Dokument ten służy wyłącznie do celów dokumentacyjnych i instytucje nie ponoszą żadnej odpowiedzialności za jego zawartość

►**B**

DECYZJA KOMISJI

z dnia 1 lutego 2002 r.

zatwierdzająca Podręcznik diagnostyczny ustanawiający procedury diagnostyczne, metody pobierania próbek oraz kryteria oceny wyników badań laboratoryjnych w celu potwierdzenia klasycznego pomoru świń

(notyfikowana jako dokument nr C(2002) 381)

(Tekst mający znaczenie dla EOG)

(2002/106/WE)

(Dz.U. L 39 z 9.2.2002, str. 71)

zmieniona przez:

		Dziennik Urzędowy		
		nr	strona	data
►**M1**	Decyzja Komisji 2003/859/WE, z dnia 5 grudnia 2003 r.	L 324	55	11.12.2003

▼B

DECYZJA KOMISJI

z dnia 1 lutego 2002 r.

zatwierdzająca Podręcznik diagnostyczny ustanawiający procedury diagnostyczne, metody pobierania próbek oraz kryteria oceny wyników badań laboratoryjnych w celu potwierdzenia klasycznego pomoru świń

(notyfikowana jako dokument nr C(2002) 381)

(Tekst mający znaczenie dla EOG)

(2002/106/WE)

KOMISJA WSPÓLNOT EUROPEJSKICH,

uwzględniając Traktat ustanawiający Wspólnotę Europejską,

uwzględniając dyrektywę Rady 2001/89/WE z dnia 23 października 2001 r. w sprawie wspólnotowych środków zwalczania klasycznego pomoru świń ([1]), w szczególności jej art. 17 ust. 3 i art. 29 ust. 1,

a także mając na uwadze, co następuje:

(1) Konieczne jest ustalenie na poziomie wspólnotowym procedur diagnostycznych, metod pobierania próbek oraz kryteriów oceny wyników badań laboratoryjnych służących do potwierdzenia klasycznego pomoru świń.

(2) Załącznik IV do dyrektywy 2001/89/WE ustala funkcje i obowiązki wspólnotowe laboratorium referencyjnego zajmującego się klasycznym pomorem świń w celu koordynowania, w konsultacji z Komisją, metod wykorzystywanych w Państwach Członkowskich do diagnozowania tej choroby; takie funkcje i obowiązki obejmują organizację okresowych badań porównawczych oraz dostarczenie standardowych odczynników na poziomie wspólnotowym.

(3) Wirus klasycznego pomoru świń nie jest uważany za niebezpieczny dla zdrowia ludzkiego.

(4) W ostatnim czasie opracowano badania laboratoryjne w celu zapewnienia szybkiego diagnozowania klasycznego pomoru świń.

(5) Doświadczenie zdobyte w ostatnich latach w zwalczaniu klasycznego pomoru świń doprowadziło do zidentyfikowania najbardziej odpowiednich procedur pobierania próbek oraz kryteriów oceny wyników badań laboratoryjnych służących do właściwego diagnozowania tej choroby w różnych sytuacjach.

(6) Środki przewidziane w niniejszej decyzji są zgodne z opinią Stałego Komitetu Weterynaryjnego,

PRZYJMUJE NINIEJSZĄ DECYZJĘ:

Artykuł 1

1. Państwa Członkowskie stanowią, że potwierdzenie klasycznego pomoru świń opiera się na:

a) wykrywaniu objawów klinicznych i zmian patologicznych po śmierci;

([1]) Dz.U. L 316 z 1.12.2001, str. 5.

▼B

b) wykrywaniu wirusa, antygenu czy genomu w próbkach tkanek, organów, krwi lub wydalin świń;

c) wykazywaniu swoistej reakcji przeciwciał w próbkach krwi,

zgodnie z procedurami, metodami pobierania próbek i kryteriami do oceny wyników badań laboratoryjnych ustalonych w podręczniku załączonym do niniejszej decyzji.

2. Jednakże, krajowe laboratoria diagnostyczne, o których mowa w załączniku III pkt 1 do dyrektywy 2001/89/WE, mogą stosować modyfikacje badań laboratoryjnych, o których mowa w podręczniku załączonym do niniejszej decyzji, lub używać innych badań, pod warunkiem, że może być wykazana jednakowa ich czułość i swoistość.

Czułość i swoistość tych zmodyfikowanych lub innych badań musi być oceniona w ramach okresowych badań porównawczych zorganizowanych przez laboratorium referencyjne Wspólnoty zajmujące się klasycznym pomorem świń.

Artykuł 2

Załączniki I i IV do dyrektywy Rady 80/217/EWG z dnia 22 stycznia 1980 r. wprowadzające środki wspólnotowe do zwalczania klasycznego pomoru świń [1], ostatnio zmienione Aktem Przystąpienia Austrii, Finlandii i Szwecji, tracą moc.

Artykuł 3

Niniejszą decyzję stosuje się od dnia 1 listopada 2002 r.

Artykuł 4

Niniejsza decyzja skierowana jest do Państw Członkowskich.

[1] Dz.U. L 47 z 21.2.1980, str. 11.

▼B

ZAŁĄCZNIK

KLASYCZNY POMÓR ŚWIŃ – PODRĘCZNIK DIAGNOSTYCZNY

ROZDZIAŁ I

Wprowadzenie, cele i definicje

1. W celu zapewnienia jednolitych procedur do diagnozowania klasycznego pomoru świń niniejszy podręcznik:

   a) dostarcza wskazówek i minimalnych wymogów dotyczących procedur diagnostycznych, metod pobierania próbek oraz kryteriów oceny wyników badań klinicznych i pośmiertnych oraz badań laboratoryjnych do właściwego zdiagnozowania klasycznego pomoru świń ([1]);

   b) ustanawia minimalne wymagania co do bezpieczeństwa biologicznego oraz normy jakości, jakie mają być przestrzegane przez laboratoria diagnostyczne zajmujące się diagnozowaniem klasycznego pomoru świń oraz w trakcie transportu próbek;

   c) ustanawia badania laboratoryjne, jakie mają być stosowane do diagnozowania klasycznego pomoru świń oraz techniki laboratoryjne, jakie mają być używane do genetycznego typowania izolatów wirusa klasycznego pomoru świń.

2. Niniejszy podręcznik jest zasadniczo skierowany do władz odpowiedzialnych za zwalczanie klasycznego pomoru świń. Położono zatem nacisk na zasady i zastosowanie badań laboratoryjnych oraz na ocenę ich wyników, a nie na szczegółowe techniki laboratoryjne.

3. Do celów niniejszego podręcznika, oprócz definicji, określonych w art. 2 dyrektywy 2001/89/WE, stosuje się następujące definicje:

   a) „podejrzane gospodarstwo” oznacza każde gospodarstwo trzodowe, posiadające jedną lub większą liczbę świń podejrzanych o bycie zakażoną wirusem klasycznego pomoru świń, albo gospodarstwo kontaktowe, w znaczeniu wynikającym z art. 2 lit. v) dyrektywy 2001/89/WE;

   b) „pojedyncze osobniki reaktywne” oznaczają każdą świnię, która otrzymała pozytywny wynik w badaniach serologicznych na klasyczny pomór świń, ale która nie miała stwierdzonego wywiadem kontaktu z wirusem klasycznego pomoru świń oraz w stosunku do której nie stwierdzono dowodów rozprzestrzeniania się zarazy na świnie pozostające w kontakcie ([2]);

   c) „podjednostka epidemiologiczna” lub „podjednostka” oznacza sąsiedni budynek, miejsce lub teren, gdzie grupy świń w ramach jednego gospodarstwa trzymane są w taki sposób, że mają one częsty wzajemny bezpośredni lub pośredni kontakt, lecz w międzyczasie są trzymane oddzielnie od innych świń przebywających w tym samym gospodarstwie;

   d) „świnie pozostające w kontakcie” oznaczają świnie, które przebywały w gospodarstwie w bezpośrednim kontakcie z jedną lub większą liczbą świń, podejrzanych o to, że zostały zakażone wirusem klasycznego pomoru świń w ciągu ostatnich 21 dni.

ROZDZIAŁ II

Opis klasycznego pomoru świń z podkreśleniem diagnozy różnicowej

A. **Wprowadzenie**

1. Klasyczny pomór świń wywoływany jest przez otulonego wirusa RNA, który należy do rodzaju *Pestivirus* rodziny *Fluviviridae*. Wirus ten jest spokrewniony z pestiwirusami przeżuwaczy wywołującymi wirusową biegunkę u bydła (BVDV) i chorobę graniczną owiec (BDV). Związek ten ma poważne konsekwencje diagnostyczne, ponieważ występują

([1]) Przy określaniu liczby prób, jakie mają być pobrane do badań laboratoryjnych, należy również uwzględnić czułość badań jakie mają być stosowane. Liczba zwierząt, od których mają być pobrane próbki, będzie większa niż ta wskazana w niniejszym podręczniku jeśli czułość testu, jaki ma być stosowany, nie jest bardzo wysoka.

([2]) Pojedyncze osobniki reaktywne mogą mieć miana przeciwciał neutralizujących wirusa wahające się od wartości granicznej (co jest częstszym przypadkiem) do wysoko pozytywnej. Przy powtórnym pobraniu prób pojedyncze osobniki reaktywne mogą wykazywać obniżające się lub stałe miano. Generalnie tylko niewiele świń w stadzie inicjuje takie fałszywe/pozytywne reakcje.

▼B

reakcje krzyżowe, które mogą doprowadzić do fałszywych pozytywnych wyników badań laboratoryjnych.

2. Wirus klasycznego pomoru świń jest stosunkowo ustabilizowany w wilgotnych wydzielinach zakażonych świń, tuszach świńskich oraz w świeżym mięsie wieprzowym i niektórych wieprzowych produktach mięsnych. Jest on łatwo inaktywowany przez detergenty, rozpuszczalniki lipidowe, proteazy i zwykłe środki odkażające.

3. Główna naturalna droga zakażenia to droga ustno-nosowa poprzez bezpośredni lub pośredni kontakt z zakażonymi świniami lub poprzez podawanie paszy skażonej wirusem. Na terenach o wysokiej koncentracji świń rozprzestrzenianie wirusa jest łatwe między sąsiadującymi gospodarstwami trzodowymi.

4. Okres inkubacji u pojedynczych zwierząt wynosi od około jednego tygodnia do dziesięciu dni, lecz w warunkach terenowych symptomy kliniczne mogą wystąpić w gospodarstwie po dwóch do czterech tygodniach od wprowadzenia wirusa, albo po nawet dłuższym okresie, jeśli dotyczy to tylko dorosłych świń hodowlanych albo łagodnych szczepów wirusa.

5. Kliniczne objawy klasycznego pomoru świń są skrajnie zmienne i może być on pomylony z wieloma innymi chorobami. Nasilenie symptomów zależy głównie od wieku zwierzęcia i zjadliwości wirusa. Młode zwierzęta są zwykle poważniej atakowane chorobą aniżeli zwierzęta starsze. U starszych świń hodowlanych przebieg zakażenia jest często łagodny lub nawet podkliniczny.

6. Można wyróżnić ostrą, przewlekłą i prenatalną postać klasycznego pomoru świń.

B. **Postać ostra**

1. Ostra postać klasycznego pomoru świń najczęściej występuje u świń odsadzonych od maciory i tuczników. Początkowe objawy to brak łaknienia, śpiączka, gorączka, zapalenie spojówek, obrzmiałe węzły chłonne, objawy oddechowe oraz zaparcie, po którym następuje biegunka.

   Zwykle obserwowane są typowe zmiany krwotoczne skóry na uchu, ogonie, brzuchu oraz na wewnętrznej stronie kończyn w czasie drugiego i trzeciego tygodnia od zakażenia aż do śmierci. Często obserwowane są neurologiczne objawy w koordynacji ruchów, takie jak chwiejny chód tylnych kończyn oraz konwulsje.

   Stałym objawem jest gorączka. Zwykle jest ona wyższa niż 40 °C, lecz u dorosłych świń gorączka może nie przekraczać 39,5 °C.

2. Wirus klasycznego pomoru świń wywołuje ostrą leukopenię i obniżenie odporności, co często prowadzi do wtórnych infekcji jelitowych i oddechowych. Objawy tych wtórnych infekcji mogą maskować lub nakładać się na najbardziej typowe objawy klasycznego pomoru świń i wprowadzić w błąd rolnika lub lekarza weterynarii.

   Śmierć następuje zwykle w ciągu miesiąca. Zdarza się wyzdrowienie przy produkcji przeciwciał, najczęściej u dorosłych zwierząt hodowlanych, które nie wykazują ostrych objawów klinicznych. Przeciwciała wirusa klasycznego pomoru świń są wykrywalne począwszy od 2 do 3 tygodnia po zakażeniu.

3. Zmiany patologiczne w badaniu pośmiertnym najczęściej obserwowane są w węzłach chłonnych oraz w nerkach. Węzły chłonne są nabrzmiałe, obrzękłe i krwotoczne. Zmiany krwotoczne nerek mogą różnić się wielkością – od ledwo widocznych punkcikowatych wybroczyn po wylewy krwotoczne. Podobne zmiany krwotoczne mogą być również obserwowane w pęcherzu moczowym, krtani, nagłośni i sercu, a czasem rozprzestrzeniają się na błonie surowiczej brzucha i klatki piersiowej. Często obecna jest nieropna encefalopatia. Widoczne mogą być również zmiany spowodowane wtórnymi zakażeniami, które mogą wprowadzić w błąd lekarza weterynarii. Zawały w śledzionie uważane są jako znamienne dla tej choroby, lecz są rzadko obserwowane.

4. Ogólnie, ostra postać afrykańskiego pomoru świń prowadzi do klinicznego i patologicznego obrazu bardzo podobnego do obrazu klasycznego pomoru świń. Przy ich wystąpieniu zmiany krwotoczne na skórze i uchu są zupełnie łatwe do wykrycia i prowadzą do podejrzenia ostrego afrykańskiego lub klasycznego pomoru świń. Niewiele innych chorób wywołuje podobne zmiany.

▼B

Ostra postać klasycznego pomoru świń musi również uwzględniać przypadki podejrzenia różycy świń, rozrodczo-oddechowego zespołu chorobowego świń, zatrucia kumaryną, plamicy (wybrocznicy koni), wielonarządowego poodsadzeniowego zespołu wyniszczenia, zespołu skórno-nerkowego świń, infekcji *Salmonellą* czy *Pasteurellą* lub każdego zespołu jelitowego czy oddechowego z gorączką, które nie reagują na kurację antybiotykową.

5. Wirus klasycznego pomoru świń jest rozsiewany ze śliną, moczem i odchodami od początku wystąpienia objawów klinicznych aż do śmierci. Wirus klasycznego pomoru świń może być również rozprzestrzeniany przez nasienie.

C. **Postać przewlekła**

1. Przewlekły przebieg zakażenia występuje wtedy, kiedy świnie nie są zdolne do wytworzenia skutecznej reakcji immunologicznej przeciwko wirusowi klasycznego pomoru świń. Początkowe objawy przewlekłego zakażenia są podobne do zakażenia ostrego. Później przeważające są objawy nieswoiste, tj. przerywana gorączka, przewlekłe zapalenie jelit oraz wyczerpanie. Brak jest typowych zmian krwotocznych skóry.

   Świnie takie mogą wykazywać kliniczne objawy choroby przez 2 do 3 miesięcy przed śmiercią. Wirus klasycznego pomoru świń jest stale rozsiewany od początku wystąpienia objawów klinicznych aż do śmierci. W próbkach surowicy krwi przejściowo mogą być wykryte przeciwciała.

2. Zmiany patologiczne są mniej typowe, w szczególności mogą nie być obserwowane zmiany krwotoczne w organach i na błonie surowiczej. U zwierząt wykazujących przewlekłą biegunkę powszechne są zmiany martwicze w jelicie krętym, zastawce krętniczo-kątniczej oraz w prostnicy.

3. Ponieważ kliniczne objawy przewlekłej postaci klasycznego pomoru świń są raczej nieswoiste, to w diagnozie różnicowej należy uwzględnić wiele innych chorób. Obecność zwiększonej temperatury ciała nie musi występować koniecznie u każdego zwierzęcia, lecz w zakażonym gospodarstwie gorączka może być wykryta przynajmniej u niektórych świń.

D. **Postać prenatalna oraz spóźnione wystąpienie początku choroby**

1. Wirus klasycznego pomoru świń wykazuje zdolność do przechodzenia przez łożysko zwierząt ciężarnych i zakażenia płodów, lecz u macior choroba ta ma często przebieg podkliniczny.

   Wynik infekcji płodów poprzez łożysko zależy w dużym stopniu od stadium ciąży oraz od zjadliwości wirusa. Infekcja w czasie wczesnej ciąży może spowodować poronienia i martwe urodzenia, mumifikację oraz wrodzone wady rozwojowe. Wszystko to prowadzi do obniżenia wskaźnika płodności w gospodarstwie.

   Zakażenie maciory do 90 dnia ciąży może prowadzić do urodzenia prosiąt z trwałą infekcją wirusową, które mogą być klinicznie prawidłowe po urodzeniu i przeżyć przez kilka miesięcy. Po urodzeniu mogą one wykazywać słaby rozwój, wyczerpanie albo czasami wrodzone drgawki. Taki przebieg zakażenia nazywany jest „spóźnionym wystąpieniem początku choroby klasycznego pomoru świń". Prosięta te mogą odgrywać kluczową rolę w rozprzestrzenianiu się choroby oraz w utrzymywaniu trwałości wirusa w populacji, ponieważ rozsiewają go nieustannie aż do śmierci.

2. Wykrycie klasycznego pomoru świń może być szczególnie trudne w gospodarstwach utrzymujących świnie hodowlane, ponieważ przebieg zakażenia może być bardzo łagodny i może zostać pomylony z wieloma innymi stanami chorobowymi. Obniżona płodność oraz poronienia mogą być spowodowane wirusem klasycznego pomoru świń, jak również zakażeniem parwowirusem, PRRS, leptospirozą oraz chorobą Aujeszky'ego. Materiału poronionego na skutek zakażenia klasycznym pomorem świń nie można odróżnić patologicznie od poronień spowodowanych innymi czynnikami chorobowymi.

   W przypadku podejrzenia choroby infekcyjnej dróg rozrodczych musi być bezzwłocznie przeprowadzone badanie na klasyczny pomór świń, ilekroć dane gospodarstwo może być uważane za objęte ryzykiem (np. wskutek położenia na terenie, na którym klasyczny pomór świń występuje u dzikich świń) oraz w każdym przypadku, gdy większośćpowszechnych infekcyjnych chorób dróg rozrodczych zostało wykluczonych.

▼B

ROZDZIAŁ III

Wskazówki dotyczące głównych kryteriów, jakie mają być uwzględnione przy uznaniu gospodarstwa za gospodarstwo podejrzane o wystąpienie klasycznego pomoru świń

Decyzja o uznaniu gospodarstwa za gospodarstwo podejrzane zostanie podjęta w oparciu o następujące dane, kryteria i podstawy:

a) kliniczne i patologiczne dane o świniach. Podstawowe kliniczne i patologiczne dane, jakie mają być uwzględnione, to:

   — gorączka ze zwiększoną zachorowalnością i śmiertelnością,

   — gorączka z zespołem krwotocznym,

   — gorączka z objawami neurologicznymi,

   — gorączka niewiadomego pochodzenia, której leczenie antybiotykami nie poprawiło stanu zdrowia,

   — poronienia i zwiększone problemy z płodnością w czasie ostatnich trzech miesięcy,

   — wrodzone drgawki u prosiąt,

   — przewlekle chore zwierzęta,

   — opóźnione w rozwoju młode zwierzęta (charłacze),

   — punkcikowate wybroczyny oraz wylewy krwotoczne, w szczególności w węzłach chłonnych, nerkach, śledzionie, pęcherzu moczowym i krtani,

   — zawały krwiaków, szczególnie w śledzionie,

   — guzikowe wrzody (butony) w jelicie grubym w przewlekłych przypadkach, szczególnie w pobliżu połączenia krętniczo-kątniczego;

b) dane epidemiologiczne. Głównymi danymi epidemiologicznymi, jakie mają być uwzględnione, są przypadki:

   — gdy świnie miały bezpośredni lub pośredni kontakt z gospodarstwem trzodowym, w stosunku do którego udowodniono, że zostało zakażone klasycznym pomorem świń,

   — gdy z gospodarstwa dostarczono świnie, w stosunku do których wykazano później, że były zakażone klasycznym pomorem świń,

   — gdy maciory zostały sztucznie zapłodnione nasieniem pochodzącym z podejrzanego źródła,

   — gdy wystąpił bezpośredni lub pośredni kontakt z populacją dzikich świni, w której występuje klasyczny pomór świń,

   — gdy świnie są trzymane na wolnym powietrzu, na obszarze, gdzie dzikie świnie są zakażone klasycznym pomorem świń,

   — gdy świnie były żywione pomyjami kuchennymi i istnieje podejrzenie, że pomyje nie zostały uzdatnione w taki sposób, aby inaktywować wirusa klasycznego pomoru świń,

   — gdy mogło wystąpić prawdopodobieństwo narażenia zwierząt np. przez osoby wchodzące na teren gospodarstwa, środki transportu itp.;

c) dane dotyczące wyników badań serologicznych. Głównymi laboratoryjnymi badaniami, jakie mają być uwzględnione, są:

   — reakcja serologiczna spowodowana niezauważonym wirusem klasycznego pomoru świń lub szczepieniem ([1]),

   — reakcja krzyżowa między przeciwciałami wirusa klasycznego pomoru świń i innymi pestiwirusami ([2]),

([1]) Jeśli świnie zostały zaszczepione przeciw pomorowi klasycznemu świń konwencjonalną szczepionką, to mogą być one uznane za seropozytywne z powodu samej szczepionki lub z powodu cichej infekcji u zaszczepionych zwierząt.

([2]) W pewnych okolicznościach aż do 10 % świń w obrębie stada może mieć przeciwciała pestiwirusów przeżuwaczy wywołujących wirusową biegunkę bydła lub chorobę graniczną owiec. Na przykład gdy świnie mają bezpośredni kontakt z bydłem lub owcami zarażonymi wirusem BVD lub wirusem BD albo gdy świnie mają kontakt z materiałami skażonymi pestiwirusami przeżuwaczy.

▼B

— wykrycie pojedynczych osobników reaktywnych [1].

ROZDZIAŁ IV

Procedury kontrolne oraz procedury pobierania próbek

A. **Wskazówki i procedury przy badaniach klinicznych oraz przy pobieraniu próbek u świń w podejrzanych gospodarstwach**

1. Państwa Członkowskie zapewnią, że w podejrzanych gospodarstwach przeprowadzane są odpowiednie badania kliniczne, pobieranie próbek oraz badania laboratoryjne w celu potwierdzenia lub wykluczenia klasycznego pomoru świń zgodnie z wskazówkami i procedurami ustanowionymi w pkt 2–7.

   Niezależnie od przyjęcia środków zaradczych, wg art. 4 ust. 2 dyrektywy 2001/89/WE, w danym gospodarstwie te wskazówki i procedury mają zastosowanie w przypadku zachorowań, ilekroć klasyczny pomór świń jest uwzględniany w diagnozie różnicowej. Obejmuje to przypadki, gdy kliniczne objawy zaobserwowane u świń i epidemiologiczny wzór choroby, sugerują bardzo niskie prawdopodobieństwo wystąpienia klasycznego pomoru świń.

   We wszystkich innych przypadkach, gdy jedna lub więcej świń jest podejrzanych o zakażone wirusem klasycznego pomoru świń, w danym podejrzanym gospodarstwie, będą przyjęte działania zaradcze, określone w art. 4 ust. 2 dyrektywy 2001/89/WE.

   W przypadku podejrzenia o klasyczny pomór świń u świń w rzeźni lub w środkach transportu mają również zastosowanie *mutatis mutandis*, przy uwzględnieniu istniejących różnic, wskazówki i procedury ustalone w pkt 2–7.

2. Kiedy urzędowy lekarz weterynarii wizytuje podejrzane gospodarstwo w celu potwierdzenia lub wykluczenia klasycznego pomoru świń:

   — musi być przeprowadzona kontrola dokumentacji produkcyjnej i zdrowotnej gospodarstwa, jeśli taka dokumentacja jest dostępna,

   — musi być przeprowadzona inspekcja każdej podjednostki gospodarstwa w celu wyselekcjonowania świń do badania klinicznego.

   Badanie kliniczne musi obejmować pomiar temperatury ciała i musi głównie dotyczyć następujących świń lub grup świń:

   — świń chorych lub świń z brakiem łaknienia,

   — świń, które niedawno ozdrowiały po przebytej chorobie,

   — świń, które niedawno zostały sprowadzone z rejonów o potwierdzonym wybuchu epidemii lub z innych podejrzanych źródeł,

   — świń utrzymywanych w podjednostkach wizytowanych ostatnio przez osoby z zewnątrz, które miały bliski kontakt ze świniami podejrzanymi o infekcję lub zakażonymi klasycznym pomorem świń, albo w stosunku do których stwierdzono inne szczególnie ryzykowne kontakty z potencjalnym źródłem wirusa klasycznego pomoru świń,

   — świń, od których pobrano już próbki i przebadano serologicznie na klasyczny pomór świń, w przypadku gdy wyniki tych badań nie pozwalają na wykluczenie klasycznego pomoru świń, oraz świń pozostających w kontakcie.

   Jeśli inspekcja podejrzanego gospodarstwa nie wykazała obecności świń lub większej ilości świń, określonych w powyższym punkcie, to właściwy organ, bez uszczerbku dla innych środków zaradczych, które mogą być zastosowane w danym gospodarstwie zgodnie z dyrektywą 2001/89/WE oraz biorąc pod uwagę sytuację epidemiologiczną:

   — przeprowadzi dalsze badania w danym gospodarstwie zgodnie z pkt 3 poniżej, lub

   — zapewni, że próbki krwi do badań laboratoryjnych pobrane są od świń w danym gospodarstwie. W tym przypadku procedury pobierania

[1] We wszystkich aktualnych testach serologicznych na klasyczny pomór świń niewielki odsetek surowic daje fałszywe/pozytywne wyniki albo z powodu braku swoistości systemu testowego lub z powodu surowic pochodzących z pojedynczych osobników reaktywnych.

▼B

próbek ustanowione w pkt 5 i F.2 są wykorzystywane do celów informacyjnych, lub

— przyjmie lub utrzyma środki zaradcze, ustanowione w art. 4 ust. 2 dyrektywy 2001/89/WE, w oczekiwaniu na dalsze badania w danym gospodarstwie, lub

— wykluczy podejrzenie o klasyczny pomór świń.

3. W przypadku odniesienia się do niniejszego ustępu musi być przeprowadzone wyrywkowe badanie kliniczne w danym gospodarstwie na świniach wybranych w podjednostkach, w których stwierdzono lub istnieje podejrzenie wprowadzenia wirusa klasycznego pomoru świń.

Minimalna liczba świń, które mają być przebadane, musi umożliwić wykrycie gorączki, jeśli ta występuje w przewadze 10 % z 95 % pewnością w tych podjednostkach;

Jednakże, w przypadku:

— macior hodowlanych, minimalna liczba macior, które mają być przebadane, musi umożliwić wykrycie gorączki, jeśli ta występuje w 5 % przewadze z 95 % pewnością,

— punktów pobierania nasienia przebadane muszą być wszystkie knury.

4. Jeśli w podejrzanym gospodarstwie wykryto zwierzęta padłe lub konające, to przeprowadzone muszą być badania pośmiertne na przynajmniej pięciu takich świniach, w szczególności na świniach:

— które wykazują lub wykazywały przed śmiercią bardzo widoczne objawy choroby,

— z wysoką gorączką,

— padłe w ostatnim czasie.

Jeśli badania te nie wykazały zmian sugerujących klasyczny pomór świń, lecz z powodu sytuacji epidemiologicznej uważa się za niezbędne przeprowadzenie dalszych badań, to:

— w podjednostce, w której trzymane były padłe lub konające świnie, musi być przeprowadzone badanie kliniczne, jak to ustalono w pkt 3, oraz pobranie próbek krwi, określone w pkt 5, oraz

— mogą być prowadzone badania pośmiertne na 3–4 świniach pozostających w kontakcie.

Niezależnie od obecności lub braku zmian sugerujących klasyczny pomór świń, od świń, które zostały poddane badaniu pośmiertnemu, muszą być pobrane próbki organów lub tkanek do badań wirusologicznych, zgodnie z rozdziałem V B.1. Próbki takie muszą być pobrane raczej od świń padłych w ostatnim czasie.

Przy przeprowadzaniu badań pośmiertnych, właściwy organ musi zapewnić, że:

— w celu zapobieżenia jakiemukolwiek rozprzestrzenieniu się choroby podjęto konieczne środki ostrożności oraz sanitarne działania zaradcze, oraz

— w przypadku konających świń zostały one zabite w humanitarny sposób, zgodnie z dyrektywą Rady 93/119/EWG.

5. Jeśli w podejrzanym gospodarstwie wykryto dalsze objawy kliniczne lub zmiany, które mogą sugerować klasyczny pomór świń, lecz właściwy organ uznaje, takie wyniki badań za niewystarczające do potwierdzenia wybuchu epidemii klasycznego pomoru świń i że niezbędne są, dlatego badania laboratoryjne, to od podejrzanych świń oraz od innych świń w zakażonej podjednostce, w której podejrzane świnie są trzymane, muszą być pobrane próbki krwi, zgodnie z procedurami określonymi poniżej.

▼B

Minimalna liczba próbek, jakie mają być pobrane do badań serologicznych, musi umożliwić wykrycie 10 % seroprewalencji z 95 % pewnością w danej podejrzanej podjednostce.

Jednakże, w przypadku:

— macior hodowlanych, minimalna liczba macior, od których mają być pobrane próbki, musi umożliwić wykrycie 5 % seroprewalencji z 95 % pewnością ([1]);

— punktów pobierania nasienia – próbki krwi muszą być pobrane od wszystkich knurów.

Liczba próbek, jakie mają być pobrane do badań wirusologicznych, będzie zgodna z instrukcjami właściwego organu, który uwzględni zakres badań, jakie mogą być wykonane, czułość badań laboratoryjnych, które będą wykorzystane oraz sytuację epidemiologiczną.

6. Jeśli podejrzenie o klasyczny pomór świń w danym gospodarstwie związane jest z wynikami wcześniejszych badań serologicznych, to oprócz próbek krwi, jakie mają być pobrane ze świń, określonych w pkt 2 tiret piąte, muszą być zastosowanie następujące procedury:

   a) jeśli seropozytywne świnie są maciorami prośnymi, to niektóre z nich, raczej nie mniej niż trzy, zostaną uśpione i poddane badaniu pośmiertnemu. Przed ubojem muszą zostać pobrane próbki krwi do dalszych badań serologicznych. Płody zostają poddane badaniu na wirusa klasycznego pomoru świń, antygen wirusa lub genom wirusa, zgodnie z rozdziałem VI, w celu wykrycia zakażenia wewnątrzmaciczngo,

   b) jeśli seropozytywne świnie są maciorami karmiącymi prosięta, to od wszystkich prosiąt muszą być pobrane próbki krwi i poddane badaniu na wirusa klasycznego pomoru świń, antygen wirusa lub genom wirusa, zgodnie z rozdziałem VI. Próbki krwi do dalszych badań serologicznych muszą być również pobrane od macior.

7. Jeśli po przeprowadzeniu badań w podejrzanym gospodarstwie nie wykryto klinicznych objawów lub zmian sugerujących klasyczny pomór świń, lecz właściwy organ uważa, że do wykluczenia klasycznego pomoru świń niezbędne są dalsze badania laboratoryjne, to procedury pobierania próbek ustalone w pkt 5 są używane do celów informacyjnych.

B. **Procedury pobierania prób w gospodarstwie, gdy świnie są zabijane po potwierdzeniu choroby**

1. Kiedy świnie zabijane są w gospodarstwie po potwierdzeniu wybuchu epidemii, zgodnie z art. 5 ust. 1 lit. a) dyrektywy 2001/89/WE, to w celu ustalenia drogi wprowadzenia wirusa klasycznego pomoru świń do zakażonego gospodarstwa oraz czasu jaki upłynął od jego wprowadzenia, muszą zostać wyrywkowo pobrane próbki krwi do dalszych badań serologicznych od świń, gdy są one zabijane.

2. Minimalna liczba świń, od których mają być pobrane próbki, musi umożliwić wykrycie 10 % seroprewalencji z 95 % pewnością u świń w każdej podjednostce gospodarstwa ([2]).

   Próbki do badań wirusologicznych mogą być pobrane również zgodnie z instrukcjami właściwego organu, który uwzględni zakres badań do wykonania, czułość badań laboratoryjnych, które będą wykorzystane oraz sytuację epidemiologiczną.

3. Jednakże, w przypadku wtórnych wybuchów epidemii, właściwy organ może zadecydować o odstąpieniu od pkt 1 i 2 oraz ustalić procedury doraźne pobierania próbek, biorąc pod uwagę dostępne już informacje epidemiologiczne na temat źródła i drogi wprowadzenia wirusa do gospodarstwa oraz potencjalnego rozprzestrzenienia wirusa z gospodarstwa.

([1]) W niektórych przypadkach, np. kiedy istnieje podejrzenie o klasyczny pomór świń w gospodarstwie z ograniczoną liczbą młodych świń, odsetek zakażonych macior może być bardzo mały. W takich przypadkach próbki należy pobrać od większej liczby macior.

([2]) Jednakże jeśli zastosowano uchylenie przewidziane w art. 6 ust. 1 dyrektywy 2001/89/WE, pobieranie prób musi dotyczyć podjednostek gospodarstwa, w którym świnie zostały zabite, bez uszczerbku dla dalszych badań i pobierania prób, jakie mają być przeprowadzone na pozostałych świniach w gospodarstwie, a które będą przeprowadzone zgodnie z instrukcjami właściwego organu.

▼B

C. **Procedury pobierania próbek, gdy świnie zabijane są w gospodarstwie w ramach działań zapobiegawczych**

1. W celu potwierdzenia lub wykluczenia klasycznego pomoru świń i uzyskania dodatkowych informacji epidemiologicznych, gdy świnie zabijane są w ramach działania zapobiegawczego w podejrzanym gospodarstwie zgodnie z przepisami art. 4 ust. 3 lit. a) lub art. 7 ust. 2 dyrektywy 2001/89/WE, próbki krwi do badań serologicznych, jak również próbki krwi czy migdałków do badań wirusologicznych, muszą być pobrane zgodnie z procedurą ustaloną w pkt 2.

2. Pobieranie próbek musi zasadniczo dotyczyć:

— świń wykazujących objawy lub zmiany pośmiertne sugerujące klasyczny pomór świń oraz świń pozostających z nimi w kontakcie,

— innych świń, które mogły mieć ryzykowne kontakty z zakażonymi lub podejrzanymi świniami lub, które są podejrzane o zakażenie wirusem klasycznego pomoru świń.

Próbki od takich świń muszą być pobierane zgodnie z instrukcjami właściwego organu, który uwzględni sytuację epidemiologiczną. W tym przypadku procedury pobierania próbek określone w poniższym drugim, trzecim i czwartym akapicie będą użyte do celów informacyjnych.

Ponadto, od świń pochodzących z każdej podjednostki gospodarstwa próbki muszą być pobrane wyrywkowo ([1]). W tym przypadku minimalna liczba próbek, jaka ma być pobrana do badań serologicznych, musi umożliwić wykrycie 10 % seroprewalencji z 95 % pewnością w danych podjednostkach.

Jednakże, w przypadku:

— macior hodowlanych, minimalna liczba świń wskaźnikowych, od których mają być pobrane próbki, musi umożliwić wykrycie 5 % seroprewalencji z 95 % pewnością ([2]),

— punktów pobierania nasienia – próbki krwi muszą być pobrane od wszystkich knurów.

Rodzaje próbek, jakie mają być pobrane do badań wirusologicznych oraz rodzaj testu, jaki ma być zastosowany, będą zgodne z instrukcjami właściwego organu, który uwzględni zakres badań, jakie mogą być wykonane, czułość tych badań oraz sytuacje epidemiologiczną.

D. **Procedury kontrolne oraz procedury pobierania próbek przed wydaniem zezwolenia na przeniesienie świń z gospodarstw zlokalizowanych w okręgach zapowietrzonych i zagrożonych oraz w przypadku gdy świnie są ubijane lub zabijane**

1. Bez uszczerbku dla przepisów art. 11 ust. 1 lit. f) akapit drugi dyrektywy 2001/89/WE, a w celu wydania zezwolenia na przeniesienie świń z gospodarstw zlokalizowanych w okręgach zagrożonych lub zapowietrzonych zgodnie z art. 10 ust. 3 wyżej wymienionej dyrektywy, badanie kliniczne, jakie ma być przeprowadzone przez urzędowego lekarza weterynarii, musi:

— być przeprowadzone w ciągu 24 godzinnego okresu przed przeniesieniem świń,

— być zgodne z przepisami ustalonymi w ppkt A. 2.

2. W przypadku świń, które mają być przeniesione do innego gospodarstwa, oprócz badań, jakie mają być przeprowadzone zgodnie z pkt 1, musi być przeprowadzone badanie świń w każdej podjednostce gospodarstwa, w której utrzymywane są świnie, które mają być przeniesione.

([1]) Jednakże jeśli właściwy organ ograniczył prewencyjne zabijanie tylko do części gospodarstwa, w którym utrzymywane były świnie podejrzane o zakażenie lub zakażone wirusem klasycznego pomoru świń, zgodnie z art. 4 ust. 3 lit. a) dyrektywy 2001/89/WE, to pobieranie prób musi dotyczyć podjednostek gospodarstwa, gdzie zastosowano takie działanie, bez uszczerbku dla dalszych badań i pobierania prób, jakie mają być przeprowadzone na pozostałych świniach w gospodarstwie, a które będą przeprowadzone zgodnie z instrukcjami właściwego organu.

([2]) W niektórych przypadkach, np. gdy klasyczny pomór świń jest podejrzewany w gospodarstwie z ograniczoną liczbą młodych świń, odsetek zakażonych macior może być bardzo niewielki. W takich przypadkach próbki muszą być pobrane od większej liczby macior.

▼B

W przypadku świń starszych niż trzy- do czteromiesięcznych, takie badanie musi obejmować pomiar temperatury pewnego odsetka świń.

Minimalna liczba świń, które mają być skontrolowane, musi umożliwić wykrycie gorączki z 95 % pewnością, jeśli ta występuje, w ponad 10 % w tych podjednostkach.

Jednakże, w przypadku:

— macior hodowlanych, minimalna liczba macior, które mają być zbadane, musi umożliwić wykrycie gorączki, jeśli ta występuje w 5 % przewadze z 95 % pewnością w podjednostce, w której utrzymywane są maciory mające być przeniesione,

— knurów, muszą być zbadane wszystkie knury, które mają być przeniesione.

3. W przypadku świń, które mają być odstawione do rzeźni, zakładu przetwórczego lub do innych miejsc, w których zostaną następnie zabite lub ubite, oprócz badań, jakie mają być przeprowadzone zgodnie z pkt 1, musi być przeprowadzone badanie kliniczne świń w każdej podjednostce, w której utrzymywane są świnie, mające być przeniesione. W przypadku świń starszych niż trzy- do czteromiesięcznych, takie badanie musi obejmować pomiar temperatury pewnego odsetka świń.

   Minimalna liczba świń, które mają być skontrolowane, musi umożliwić na wykrycie gorączki, jeśli ta występuje w 20 % przewadze z 95 % pewnością w danych podjednostkach.

   Jednakże, w przypadku macior hodowlanych lub knurów, minimalna liczba świń, które mają być zbadane, musi umożliwić z wykrycie gorączki, jeśli ta występuje w 5 % przewadze z 95 % pewnością w podjednostce, w której utrzymywane są świnie mające być przeniesione.

4. Kiedy świnie, określone w pkt 3, są poddane ubojowi lub zabijane, to muszą być pobrane próbki krwi do badań serologicznych albo próbki krwi lub migdałków do badań wirusologicznych od świń pochodzących z każdej z podjednostek, z których świnie zostały dostarczone.

   Minimalna liczba próbek, jakie mają być pobrane, musi umożliwić wykrycie 10 % seroprewalencji lub prewalencji wirusa z 95 % pewnością w każdej podjednostce.

   Jednakże, w przypadku macior hodowlanych lub knurów, minimalna liczba świń, od których mają być pobrane próbki, musi umożliwić wykrycie 5 % seroprewalencji lub prewalencji wirusa z 95 % pewnością w podjednostce, w której trzymane były te świnie.

   Rodzaje próbek, jakie mają być pobrane oraz rodzaj testu, jaki ma być zastosowany, będą zgodne z instrukcjami właściwego organu, który uwzględni zakres badań, jakie mogą być wykonane, czułość tych badań oraz sytuację epidemiologiczną.

5. Jednakże, jeśli wykryto kliniczne objawy lub pośmiertne zmiany sugerujące klasyczny pomór świń, gdy świnie są poddane ubojowi lub zabijane, stosuje się, w drodze odstępstwa od pkt 4, przepisy dotyczące pobierania próbek ustanowione w pkt C.

E. **Procedury kontrolne i procedury pobierania próbek w gospodarstwie, w których przeprowadza się repopulację**

1. Kiedy świnie są powtórnie wprowadzane do gospodarstwa, zgodnie z art. 13 ust. 2 lit. a) lub ust. 2 lit. b) albo art. 19 ust. 8, akapit drugi lit. b) dyrektywy 2001/89/WE, muszą być zastosowane następujące procedury pobierania próbek:

   — w przypadku gdy wprowadzane są dorosłe świnie, z pewnej liczby świń muszą być pobrane wyrywkowo próbki krwi do badań serologicznych, które umożliwią wykrycie 10 % prewalencji z 95 % pewnością w każdej podjednostce gospodarstwa,

   — w przypadku całkowitej repopulacji, z pewnej liczby świń muszą być pobrane wyrywkowo próbki krwi do badań serologicznych, które umożliwią wykrycie 20 % seroprewalencji z 95 % pewnością w każdej podjednostce gospodarstwa.

▼B

Jednakże, w przypadku macior hodowlanych lub knurów liczba próbek, jaka ma być pobrana, musi być taka, aby umożliwiła wykryć 10 % prewalencji z 95 % pewnością.

2. Po ponownym wprowadzeniu świń właściwy organ zapewni, że w przypadku jakiejkolwiek choroby lub padnięcia świń w gospodarstwie z powodu nieznanych przyczyn, dane świnie, zostaną niezwłocznie przebadane pod kątem klasycznego pomoru świń. Te przepisy mają zastosowanie do chwili, gdy ograniczenia, określone w art. 13 ust. 2 lit. a) akapit drugi i w art. 19 ust. 8 akapit drugi lit. b) zdanie drugie dyrektywy 2001/89/WE, są zniesione w danym gospodarstwie.

F. **Procedury pobierania próbek w gospodarstwach w okręgu zapowietrzonym przed zniesieniem ograniczeń**

1. W celu zniesienia działań zaradczych w okręgu zapowietrzonym, określonym w art. 10 dyrektywy 2001/89/WE, we wszystkich gospodarstwach w okręgu:

— musi być przeprowadzone badanie kliniczne, zgodnie z procedurami określonymi w ppkt A. 2 i A. 3,

— muszą być pobrane próbki krwi do badań serologicznych, jak ustanowiono w pkt 2.

2. Minimalna liczba próbek krwi, jakie mają być pobrane, musi umożliwić wykrycie 10 % seroprewalencji z 95 % pewnością u świń w każdej podjednostce gospodarstwa.

Jednakże w przypadku:

— macior hodowlanych, minimalna liczba próbek, jakie mają być pobrane, musi umożliwić wykrycie 5 % seroprewalencji z 95 % pewnością,

— w punktach pobierania nasienia próbki krwi muszą być pobrane od wszystkich knurów.

G. **Procedury pobierania próbek w gospodarstwach w strefie dozoru przed zniesieniem ograniczeń**

1. W celu zniesienia ograniczeń w strefie dozoru, ustanowionych w art. 11 dyrektywy 2001/89/WE, musi być przeprowadzone badanie kliniczne we wszystkich gospodarstwach w obrębie okręgu, zgodnie z procedurami określonymi w pkt A.2.

Ponadto, próbki krwi do badań serologicznych muszą być pobrane od świń:

— we wszystkich gospodarstwach, w których nie są utrzymywane świnie w wieku między drugim a ósmym miesiącem życia,

— w każdym przypadku, gdy właściwy organ uzna, że klasyczny pomór świń mógłby niezauważalnie rozprzestrzenić wśród macior hodowlanych,

— w każdym innym budynku w stosunku, do którego właściwy organ uzna, że niezbędne jest pobranie próbek,

— we wszystkich centrach pobierania nasienia.

2. W każdym przypadku, gdy w gospodarstwach zlokalizowanych w strefie dozoru przeprowadzane jest pobieranie próbek krwi do badań serologicznych, to minimalna liczba próbek krwi, jakie mają być pobrane, musi być zgodna z pkt F.2. Jednakże, jeśli właściwy organ, uzna, że klasyczny pomór świń mógłby niezauważalnie rozprzestrzenić się wśród macior hodowlanych, to pobieranie próbek może być przeprowadzone tylko w podjednostkach, w których te zwierzęta są trzymane.

H. **Monitorowanie serologiczne oraz procedury pobierania próbek na obszarach, gdzie podejrzewa się wystąpienie klasycznego pomoru świń u dzikich świń lub został on potwierdzony**

1. W przypadku serologicznego monitorowania u dzikich świń na obszarach, na których potwierdzono klasyczny pomór świń lub istnieje podejrzenie jego wystąpienia, wielkość i obszar geograficzny docelowej populacji, od której mają być pobrane próbki, zostanie wcześniej określony w celu ustalenia liczby próbek, jakie mają być pobrane. Ilość próbek musi być ustalona jako funkcja szacunkowej liczby żyjących zwierząt, a nie jako funkcja zwierząt zastrzelonych.

▼B

2. Jeśli nie są dostępne dane o gęstości i wielkości populacji, to obszar geograficzny, w obrębie, którego mają być pobrane próbki musi być określony przy założeniu, że dzikie świnie są tam ciągle obecne oraz że istnieją naturalne lub sztuczne bariery zdolne zatrzymać znaczące i ciągłe przemieszczenia się tych zwierząt. Kiedy takie okoliczności nie występują, albo w przypadku dużych obszarów, zaleca się określić obszary pobierania prób nie większe niż 200 km^2, na których zwykle może żyć populacja licząca od około 400 do 1 000 dzikich świń.

3. Bez uszczerbku dla przepisów art. 15 ust. 2 lit. c) dyrektywy 2001/89/WE, minimalna liczba świń, od których mają być pobrane próbki w obrębie określonego obszaru pobierania próbek, musi umożliwić wykrycie 5 % seroprewalencji z 95 % pewnością. W tym celu próbki muszą być pobrane od przynajmniej 59 zwierząt z każdego obszaru, który został określony.

   Zaleca się również, aby:

   — na obszarach, gdzie liczba polowań jest większa i wykonywana regularnie albo przeprowadzany jest odstrzał selektywny jako sposób zwalczania chorób, 50 % zwierząt, od których pobierane są próbki, należała do klasy wiekowej między trzecim miesiącem a jednym rokiem, 35 % do klasy wiekowej między jednym rokiem a dwoma latami, a 15 % do klasy wiekowej powyżej 2 lat,

   — na obszarach, gdzie liczba polowań jest bardzo mała lub jest ich brak, próbki pobrano od przynajmniej 32 zwierząt dla każdej z trzech klas wiekowych,

   — pobieranie próbek jest wykonane w krótkim czasie, raczej nie dłużej niż w ciągu jednego miesiąca,

   — wiek zwierząt, od których pobiera się próbki, był określony na podstawie uzębienia.

4. Pobieranie próbek do badań wirusologicznych od zastrzelonych dzikich świń, albo od świń, które znaleziono martwe, musi być przeprowadzone tak jak określono w rozdziale V, ppkt B. 1.

   Jeśli uznano za niezbędne wirusologiczne monitorowanie zastrzelonych dzikich świń, to musi być ono zasadniczo przeprowadzone na zwierzętach w wieku od trzech miesięcy do jednego roku życia.

5. Do wszystkich próbek, które mają być wysłane do laboratorium, musi być dołączony kwestionariusz, określony w art. 16 ust. 3 pkt 1 dyrektywy 2001/89/WE.

ROZDZIAŁ V

Ogólne procedury oraz kryteria pobierania i transportowania próbek

A. **Ogólne procedury oraz kryteria**

1. Zanim w podejrzanym gospodarstwie przeprowadzi się pobieranie próbek, musi być przygotowany plan gospodarstwa i muszą być zidentyfikowane epidemiologiczne podjednostki gospodarstwa.

2. Za każdym razem, kiedy uznano, że niezbędne może być powtórne pobieranie próbek od świń, wszystkie świnie, od których mają być pobrane próbki, muszą być specjalnie oznakowane w taki sposób, aby można było od nich powtórnie pobrać próbki.

3. Bez uszczerbku dla rozdziału IV ppkt A.5.b, próbki do badań serologicznych muszą być pobrane od prosiąt w wieku poniżej ósmego tygodnia życia.

4. Wszystkie próbki muszą być wysłane do laboratorium łącznie z odpowiednimi formularzami, zgodnie z wymaganiami określonymi przez właściwy organ. Formularze te zawierają szczegółowy wywiad o świniach, od których pobrano próbki, oraz zaobserwowane objawy kliniczne lub zmiany pośmiertne.

   W przypadku świń trzymanych w gospodarstwach, musi być dostarczona dokładna informacja o wieku, kategorii i gospodarstwie, z którego pochodzą świnie, od których pobrano próbki. Zaleca się, aby odnotowano miejsce przebywania w gospodarstwie każdej świni, od której pobrano próbki, podając jej specjalnym oznaczeniem identyfikacyjnym.

▼B

B. **Pobieranie próbek do badań wirusologicznych**

1. Najbardziej odpowiednimi próbkami do wykrycia wirusa, antygenu lub genomu klasycznego pomoru świń z padłych lub uśpionych świń są próbki tkanek z migdałków, śledziony i nerek. Ponadto zaleca się pobranie dwóch próbek innych tkanek limfatycznych, takich jak zagardłowe, przyusznicze, żuchwowe lub krezkowe węzły chłonne oraz jedną próbkę jelita krętego. W przypadku rozłożonych zwłok pobierana jest cała kość długa lub mostek.

2. Próbki krwi ze środkiem przeciwkrzepliwym lub krwi skrzepłej muszą być pobrane od świń wykazujących objawy gorączki lub inne objawy chorobowe, zgodnie z instrukcjami właściwego organu.

3. Testy wirusologiczne zalecane są w przypadku chorych zwierząt. Zwykle mają one ograniczoną wartość, kiedy stosowane są do celów monitorowania na zwierzętach, które nie wykazują objawów klinicznych. Jednakże, gdy celem masowego pobierania próbek jest wykrycie wirusa klasycznego pomoru świń, w okresie jego inkubacji u świń, to najbardziej odpowiednimi próbkami są migdałki.

C. **Transport próbek**

1. Zaleca się, aby wszystkie próbki:

   — były transportowane i przechowywane w szczelnych pojemnikach,

   — nie były zamrożone, lecz schłodzone w temperaturze chłodziarki,

   — były jak najszybciej dostarczone do laboratorium,

   — były trzymane w opakowaniu, gdy wewnątrz do ich schłodzenia używane są pakiety lodowe zamiast lodu,

   — tkanek lub organów – były umieszczone w oddzielnych, szczelnie zamkniętych torbach plastykowych i poprawnie opatrzone etykietką. Następnie muszą być one umieszczone w większych, mocnych zewnętrznych pojemnikach i zapakowane w wystarczająco pochłaniający materiał w celu ochrony przed zniszczeniem oraz pochłonięcia wycieków odpowiednim materiałem pochłaniającym w celu ochrony przed uszkodzeniem i pochłaniania wycieku,

   — kiedy jest to tylko możliwe mają być przewiezione bezpośrednio do laboratorium przez kompetentny personel tak, aby zapewnić szybki i niezawodny transport.

2. Zewnętrzna strona paczki musi być opatrzona etykietą z adresem laboratorium otrzymującego próbki oraz wyraźnie uwidocznionymi następującymi informacjami: Zwierzęcy materiał patologiczny; Łatwo psujący się; Łatwo tłukący się; Nie otwierać poza laboratorium klasycznego pomoru świń.

3. Laboratorium otrzymujące próbki musi być z wyprzedzeniem poinformowane o czasie i sposobie otrzymania próbek.

4. Przy transporcie lotniczym próbek do laboratorium referencyjnego Wspólnoty zajmującego się klasycznym pomorem świń ([1]) z Państwa Członkowskiego innego niż Niemcy lub z państw trzecich, opakowanie musi być oznakowane zgodnie z regulacjami IATA.

ROZDZIAŁ VI

Zasady i użycie badań wirusologicznych oraz ocena ich wyników

A. **Wykrywanie antygenu wirusa**

1. *Test immunofluorescencji (FAT)*

   Podstawą badań jest wykrycie antygenu wirusowego na cienkich, zamrożonych skrawkach materiału z organów pobranych od świń podejrzanych o to, że są zakażone wirusem klasycznego pomoru świń. Antygen wewnątrzkomórkowy wykrywany jest przy użyciu sprzężonego przeciwciała FTTC. Pozytywny wynik powinien być potwierdzony przez powtórne barwienie ze swoistym przeciwciałem monoklonalnym.

([1]) Wspólnotowe Laboratorium Referencyjne posiada nieograniczoną zgodę na otrzymywanie prób diagnostycznych oraz izolatów wirusa klasycznego pomoru świń. Przed transportem można poprosić to laboratorium o kopię zgody importowej, a następnie dołączyć ją w kopercie na zewnątrz paczki.

▼B

Odpowiednimi organami są migdałki, nerka, śledziona, różne węzły chłonne oraz jelito kręte. W przypadku dzikich świń, jeśli te organy nie są dostępne lub są rozłożone, może być również użyty wymaz z komórek szpiku kostnego.

Test może być przeprowadzony w ciągu jednego dnia. Jeśli próbki organu mogą być otrzymane jedynie z martwych zwierząt, to jego wykorzystanie do celów wykrycia choroby jest ograniczone. Poziom ufności w testach może być ograniczony wątpliwym zabarwianiem, szczególnie, gdy nie osiągnięto znacznego doświadczenia w wykonywaniu testu albo, gdy badane organy są rozłożone.

2. *Test ELISA do wykrywania antygenu*

Antygen wirusowy jest wykrywany przy wykorzystaniu rozmaitych technik ELISA. Czułość antygenowego testu ELISA powinna być wystarczająco wysoka, aby otrzymać pozytywny wynik ze zwierząt wykazujących kliniczne objawy klasycznego pomoru świń.

Zalecane jest wykorzystanie testu ELISA do wykrywania antygenu na próbkach od zwierząt z klinicznym objawami lub patologicznymi zmianami choroby. Nie jest on odpowiedni do badania pojedynczych zwierząt. Odpowiednimi próbkami są leukocyty, surowica krwi, nieskrzepła krew jak również zawiesiny organów, określonych w pkt 1, pobranych od świń podejrzewanych o to, że są zakażone wirusem klasycznego pomoru świń ([1]).

Test ELISA może być przeprowadzony w ciągu jednego dnia i może być wykonany przy użyciu automatycznego sprzętu. Najważniejszą korzyścią jest to, że w krótkim okresie czasu może być przebadana duża liczba próbek. Zaleca się wykorzystanie antygenowego testu ELISA, który daje wystarczające wyniki na materiale porównawczym. Jednakże, obecnie wszystkie powszechnie dostępne testy ELISA są mniej czułe niż izolacja wirusa prowadzona na hodowlach komórkowych, a ich czułość jest istotnie wyższa na próbkach krwi z prosiąt niż z dorosłych świń.

B. **Izolacja wirusa**

1. Izolacja wirusa oparta jest na inkubacji materiału z próbek na podatnych hodowlach komórkowych pochodzących od świń. Jeśli w próbie występuje wirus klasycznego pomoru świń, to w komórkach ulegnie on replikacji do ilości, która może być wykryta przy pomocy zabarwiania immunologicznego zakażonych komórek sprzężonymi przeciwciałami. Swoiste przeciwciała klasycznego pomoru świń są potrzebne do diagnozy różnicowej w odniesieniu do innych pestiwirusów.

2. Próbkami preferowanymi do izolacji wirusa klasycznego pomoru świń są leukocyty, osocze krwi lub krew pełna uzyskane z nieskrzepłych próbek krwi albo organy, określonych w ppkt A.1.

3. Izolacja wirusa jest najbardziej przydatna do badania próbek raczej od małej liczby zwierząt niż przy masowej kontroli. Procedura izolacji wirusa wymaga wzmożonej pracy i przynajmniej trzech dni, zanim dostępne będą jej wyniki. W celu wykrycia w próbce małej ilości wirusa mogą być potrzebne dwa dalsze pasażowania hodowli komórkowych. Może to prowadzić do wydłużenia czasu badania do 10 dni zanim uzyska się wyniki. Próbki, które uległy rozkładowi mogą być cytotoksyczne dla hodowli komórkowej i w rezultacie ograniczyć jej wykorzystanie.

4. Zaleca się też wykonanie izolacji wirusa w przypadku wcześniejszego potwierdzenia klasycznego pomoru świń przy pomocy innych metod. Musi być ona wykorzystana jako test porównawczy do potwierdzenia pozytywnych wyników wcześniejszych metod, odpowiednio testu antygenowego ELISA, lub PCR, PAT, czy też pośredniego zabarwiania peroksydazowego.

Izolaty wirusa klasycznego pomoru świń uzyskane w ten sposób są przydatne do scharakteryzowania wirusa, łącznie z genetycznym typowaniem i epidemiologią molekularną.

5. Wszystkie izolaty wirusa klasycznego pomoru świń pochodzące ze wszystkich pierwotnych wybuchów epidemii, pierwotnych przypadków u dzikich świń lub przypadków w ubojni czy w środkach transportu, muszą być genetycznie typowane przez krajowe laboratorium referencyjne

([1]) W handlu dostępnych jest powszechnie kilka przeciwciał klasycznego pomoru świń, które są atestowane z różnymi rodzajami prób.

▼B

w Państwach Członkowskich, albo przez inne laboratorium zatwierdzone przez dane Państwo Członkowskie, albo przez laboratorium referencyjne Wspólnoty, zgodnie z pkt E.

W każdym przypadku takie izolaty wirusa muszą być niezwłocznie przesłane do wspólnotowego laboratorium referencyjnego w celu ich gromadzenia.

C. **Wykrywanie genomu wirusa**

1. Do wykrywania genomu wirusa w próbkach krwi, tkanek lub organów stosowana jest reakcja łańcucha polimerazy (PCR). Małe fragmenty wirusowego RNA są zapisywane na fragmenty DNA, które następnie są zwielokrotniane przez PCR do ilości wykrywalnych. Ponieważ test ten wykrywa tylko sekwencję genomu wirusa, metoda PCR może być pozytywna nawet wtedy, gdy zakaźny wirus nie jest obecny (np. w rozłożonych tkankach lub próbkach od świń ozdrowieńców).

2. Technika PCR może być użyta na małej liczbie próbek, które zostały starannie wyselekcjonowane z podejrzanych zwierząt lub na materiale z poronionych płodów. W przypadku zwłok dzików może być ona metodą wyboru, jeśli materiał jest rozłożony i nie jest możliwe wykonanie izolacji wirusa w związku z toksycznością komórkową.

3. Odpowiednim materiałem na próbki do diagnozowania techniką PCR są organy opisane do izolacji wirusa lub nieskrzepła krew.

4. Test PCR może być wykonany w ciągu 48 godzin. Wymaga on odpowiedniego sprzętu laboratoryjnego, oddzielnych urządzeń i kompetentnego personelu. Korzyścią jest to, że cząsteczki zakaźnego wirusa nie muszą być replikowane w laboratorium. Metoda ta jest bardzo czuła, ale może wystąpić skażenie, co prowadzi do fałszywych pozytywnych wyników. Dlatego niezbędne są ostre procedury kontroli jakości. Niektóre metody są raczej swoiste dla pestiwirusa niż dla klasycznego pomoru świń, co wymaga dalszych badań potwierdzających, takich jak sekwencjonowanie produktu PCR.

D. **Ocena wyników badań wirusologicznych**

1. Testy wirusologiczne są niezbędne do potwierdzenia klasycznego pomoru świń.

Izolacja wirusa musi być przeprowadzona jako wirusologiczny test porównawczy, a kiedy jest to konieczne, musi być użyta jako test potwierdzający. Jego zastosowanie jest szczególnie zalecane w przypadku gdy pozytywne wyniki badań FAT, ELISA czy PCR nie są połączone z wykryciem klinicznych objawów lub zmian chorobowych oraz w każdym innym wątpliwym przypadku.

Jednakże, pierwotne wybuch epidemii klasycznego pomoru świń może być potwierdzony, jeśli zostały wykryte objawy kliniczne lub zmiany chorobowe u danych świń a przynajmniej dwa testy na wykrycie antygenu lub genomu dały pozytywny wynik.

Wtórny wybuch epidemii klasycznego pomoru świń może być potwierdzony, jeśli oprócz epidemiologicznego powiązania z potwierdzonym wybuchem epidemii lub przypadkiem u danych świń wykryto kliniczne objawy lub zmiany chorobowe, a testy na wykrycie antygenu lub genomu dały pozytywny wynik.

Pierwotny przypadek klasycznego pomoru świń u świń dzikich, może być potwierdzony po izolacji wirusa lub wtedy, gdy przynajmniej dwa testy na wykrycie antygenu lub genomu dały pozytywny wynik. Dalsze przypadki klasycznego pomoru świń u świń dzikich, dla których stwierdzono epidemiologiczne powiązanie z wcześniej potwierdzonymi przypadkami, mogą być potwierdzone, jeśli test na wykrycie antygenu lub genomu dał pozytywny wynik.

2. Pozytywny wynik na klasyczny pomór świń w teście na wykrycie antygenu lub genomu wymaga, aby dany test był wykonany przy użyciu swoistych przeciwciał lub starterów dla klasycznego pomoru świń. Jeśli użyty test nie był swoisty dla wirusa klasycznego pomoru świń, a jedynie swoisty dla pestowirusa, to musi być on powtórzony przy użyciu odczynnika swoistego dla klasycznego pomoru świń.

▼B

E. **Genetyczne typowanie izolatów wirusa klasycznego pomoru świń**

1. Genetyczne typowanie izolatów wirusa klasycznego pomoru świń uzyskuje się przez określenie sekwencji nukleotydów odcinków genomu wirusa, a mianowicie swoistych części niekodującego obszaru 5' i/lub genu glikoproteiny E2. Podobieństwo tych sekwencji z otrzymanymi dotychczas z wcześniejszych izolatów wirusa może wskazywać, czy wybuchy epidemii choroby wywołane są lub nie, przez nowe szczepy, czy przez już rozpoznane. To może potwierdzić lub odrzucić hipotezę na temat dróg przenoszenia, które ustalono drogą wywiadu epidemiologicznego.

   Genetyczne typowanie izolatów wirusa klasycznego pomoru świń ma zasadnicze znaczenie w określeniu źródła choroby. Jednakże bliskie pokrewieństwo między wirusami otrzymanymi z różnych wybuchów epidemii choroby nie jest absolutnym dowodem na bezpośrednie powiązanie epidemiologiczne.

2. Jeśli w krajowym laboratorium, lub innym laboratorium upoważnionym do diagnozowania klasycznego pomoru świń, w krótkim czasie nie można wykonać wirusologicznego typowania, to pierwotna próba czy izolat wirusa musi być jak najszybciej przesłany do typowania do wspólnotowego laboratorium referencyjnego.

   Dane dotyczące typowania i sekwencjonowania izolatów wirusa klasycznego pomoru świń dostępne dla laboratoriów upoważnionych do diagnozowania klasycznego pomoru świń muszą być wysłane do wspólnotowego laboratorium referencyjnego w takim celu, aby te informacje zostały wprowadzone do bazy danych prowadzonej przez to laboratorium.

   Informacje zawarte w tej bazie danych muszą być dostępne dla wszystkich krajowych laboratoriów referencyjnych w Państwach Członkowskich. Jednakże do celów publikacyjnych w czasopismach naukowych, jeśli dane laboratorium zwróci się o to z prośbą, wspólnotowe laboratorium referencyjne zagwarantuje poufność danych do czasu ich opublikowania.

ROZDZIAŁ VII

Zasady i zastosowanie badań serologicznych oraz ocena ich wyników

A. **Podstawowe zasady i wartość diagnostyczna**

1. U świń zakażonych wirusem klasycznego pomoru świń zwykle wykrywalne są przeciwciała w próbkach surowicy krwi w okresie od dwóch do trzech tygodni po zakażeniu. U świń, które odzyskały zdrowie po chorobie, można wykrywać ochronne przeciwciała neutralizujące przez kilka lat lub nawet przez całe życie. Przeciwciała są również wykrywalne w końcowym stadium śmiertelnie chorych zwierząt. Przeciwciała mogą być wykrywalne u niektórych świń z przewlekłą postacią klasycznego pomoru świń przez klika dni pod koniec pierwszego miesiąca po zakażeniu.

   Świnie zakażone *in utero* mogą być immunotolerancyjne przeciw homologowi wirusa klasycznego pomoru świń i produkować nieswoiste przeciwciała. Jednakże w czasie pierwszych dni życia mogą być wykryte przeciwciała pochodzące od matki. Półokres trwania przeciwciał pochodzących od matki u zdrowych prosiąt bez obecności wirusa we krwi wynosi około dwóch tygodni. Jeśli stwierdzono je u prosiąt starszych niż trzy miesiące, to jest bardzo prawdopodobne, że przeciwciała klasycznego pomoru świń nie pochodzą od matki.

2. Wykrycie przeciwciał wirusa klasycznego pomoru świń w próbkach surowicy lub osocza krwi przeprowadzane jest w celu wsparcia zdiagnozowania klasycznego pomoru świń w podejrzanych gospodarstwach, ustalenia okresu trwania zakażenia w przypadku potwierdzonego wybuchu epidemii oraz do celów monitorowania i kontroli. Jednakże badania serologiczne mają ograniczoną wartość przy wykrywaniu klasycznego pomoru świń w przypadku niedawnego zakażenia w gospodarstwie.

   Istnienie kilku seropozytywnych świń z niskim mianem neutralizującym (roztworu) może wskazywać na niedawne zakażenie (dwa do czterech tygodni). Pojawienie się wielu świń z wysokim mianem neutralizującym może wskazywać, że wirus dostał się do gospodarstwa o ponad miesiąc wcześniej. Miejsce przebywania seropozytywnych świń w gospodarstwie może dostarczyć wartościowych informacji o tym, jak wirus klasycznego pomoru świń dostał się do gospodarstwa.

▼B

Jednakże dokładna ocena wyników badań serologicznych musi być przeprowadzona przy uwzględnieniu całości wyników badań klinicznych, wirusologicznych i epidemiologicznych, w ramach wywiadu, jaki ma być przeprowadzony w przypadku podejrzenia lub potwierdzenia klasycznego pomoru świń, zgodnie z art. 8 dyrektywy 2001/89/WE.

B. **Zalecane badania serologiczne**

1. Test neutralizacji wirusa (VNT) oraz test ELISA są testami wyboru przy serologicznym diagnozowaniu klasycznego pomoru świń.

   Jakość i skuteczność diagnozowania serologicznego, wykonywane przez krajowe laboratorium, muszą być regularnie kontrolowane w ramach międzylaboratoryjnego badania porównawczego organizowanego przez wspólnotowe laboratorium referencyjne.

2. Test VNT opiera się na określaniu neutralizującej wirusa aktywności przeciwciał w próbce surowicy krwi, wyrażonej jako 50 % neutralizacji w punkcie końcowym.

   Stała ilość wirusa klasycznego pomoru świń jest inkubowana w temperaturze 37 °C z rozcieńczoną surowicą krwi. Do celów wykrywania choroby surowica krwi jest rozcieńczana w proporcji 1:10. Kiedy konieczne jest pełne miareczkowanie, mogą być przygotowane dwukrotne rozcieńczenia surowicy krwi, rozpoczynając od 1:2 lub 1:5. Każde rozcieńczenie jest mieszane z jednakową ilością zawiesiny wirusa zawierającej 100 cząstek zakażonych (TCID 50).

   Po inkubacji mieszanina jest szczepiona na hodowle komórkowe, które są inkubowane przez trzy do pięciu dni. Po tym okresie inkubacji hodowle są utrwalane, a każda replikacja wirusa w zakażonych komórkach wykrywana jest systemem oznaczania immunologicznego. Może zostać użyta próba przeciwciała neutralizującego sprzężonego z peroksydazą (NPLA) lub próba neutralizacyjno-immunofluorescencyjna (NIF).

   Wyniki testu VNT są wyrażone jako odwrotność początkowego rozcieńczenia surowicy krwi, przy którym połowa zarażonych hodowli komórek (50 % w punkcie końcowym) nie wykazuje replikacji wirusa (brak swoistego znakowania). Szacowany jest punkt między dwoma poziomami rozcieńczenia. Układ końcowego rozcieńczenia opiera się na aktualnym rozcieńczeniu surowicy krwi w czasie reakcji neutralizującej, tj. po dodaniu wirusa, ale przed dodaniem zawiesiny komórkowej.

3. Test VNT jest najbardziej czułym i niezawodnym testem do wykrywania przeciwciał wirusa klasycznego pomoru świń. Dlatego też jest on zalecany do badania serologicznego wykonywanego na pojedynczym zwierzęciu, jak również na stadzie podstawowym.

   W przypadku badań VNT do wykrywania przeciwciał wirusa BVD i wirusa BD mają zastosowanie te same zasady jak te wyżej wymienione i są one prowadzone przy diagnozie różnicowej klasycznego pomoru świń.

4. Szczepy pestiwirusów, jakie mają być użyte w testach neutralizujących, będą zgodne z zaleceniami wspólnotowego laboratorium referencyjnego.

5. Opracowano kilka technik ELISA stosujących przeciwciała monoklonalne, które oparte są na dwóch formatach: konkurejcyjna, lub blokująca próba ELISA oraz niekonkurencyjna technika ELISA.

   Konkurencyjna lub blokująca próba ELISA jest zwykle oparta na przeciwciałach monoklonalnych. Jeśli próbka surowicy zawiera przeciwciała dla klasycznego wirusa, to wiązanie wybranego przeciwciała monoklonalnego sprzężonego z peroksydazą z antygenem wirusa będzie hamowane, dając w rezultacie ograniczony sygnał.

   W niekonkurencyjnej metodzie ELISA, wiązanie przeciwciał surowicy z antygenem jest mierzone bezpośrednio przy użyciu przeciwciała sprzężonego z peroksydazą, typowego dla świń.

6. Kontrola jakości, dotycząca czułości i swoistości każdej partii, w próbie ELISA musi być wykonywana regularnie przez krajowe laboratoria, wykorzystujące zespół surowic porównawczych dostarczonych przez wspólnotowe laboratorium referencyjne. Zespół taki zawiera:

   — surowice od świń w początkowej fazie zakażenia wirusem klasycznego pomoru świń (przed 21 dniem po infekcji),

   — surowice ze świń-ozdrowieńców (po 21 dniu po infekcji),

▼B

— surowice ze świń zakażonych pestiwirusami przeżuwaczy.

*Próba ELISA, która ma być zastosowana do serologicznego diagnozowania klasycznego pomoru świń, musi rozpoznawać wszystkie surowice porównawcze ze świń ozdrowieńców. Wszystkie wyniki otrzymane z surowicami porównawczymi muszą być powtarzalne. Zaleca się dalej, aby wykryły one wszystkie pozytywne surowice z fazy początkowej oraz wykazały minimum reakcji krzyżowych z surowicami od świń zakażonych pestiwirusami przeżuwaczy.

Wyniki otrzymane z surowicami porównawczymi od świń w początkowej fazie zakażenia dają wskazówkę o czułości próby ELISA.

7. Czułość próby ELISA uważana jest za niższą niż metoda testu VNT i zaleca się jej stosowanie jako testu kontrolnego wykonywanego w stadzie podstawowym. Jednakże, test ELISA wymaga mniej specjalistycznych urządzeń i dzięki zautomatyzowanym systemom może być wykonany dużo szybciej niż test VNT.

   Próba ELISA musi zapewnić identyfikację wszystkich zakażeń klasycznego pomoru świń w stadium ozdrowienia i musi być w najwyższym stopniu wolna od zakłóceń wywoływanych przez krzyżowo reagujące przeciwciała pestiwirusów przeżuwaczy.

C. **Interpretacja wyników serologicznych i diagnozy różnicowej z zakażeniami spowodowanymi pestiwirusami przeżuwaczy (BVDV i BDV)**

1. Bez uszczerbku dla przepisów art. 4 ust. 3 lit. a) lub art. 7 ust. 2 dyrektywy 2001/89/WE, w przypadku wykrycia miana neutralizującego wirusa klasycznego pomoru świń równego lub wyższego od 10 ND_{50} w próbkach surowicy pobranych od jednej lub większej liczby świń lub pozytywnego wyniku testu ELISA w próbkach surowicy od grupy świń, mają natychmiastowe zastosowanie lub nadal mają zastosowanie w danym gospodarstwie środki zaradcze, o których mowa w art. 4 ust. 2 dyrektywy 2001/89/WE.

   Próbki już pobrane z tego gospodarstwa muszą być powtórnie przebadane testem VNT, przy pomocy porównawczego miareczkowania punktów końcowych neutralizujących przeciwciał wirusa klasycznego pomoru świń i pestiwirusów przeżuwaczy.

2. Jeśli testy porównawcze wykazują obecność przeciwciał pestiwirusów przeżuwaczy i brak lub wyraźnie niższe (mniej niż trzykrotne) miano przeciwciał dla wirusa klasycznego pomoru świń, to podejrzenie o klasyczny pomór świń będzie wykluczone, chyba że istnieją inne powody, które uzasadnią dalsze zastosowanie danych środków w art. 4 ust. 2 dyrektywy 2001/89/WE, w danym gospodarstwie.

3. Jeśli testy porównawcze wykazują miano neutralizujące wirusa równe lub wyższe niż 10 ND_{50} u większej niż jedna liczby świń i miano to jest równe lub wyższe od miana dla innych pestiwirusów, to właściwy organ zapewni, że klasyczny pomór świń będzie potwierdzony, pod warunkiem, że stwierdzono epidemiologiczne dowody choroby w danym gospodarstwie.

4. Bez uszczerbku dla przepisów art. 4 ust. 3 dyrektywy 2001/89/WE, jeśli nie stwierdzono epidemiologicznych dowodów choroby lub, jeśli wyniki wcześniejszych badań są nieprzekonywujące, to właściwy organ zapewni, że w danym gospodarstwie:

   — nadal mają zastosowanie środki określone w art. 4 ust. 2 dyrektywy 2001/89/WE,

   — jak najszybciej przeprowadzane są dalsze badania w celu potwierdzenia lub wykluczenia klasycznego pomoru świń, zgodnie z rozdziałem IV.

5. Jednakże, jeśli dalsze kontrole i testy, określone w pkt 4, nie pozwalają na wykluczenie klasycznego pomoru świń, to w gospodarstwie przeprowadzone będzie dalsze pobranie próbek do badania serologicznego po upływie przynajmniej dwóch tygodni od poprzednich kontroli.

   W ramach tego dalszego pobierania próbek od świń, od których już pobrano próbki i które już były testowane, powtórnie pobiera się próbki do porównawczego badania serologicznego z uprzednio pobranymi próbkami w celu wykrycia przemiany serologicznej wirusa klasycznego pomoru świń lub pestiwirusów przeżuwaczy, jeśli ma to miejsce.

▼B

Jeśli te dalsze kontrole i testy nie pozwalają na potwierdzenie klasycznego pomoru świń, to środki, określone w art. 4 dyrektywy 2001/89/WE, mogą być zniesione.

▼M1

Rozdział VIII

Test porównawczy w przypadku szczepienia interwencyjnego

A. **Podstawowe zasady**

1. Serologiczny test porównawczy ELISA (test porównawczy) jest dostępny dla właściwie rozróżnionych świń, które zostały zaszczepione szczepionką znacznikową, która wywołała antyciała wyłącznie przeciwko glikoproteinie E2 wirusa choroby klasycznego pomoru świń od świń, które zostały zarażone dzikim wirusem klasycznego pomoru świń. Niniejszy test jest opracowany w celu wykrycia antyciał przeciwko glikoproteinie Erns wirusa choroby klasycznego pomoru świń. Oparty jest na zasadzie, że niezarażone zwierzęta zaszczepione szczepionką znacznikową wytwarzają wyłącznie antyciała przeciwko glikoproteinie E2 wirusa choroby klasycznego pomoru świń, gdy zwierzęta zarażone wirusem reagują i wytwarzają także antyciała przeciwko innym wirusom.

   Niniejszy test porównawczy jest czuły i właściwy ([1]). Jednakże świnie zarażone szczepem pestiwirusów innym niż wirus klasycznego pomoru świń, takim jak wirus BVD i wirus BD, również zareagują Erns-pozytywnie. Co więcej, czułość testu nie jest doskonała i niektóre zwierzęta zaszczepione szczepionką znacznikową, a później zarażone mogą nie zareagować Erns-pozytywnie.

   Obecnie dostępne dane sugerują, że test porównawczy nie może być niezawodnie używany do testów pobierania próbek surowicy z dzikich świń.

2. Test porównawczy jest immunologicznym oznaczeniem blokowania wiązania enzymów za pomocą fazy ciekłej. Próbki przeznaczone do testowania są inkubowane na płytkach mikromiareczkowych wstępnie pokrytych monoklonalnymi przeciwciałami wraz z określoną ilością antygenu Ernsa. Każde przeciwciało specyficzne Ernsa wiąże się z określoną ilością antygenu Ernsa w roztworze i tworzony jest związek kompleksowy, który nie reaguje z antyciałami anty-Ernsa na płytce do mikromiareczkowania. Po przemyciu płytek w celu usunięcia niezwiązanego materiału, dodaje się peroksydazę znakowaną sprzężeniem anty-Ernsa, która wiąże antygen Ernsa w postaci związku kompleksowego z antyciałem naniesionym na powierzchnię płytki do mikromiareczkowania. Niezwiązane sprzężenie jest usuwane poprzez przemycia i dodawany jest substrat zawierający chromogen. Pojawiający się stopień zabarwienia jest odwrotnie proporcjonalny do ilości przeciwciała specyficznego Ernsa obecnego w próbce. Jeżeli próbka nie zawiera tyle przeciwciał (próbka negatywna) co określona ilość dodanego antygenu Ernsa, wiążą się one z przeciwciałami anty-Ernsa na powierzchni płytki i obserwuje się silną reakcje barwną.

   Wynik uzyskuje się przez porównanie gęstości optycznej (OD) w naczyńkach zawierających próbki testowe z naczyńkami zawierającymi próbki kontrolne pozytywne i negatywne.

B. **Wytyczne do stosowania testu porównawczego w sytuacji szczepienia interwencyjnego za pomocą szczepionki znacznikowej w hodowlach świń w ramach art.19 dyrektywy (WE) nr 89/2001.**

Test porównawczy opracowano dla stwierdzenia obecności lub nieobecności obiegu klasycznego wirusa pomoru świń w populacji świń zaszczepionych szczepionką znacznikową. Dostępne dane wskazują, że może on być z powodzeniem stosowany w tym celu w oparciu o stada, lecz nie może jednoznacznie wykluczyć, że poszczególne świnie są zainfekowane klasycznym wirusem pomoru świń. W szczególności, specyficzność testu porównawczego może być niewystarczająca dla niezawodnego odróżnienia świń zaszczepionych szczepionką znacznikową w przypadku szczepienia świń dorosłych. Jednakże w przypadku wątpliwych wyników, świnie, o których mowa poddaje się ubojowi w humanitarny sposób zgodnie z dyrektywą 93/119/WE, a ich organy bada na okoliczność klasycznego

([1]) Zgodnie z wynikami badań przeprowadzonych przez laboratoria wzorcowe Wspólnoty oraz laboratoria krajowe nad klasycznym pomorem świń, czułość testu porównawczego wynosi około 94 %, a specyficzność około 98 %.

▼M1

wirusa pomoru świń. Najbardziej odpowiednimi metodami w tym celu są metoda izolacji wirusa i metoda PCR.

Te aspekty muszą być w pełni wzięte pod uwagę przy opracowywaniu strategii interwencyjnego szczepienia znacznikowego, a następnie interpretacji wyników szczegółowych badań klasycznego wirusa pomoru świń na populacji zaszczepionej szczepionką znacznikową.

Procedura pobierania próbek i badania zaszczepionej populacji świń, przed wprowadzeniem ograniczeń stosowanych w obszarze szczepiennym zgodnie z art. 19 dyrektywy (WE) nr 89/2001 musi zależeć od wieku zaszczepionych świń, rodzaju świń (do tuczu, uboju, hodowli) i pożądanego poziomu bezpieczeństwa niewystępowania obiegu wirusa w odniesieniu do populacji.

Szczegóły procedury pobierania próbek i badania, należy zatem przedstawić w planie szczepienia interwencyjnego dostarczonego Komisji stosownie do art. 19 ust. 3 dyrektywy (WE) nr 89/2001.

▼B

ROZDZIAŁ IX

Minimalne wymagania bezpieczeństwa dla laboratoriów klasycznego pomoru świń

1. Minimalne wymagania określone w tabeli 1 muszą być spełnione w każdym laboratorium, w którym mają odbywać się manipulacje wirusem klasycznego pomoru świń nawet, jeśli dotyczy to tylko niewielkiej jego ilości, jak tego wymaga izolacja wirusa i testy neutralizujące. Jednakże badanie pośmiertne, przetwarzanie tkanek do testu FAT oraz badań serologicznych przy użyciu inaktywowanego antygenu mogą być przeprowadzane przy niższym poziomie zanieczyszczenia, pod warunkiem, że ma zastosowanie podstawowa dezynfekcja sanitarna i pooperacyjna z bezpiecznym usunięciem tkanek.

2. Dodatkowe wymagania określone w tabeli 1 muszą być spełnione przez każde laboratorium, w którym przeprowadzane są procedury obejmujące szeroką manipulację wirusem.

3. Wymagania ustalone w tabeli 2 muszą być spełnione przez każde laboratorium, w którym przeprowadzane są doświadczenia na zwierzętach z użyciem wirusa klasycznego pomoru świń.

4. W każdym przypadku wszystkie zapasy wirusa klasycznego pomoru świń muszą być bezpiecznie magazynowane, przez głębokie zamrożenie czy poddanie liofilizacji. Zaleca się, aby zamrażarki i chłodziarki nie były używane do wirusów innych niż wirus klasycznego pomoru świń, lub do innych materiałów niezwiązanych z diagnozowaniem klasycznego pomoru świń. Wszystkie pojedyncze ampułki muszą być wyraźnie opatrzone etykietą i prowadzona musi być pełna dokumentacja dotycząca zapasów wirusa, razem z datami i wynikami inspekcji kontroli jakości. Musi być również prowadzona dokumentacja dotycząca wirusów dodanych do zapasów, ze szczegółami na temat źródła, oraz wirusów wydanych do innych laboratoriów.

5. Zaleca się, aby biologiczne bezpieczeństwo jednostek pracujących z wirusem klasycznego pomoru świń zostało zwiększone o obszar, na którym nie prowadzi się manipulacji tym wirusem. Te obszary powinny być przeznaczone do przygotowania szkła i pożywek, utrzymania i przygotowania niezakażonych hodowli komórkowych, przetwarzania surowic i serologicznego badania (innego niż metody używające żywe wirusy klasycznego pomoru świń) oraz do zapewnienia wsparcia administracyjnego i urzędowego.

Tabela 1

Zasady bezpieczeństwa biologicznego właściwe dla laboratoriów diagnostycznych

	Wymogi dodatkowe	Wymogi minimalne
Ogólne otoczenie	Normalne ciśnienie atmosferyczne. System podwójnej filtracji HEPA dla powietrza wylotowego. Wyspecjalizowane pomieszczenia, wykorzystywane wyłącznie do procedur diagnostycznych na klasyczny pomór świń.	Normalne ciśnienie atmosferyczne. Wyspecjalizowane pomieszczenia przeznaczone do określonych procedur.

▼B

	Wymogi dodatkowe	Wymogi minimalne
Odzież laboratoryjna	Całkowita zmiana odzieży przy wejściu. Odzież laboratoryjna używana tylko w jednostce ds. wirusa pomoru klasycznego świń. Rękawice jednorazowego użytku do wszystkich manipulacji z zakażonym materiałem. Odzież sterylizowana przed usunięciem z jednostki, lub prana wewnątrz jednostki.	Specjalna odzież zewnętrzna używana tylko w jednostce ds. wirusa klasycznego pomoru świń. Rękawice jednorazowego użytku do wszystkich manipulacji z zakażonym materiałem. Odzież zewnętrzna sterylizowana przed usunięciem z jednostki, lub prana wewnątrz jednostki.
Kontrola personelu	Wejście do jednostki ograniczone dla wyznaczonego, wyszkolonego personelu. Mycie i dezynfekcja rąk przy opuszczaniu jednostki. Zabronione przebywanie personelu w pobliżu świń przez 48 godzin po opuszczeniu jednostki	Wejście do jednostki ograniczone dla wyznaczonego, wyszkolonego personelu. Mycie i dezynfekcja rąk przy opuszczaniu jednostki. Zabronione przebywanie personelu w pobliżu świń przez 48 godzin po opuszczeniu jednostki.
Wyposażenie	Komora bezpieczeństwa biologicznego (klasy I lub II) wykorzystywana do wszystkich manipulacji na żywym wirusie. Komora powinna posiadać system podwójnej filtracji HEPA dla powietrza wylotowego. Całe wyposażenie potrzebne do procedur laboratoryjnych ma być dostępne w obrębie wyspecjalizowanych pomieszczeń laboratoryjnych.	

Tabela 2

Wymogi bezpieczeństwa biologicznego w pomieszczeniach dla zwierząt doświadczalnych

	Wymagania
Ogólne otoczenie	Wentylacja wywiewna. System podwójnej filtracji HEPA powietrza wylotowego. Urządzenie do całkowitej fumigacji/dezynfekcji przy końcu eksperymentu. Wszystkie ścieki oczyszczane w celu inaktywacji wirusa pomoru klasycznego świń (termicznie lub chemicznie).
Odzież laboratoryjna	Całkowita zmiana odzieży przy wejściu. Jednorazowe rękawice do wszystkich manipulacji. Odzież sterylizowana przed usunięciem z jednostki lub prana w obrębie jednostki.
Kontrola personelu	Wejście do jednostki ograniczone do wyznaczonego, wyszkolonego personelu. Kompletny natrysk przy wyjściu z jednostki. Zabronione przebywanie personelu w pobliżu świń przez 48 godziny od opuszczenia jednostki.
Wyposażenie	Całe wyposażenie wymagane do procedur związanych ze zwierzętami ma być dostępne w obrębie jednostki. Wszystkie materiały mają być sterylizowane przy usuwaniu ich z jednostki lub, w przypadku próbek zwierzęcych, mają być podwójnie opakowane w szczelnym pojemniku, który jest powierzchniowo wydezynfekowany przed transportem do laboratorium klasycznego pomoru świń.
Zwierzęta	Wszystkie zwierzęta mają być ubite przed opuszczeniem jednostki, badania pośmiertne mają być zakończone w obrębie biologicznie bezpiecznego obszaru, a zwłoki spopielone po zakończeniu badań.