel 4, lid 2, van Richtlijn 2001/89/EG vastgestelde maatregelen te handhaven.

3. Indien de vergelijkende tests bij meer dan één varken een virusneutralisatietiter aantonen van ten minste 10 $ND_{50}$, en deze titer gelijk is aan of groter is dan de titer voor andere pestivirussen, ziet de bevoegde autoriteit erop toe dat klassieke varkenspest wordt bevestigd, op voorwaarde dat op het betrokken bedrijf besmetting met KVP ook op epizoötiologische gronden is aangetoond.

4. Onverminderd het bepaalde in artikel 4, lid 3, van Richtlijn 2001/89/EG, dient de bevoegde autoriteit, indien de besmetting niet op epizoötiologische gronden is aangetoond of indien de resultaten van de voorgaande tests geen uitsluitsel geven, ervoor te zorgen dat op het betrokken bedrijf:

   — de in artikel 4, lid 2, van Richtlijn 2001/89/EG vastgestelde maatregelen worden gehandhaafd;

   — zo spoedig mogelijk verder onderzoek wordt verricht teneinde klassieke varkenspest te kunnen bevestigen of uitsluiten, overeenkomstig hoofdstuk IV.

5. Indien klassieke varkenspest op grond van de verdere controles en tests zoals bedoeld in punt 4 niet kan worden uitgesloten, moeten op zijn vroegst twee weken na de vorige controle op het bedrijf extra bloedmonsters worden genomen voor serologisch onderzoek.

   In het kader van deze extra bemonstering moeten bij de reeds bemonsterde en geteste varkens opnieuw monsters worden genomen voor een vergelijkend serologisch onderzoek met de eerder genomen monsters, teneinde een eventuele seroconversie voor het KVP-virus of voor pestivirussen die voorkomen bij herkauwers, op te sporen.

   Indien klassieke varkenspest op grond van deze extra controles en tests niet kan worden bevestigd, mogen de in artikel 4 van Richtlijn 2001/89/EG vastgestelde maatregelen worden opgeheven.

▼M1

HOOFDSTUK VIII

***Discriminatoire test in geval van noodvaccinatie***

A. **Basisprincipes**

1. Er is een discriminatoire serologische ELISA-test („discriminatoire test”) beschikbaar om met goed gevolg onderscheid te maken tussen varkens die met een merkervaccin zijn gevaccineerd dat alleen antilichamen tegen het E2-glycoproteïne van het virus van klassieke varkenspest (KVP-virus) opwekt, en varkens die met het wilde type van het KVP-virus zijn besmet. Deze test is ontwikkeld om antilichamen tegen het $E^{rns}$-glycoproteïne van het KVP-virus op te sporen. De test is gebaseerd op het principe dat niet-besmette dieren die met een merkervaccin zijn gevaccineerd alleen antilichamen tegen het E2-glycoproteïne van het KVP-virus produceren, terwijl dieren die met het veldvirus zijn besmet ook reageren op en antilichamen produceren tegen andere virusantigenen.

▼M1

Deze discriminatoire test is gevoelig en specifiek ([1]). Echter, ook varkens die besmet zijn geraakt met andere pestivirussen dan het KVP-virus, zoals het BVD- en het BD-virus, zullen positief op $E^{rns}$ reageren. Bovendien is de gevoeligheid van de test niet ideaal, aangezien sommige met een merkervaccin gevaccineerde en vervolgens besmette dieren mogelijk niet positief op $E^{rns}$ reageren.

De gegevens die momenteel beschikbaar zijn wijzen erop dat de discriminatoire test niet betrouwbaar is voor het testen van serummonsters van wilde varkens.

2. De discriminatoire test is een blocking enzyme-linked immunoassay in vloeibare fase. De te testen monsters worden geïncubeerd op microtiterplaten die van tevoren met monoklonale anti-$E^{rns}$-antilichamen en een gespecificeerde hoeveelheid $E^{rns}$-antigeen zijn gecoat. Elk specifiek $E^{rns}$-antilichaam bindt zich aan de gespecificeerde hoeveelheid $E^{rns}$-antigeen in de oplossing en er vormt zich een antigeen-antilichaamcomplex dat niet met de anti-$E^{rns}$-antilichamen op de microtiterplaat reageert. Na het wassen van de platen om ongebonden materiaal te verwijderen wordt een met peroxidase gemerkt anti-$E^{rns}$-conjugaat toegevoegd dat zich aan het $E^{rns}$-antigeen-antilichaamcomplex bindt dat op het oppervlak van de microtiterplaat is gecoat. Ongebonden conjugaat wordt door wassen verwijderd en er wordt een chromogeen substraat toegevoegd. De kleurreactie die optreedt is omgekeerd evenredig met de hoeveelheid $E^{rns}$-specifiek antilichaam in het monster. Als het monster geen antilichamen bevat (negatief monster) kan veel van de toegevoegde gespecificeerde hoeveelheid $E^{rns}$-antigeen zich met de anti-$E^{rns}$-antilichamen op het oppervlak van de plaat binden en wordt een sterke kleurreactie waargenomen.

Er wordt een resultaat verkregen door de optische dichtheid (OD) in putjes met testmonsters te vergelijken met die van de putjes die de negatieve en positieve controle bevatten.

B. **Richtsnoeren voor het gebruik van de discriminatoire test in het kader van een noodvaccinatie met een merkervaccin op varkensbedrijven volgens artikel 19 van Richtlijn 2001/89/EG**

De discriminatoire test is ontwikkeld om de aan- of afwezigheid van de verspreiding van het KVP-virus na te gaan in een varkenspopulatie die met een merkervaccin is gevaccineerd. De beschikbare gegevens wijzen erop dat de test voor dit doel met goed gevolg kan worden gebruikt bij hele varkensbeslagen, maar niet betrouwbaar kan uitsluiten dat individuele varkens met het KVP-virus besmet zijn. Met name de specificiteit van de discriminatoire test zou wel eens onvoldoende kunnen zijn om in geval van vaccinatie van volwassen varkens op betrouwbare wijze met een merkervaccin gevaccineerde varkens van besmette varkens te onderscheiden. In geval van twijfelachtige resultaten moeten de desbetreffende varkens echter op humane wijze overeenkomstig Richtlijn 93/119/EG worden geslacht of gedood en moeten hun organen op het KVP-virus worden getest. Virusisolatie en PCR zijn hiervoor de geschiktste tests.

Met deze aspecten moet ten volle rekening worden gehouden bij het uitwerken van een strategie voor noodvaccinatie met een merkervaccin en vervolgens bij de interpretatie van de resultaten van een onderzoek naar het KVP-virus onder de met een merkervaccin gevaccineerde populatie.

De bemonsterings- en testprocedure van de gevaccineerde varkenspopulatie vóór opheffing van de beperkingen die overeenkomstig artikel 19 van Richtlijn 2001/89/EG in het vaccinatiegebied moeten worden toegepast, zou afhankelijk moeten zijn van de leeftijd van de gevaccineerde varkens, de categorie varkens (mest-/slacht- of fokvarkens) en het gewenste veiligheidsniveau betreffende de afwezigheid van de verspreiding van het virus in de populatie.

([1]) Overeenkomstig de resultaten van een studie van het communautaire referentielaboratorium voor klassieke varkenspest en de nationale referentielaboratoria voor klassieke varkenpest is de gevoeligheid van de discriminatoire test circa 94 % en de specificiteit circa 98 %.

▼M1

Details over de bemonsterings- en testprocedure moeten daarom worden vastgelegd in het noodvaccinatieplan dat overeenkomstig artikel 19, lid 3, van Richtlijn 2001/89/EG bij de Commissie moet worden ingediend.

▼B

HOOFDSTUK IX

***Minimumvoorschriften inzake de veiligheid in laboratoria voor klassieke varkenspest***

1. In elk laboratorium waar in het kader van virusisolatie en neutralisatietests met het virus wordt gewerkt — ongeacht de mate waarin — moet aan de in tabel 1 vastgestelde minimumvoorschriften worden voldaan. Post-mortemonderzoeken, verwerking van weefsel ten behoeve van FAT en serologisch onderzoek met behulp van geïnactiveerd antigeen kunnen worden uitgevoerd bij een lager inperkingsniveau, voorzover adequate hygiëne, desinfectie na de werkzaamheden en veilige afvoer van weefsel en sera gegarandeerd blijven.

2. De aanvullende voorschriften die zijn vastgelegd in tabel 1, moeten worden nageleefd door elk laboratorium dat procedures toepast in het kader waarvan intensieve virusvermeerdering plaatsvindt.

3. De voorschriften die zijn vastgelegd in tabel 2, moeten worden nageleefd door elk laboratorium waar dierproeven worden uitgevoerd die betrekking hebben op het KVP-virus.

4. Alle voorraden van het KVP-virus moeten te allen tijde veilig worden opgeslagen, hetzij diepgevroren, hetzij gevriesdroogd. Het wordt aanbevolen de diepvriezers en koelkasten niet te gebruiken voor andere virussen dan het KVP-virus, noch voor andere materialen die op geen enkele wijze bij de diagnose van klassieke varkenspest worden gebruikt. Afzonderlijke ampullen moeten voorzien zijn van een duidelijk etiket en alle gegevens inzake virusvoorraden, alsmede de data en de resultaten van de kwaliteitscontroles moeten nauwkeurig worden geregistreerd. Ook moet worden bijgehouden welke virussen aan de voorraad worden toegevoegd, met gegevens over de herkomst, en welke virussen zijn toegezonden aan andere laboratoria.

5. Het wordt aanbevolen om naast de biologisch veilige unit voor werkzaamheden met betrekking tot het KVP-virus ook te beschikken over units waar geen manipulatie van het virus plaatsvindt. Die andere ruimten zijn bestemd voor de preparatie van glaswerk en middelen, voor de instandhouding en preparatie van niet-besmette celculturen, voor de verwerking van sera, voor serologisch onderzoek (met uitzondering van methoden waarbij gebruik wordt gemaakt van het KVP-virus) en voor het verlenen van administratieve ondersteuning.

Tabel 1

**Principes van biologische inperking voor diagnoselaboratoria**

| | Aanvullende voorschriften | Minimumvoorschriften |
|---|---|---|
| Algemene omgeving | Normale atmosferische druk.<br>Dubbele HEPA-filtratie van afgevoerde lucht.<br>Speciale kamers, uitsluitend bestemd voor diagnostische procedures met betrekking tot klassieke varkenspest. | Normale atmosferische druk.<br>Speciale kamers, uitsluitend bestemd voor bepaalde procedures. |
| Laboratoriumkleding | Geheel omkleden bij binnenkomst.<br>Laboratoriumkleding voor exclusief gebruik in de unit voor het KVP-virus.<br>Wegwerphandschoenen voor alle manipulaties van besmet materiaal.<br>Kleding steriliseren voordat deze de unit verlaat, of wassen binnen de unit. | Bovenkleding voor exclusief gebruik in de unit voor het KVP-virus.<br>Wegwerphandschoenen voor alle manipulaties van besmet materiaal.<br>Bovenkleding steriliseren voordat deze de unit verlaat, of wassen binnen de unit. |

▼B

| | Aanvullende voorschriften | Minimumvoorschriften |
|---|---|---|
| Personeel | Toegang tot unit beperken tot opgeleid en persoonlijk geautoriseerd personeel.<br>Handen vóór verlaten van de unit wassen en desinfecteren.<br>Personeel mag tot 48 uur na het verlaten van de unit niet in de buurt van varkens komen. | Toegang tot unit beperken tot opgeleid en persoonlijk geautoriseerd personeel.<br>Handen vóór verlaten van de unit wassen en desinfecteren.<br>Personeel mag tot 48 uur na het verlaten van de unit niet in de buurt van varkens komen. |
| Apparatuur | Biologische veiligheidskast (klasse I of II) voor alle manipulaties van levend virus. Kast met dubbele HEPA-filtratie van afgevoerde lucht.<br>Alle benodigde apparatuur voor laboratoriumprocedures moet in de speciale laboratoriumruimte aanwezig zijn. | |

Tabel 2

**Voorschriften inzake bioveiligheid in ruimten met proefdieren**

| | Voorschriften |
|---|---|
| Algemene omgeving | Ventilatie met negatieve drukregeling.<br>Dubbele HEPA-filtratie van afgevoerde lucht.<br>Voorziening voor volledige fumigatie/desinfectie aan het einde van de proef.<br>Alle effluent behandelen teneinde het KVP-virus te inactiveren (chemische of hittebehandeling). |
| Laboratoriumkleding | Geheel omkleden bij binnenkomst.<br>Wegwerphandschoenen voor alle manipulaties.<br>Kleding steriliseren voordat deze de unit verlaat, of wassen binnen de unit. |
| Personeel | Toegang tot unit beperken tot opgeleid en persoonlijk geautoriseerd personeel.<br>Volledig douchen bij verlaten van unit.<br>Personeel mag tot 48 uur na het verlaten van de unit niet in de buurt van varkens komen. |
| Apparatuur | Alle benodigde apparatuur voor testprocedures met dieren moet in de unit aanwezig zijn.<br>Alle materialen moeten bij het verlaten van de unit worden gesteriliseerd of, in het geval van diermonsters, dubbel verpakt worden in lekvrije recipiënten; bij vervoer naar het laboratorium voor klassieke varkenspest moeten deze recipiënten aan de buitenzijde worden gedesinfecteerd. |
| Dieren | Alle dieren moeten worden geslacht voordat ze de unit verlaten, post-mortemonderzoeken moeten worden afgerond binnen het biologisch veilige gebied en kadavers moeten na afronding van het onderzoek worden verbrand. |