Acest document reprezintă un instrument de documentare, iar instituțiile nu își asumă responsabilitatea pentru conținutul său.

►**B**

DECIZIA COMISIEI

din 1 februarie 2002

de aprobare a unui manual de diagnosticare care stabilește proceduri de diagnosticare, metode de prelevare de probe și criterii de evaluare a testelor de laborator pentru confirmarea pestei porcine clasice

[notificată cu numărul C(2002) 381]

(Text cu relevanță pentru SEE)

(2002/106/CE)

(JO L 39, 9.2.2002, p. 71)

Astfel cum a fost modificată prin:

		Jurnalul Oficial		
		NR.	Pagina	Data
►**M1**	Decizia 2003/859/CE Comisiei din 5 decembrie 2003	L 324	55	11.12.2003

▼B

DECIZIA COMISIEI

din 1 februarie 2002

de aprobare a unui manual de diagnosticare care stabilește proceduri de diagnosticare, metode de prelevare de probe și criterii de evaluare a testelor de laborator pentru confirmarea pestei porcine clasice

[notificată cu numărul C(2002) 381]

(Text cu relevanță pentru SEE)

(2002/106/CE)

COMISIA COMUNITĂȚILOR EUROPENE,

având în vedere Tratatul de instituire a Comunității Europene,

având în vedere Directiva 2001/89/CE a Consiliului din 23 octombrie 2001 privind măsurile comunitare pentru controlul pestei porcine clasice ([1]), în special articolul 17 alineatul (3) și articolul 29 alineatul (1),

întrucât:

(1) Este necesar să se stabilească la nivel comunitar proceduri de diagnostic, metode de prelevare de probe și criterii de evaluare a rezultatelor testelor de laborator destinate să confirme pesta porcină clasică.

(2) Anexa IV la Directiva 2001/89/CE definește funcțiile și sarcinile laboratorului comunitar de referință pentru pesta porcină clasică cu scopul de a coordona, în consultare cu Comisia, metodele utilizate în statele membre pentru diagnosticarea bolii. Aceste funcții și aceste sarcini cuprind organizarea de teste comparative periodice și furnizarea de reactivi tip la nivel comunitar.

(3) Virusul pestei porcine clasice nu este considerat periculos pentru sănătatea umană.

(4) Teste de laborator au fost puse la punct recent pentru a asigura un diagnostic rapid al pestei porcine clasice.

(5) Experiența dobândită în ultimii ani în combaterea pestei porcine clasice a dus la identificarea celor mai adecvate proceduri și criterii de prelevare de probe pentru evaluarea rezultatelor testelor de laborator care permit diagnosticarea corectă a bolii în diferite situații.

(6) Măsurile prevăzute de prezenta decizie sunt conforme cu avizul Comitetului permanent veterinar,

ADOPTĂ PREZENTA DECIZIE:

Articolul 1

(1) Pentru confirmarea pestei porcine clasice, statele membre se asigură ca aceasta să se bazeze pe:

(a) detectarea semnelor clinice și leziunilor *post mortem* ale bolii;

(b) detectarea virusului, antigenului sau genomului în eșantioanele de țesuturi, de organe, de sânge sau de materii fecale de la porci;

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

▼B

(c) demonstrarea unui răspuns al anticorpilor specifici în eșantioanele de sânge,

în conformitate cu procedurile, metodele de prelevare de probe și criteriile de evaluare a rezultatelor testelor de laborator descrise în manualul din anexa la prezenta decizie.

(2) Cu toate acestea, laboratoarele de diagnostic naționale menționate la punctul 1 din anexa III la Directiva 2001/89/CE pot să aducă modificări testelor de laborator menționate în manualul din anexa la prezenta decizie sau să utilizeze teste diferite, cu condiția ca sensibilitatea și specificitatea demonstrate să fie identice.

Sensibilitatea și specificitatea acestor teste modificate sau diferite trebuie să fie evaluate în cadrul testelor comparative periodice organizate de laboratorul comunitar de referință pentru pesta porcină clasică.

Articolul 2

Anexele I și IV la Directiva 80/217/CEE a Consiliului din 22 ianuarie 1980 de stabilire a măsurilor comunitare de combatere a pestei porcine clasice ([1]), astfel cum a fost modificată ultima dată prin Actul de aderare a Austriei, Finlandei și Suediei, se elimină.

Articolul 3

Prezenta decizie se aplică începând cu data de 1 noiembrie 2002.

Articolul 4

Prezenta decizie se adresează statelor membre.

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

▼B

ANEXĂ

MANUAL DE DIAGNOSTIC AL PESTEI PORCINE CLASICE

CAPITOLUL I

Introducere, obiective și definiții

1. Pentru a garanta aplicarea de proceduri uniforme de diagnostic al pestei porcine clasice, prezentul manual:

   (a) enunță orientările și cerințele minime referitoare la procedurile de diagnostic, la metodele de prelevare de probe și la criteriile care trebuie aplicate la evaluarea rezultatelor examenelor clinice sau *post mortem*, precum și la testele de laborator în vederea stabilirii unui diagnostic corect al pestei porcine clasice ([1]);

   (b) stabilește cerințele minime în ceea ce privește siguranța biologică și normele de calitate care trebuie respectate de către laboratoarele de diagnosticare a pestei porcine clasice și pentru transportul eșantioanelor;

   (c) stabilește testele de laborator care trebuie efectuate pentru diagnosticarea pestei porcine clasice și tehnicile de laborator care trebuie aplicate pentru tipizarea genetică a izolatelor virusului pestei porcine clasice.

2. Prezentul manual se adresează în principal autorităților competente pentru măsurile de combatere a pestei porcine clasice. Din această cauză, accentul este pus pe principiile și aplicarea testelor de laborator și evaluarea rezultatelor acestora, mai degrabă decât pe aspectele de detaliu ale tehnicilor de laborator.

3. În sensul prezentului manual, în afară de definițiile menționate la articolul 2 din Directiva 2001/89/CE, se înțelege prin:

   (a) „exploatație suspectă” orice exploatație în care se găsesc unul sau mai mulți porci suspecți de a fi infectați cu virusul pestei porcine clasice sau o exploatație-contact în sensul articolului 2 litera (v) din Directiva 2001/89/CE;

   (b) „caz izolat” orice porc care reacționează pozitiv la testele serologice de depistare a pestei porcine clasice fără să fi fost înainte în contact cu virusul pestei porcine clasice și care nu pare să fi contaminat porcii care au venit în contact cu el ([2]);

   (c) „subunitate epidemiologică” sau „subunitate” clădirea, locul sau terenul limitrof în care se găsesc grupuri de porci dintr-o exploatație astfel încât să intre frecvent în contact direct unii cu alții, fiind în același timp separați de ceilalți porci din aceeași exploatație;

   (d) „porci de contact” porcii dintr-o exploatație care s-au aflat, în ultimele 21 de zile, în contact direct cu unul sau mai mulți porci suspecți de a fi infectați cu virusul pestei porcine clasice.

CAPITOLUL II

Descrierea pestei porcine clasice cu accent pe diagnosticul diferențial

A. **Introducere**

1. Pesta porcină clasică este provocată de un virus ARN cu anvelopă care aparține genului *Pestivirus* din familia *Flaviviridae*. Acest virus este înrudit cu *Pestivirus* ai rumegătoarelor care provoacă diareea virală a bovinelor (DVB) și pesta virală ovină (PVO). Această corelare are repercusiuni importante pentru diagnostic, căci se produc reacții încrucișate care pot duce la rezultate fals pozitive ale testelor de laborator.

2. Virusul pestei porcine clasice este relativ stabil în excrețiile umede ale porcilor infectați, în carcasele de porc, în carnea proaspătă de porc și în

([1]) Determinând numărul de eșantioane care urmează să fie prelevate pentru testele de laborator, trebuie de asemenea să se țină seama de sensibilitatea testelor care vor fi efectuate. Numărul de animale de la care sunt prelevate eșantioanele va fi mai mare decât cel pe care îl indică prezentul manual în cazul în care sensibilitatea testului care trebuie efectuat este mică.

([2]) Reactorii izolați pot prezenta titre de anticorpi de neutralizare a virusului mergând de la valoarea-limită (care este cazul cel mai frecvent) până la valori cu pozitivitate mare. După o nouă prelevare, reactorii izolați pot prezenta un titru descrescător sau constant. În general, porcii dintr-o turmă care prezintă aceste reacții fals pozitive sunt foarte puțin numeroși.

▼B

anumite produse din carne de porc. El este uşor inactivat de detergenţi, solvenţii graşi, proteaze şi dezinfectanţii uzuali.

3. Principala cale naturală de infectare este de tip oronazal, prin contact direct sau indirect cu porcii infestaţi sau prin administrarea animalelor de hrană contaminată cu virus. În zonele cu o mare densitate de crescătorii de porci, virusul se propagă cu uşurinţă de la o exploataţie la exploataţia vecină. Virusul se transmite, de asemenea, prin materialul seminal provenit de la vieri infectaţi.

4. Perioada de incubaţie la indivizi este cuprinsă între o săptămână şi zece zile, dar, în condiţii reale, este posibil ca simptomele clinice să nu apară într-o exploataţie decât după două până la patru săptămâni de la introducerea virusului, chiar mai mult, în cazul în care este vorba de porci de crescătorie adulţi sau dacă tulpina virusului este atenuată.

5. Semnele clinice ale pestei porcine clasice sunt foarte variabile şi pot fi confundate cu cele ale unui mare număr de boli. Gravitatea simptomelor depinde în special de vârsta animalului şi de virulenţa virusului. În general, animalele tinere sunt mai grav afectate decât animalele mai în vârstă. La porcii mai în vârstă, evoluţia infecţiei este adesea atenuată, chiar subclinică.

6. Se pot distinge forme acute, cronice şi prenatale ale pestei porcine clasice.

B. **Forma acută**

1. Purceii înţărcaţi şi porcii de îngrăşat prezintă cel mai adesea forma acută a bolii. Primele semne sunt anorexia, starea letargică, febra, conjunctivita, umflarea ganglionilor limfatici, simptome respiratorii şi constipaţia urmată de diaree.

   Hemoragiile tipice ale pielii se observă în general pe urechi, coadă, abdomen şi în partea interioară a membrelor în a doua şi a treia săptămână de la infectare şi până la deces. Semnele neurologice sunt frecvente, cum ar fi un mers împiedicat pe membrele posterioare, mişcări necoordonate şi convulsii.

   Febra rămâne o constantă. Ea depăşeşte în general 40 °C, în vreme ce la porcii adulţi ea nu trebuie să fie niciodată mai mare de 39,5 °C.

2. Virusul pestei porcine clasice provoacă grave leucopenii şi o imunosupresie, ceea ce duce frecvent la infecţii secundare de tip enteric sau respirator. Semnele acestor infecţii secundare pot să mascheze sau să modifice simptomele cele mai tipice ale pestei porcine clasice şi astfel să-l inducă în eroare pe crescător sau pe medicul veterinar.

   Moartea survine în general după o lună. Există vindecări cu producere de anticorpi, cel mai adesea la animale de crescătorie adulte care nu prezintă semne clinice grave. Anticorpii virusului pestei porcine clasice pot fi detectaţi începând cu a doua sau a treia săptămână de la contaminare.

3. Modificările patologice care trebuie constatate la examenul *post mortem* privesc cel mai adesea ganglionii limfatici şi rinichii. Ganglionii sunt umflaţi, edematoşi şi hemoragici. Hemoragiile renale variază de la peteşii abia vizibile la veritabile hemoragii echimotice. Hemoragii asemănătoare pot, de asemenea, să fie observate pe vezică, laringe, epiglotă şi pe inimă; ele ajung uneori pe serozităţile abdomenului şi toracelui. Adesea se observă o encefalită nepurulentă. Leziuni datorate infecţiilor secundare pot uneori să-l inducă în eroare pe medicul veterinar. Infarctul splinei este considerat un semn patognomonic, dar acesta nu este frecvent.

4. În general, forma acută a pestei porcine africane prezintă un tablou clinic şi patologic foarte apropiat de cel al pestei porcine clasice. În cazul în care apar, hemoragiile pielii şi ale urechilor sunt uşor de detectat şi anunţă o pestă porcină africană sau clasică acută. Sunt puţine bolile care provoacă leziuni asemănătoare.

   Prezenţa pestei porcine clasice acute trebuie, de asemenea, să fie luată în considerare în cazurile suspecte de erizipel, de sindrom reproducător şi respirator al porcului (SDRP), de otrăvire cu cumarină, de purpură hemoragică, de sindrom caşectic multisistemic după înţărcare, de sindrom dermic şi nefropatic, de infecţii cu *Salmonella* sau *Pasteurella* sau de orice alt sindrom enteric sau respirator însoţit de febră care nu răspunde la tratamentul cu antibiotice.

▼B

5. Virusul pestei porcine clasice se transmite prin saliva, urina şi materiile fecale care îl conţin, de la apariţia semnelor clinice până la deces. Virusul poate, de asemenea, să fie transmis prin materialul seminal.

C. **Forma cronică**

1. Infecţia evoluează cronic în cazul în care porcii nu ajung să dezvolte un răspuns imunitar eficace faţă de virusul pestei porcine clasice. Primele semne ale unei infecţii cronice sunt asemănătoare cu cele ale infecţiei acute. După aceea, apar cu precădere semne atipice, cum sunt febra intermitentă, enterita cronică şi caşexia. Hemoragiile dermice tipice lipsesc.

   Aceşti porci pot să prezinte semne clinice ale bolii timp de două până la trei luni înainte de a muri. Virusul pestei porcine clasice este constant propagat de la prima apariţie a semnelor clinice până la moarte. Anticorpi pot fi temporar detectaţi în eşantioanele de ser.

2. Modificările patologice sunt mai puţin tipice; în special, hemoragiile în organe şi serozităţi pot fi absente. La animale afectate de o diaree cronică, sunt frecvente leziuni necrotice pe ileon, pe valvulele ileo-cecale şi pe rect.

3. Semnele clinice ale pestei porcine clasice cronice nefiind specifice, multe alte boli trebuie luate în considerare pentru a stabili un diagnostic diferenţial. Nu toate animalele prezintă în mod necesar o creştere a temperaturii corpului, însă într-o exploataţie contaminată febra va fi constatată cel puţin la o parte din porci.

D. **Forma prenatală şi apariţia tardivă a bolii**

1. Virusul pestei porcine clasice traversează placenta scroafelor gravide pentru a infecta fetusul, dar, la scroafă, boala rămâne adesea în stare subclinică.

   Rezultatul infecţiei transplacentare a fetuşilor depinde în mare parte de stadiul de gestaţie şi de virulenţa virusului. O infecţie la începutul gestaţiei poate să provoace avorturi sau o mortinatalitate, mumificări sau malformaţii. Rezultă o scădere a indicelui de fertilitate a exploataţiei.

   Contaminarea scroafelor înainte de a nouăzecea zi de gestaţie poate să aibă ca rezultat naşterea unor purcei în stare viremică persistentă, putând să fie normali la naştere şi să supravieţuiască timp de mai multe luni. După naştere, creşterea lor poate fi insuficientă, iar starea lor, caşectică; ei pot fi afectaţi de tremurături congenitale ocazionale. Această evoluţie a infecţiei este calificată drept apariţie tardivă a pestei porcine clasice. Aceşti purcei pot să aibă un rol capital în răspândirea bolii şi în menţinerea persistenţei virusului într-o populaţie, căci nu încetează să răspândească virusul înainte de a muri.

2. Pesta porcină clasică poate să se dovedească foarte dificil de depistat în fermele de porci, evoluţia infecţiei putând fi foarte atenuată, şi să se confunde cu multe alte stări patologice. Scăderea fertilităţii şi avorturile pot fi provocate de virusul pestei porcine clasice, precum şi de o infecţie cu parvovirus, de SDRP, leptospiroză sau boala Aujeszky. Din punct de vedere patologic, produsele avortului datorat pestei porcine clasice nu pot fi deosebite de produsele avortului datorat acţiunii altor agenţi patogeni.

   În caz de suspiciune a unei boli infecţioase a sistemului de reproducere, trebuie să se procedeze imediat la o depistare a pestei porcine clasice în toate cazurile în care exploataţia respectivă este considerată cu risc (de exemplu, datorită localizării exploataţiei într-o zonă în care pesta porcină clasică se declară la porcii sălbatici) şi, în orice caz, imediat după ce au fost excluse bolile infecţioase mai curente ale sistemului de reproducere.

CAPITOLUL III

Orientări referitoare la principalele criterii care trebuie avute în vedere pentru a considera o exploataţie ca fiind suspectă de pestă porcină clasică

O exploataţie va fi considerată ca fiind suspectă pe baza următoarelor constatări, criterii şi motive:

(a) indici clinici şi patologici la porci. Principalii indici clinici şi patologici care trebuie luaţi în considerare sunt următorii:

   — febră însoţită de o morbiditate şi de o mortalitate crescute;

▼B

— febră însoțită de sindromul hemoragic;

— febră însoțită de simptome neurologice;

— febră de origine necunoscută, fără ameliorarea stării de sănătate în urma unui tratament cu antibiotice;

— avorturi și probleme de fertilitate crescute în ultimele trei luni;

— tremur congenital la purcei;

— animale afectate de boli cronice;

— întârzierea creșterii la animalele tinere (sub normal);

— peteșii sau hemoragie echimotică, mai ales în ganglionii limfatici, rinichi, splină, vezică și laringe;

— infarct sau hematoame, mai ales în splină;

— ulcerații ale colonului în cazurile cronice, mai ales în apropierea joncțiunii ileo-cecale;

(b) indici epidemiologici. Principalii indici epidemiologici care trebuie luați în considerare sunt următorii:

— porci care au intrat în contact direct sau indirect cu o fermă de porci în care a fost demonstrată contaminarea cu pesta porcină clasică;

— exploatație care a livrat purcei despre care s-a dovedit ulterior că sunt contaminați cu pesta porcină clasică;

— scroafe care au făcut obiectul unei inseminări artificiale cu material seminal provenit dintr-o sursă suspectă;

— porci care au avut contacte directe sau indirecte cu porci sălbatici dintr-o populație în care se declară pesta porcină clasică;

— porci ținuți în aer liber într-o zonă în care porcii sălbatici sunt contaminați cu pesta porcină clasică;

— porci care au fost hrăniți cu apă de la spălarea vaselor despre care se poate presupune că nu a fost tratată astfel încât să fi inactivat virusul pestei porcine clasice;

— porci care au fost expuși riscului, datorită, de exemplu, intrării anumitor persoane în exploatație, transportului etc.;

(c) indici în raport cu rezultatele testelor serologice. Principalii indici de laborator sunt următorii:

— reacție serologică imputabilă unei infecții neobservate cu virusul pestei porcine clasice sau imputabilă vaccinării ([1]);

— reacție încrucișată între anticorpii pestei porcine clasice și alți *Pestivirus* ([2]);

— detectarea reactorilor izolați ([3]).

CAPITOLUL IV

Proceduri de control și prelevare de probe

A. **Orientări și proceduri referitoare la examenul clinic și la prelevarea de probe în cazul porcilor dintr-o exploatație suspectă**

1. Statele membre asigură efectuarea unui examen clinic, a unei prelevări de probe și a unor investigații de laborator corespunzătoare în exploatațiile suspecte pentru a confirma sau a exclude prezența pestei porcine clasice,

([1]) În cazul în care porcii au fost vaccinați împotriva pestei porcine clasice cu un vaccin tradițional, ei pot fi seropozitivi în urma vaccinării sau datorită unei infecții latente la animalele vaccinate.

([2]) În anumite împrejurări, o proporție maximă de 10 % din porcii unei turme poate prezenta anticorpi de Pestivirus ai rumegătoarelor care provoacă diareea virală a bovinelor sau pesta virală ovină. Aceasta se poate întâmpla în cazul în care porcii intră în contact direct cu bovine sau ovine infectate cu virușii care provoacă aceste două boli sau în care porcii intră în contact cu materiale contaminate cu Pestivirus ai rumegătoarelor.

([3]) În toate testele serologice actuale de depistare a pestei porcine clasice, o mică proporție de seruri duce la rezultate fals pozitive, datorate fie lipsei de specificitate a metodei, fie serului provenit de la reactori izolați.

▼B

în conformitate cu orientările și cu procedurile definite la punctele 2-7 menționate în continuare.

Independent de adoptarea măsurilor prevăzute la articolul 4 alineatul (2) din Directiva 2001/89/CE în exploatația respectivă, aceste orientări și proceduri se aplică, de asemenea, tuturor patologiilor pentru care diagnosticul diferențial ia în considerare eventualitatea pestei porcine clasice. Aceasta va privi, de asemenea, și cazurile în care semnele clinice și tabloul epidemiologic al bolii observate la porci sugerează o probabilitate foarte mică de apariție a pestei porcine clasice.

În toate celelalte cazuri suspecte de contaminare cu virusul pestei porcine clasice la unul sau mai mulți porci, măsurile menționate la articolul 4 alineatul (2) din Directiva 2001/89/CE vor fi adoptate în exploatația suspectă respectivă.

În caz că există suspiciunea de pestă porcină clasică la porci în abator sau în mijloacele de transport, orientările și procedurile definite la punctele 2-7 menționate în continuare se aplică *mutatis mutandis*.

2. În cazul în care un medic veterinar oficial vizitează o exploatație suspectă în vederea confirmării sau excluderii prezenței pestei porcine clasice, este necesar:

   — să se verifice registrele de producție și ale stării de sănătate a crescătoriei, în măsura în care sunt disponibile;

   — să se efectueze o inspecție în fiecare subunitate a exploatației pentru a selecta porcii care trebuie supuși unui examen clinic.

   Examenul clinic include măsurarea temperaturii corporale și se referă în primul rând la porcii sau grupele de porci următoare:

   — porci bolnavi sau anorexici;

   — porci care s-au restabilit recent după o boală;

   — porci recent introduși și provenind din focare confirmate sau din alte surse suspecte;

   — porci din subunități recent vizitate de vizitatori externi care au intrat recent în contact strâns cu porci suspecți sau infectați cu pesta porcină clasică sau care au avut contacte foarte riscante cu o sursă potențială de virus al pestei porcine clasice;

   — porci deja supuși prelevării de probe și testelor serologice de depistare a pestei porcine clasice, în cazul în care rezultatele testelor nu permit să se excludă prezența pestei porcine clasice, precum și porci de contact.

   În cazul în care inspectarea exploatației suspecte nu a indicat prezența porcilor sau grupelor de porci enumerate anterior, autoritatea competentă, fără a aduce atingere celorlalte măsuri care pot fi aplicate exploatației respective în conformitate cu Directiva 2001/89/CE și ținând seama de situația epidemiologică, procedează în așa fel încât:

   — să fie efectuate alte investigații în exploatația respectivă, în conformitate cu punctul 3 sau

   — să fie prelevate probe de sânge de la porcii din exploatație pentru teste de laborator. În acest caz, procedurile de prelevare de probe definite la punctul 5 și la punctul 2 din partea F se aplică orientativ, sau

   — să fie adoptate sau menținute măsurile definite la articolul 4 alineatul (2) din Directiva 2001/89/CE, în așteptarea investigațiilor suplimentare care trebuie efectuate în exploatația respectivă, sau

   — să fie exclusă suspiciunea de pestă porcină clasică.

3. În cazul în care se face o trimitere la prezentul punct, examenul clinic care trebuie efectuat în exploatația respectivă trebuie să aibă ca obiect porci aleși la întâmplare în subunitățile în care riscul de introducere a virusului pestei porcine clasice a fost constatat sau în subunitățile în care este suspectată prezența virusului.

   Numărul minim de porci care urmează să fie examinați trebuie să permită detectarea, în subunități, a unei prevalențe de 10 % cu un nivel de fiabilitate de 95 %, în cazul prezenței bolii.

▼B

Cu toate acestea, în cazul:

— scroafelor de reproducție, numărul minim de scroafe care urmează să fie examinate trebuie să permită detectarea unei prevalențe de 5 % de cazuri de febră, după caz, cu un nivel de fiabilitate de 95 %;

— centrelor de recoltare de material seminal, toți vierii trebuie să fie examinați.

4. În cazul în care, într-o exploatație suspectă, se constată prezența unor porci morți sau muribunzi, trebuie să se efectueze examene *post mortem*, de preferință pe cel puțin cinci din acești porci și, în special, pe porcii care:

— înainte de a muri, au manifestat sau manifestă semne evidente de boală;

— au febră mare;

— au murit recent.

În cazul în care aceste examene nu au pus în evidență leziuni care să sugereze prezența pestei porcine clasice, dar, datorită situației epidemiologice, se consideră că sunt necesare investigații suplimentare, este necesar să se procedeze:

— în subunitatea în care se găseau porcii morți sau muribunzi, la un examen clinic în conformitate cu prevederile de la punctul 3 și prelevarea de probe de sânge în conformitate cu prevederile de la punctul 5;

— la examene *post mortem* eventuale pe trei sau patru porci de contact.

Independent de prezența sau absența leziunilor care sugerează apariția pestei porcine clasice, eșantioanele de organe sau de țesuturi de porci care au făcut obiectul examenului *post mortem* trebuie să fie prelevate pentru a fi supuse testelor virologice în conformitate cu capitolul V partea B punctul 1. Aceste eșantioane trebuie prelevate de preferință de la porci morți recent.

La examinarea *post mortem*, autoritatea competentă trebuie să procedeze astfel încât:

— să fie luate precauțiile și măsurile de igienă necesare pentru a evita orice răspândire a bolii;

— porcii muribunzi să fie sacrificați în mod uman, în conformitate cu dispozițiile Directivei 93/119/CEE a Consiliului.

5. În cazul în care alte semne clinice sau leziuni care sugerează prezența pestei porcine clasice sunt constatate într-o exploatație suspectă, dar autoritatea competentă consideră că aceste indicii nu sunt suficiente pentru a confirma existența unui focar de pestă porcină clasică și că sunt necesare teste de laborator, trebuie prelevate probe de sânge destinate acestor teste de la porci suspecți și de la alți porci în fiecare din subunitățile în care se găsesc porcii suspecți, în conformitate cu procedurile definite în continuare.

Numărul minim de eșantioane care trebuie prelevat pentru testele serologice trebuie să permită detectarea, în subunitățile respective, a unei prevalențe de 10 % cu un nivel de fiabilitate de 95 %.

Cu toate acestea, în cazul:

— scroafelor de reproducție, numărul minim de scroafe care trebuie supuse prelevării de probe trebuie să permită detectarea unei seroprevalențe de 5 % cu un nivel de fiabilitate de 95 % ([1]);

— centrelor de recoltare de material seminal, toți vierii trebuie să fie supuși unei prelevări de sânge.

Numărul de eșantioane care trebuie prelevat pentru testele virologice va fi în conformitate cu instrucțiunile primite de la autoritatea competentă, care vor ține seama de gama de teste ce pot fi efectuate, de sensibilitatea testelor de laborator utilizate și de situația epidemiologică.

([1]) În anumite cazuri, de exemplu atunci când se suspectează prezența pestei porcine clasice într-o exploatație cu un număr limitat de porci tineri, proporția scroafelor infectate poate fi foarte scăzută. În acest caz, va trebui să se preleveze probe de la un număr mai mare de scroafe.

▼B

6. În cazul în care suspiciunea de pestă porcină clasică în exploatația respectivă este în raport cu rezultatele testelor serologice precedente, pe lângă prelevarea de probe de sânge de la porcii menționați la punctul 2 al doilea paragraf a cincea liniuță, se aplică următoarele proceduri:

   (a) în cazul în care porcii seropozitivi sunt scroafe gravide, unele și, de preferință, cel puțin trei vor fi eutanasiate și supuse unui examen *post mortem*. Înainte de sacrificare, o probă de sânge va fi prelevată pentru efectuarea unor teste serologice suplimentare. Fetușii vor fi supuși unui examen de depistare a virusului pestei porcine clasice, a antigenului sau genomului virusului, în conformitate cu capitolul VI, cu scopul de a depista o infecție intrauterină;

   (b) în cazul în care porcii seropozitivi sunt scroafe care alăptează, vor fi prelevate probe de sânge de la toți purceii, care vor fi supuse unui examen de depistare a virusului pestei porcine clasice, a antigenului sau genomului virusului, în conformitate cu capitolul VI. Vor fi de asemenea prelevate probe de la scroafe în vederea unor teste serologice suplimentare.

7. În cazul în care, după examenele efectuate într-o exploatație suspectă, nu s-au pus în evidență semne clinice sau leziuni care să sugereze prezența pestei porcine clasice, dar testele de laborator suplimentare sunt considerate necesare de către autoritatea competentă pentru a exclude orice probabilitate a pestei porcine clasice, procedurile de prelevare de probe definite la punctul 5 vor fi aplicate cu titlu orientativ.

B. **Proceduri de prelevare de probe în exploatație în caz de sacrificare a porcilor în urma confirmării bolii**

1. Pentru a putea stabili împrejurările introducerii virusului pestei porcine clasice într-o exploatație infectată și intervalul de timp scurs de la introducerea sa, la sacrificarea porcilor într-o exploatație după confirmarea focarului în conformitate cu articolul 5 alineatul (1) litera (a) din Directiva 2001/89/CE, probe de sânge destinate testelor serologice vor fi prelevate la întâmplare de la porci în momentul sacrificării.

2. Numărul minim de porci care trebuie supus prelevării de probe trebuie să permită detectarea unei seroprevalențe de 10 % la un nivel de fiabilitate de 95 % pentru porcii din fiecare subunitate a exploatației ([1]).

   De asemenea, vor putea fi prelevate probe pentru teste virologice în conformitate cu instrucțiunile primite de la autoritatea competentă, care vor ține seama de gama de teste ce pot fi efectuate, de sensibilitatea testelor de laborator utilizate și de situația epidemiologică.

3. Cu toate acestea, în cazul apariției unor focare secundare, autoritatea competentă poate decide să facă o derogare de la punctele 1 și 2 și să stabilească proceduri de eșantionare *ad hoc*, ținând seama de informațiile epidemiologice deja disponibile cu privire la sursa și căile de introducere a virusului în exploatație și răspândirea potențială a bolii pornind de la exploatația respectivă.

C. **Proceduri de prelevare de probe la sacrificarea porcilor ca măsură preventivă într-o exploatație suspectă**

1. Pentru a confirma sau exclude posibilitatea prezenței pestei porcine clasice și pentru a obține informații epidemiologice suplimentare, la sacrificarea porcilor dintr-o exploatație suspectă, ca măsură preventivă în conformitate cu dispozițiile articolului 4 alineatul (3) litera (a) sau ale articolului 7 alineatul (2) din Directiva 2001/89/CE, trebuie să fie prelevate probe de sânge destinate testelor serologice, precum și probe de sânge sau de amigdală destinate testelor virologice, în conformitate cu procedura definită la punctul 2.

2. Prelevarea de probe va privi cu prioritate:

   — porcii care prezintă semne sau leziuni *post mortem* care sugerează prezența pestei porcine clasice, precum și porcii de contact;

([1]) Cu toate acestea, în cazul în care se recurge la derogarea menționată la articolul 6 alineatul (1) din Directiva 2001/89/CE, prelevarea de probe trebuie să se refere la subunitățile din exploatație ai căror porci au fost sacrificați, fără a aduce atingere celorlalte examene și prelevări de probe care urmează a fi efectuate pe ceilalți porci din exploatație, în conformitate cu instrucțiunile primite de la autoritatea competentă.

▼B

— alți porci care ar fi putut avea contacte riscante cu porci infectați sau suspecți sau cu porci suspecți de a fi fost contaminați cu virusul pestei porcine clasice.

Prelevarea de probe în cazul porcilor trebuie să fie efectuată în conformitate cu instrucțiunile autorității competente, care vor ține seama de situația epidemiologică. În acest caz, procedurile de prelevare de probe definite în paragrafele al doilea, al treilea și al patrulea următoare vor fi aplicate cu titlu orientativ.

De asemenea, porcii proveniți din fiecare din subunitățile exploatației trebuie să facă obiectul unei prelevări aleatorii ([1]) de probe. În acest caz, numărul minim de probe care urmează să fie prelevate pentru testele serologice trebuie să permită detectarea unei seroprevalențe de 10 % cu un nivel de fiabilitate de 95 % în subunitatea respectivă.

Cu toate acestea, în cazul:

— scroafelor de reproducție, numărul minim de scroafe care trebuie supus prelevării de probe trebuie să permită detectarea unei seroprevalențe de 5 % cu un nivel de fiabilitate de 95 % ([2]);

— centrelor de recoltare de material seminal, trebuie prelevate probe de sânge de la toți vierii.

Tipul de probe care trebuie prelevate pentru testele virologice și testul care urmează a fi utilizat vor fi în conformitate cu instrucțiunile autorității competente, care vor ține seama de gama de teste ce pot fi efectuate, de sensibilitatea acestor teste și de situația epidemiologică.

D. **Proceduri de control și de prelevare de probe care trebuie aplicate înainte de eliberarea autorizației de deplasare a porcilor din exploatațiile situate în zonele de protecție sau de supraveghere și în cazul tăierii sau sacrificării acestor porci**

1. Fără a aduce atingere dispozițiilor articolului 11 alineatul (1) litera (f) al doilea paragraf din Directiva 2001/89/CE, pentru a permite eliberarea autorizației de a deplasa porci dintr-o exploatație situată într-o zonă de protecție sau de supraveghere în conformitate cu articolul 10 alineatul (3) din directiva respectivă, examenul clinic efectuat de un medic veterinar oficial trebuie:

   — să fie realizat în cele 24 de ore următoare deplasării porcilor;

   — să fie în conformitate cu dispozițiile definite la punctul 2 din partea A.

2. În cazul în care porcii sunt transportați către o altă exploatație, în afară de investigațiile care trebuie făcute în conformitate cu dispozițiile de la punctul 1, este necesar să se efectueze un examen clinic al porcilor din fiecare subunitate a exploatației în care se găsesc porcii ce vor fi transportați. în cazul în care porcii au o vârstă mai mare de trei sau patru luni, acest examen trebuie să cuprindă măsurarea temperaturii unui anumit număr de porci.

   Numărul minim de porci care urmează să fie controlați trebuie să permită detectarea unei prevalențe de 10 % cu un nivel de fiabilitate de 95 % în subunitățile respective.

   Cu toate acestea, în cazul:

   — scroafelor de reproducție, numărul minim de scroafe care urmează să fie examinate trebuie să permită detectarea unei prevalențe de 5 % de cazuri de febră, după caz, cu un nivel de fiabilitate de 95 % în subunitatea în care se găsesc scroafele care urmează să fie transportate;

([1]) Cu toate acestea, în cazul în care autoritatea competentă nu a limitat operațiunea de sacrificare preventivă decât la partea din exploatație unde se găseau porcii suspecți de a fi fost infectați sau contaminați cu virusul pestei porcine clasice, în conformitate cu articolul 4 alineatul (3) litera (a) din Directiva 2001/89/CE, prelevarea de probe trebuie să se refere la subunitățile exploatației în care măsura a fost aplicată, fără a aduce atingere examenelor și prelevărilor de probe suplimentare care privesc restul de porci din exploatație, care vor fi efectuate în conformitate cu instrucțiunile primite de la autoritatea competentă.

([2]) În anumite cazuri, de exemplu atunci când prezența pestei porcine clasice este suspectată într-o exploatație care are un număr limitat de purcei, proporția de scroafe infectate poate fi foarte scăzută. În acest caz, va trebui să se preleveze probe de la un număr mai mare de scroafe.

▼B

— vierilor, toți vierii care urmează să fie transportați trebuie să fie examinați.

3. În cazul în care porcii sunt transportați către un abator, o unitate de prelucrare sau în alte locuri pentru a fi sacrificați sau tăiați, în afară de investigațiile care trebuie efectuate în conformitate cu punctul 1, este necesar să se procedeze la un examen clinic al porcilor din fiecare subunitate unde se găsesc porcii care urmează să fie transportați. În cazul în care porcii au o vârstă mai mare de trei sau patru luni, acest examen trebuie să cuprindă măsurarea temperaturii unui anumit număr de porci.

   Numărul minim de porci care urmează să fie controlați trebuie să permită detectarea unei prevalențe de 20 % de cazuri de febră, după caz, cu un nivel de fiabilitate de 95 % în subunitatea respectivă.

   Cu toate acestea, în cazul scroafelor de reproducție sau al vierilor, numărul minim de porci care urmează să fie examinați trebuie să permită detectarea unei prevalențe de 5 % de cazuri de febră, după caz, cu un nivel de fiabilitate de 95 % în subunitatea unde se găsesc porcii care urmează să fie transportați.

4. La tăierea sau sacrificarea porcilor menționați la punctul 3, trebuie prelevate, de la porcii proveniți din fiecare din subunitățile din care au fost transportați porcii, probe de sânge pentru testele serologice sau probe de sânge sau de amigdală pentru teste virologice.

   Numărul minim de probe care urmează să fie prelevate trebuie să permită detectarea unei seroprevalențe sau a unei prevalențe a virusului de 10 % cu un nivel de fiabilitate de 95 % în fiecare subunitate.

   Cu toate acestea, în cazul scroafelor de reproducție sau al vierilor, numărul minim de porci care urmează să fie supuși prelevării de probe trebuie să permită detectarea unei seroprevalențe sau a unei prevalențe a virusului de 5 % cu un nivel de fiabilitate de 95 % în unitatea unde se găseau acești porci.

   Tipul de probe care urmează să fie prelevate și testele care urmează să fie utilizate vor fi în conformitate cu instrucțiunile primite de la autoritatea competentă, care vor ține seama de gama de teste ce pot fi efectuate, de sensibilitatea la aceste teste și de situația epidemiologică.

5. Cu toate acestea, în cazul în care sunt detectate semne clinice sau leziuni *post mortem* care sugerează prezența pestei porcine clasice în momentul tăierii sau sacrificării porcilor, prin derogare de la punctul 4 menționat anterior, se aplică dispozițiile referitoare la prelevare de probe definite în partea C.

E. **Proceduri de control și de prelevare de probe într-o exploatație în cadrul repopulării**

1. În cazul reintroducerii porcilor într-o exploatație în conformitate cu articolul 13 alineatul (2) litera (a) sau alineatul (2) litera (b) sau cu articolul 19 alineatul (8) al doilea paragraf litera (b) din Directiva 2001/89/CE, trebuie aplicată următoarea procedură de prelevare de probe:

   — în cazul reintroducerii de porci santinele, probe de sânge destinate testelor serologice trebuie să fie prelevate la întâmplare de la un număr de porci care să permită detectarea unei seroprevalențe de 10 % cu un nivel de fiabilitate de 95 % în fiecare subunitate a exploatației;

   — în cazul repopulării totale, probe de sânge destinate testelor serologice trebuie să fie prelevate la întâmplare de la un număr de porci care să permită detectarea unei seroprevalențe de 20 % cu un nivel de fiabilitate de 95 % în fiecare subunitate a exploatației.

   Cu toate acestea, în cazul scroafelor de reproducție sau al vierilor, numărul de probe care urmează să fie prelevate trebuie să permită detectarea unei seroprevalențe de 10 % cu un nivel de fiabilitate de 95 %.

2. După reintroducerea porcilor, autoritatea competentă procedează astfel încât, în cazul apariției unei boli sau al decesului la porcii din exploatație fără cauză cunoscută, porcii respectivi să facă imediat obiectul unei depistări a pestei porcine clasice. Aceste dispoziții se aplică atâta timp cât restricțiile menționate la articolul 13 alineatul (2) litera (a) al doilea paragraf și la articolul 19 alineatul (8) al doilea paragraf litera

▼B

(b) teza a doua din Directiva 2001/89/CE nu sunt ridicate în exploatația respectivă.

F. **Proceduri de prelevare de probe în zona de protecție înainte de ridicarea restricțiilor**

1. Pentru a permite ridicarea măsurilor menționate la articolul 10 din Directiva 2001/89/CE într-o zonă de protecție, trebuie să se procedeze în toate exploatațiile din zonă:

   — la un examen clinic în conformitate cu procedurile definite la partea A punctele 2 și 3;

   — la prelevarea de probe de sânge destinate testelor serologice, în conformitate cu punctul 2 menționat în continuare.

2. Numărul minim de probe de sânge care urmează să fie prelevate trebuie să permită detectarea unei seroprevalențe de 10 % cu un nivel de fiabilitate de 95 % la porcii din fiecare subunitate a exploatației.

   Cu toate acestea, în cazul:

   — scroafelor de reproducție, numărul de probe care urmează să fie prelevate trebuie să permită detectarea unei seroprevalențe de 5 % cu un nivel de fiabilitate de 95 %;

   — centrelor de recoltare de material seminal, trebuie prelevate probe de sânge de la toți vierii.

G. **Proceduri de prelevare de probe în exploatațiile din zona de supraveghere înainte de ridicarea restricțiilor**

1. Pentru a permite ridicarea restricțiilor menționate la articolul 11 din Directiva 2001/89/CE într-o zonă de supraveghere, trebuie să se procedeze în toate exploatațiile din zonă la un examen clinic în conformitate cu procedurile definite în partea A punctul 2.

   De asemenea, probe de sânge destinate testelor serologice trebuie să fie prelevate de la porci:

   — în toate exploatațiile care nu au porci cu vârsta cuprinsă între două și opt luni;

   — în toate cazurile în care autoritatea competentă consideră că pesta porcină ar fi putut contamina scroafele de reproducție fără a fi depistată;

   — în orice altă exploatație în care prelevarea de probe este considerată necesară de către autoritatea competentă;

   — în toate centrele de recoltare de material seminal.

2. În toate cazurile în care prelevările de probe de sânge destinate testelor serologice sunt efectuate în exploatații situate în zona de supraveghere, numărul de probe care urmează să fie prelevat trebuie să fie în conformitate cu dispozițiile prevăzute în partea F punctul 2. Cu toate acestea, în cazul în care autoritatea competentă consideră că pesta porcină clasică ar fi putut contamina scroafe de reproducție fără a fi depistată, prelevarea de probe ar putea să fie efectuată numai în subunitățile în care se găsesc aceste animale.

H. **Proceduri de supraveghere serologică și de prelevare de probe în zonele în care prezența pestei porcine clasice este suspectată sau a fost confirmată la porcii sălbatici**

1. În cazul unei supravegheri serologice a porcilor sălbatici dintr-o zonă în care prezența pestei porcine a fost confirmată sau este suspectată, mărimea și aria geografică a populației- țintă care urmează să fie supusă prelevării de probe trebuie să fie definite dinainte pentru a stabili numărul de probe care trebuie prelevate. Mărimea eșantionului trebuie să fie fixată în funcție de numărul estimat de animale vii și nu în funcție de numărul animalelor ucise de vânători.

2. În cazul în care datele privind densitatea și mărimea populației nu sunt disponibile, aria geografică ce urmează să facă obiectul prelevării de probe trebuie să fie delimitată ținând seama de prezența constantă a porcilor sălbatici și de existența unor bariere naturale și artificiale care împiedică în mod eficient mișcările masive și continue de animale. Dacă nu acesta este cazul sau dacă ariile sunt întinse, se recomandă delimitarea

▼B

unor arii de prelevare de probe de cel mult 200 km^2, care pot să cuprindă în general o populație de aproximativ 400-1 000 porci sălbatici.

3. Fără a aduce atingere dispozițiilor articolului 15 alineatul (2) litera (c) din Directiva 2001/89/CE, numărul minim de porci care urmează să fie supus prelevării de probe în interiorul ariei de prelevare de probe delimitate trebuie să permită detectarea unei seroprevalențe de 5 % cu un nivel de fiabilitate de 95 %. În acest scop, este necesar să fie supuse prelevării de probe cel puțin 59 de animale în fiecare din ariile delimitate.

   Se recomandă de asemenea ca:

   — în zonele în care vânătoarea este intensă și practicată cu regularitate sau în care vânătoarea selectivă are ca obiect combaterea bolilor, aproximativ 50 % din animalele supuse prelevării de probe să aparțină categoriei de vârstă cuprinse între trei luni și un an, 35 % categoriei de vârstă cuprinse între unu și doi ani și 15 % categoriei de vârstă de peste doi ani;

   — în zonele cu o intensitate a vânătorii scăzută sau nulă, cel puțin 32 de animale din fiecare dintre cele trei categorii de vârstă să fie supuse prelevării de probe;

   — prelevarea de probe să se efectueze într-un interval scurt de timp, de preferință mai mic de o lună;

   — vârsta animalelor să fie stabilită în funcție de erupția dentară.

4. Prelevarea de probe destinate testelor virologice pe porcii sălbatici vânați sau găsiți morți trebuie să fie efectuată în conformitate cu dispozițiile prevăzute la capitolul V partea B punctul 1.

   În cazul în care o supraveghere virologică a porcilor sălbatici vânați este considerată necesară, ea trebuie să fie efectuată cu prioritate pe animalele cu vârsta cuprinsă între trei luni și un an.

5. Toate probele care urmează să fie trimise la laborator trebuie să fie însoțite de chestionarul menționat la articolul 16 alineatul (3) punctul 1 din Directiva 2001/89/CE.

CAPITOLUL V

Proceduri și criterii generale privind prelevarea și transportul probelor

A. **Proceduri și criterii generale**

1. Înainte de începerea prelevării de probe într-o exploatație suspectă, este necesar să se stabilească o hartă a exploatației și să se delimiteze subunitățile epidemiologice.

2. În toate cazurile în care o a doua prelevare de probe ar putea fi considerată necesară, toți porcii supuși prelevării de probe trebuie să fie marcați cu un semn special, astfel încât să poată face ușor obiectul unei noi prelevări.

3. Fără a aduce atingere dispozițiilor capitolului IV partea A punctul 5b, probele destinate testelor serologice nu trebuie prelevate de la purcei cu vârsta mai mică de opt săptămâni.

4. Toate probele trebuie să fie trimise la laborator însoțite de formulare corespunzătoare, în conformitate cu cerințele stabilite de autoritatea competentă. Formularele vor menționa detalii privind antecedentele porcilor supuși prelevării de probe, precum și semnele clinice sau leziunile *post mortem* observate.

   În cazul porcilor dintr-o exploatație, trebuie furnizate informații clare referitoare la vârsta, categoria și exploatația de origine a porcilor supuși prelevării de probe. Se recomandă ca localizarea fiecăruia dintre porcii supuși prelevării de probe în exploatație să fie înregistrată în același timp cu marca sa specifică de identificare.

B. **Prelevarea de probe destinate testelor virologice**

1. Țesuturile provenind din amigdalele, splina și rinichii porcilor morți sau eutanasiați constituie probele cele mai potrivite pentru a depista virusul, antigenul sau genomul pestei porcine clasice. De asemenea, este recomandat să se preleveze două probe din alte țesuturi limfatice, cum sunt ganglionii retrofaringieni, parotidieni, mandibulari sau mezenterici, precum și o probă de ileon. În cazul în care carcasele sunt autolizate, proba cea mai potrivită este un os lung întreg sau sternul.

▼B

2 Probe de sânge anticoagulat sau coagulat trebuie să fie prelevate de la porcii care prezintă semne de febră sau alte semne de boală, în conformitate cu instrucțiunile primite de la autoritatea competentă.

3. Se recomandă să se efectueze teste virologice pe animalele bolnave. Aceste teste au în general o valoare limitată în cazul în care sunt aplicate în scopuri de supraveghere pe animale care nu prezintă semne clinice. Cu toate acestea, în cazul în care o probă pe scară largă are ca obiect depistarea virusului pestei porcine clasice la porci în perioada de incubație, probele cele mai potrivite sunt amigdalele.

C. **Transportul probelor**

1. Se recomandă ca toate probele:

— să fie transportate și antrepozitate în recipiente etanșe;

— să nu fie congelate, ci conservate la rece la temperatura frigiderului;

— să fie livrate laboratorului cât mai repede posibil;

— să fie puse într-un ambalaj în care răcirea este asigurată de saci de răcire, mai degrabă decât de gheață;

— de țesuturi sau de organe să fie puse într-un sac de plastic ermetic închis și etichetat corespunzător. Ele vor fi apoi conservate în recipiente mari exterioare, rezistente și acoperite cu o cantitate de material absorbant suficientă pentru a le proteja de orice stricăciune și pentru a absorbi scurgerile;

— în măsura posibilului, să fie direct transportate în laborator de personalul competent, astfel încât să se asigure un transport rapid și fiabil.

2. Pe partea exterioară a ambalajului trebuie să se menționeze adresa laboratorului de destinație și să se afișeze foarte vizibil următoarele indicații: „Material patologic de origine animală. Perisabil. Fragil. A nu se deschide decât într-un laborator competent pentru pesta porcină clasică”.

3. Laboratorul de destinație trebuie să fie informat dinainte de momentul și împrejurările sosirii probelor.

4. Pentru transportul cu avionul al probelor trimise laboratorului comunitar de referință pentru pesta porcină clasică ([1]) de către alte state membre decât Germania sau de către țări terțe, ambalajul trebuie să fie etichetat în conformitate cu regulamentele Asociației de Transport Aerian Internațional (ATA).

CAPITOLUL VI

Principii și utilizarea testelor virologice și evaluarea rezultatelor acestora

A. **Detectarea antigenului virusului**

1. *Test de imunofluorescență (IF)*

Principiul testului este detectarea antigenului viral pe lamele fine criogenice de material organic provenind de la porci suspecți de a fi infectați cu virusul pestei porcine clasice. Antigenul intracelular este detectat cu ajutorul unui anticorp conjugat cu FITC. Orice rezultat pozitiv ar trebui să fie confirmat prin repetarea colorării cu ajutorul unui anticorp monoclonal specific.

Organele potrivite sunt amigdalele, rinichii, splina, mai mulți ganglioni limfatici și ileonul. În cazul porcilor sălbatici, se poate, de asemenea, utiliza un frotiu de măduvă osoasă, atunci când organele menționate anterior nu sunt disponibile sau sunt autolizate.

Testul poate fi efectuat într-o zi. Deoarece probele de organe nu pot fi prelevate decât de la animale moarte, utilizarea lor pentru depistare este limitată. Fiabilitatea rezultatelor poate fi atinsă de colorări îndoielnice, mai ales în cazul în care experiența dobândită în materie de efectuare a testului nu este mare sau în care organele examinate sunt alterate.

([1]) Laboratorul comunitar de referință dispune de o autorizație nelimitată de a primi probe de diagnostic și izolate de virusul pestei porcine clasice. O copie a autorizației de import poate fi solicitată acestui laborator înainte de transport și pusă într-un plic atașat la exteriorul ambalajului.

▼B

2. *Test ELISA pentru detectarea antigenului*

Mai multe tehnici ELISA permit detectarea antigenului viral. Sensibilitate antigenului ELISA ar trebui să fie suficientă pentru a obține un rezultat pozitiv la animale care prezintă semne clinice de pestă porcină clasică.

Se recomandă utilizarea tehnicilor ELISA pentru detectarea antigenului pe probele provenind de la animale care prezintă semne clinice sau leziuni patologice ale bolii. Ele nu sunt potrivite pentru a se putea proceda la investigații efectuate pe indivizi. Probele potrivite sunt leucocitele, serul, sângele necoagulat, precum și suspensiile organelor menționate la punctul 1, prelevate de la porci suspecți de a fi infectați cu virusul pestei porcine clasice ([1]).

Testul ELISA poate fi efectuat în decurs de o zi cu ajutorul unui echipament automatic. Principalul său avantaj constă în faptul că un mare număr de probe poate fi prelucrat într-o scurtă perioadă de timp. Se recomandă utilizarea tehnicilor ELISA care dau rezultate satisfăcătoare pe materialul de referință. Cu toate acestea, în prezent toate tehnicile ELISA din comerț sunt mai puțin sensibile decât izolarea virusului pe o cultură de celule și sensibilitatea lor este semnificativ mai bună pe probe de sânge provenind de la purcei, decât pe cele de la porcii adulți.

B. **Izolarea virusului**

1. Izolarea virusului se bazează pe incubația materialului din probă pe culturi celulare sensibile de origine porcină. În cazul în care virusul pestei porcine clasice este prezent în probă, el se va reproduce în celule în cantități detectabile prin imunocolorarea celulelor infectate cu anticorpi conjugați. Este necesar să se dispună de anticorpi specifici ai pestei porcine clasice pentru a stabili un diagnostic diferențial în raport cu alți *Pestivirus*.

2. Cele mai bune probe pentru tehnica de izolare a virusului pestei porcine clasice sunt leucocitele, plasma sau sângele total prelevate pe probe de sânge necoagulat sau organele menționate în partea A punctul 1.

3. Izolarea virusului este o tehnică mai adaptată la analiza probelor provenind de la un mic număr de animale, decât la aplicarea unei supravegheri de masă. Această tehnică reclamă o muncă foarte intensă și este nevoie să treacă cel puțin trei zile înainte ca rezultatele să fie cunoscute. Două alte culturi celulare se pot dovedi necesare pentru a detecta o cantitate mică de virus în eșantion. De aici poate să rezulte o perioadă de investigație care să dureze până la zece zile înainte de obținerea rezultatului final. Eșantioanele autolizate pot fi citotoxice pentru cultură și pot limita astfel utilizarea ei.

4. Se recomandă să se procedeze, de asemenea, la izolarea virusului în cazul unei confirmări precedente a prezenței pestei porcine clasice prin alte metode. Acesta trebuie practicat ca test de referință pentru confirmarea rezultatelor pozitive obținute mai înainte, respectiv prin metodele ELISA prin antigen, reacție în lanț a polimerazei (PCR) sau IF, colorare indirectă cu peroxidază.

Izolatele virusului pestei porcine clasice obținute prin acest mijloc servesc la caracterizarea virusului și, în special, la tipizarea genetică și la epidemiologia moleculară.

5. Toate izolatele virusului pestei porcine clasice provenind de la toate focarele primare, de cazuri primare la porcii sălbatici sau de cazuri constatate la abator sau în mijloacele de transport, trebuie să facă obiectul unei tipizări genetice de către un laborator de referință națională în statele membre, de către orice alt laborator desemnat de către statul membru respectiv sau de către laboratorul comunitar de referință, în conformitate cu partea E.

În toate cazurile, aceste izolate de virus trebuie să fie trimise imediat laboratorului comunitar de referință pentru a fi conservate în colecția de viruși.

C. **Detectarea genomului virusului**

1. PCR servește la detectarea genomului virusului în probele de sânge, de țesuturi sau de organe. Mici fragmente de acid ribonucleic (ARN) viral

([1]) Mai multe teste ELISA referitoare la antigenul pestei porcine clasice sunt disponibile în comerț și sunt validate pentru diferite tipuri de probe.

▼B

sunt transcrise în fragmentele de acid dezoxiribonucleic (ADN), amplificate de PCR până la atingerea unei cantități care poate fi detectată. Deoarece aceste teste nu detectează decât o secvență a genomului virusului, PCR poate da un rezultat pozitiv chiar în absența virusului pestei porcine clasice (de exemplu în țesuturile autolizate sau în probele de la porci convalescenți).

2. PCR poate fi utilizată pe un mic număr de probe selectate cu grijă de la animale suspecte sau pe un material provenind de la fetuși avortați. Aceasta ar putea fi metoda ideală pentru carcasele de porci sălbatici, în cazul în care materialul este autolizat și izolarea virusului nu mai este posibilă din cauza citotoxicității.

3. Materialul care se pretează la diagnosticul cu ajutorul PCR se compune din probe ale organelor menționate pentru izolarea virusului sau sângelui necoagulat.

4. PCR poate fi efectuată într-un interval de 48 de ore. Ea necesită un echipament de laborator corespunzător, localuri separate și un personal calificat. Unul din avantajele sale constă în faptul că particulele virale infectate nu trebuie să fie reproduse în laborator. Metoda este foarte sensibilă, dar se pot produce ușor contaminări, ceea ce duce la rezultate fals pozitive. Este deci indispensabil să se aplice proceduri severe de control al calității. Anumite metode sunt specifice *Pestivirus*și nu pestei porcine clasice și necesită teste de confirmare suplimentare, cum sunt secvențierea produsului PCR.

D. **Evaluarea rezultatelor testelor virologice**

1. Testele virologice sunt indispensabile pentru a confirma prezența pestei porcine clasice.

   Izolarea virusului trebuie considerată ca fiind testul virologic de referință și trebuie să fie utilizată ca test de confirmare, după caz. Utilizarea sa este recomandată îndeosebi în cazul în care rezultate pozitive ale testelor IF, ELISA sau PCR nu sunt asociate cu detectarea semnelor clinice sau cu leziuni ale bolii, precum și în orice alt caz suspect.

   Cu toate acestea, un focar primar de pestă porcină clasică poate fi confirmat în cazul în care semne clinice sau leziuni ale bolii au fost detectate la porcii respectivi și atunci când cel puțin două teste de depistare a antigenului sau a genomului au avut un rezultat pozitiv.

   Un focar secundar de pestă porcină clasică la porcii sălbatici poate fi confirmat în cazul în care, în afara legăturii epidemiologice cu un focar sau un caz confirmat, semne clinice sau leziuni ale bolii au fost detectate la porcii respectivi și în cazul în care un test de depistare a antigenului sau a genomului a avut un rezultat pozitiv.

   Apariția unui caz primar de pestă porcină clasică la porcii sălbatici poate fi confirmată după izolarea virusului sau în cazul în care cel puțin două teste de depistare a antigenului sau a genomului au avut un rezultat pozitiv. Alte cazuri de pestă porcină clasică la porcii sălbatici pentru care o legătură epidemiologică a fost stabilită cu cazuri confirmate anterior pot fi confirmate în cazul în care un test de detectare a antigenului sau a genomului a avut un rezultat pozitiv.

2. Pentru ca un test de detectare a genomului sau a antigenului pestei porcine clasice să aibă un rezultat pozitiv, testul trebuie să fi fost realizat cu ajutorul anticorpilor sau al amorselor specifice virusului pestei porcine clasice. În cazul în care testul efectuat nu este specific virusului pestei porcine clasice, ci numai *Pestivirus*, acesta trebuie repetat utilizând reactivi specifici pestei porcine clasice.

E. **Tipizarea genetică a izolatelor de virus al pestei porcine clasice**

1. Tipizarea genetică a izolatelor de virus al pestei porcine clasice se obține prin determinarea secvenței nucleotidice a unor porțiuni din genomul virusului, și anume a unor părți specifice ale segmentului 5' necodificator și/sau ale genei codificatoare a glicoproteinei E2. Similaritatea acestor secvențe cu cele care au fost deja obținute pornind de la izolate de virus precedente indică dacă prezența bolii este sau nu cauzată de tulpini noi sau deja identificate, ceea ce poate adeveri sau contrazice ipotezele referitoare la modul de transmitere bazate pe ancheta epidemiologică.

   Tipizarea genetică a izolatelor de virus al pestei porcine clasice are o importanță capitală pentru a determina sursa bolii. Cu toate acestea, o

▼B

relație strânsă între viruși provenind din focare diferite nu este o dovadă absolută a existenței unei legături epidemiologice directe.

2. În cazul în care tipizarea virusului nu poate fi efectuată într-un laborator național sau în orice alt laborator autorizat să diagnosticheze pesta porcină clasică în termen scurt, proba originală a izolatului virusului trebuie să fie transmisă laboratorului comunitar de referință pentru ca tipizarea să fie realizată într-un termen cât mai scurt.

   Datele referitoare la tipizarea și secvențierea izolatelor virusului pestei porcine clasice de care dispun laboratoarele autorizate să diagnosticheze pesta porcină clasică trebuie să fie transmise laboratorului comunitar de referință în scopul introducerii acestor informații în baza de date a laboratorului.

   Informațiile conținute în această bază de date trebuie să fie puse la dispoziția tuturor laboratoarelor de referință naționale din statele membre. Cu toate acestea, în cazul publicării în revistele științifice, la cererea laboratorului respectiv, laboratorul comunitar de referință garantează confidențialitatea datelor până la publicarea lor.

CAPITOLUL VII

Principii și utilizarea testelor serologice și evaluarea rezultatelor acestora

A. **Principii fundamentale și valoare pentru diagnostic**

1. La porcii infectați cu virusul pestei porcine clasice, anticorpii pot în general să fie detectați în probele de ser după două-trei săptămâni de la infectare. La porcii vindecați, anticorpi protectori și neutralizanți pot fi detectați timp de mai mulți ani și chiar de-a lungul întregii vieți. De asemenea, pot fi detectați sporadic anticorpi la animale bolnave în fază terminală. La unii porci care prezintă forme cronice de pestă porcină clasică, pot fi detectați anticorpi timp de câteva zile la sfârșitul primei luni care urmează infectării.

   Porcii infectați *in utero* pot să fie imunotoleranți față de virusul omolog al pestei porcine clasice și să nu producă nici un anticorp specific. Cu toate acestea, anticorpi de origine maternă pot fi detectați în primele zile de viață. Semiviața anticorpilor materni la purceii sănătoși neviremici este de aproximativ două săptămâni. În cazul în care sunt detectați la purcei mai mari de trei luni, este puțin probabil ca anticorpii pestei porcine clasice să fie de origine maternă.

2. Detectarea anticorpilor virusului pestei porcine clasice în probele de ser sau de plasmă servește la confirmarea diagnosticului de pestă porcină clasică în exploatațiile suspecte, la stabilirea vârstei infecției în caz de focar confirmat și la adoptarea măsurilor de supraveghere și observare. Cu toate acestea, testele serologice au o utilitate limitată pentru detectarea pestei porcine clasice într-o exploatație recent infectată.

   Un mic număr de porci seropozitivi care prezintă un titru scăzut de neutralizare poate indica o infecție recentă (două sau trei săptămâni). Un număr mare de porci caracterizați printr-un titru de neutralizare ridicat indică faptul că virusul a pătruns în exploatație cu mai mult de o lună în urmă. Localizarea porcilor seropozitivi în exploatație poate furniza informații utile despre modul în care virusul pestei porcine clasice a intrat în exploatație.

   Cu toate acestea, trebuie să se procedeze la o evaluare precisă a rezultatelor testelor serologice ținând seama de totalitatea rezultatelor clinice, virologice și epidemiologice, în contextul anchetei care trebuie efectuată în caz de suspiciune sau de confirmare a existenței pestei porcine clasice, în conformitate cu articolul 8 din Directiva 2001/89/CE.

B. **Teste serologice recomandate**

1. Testul de neutralizare a virusului (TNV) și ELISA sunt cele mai bune pentru diagnosticul serologic al pestei porcine clasice.

   Calitatea și eficacitatea diagnosticului serologic efectuat de către laboratoarele naționale trebuie să fie cu regularitate controlate în cadrul testului de comparație interlaboratoare organizat periodic de laboratorul comunitar de referință.

2. TNV se bazează pe determinarea activității neutralizante a anticorpilor din proba de ser împotriva virusului, exprimată în titru neutralizant final 50 %.

▼B

O cantitate constantă de virus de pestă porcină clasică este incubată la 37 °C cu ser diluat. Pentru screening, serurile sunt inițial diluate la 1/10. În cazul în care este necesară o titrare completă, pot fi preparate diluții prin dedublarea serului plecând de la 1/2 sau 1/5. Fiecare diluție este amestecată cu un volum egal de suspensie de virus conținând 100 de doze infecțioase (TCID 50).

După incubație, amestecul este inoculat unor culturi de celule incubate timp de trei la cinci zile. După această perioadă de incubație, culturile sunt fixate și orice replicare virală în celulele infectate este detectată de un sistem de marcare imun. Se poate utiliza atât neutralizarea-imunoperoxidază (NPLA), cât și neutralizarea-imunofluorescență (NIF).

Rezultatele TNV sunt exprimate prin reciproca diluției inițiale a serului pentru care jumătate din culturile de celule inoculate (titru final de 50 %) nu prezintă replicare virală (absență de marcaj specific). Se estimează titrul între două diluții. Sistemul diluției finale se bazează pe diluția efectivă a serului în timpul reacției de neutralizare, și anume după adăugarea virusului, dar înainte de adăugarea suspensiei celulare.

3. TNV este testul cel mai sensibil și cel mai fiabil pentru detectarea anticorpilor virusului pestei porcine clasice. De aceea se recomandă să se recurgă la el pentru examenul serologic atât al unui animal izolat, cât și al unei turme. Cu toate acestea, acest test permite și detectarea anticorpilor de neutralizare încrucișată specifici ai infecțiilor cu *Pestivirus* ai rumegătoarelor la porci.

   TNV aplicat la detectarea anticorpilor virușilor DVB și PVO este conform cu aceleași principii ca cele care sunt descrise anterior și este efectuat pentru a stabili un diagnostic diferențial al pestei porcine clasice.

4. Tulpinile de *Pestivirus* care trebuie utilizate în testele de neutralizare trebuie să răspundă la recomandările laboratorului comunitar de referință.

5. Mai multe tehnici ELISA care utilizează anticorpi monoclonali specifici au fost puse la punct; ele sunt de două feluri: tehnicile concurențiale sau de blocaj și tehnicile neconcurențiale.

   Testul ELISA concurențial sau de blocaj se bazează în general pe anticorpi monoclonali. În cazul în care proba de ser conține anticorpi ai virusului clasic, legătura între un anticorp monoclonal cuplat cu peroxidaza și antigenul virusului va fi inhibată, ceea ce are ca rezultat o atenuare a semnalului.

   În testele ELISA neconcurențiale, legătura anticorpilor serului cu antigenul este măsurată direct cu ajutorul anticorpilor antiporci cuplați cu peroxidaza.

6. Laboratoarele naționale trebuie să efectueze cu regularitate controale de calitate privind sensibilitatea și specificitatea tuturor loturilor unui test ELISA, utilizând seria de seruri de referință furnizată de laboratorul comunitar de referință. Această serie include:

   — seruri provenind de la porci care se găsesc în stadiul inițial al infecției cu virusului pestei porcine clasice (până la 21 de zile de la infectare);

   — seruri provenind de la porci convalescenți (începând cu a douăzeci și una zi de la infectare);

   — seruri provenind de la porci infectați cu *Pestivirus* ai rumegătoarelor.

   Testele ELISA care trebuie utilizate pentru diagnosticul serologic al pestei porcine clasice trebuie să recunoască toate serurile de referință provenind de la porci convalescenți. Toate rezultatele obținute cu seruri de referință trebuie să fie reproductibile. Se recomandă, de asemenea, ca testele să identifice toate serurile pozitive ale stadiului inițial și să prezinte un minimum de reacții încrucișate cu serurile provenind de la porci infectați cu *Pestivirus* ai rumegătoarelor.

   Rezultatele obținute cu serurile de referință provenind de la porci care se găsesc în faza inițială a infecției dau o indicație a sensibilității testului ELISA.

7. Sensibilitatea testului ELISA este considerată inferioară celei a TNV și se recomandă să fie utilizat ca test de depistare la nivelul turmei. Cu toate acestea, testele ELISA necesită echipamente mai puțin specializate și pot fi efectuate mult mai rapid decât TNV datorită sistemelor automate.

▼B

Testele ELISA trebuie să permită detectarea tuturor infecțiilor cu pesta porcină clasică în stadiul convalescenței și trebuie să fie pe cât posibil lipsite de orice interferență cu anticorpii care prezintă o reacție încrucișată cu *Pestivirus* ai rumegătoarelor.

C. **Interpretarea rezultatelor serologice și diagnosticul diferențial cu infecțiile datorate *Pestivirus* ai rumegătoarelor (DVB și PVO)**

1. Fără a aduce atingere dispozițiilor articolului 4 alineatul (3) litera (a) sau ale articolului 7 alineatul (2) din Directiva 2001/89/CE, în cazul detectării unui titru de neutralizare a virusului pestei porcine clasice egal cu sau mai mare de 10 ND_{50} în probele de ser prelevate de la unul sau mai mulți porci sau al unui rezultat pozitiv al testului ELISA în probele de ser provenind de la un grup de porci, măsurile prevăzute la articolul 4 alineatul (2) din Directiva 2001/89/CE se aplică imediat sau continuă să se aplice în exploatația respectivă.

   Probele deja prelevate în această exploatație trebuie să facă obiectul unui nou test TNV (titrare finală comparativă a anticorpilor neutralizanți ai virusului pestei porcine clasice și ai *Pestivirus* ai rumegătoarelor).

2. În cazul în care testele comparative pun în evidență prezența de anticorpi ai *Pestivirus* ai rumegătoarelor și titre de anticorpi ai pestei porcine clasice absente sau în mod evident inferioare (mai puțini decât triplul), suspiciunea de pestă porcină clasică este eliminată, în afară de cazul când alte motive continuă să justifice continuarea aplicării măsurilor prevăzute la articolul 4 alineatul (2) din Directiva 2001/89/CE în exploatația respectivă.

3. În cazul în care testele comparative fac să apară un titru de neutralizare a virusului egal cu sau mai mare de 10 ND_{50} la mai mulți porci și dacă acest titru este egal cu sau mai mare decât titrele referitoare la alți *Pestivirus*, autoritatea competentă face astfel încât să se procedeze la confirmarea prezenței pestei porcine clasice, cu condiția ca indici epidemiologici ai bolii să fi fost constatați în exploatația respectivă.

4. Fără a aduce atingere dispozițiilor articolului 4 alineatul (3) din Directiva 2001/89/CE, în cazul în care nici un indice epidemiologic al bolii nu a fost constatat sau rezultatele testelor precedente sunt insuficiente, autoritatea competentă face astfel încât, în exploatația respectivă:

   — măsurile prevăzute la articolul 4 alineatul (2) din Directiva 2001/89/CE să fie aplicate în continuare;

   — alte investigații să fie efectuate cât mai repede posibil pentru a confirma sau exclude prezența pestei porcine clasice, în conformitate cu capitolul IV.

5. Cu toate acestea, în cazul în care controalele și testele suplimentare menționate la punctul 4 nu permit excluderea prezenței pestei porcine clasice, este necesar să se procedeze, în exploatație, la o nouă prelevare de probe de sânge destinate testelor serologice, după ce trec cel puțin două săptămâni de la controalele precedente.

   În contextul acestei noi prelevări de probe, porcii care au făcut deja obiectul unei prelevări de probe și al unei depistări vor fi supuși unei noi prelevări în vederea unui examen serologic de comparație cu probele colectate anterior care să permită detectarea unei seroconversii pentru virusul pestei porcine clasice sau *Pestivirus* ai rumegătoarelor, după caz.

   În cazul în care aceste noi controale și examene nu permit să se confirme prezența pestei porcine clasice, măsurile prevăzute la articolul 4 din Directiva 2001/89/CE pot fi revocate.

▼M1

CAPITOLUL VIII

Test de discriminare în cazul vaccinării de urgență

A. **Principii fundamentale**

1. Un test serologic ELISA de discriminare („test de discriminare”) permite distingerea eficientă între porcii care au fost vaccinați cu vaccinuri marker, care generează producerea de anticorpi numai împotriva glicoproteinei E2 a pestei porcine clasice, și cei care au fost infectați cu virusul de tip sălbatic al bolii. Testul este conceput pentru depistarea anticorpilor împotriva glicoproteinei E^{rns} a pestei porcine clasice. El se bazează pe principiul conform căruia animalele sănătoase vaccinate cu

▼M1

vaccinuri marker produc anticorpi numai împotriva glicoproteinei E2 a pestei porcine clasice, în timp ce animalele infectate cu virusul sălbatic reacționează prin producerea de anticorpi și împotriva altor antigeni ai virusului.

Acest test de discriminare este sensibil și specific ([1]). Cu toate acestea, porcii care au fost infectați cu alte *pestivirusuri* decât cel al pestei porcine clasice, cum ar fi virusurile MD-BVD și BD, vor avea și ei o reacție pozitivă la E^{rns}. De asemenea, sensibilitatea testului nu este ideală, având în vedere că anumite animale vaccinate cu marker și infectate ulterior pot să reacționeze negativ la E^{rns}.

Datele disponibile până în prezent indică faptul că testul de discriminare nu poate fi utilizat în mod fiabil pentru testarea probelor de ser provenit de la porci sălbatici.

2. Testul de discriminare este un test imunologic cu anticorpi marcați enzimatic cu blocare în fază lichidă. Probele de testat sunt incubate în plăci de microtitrare acoperite în prealabil cu anticorpi monoclonali anti-E^{rns}, precum și cu o cantitate dată de antigen E^{rns}. Anticorpii specifici pentru E^{rns} se fixează de cantitatea definită de antigen E^{rns} în soluție și se formează un complex antigen/anticorp care nu reacționează la anticorpii anti-E^{rns} de pe placa de microtitrare. După spălarea plăcilor în vederea eliminării materialului nefixat, se adaugă un conjugat anti-E^{rns} marcat peroxidază. Acesta se fixează de antigenul E^{rns} complexat cu anticorpul plasat pe placa de microtitrare. Conjugatul nefixat se îndepărtează prin spălare și se adaugă substratul cu cromogen. Intensitatea culorii care apare este invers proporțională cu cantitatea de anticorpi specifici pentru E^{rns} prezenți în probă. în cazul în care proba nu conține anticorpi (probă negativă), o mare parte din cantitatea dată de antigen E^{rns} care a fost adăugată se poate fixa de anticorpii anti-E^{rns} de pe placă și se observă o reacție intens colorată.

Se obține un rezultat prin compararea densității optice din godeurile care conțin probele testate cu cea observată în godeurile care conțin controalele negative și pozitive.

B. **Orientări pentru utilizarea testului de discriminare în cazul vaccinării de urgență cu un vaccin marker în exploatațiile de porci, în cadrul articolului 19 din Directiva 2001/89/CE**

Testul de discriminare este conceput pentru a verifica prezența sau absența circulației virusului pestei porcine clasice într-o populație de porci vaccinați cu un vaccin marker. Datele disponibile indică faptul că testul se poate dovedi util în acest scop în cazul șepteluri lor, însă nu permite excluderea cu certitudine a faptului că anumiți porci sunt infectați cu pestă porcină clasică. În special, specificitatea testului de discriminare riscă să fie insuficientă pentru a permite să se facă în mod fiabil distincția între porcii vaccinați cu marker și porcii contaminați, în cazul vaccinării porcilor adulți. Cu toate acestea, în cazul în care rezultatele sunt neconcludente, porcii respectivi trebuie sacrificați sau uciși cu suferință minimă, în conformitate cu Directiva 93/119/CE, și organele lor trebuie supuse testului de depistare a pestei porcine clasice. Testele cele mai potrivite în acest scop sunt testul de izolare a virusului și testul PCR (de reacție în lanț a polimerazei).

Aceste aspecte trebuie luate în considerare în mod corespunzător la elaborarea unei strategii de vaccinare de urgență cu vaccinuri marker și la interpretarea rezultatelor unui studiu consacrat pestei porcine clasice la populația vaccinată cu acest tip de vaccin.

Procedura referitoare la prelevarea probelor și la testarea populației de porci vaccinați înainte de ridicarea restricțiilor care trebuie aplicate în zona vaccinată în conformitate cu articolul 19 din Directiva 2001/89/CE depinde de vârsta porcilor vaccinați, de categoria acestora (porci pentru îngrășat, porci destinați sacrificării, porci de reproducere) și de gradul de siguranță dorit în ceea ce privește absența circulației virusului în rândurile populației porcine.

Din aceste considerente, detaliile referitoare la procedura de prelevare a probelor și de testare trebuie menționate în planul vaccinării de urgență

([1]) În conformitate cu rezultatele unui studiu realizat de laboratorul comunitar de referință pentru pesta porcină clasică și de laboratoarele naționale competente pentru pesta porcină clasică, sensibilitatea testului de discriminare este de 94 %, iar specificitatea sa este de aproximativ 98 %.

▼M1

care trebuie prezentat Comisiei în conformitate cu articolul 19 alineatul (3) din Directiva 2001/89/CE.

▼B

CAPITOLUL IX

Condiții minime de securitate care trebuie respectate în laboratoarele competente pentru pesta porcină clasică

1. Condițiile minime definite în tabelul 1 trebuie să fie respectate în toate laboratoarele care manipulează virusul pestei porcine clasice, chiar și în cantitate mică, în conformitate cu criteriile testelor de izolare și de neutralizare a virusului. Cu toate acestea, examenele *post mortem*, prepararea țesuturilor pentru IF și tehnicile serologice care utilizează un antigen inactivat pot fi efectuate după cerințe mai puțin stricte, cu condiția să fie respectate normele igienice de bază și să se efectueze operațiuni de dezinfectare la sfârșitul manipulărilor cu eliminarea țesuturilor și a serurilor în condiții de securitate.

2. Condițiile suplimentare definite în tabelul 1 trebuie să fie respectate de orice laborator în care se procedează la multiplicarea virusului pe scară largă.

3. Condițiile definite în tabelul 2 trebuie să fie respectate de orice laborator în care se efectuează experimente pe animale utilizând virusul pestei porcine clasice.

4. În toate cazurile, toate stocurile de virus al pestei porcine clasice trebuie să fie conservate într-un loc sigur, în stare congelată sau liofilizată. Se recomandă să se rezerve congelatoare sau frigidere exclusiv pentru virușii pestei porcine clasice și pentru materialele utilizate în contextul diagnosticului pestei porcine clasice. Fiecare fiolă trebuie să fie etichetată în mod clar. Registre exhaustive trebuie să menționeze stocurile de virus deținute, precum și data și rezultatele controalelor de calitate. Trebuie de asemenea să se țină un registru al virușilor adăugați stocului, precizând sursa, precum și virușii furnizați altor laboratoare.

5. Se recomandă completarea unităților de manipulare a virusului pestei porcine clasice, concepute după principiile siguranței biologice, cu spații în care virusul nu este manipulat. Aceste spații ar trebui să servească la prepararea recipientelor de sticlă și a mediilor, la întreținerea și prepararea culturilor de celule neinfectate, la tratarea serurilor și la examenele serologice (altele decât metodele care utilizează virusul pestei porcine clasice) și la activitatea administrativă și de birou.

Tabelul 1

Norme de siguranță biologică aplicabile laboratoarelor de diagnostic

	Condiții suplimentare	Condiții minime
Mediu general	Presiune atmosferică normală Dublă filtrare absolută a aerului aspirat Localuri rezervate, destinate exclusiv procedurilor de diagnostic al pestei porcine clasice	Presiune atmosferică normală Localuri rezervate a căror utilizare este limitată la proceduri determinate
Îmbrăcăminte de laborator	Schimbarea completă a hainelor la intrare Îmbrăcăminte de laborator care nu se utilizează decât în unitatea rezervată virusului pestei porcine clasice Mănuși de unică folosință pentru toate manipulările de material infectat Sterilizarea îmbrăcămintei înainte de ieșirea din unitate sau spălarea în interiorul acesteia	Îmbrăcăminte protectoare specială, care nu se utilizează decât în unitatea rezervată virusului pestei porcine clasice Mănuși de unică folosință pentru toate manipulările de material infectat Sterilizarea îmbrăcămintei protectoare înainte de ieșirea din unitate sau spălarea în interiorul acesteia

▼B

	Condiții suplimentare	Condiții minime
Controlul personalului	Accesul în unitate rezervat personalului autorizat, pregătit corespunzător Spălarea și dezinfectarea mâinilor la ieșirea din unitate Interdicție pentru personal de a se apropia de porci în cele 48 de ore care urmează ieșirii din unitate	Accesul în unitate rezervat personalului autorizat, pregătit corespunzător Spălarea și dezinfectarea mâinilor la ieșirea din unitate Interdicție pentru personal de a se apropia de porci în cele 48 de ore care urmează ieșirii din unitate
Echipament	Incintă biologică de securitate (clasa I sau II) destinată tuturor manipulărilor de viruși vii. Incinta trebuie să dispună de un dispozitiv de dublă filtrare absolută a aerului aspirat. Toate echipamentele necesare procedurilor de laborator trebuie să fie disponibile în interiorul localurilor rezervate ale laboratorului.	

Tabelul 2

Condiții de siguranță biologică pentru localurile rezervate animalelor de laborator

	Condiții
Mediu general	Aerisire controlată prin presiune negativă Dublă filtrare absolută a aerului aspirat Dispozitiv de fumegare/dezinfectare completă la sfârșitul experienței Tratarea tuturor efluenților pentru a inactiva virusul pestei porcine clasice (prin procedee termice sau chimice)
Îmbrăcăminte de laborator	Schimbarea completă a hainelor la intrare Mănuși de unică folosință pentru toate manipulările Sterilizarea îmbrăcămintei înainte de ieșirea din unitate sau spălarea în interiorul unității
Controlul personalului	Accesul în unitate rezervat personalului autorizat, pregătit corespunzător Duș complet la ieșirea din unitate Interdicție pentru personal de a se apropia de porci în cele 48 de ore care urmează ieșirii din unitate
Echipament	Toate echipamentele necesare procedurilor de laborator trebuie să fie disponibile în interiorul unității Sterilizarea întregului material la ieșirea din unitate sau, în cazul probelor de origine animală, ambalarea într-un dublu înveliș plasat într-un recipient etanș, dezinfectat în suprafață pentru transportul către laboratorul competent pentru pesta porcină clasică
Animale	Sacrificarea tuturor animalelor înainte de ieșirea din unitate, examene *post mortem* care trebuie efectuate în spații de siguranță biologică, incinerarea carcaselor la sfârșitul examinării