**Ta dokument je mišljen zgolj kot dokumentacijsko orodje in institucije za njegovo vsebino ne prevzemajo nobene odgovornosti**

►B

# ODLOČBA KOMISIJE

## z dne 1. februarja 2002

## o odobritvi Diagnostičnega priročnika, ki določa diagnostične postopke, metode vzorčenja in merila za ocenjevanje rezultatov laboratorijskih preiskav za potrjevanje klasične prašičje kuge

*(notificirano pod dokumentarno številko K(2002) 381)*

**(Besedilo velja za EGP)**

(2002/106/ES)

(EGT L 39, 9.2.2002, s. 71)

spremenjen z:

| | | Uradni list | | |
|---|---|---|---|---|
| | | št. | stran | datum |
| ►M1 | Odločba Komisije 2003/859/ES, z dne 5. decembra 2003 | L 324 | 55 | 11.12.2003 |

▼B

# ODLOČBA KOMISIJE

## z dne 1. februarja 2002

## o odobritvi Diagnostičnega priročnika, ki določa diagnostične postopke, metode vzorčenja in merila za ocenjevanje rezultatov laboratorijskih preiskav za potrjevanje klasične prašičje kuge

*(notificirano pod dokumentarno številko K(2002) 381)*

**(Besedilo velja za EGP)**

(2002/106/ES)

KOMISIJA EVROPSKIH SKUPNOSTI JE –

ob upoštevanju Pogodbe o ustanovitvi Evropske skupnosti,

ob upoštevanju Direktive Sveta 2001/89/ES z dne 23. oktobra 2001 o ukrepih Skupnosti za obvladovanje klasične prašičje kuge ([1]) in zlasti člena 17(3) ter člena 29(1) Direktive,

ob upoštevanju naslednjega:

(1) Na ravni Skupnosti je treba določiti diagnostične postopke, metode vzorčenja in merila za ocenjevanje rezultatov laboratorijskih preiskav za potrjevanje klasične prašičje kuge.

(2) Priloga IV k Direktivi 2001/89/ES določa funkcije in dolžnosti referenčnega laboratorija Skupnosti za klasično prašičjo kugo, da po posvetovanju s Komisijo uskladi metode, ki se v državah članicah uporabljajo za ugotavljanje bolezni; te funkcije in dolžnosti vključujejo organizacijo rednih primerjalnih preizkusov in oskrbo s standardnimi reagenti na ravni Skupnosti.

(3) Velja, da virus klasične prašičje kuge ne ogroža zdravja ljudi.

(4) Najnovejše laboratorijske metode omogočajo hitro postavljanje diagnoze klasične prašičje kuge.

(5) Izkušnje, pridobljene v zadnjih letih pri nadzoru nad klasično prašičjo kugo, opredeljujejo najprimernejše postopke vzorčenja in merila za ocenjevanje rezultatov laboratorijskih preiskav za pravilno ugotavljanje te bolezni v različnih okoliščinah.

(6) Ukrepi, predvideni s to odločbo, so v skladu z mnenjem Stalnega veterinarskega odbora –

SPREJELA NASLEDNJO ODLOČBO:

*Člen 1*

1. Države članice zagotovijo, da potrjevanje klasične prašičje kuge temelji na:

(a) ugotavljanju kliničnih znakov bolezni in patoanatomskih sprememb, značilnih za bolezen;

(b) dokazovanju virusa, virusnega antigena ali genoma v vzorcih prašičjih tkiv, organov, krvi ali iztrebkov;

(c) prikazu imunskega odziva s specifičnimi protitelesi v krvnih vzorcih,

([1]) UL L 316, 1.12.2001, str. 5.

▼B

skladno s postopki, metodami vzorčenja in merili za ocenjevanje rezultatov laboratorijskih preiskav, določenimi v priročniku, ki je priložen k tej odločbi.

2. Vendar pa lahko nacionalni diagnostični laboratoriji iz Priloge III (1) k Direktivi 2001/89/ES laboratorijske postopke iz priročnika, ki je priložen k tej odločbi, spreminjajo ali uporabijo druge metode, pod pogojem, da je mogoče dokazati enako občutljivost in specifičnost.

Občutljivost in specifičnost teh spremenjenih ali drugačnih metod je treba ovrednotiti v okviru rednih primerjalnih preizkusov, ki jih organizira referenčni laboratorij Skupnosti za klasično prašičjo kugo.

*Člen 2*

Prilogi I in IV k Direktivi Sveta 80/217/EGS z dne 22. januarja 1980 o uvedbi ukrepov Skupnosti za nadzor nad klasično prašičjo kugo [1], kakor je bila nazadnje spremenjena z Aktom o pristopu Avstrije, Finske in Švedske, se razveljavita.

*Člen 3*

Ta odločba se uporablja od 1. novembra 2002.

*Člen 4*

Ta odločba je naslovljena na države članice.

[1] UL L 47, 21.2.1980, str. 11.

▼B

*PRILOGA*

**DIAGNOSTIČNI PRIROČNIK ZA KLASIČNO PRAŠIČJO KUGO**

POGLAVJE I

***Uvod, cilji in opredelitev pojmov***

1. Da bi zagotovili enoten postopek za ugotavljanje klasične prašičje kuge, ta priročnik:

   (a) daje smernice in minimalne zahteve glede diagnostičnih postopkov, metod vzorčenja in meril za ocenjevanje rezultatov kliničnih, patoanatomskih preiskav in laboratorijskih preiskav za zanesljivo ugotavljanje klasične prašičje kuge ([1]);

   (b) določa minimalne zahteve glede biološke varnosti in standarde kakovosti, ki jih morajo upoštevati laboratoriji za ugotavljanje klasične prašičje kuge in ob prevozu vzorcev;

   (c) določa laboratorijske preiskave, ki se uporabljajo za ugotavljanje klasične prašičje kuge, in laboratorijske postopke, ki se uporabljajo za genotipizacijo izolatov virusa klasične prašičje kuge.

2. Ta priročnik je namenjen predvsem organom, ki so odgovorni za nadzor nad klasično prašičjo kugo. Zato poudarja načela in uporabo laboratorijskih testov ter ocenjevanje njihovih rezultatov, ne pa podrobnosti samih laboratorijskih postopkov.

3. V tem priročniku se, poleg izrazov iz člena 2 Direktive 2001/89/ES, uporabljajo naslednje opredelitve pojmov:

   (a) „sumljivo gospodarstvo“ pomeni prašičerejski obrat, za katerega obstaja sum, da je eden ali več prašičev okuženih z virusom klasične prašičje kuge ali gospodarstvo, ki je v stiku s sumljivim gospodarstvom, v smislu člena 2(v) Direktive 2001/89/ES;

   (b) „nespecifični reaktorji“ pomenijo katerega koli prašiča, ki je v seroloških preiskavah na klasično prašičjo kugo reagiral pozitivno, vendar pa v preteklosti ni bil v stiku z virusom klasične prašičje kuge, in s katerega se okužba ni razširila na prašiče, ki so bili z njim v stiku ([2]);

   (c) „epidemiološka podenota“ ali „podenota“ pomeni bližnjo zgradbo, kraj ali zemljišče, kjer so skupine prašičev na gospodarstvu nastanjene tako, da imajo pogoste neposredne ali posredne medsebojne stike, vendar so hkrati ločene od drugih prašičev, ki bivajo na istem gospodarstvu;

   (d) „prašiči, ki so bili v stiku z okuženimi prašiči“ pomeni prašiče, ki so v zadnjih 21 dneh bivali na gospodarstvu v neposrednem stiku z enim ali več prašiči, za katere se sumi, da so okuženi s klasično prašičjo kugo.

POGLAVJE II

***Opis klasične prašičje kuge s poudarkom na diferencialni diagnozi***

A. **Uvod**

1. Klasično prašičjo kugo povzroča RNK virus z ovojnico, ki spada v rod pestivirusov, iz družine flavivirusov (*Flaviviridae*). Ta virus je soroden pestivirusom prežvekovalcev, ki povzročajo bovino virusno drisko (BVDV) in Bordersko bolezen (BDV). Ta povezava ima resne diagnostične posledice, saj prihaja zaradi sorodnosti do navzkrižnih reakcij, in posledično do lažno pozitivnih rezultatov laboratorijskih testov.

2. Virus klasične prašičje kuge je razmeroma obstojen v vlažnih iztrebkih okuženih prašičev, prašičjih truplih in svežem svinjskem mesu ter nekaterih proizvodih iz svinjskega mesa. Takoj ga inaktivirajo detergenti, maščobna topila, proteaze in običajna razkužila.

([1]) Pri določanju števila vzorcev, ki se odvzamejo za laboratorijske preiskave, se upošteva tudi občutljivost metod, ki se bodo uporabile. Število živali, na katerih se opravi vzorčenje, je večje od števila, navedenega v tem priročniku, če občutljivost uporabljene metode ni zelo velika.

([2]) Titri nevtralizacijskih protiteles pri nespecifičnih reaktorjih lahko segajo od mejnih (kar je bolj pogosto) do izrazito pozitivnih vrednosti. Ob ponovnem vzorčenju se pri nespecifičnih reaktorjih lahko ugotovi pojemajoč ali enak titer. V splošnem se takšne lažno pozitivne reakcije pojavljajo pri le nekaj prašičih v čredi.

▼B

3. Glavna naravna pot okužbe je oro-nazalna, s posrednim ali neposrednim stikom z okuženimi prašiči ali zaradi pitanja s krmo, kontaminirano z virusom. Na območjih z visoko gostoto prašičev se virus z lahkoto širi med sosednjimi prašičerejskimi obrati. Bolezen se prenaša tudi s semenom okuženih merjascev.

4. Inkubacijska doba je pri posamičnih živalih približno en teden do deset dni, vendar se lahko v nekaterih primerih klinični znaki pojavijo na gospodarstvu šele dva do štiri tedne po vnosu virusa ali še kasneje, če so prisotni samo odrasli plemenski prašiči ali če gre za blage seve virusa.

5. Klinični znaki klasične prašičje kuge so zelo raznoliki in se lahko zamenjajo z mnogimi drugimi boleznimi. Resnost simptomov je odvisna predvsem od starosti živali in virulence virusa. Mlade živali so običajno bolj prizadete kot starejše živali. Pri starejših plemenskih prašičih je potek okužbe pogosto blag ali celo subkliničen.

6. Razlikujemo med akutnimi, kroničnimi in prenatalnimi oblikami klasične prašičje kuge.

B. **Akutna oblika**

1. Pri odstavljencih in pitancih pogosto nastopi akutna oblika klasične prašičje kuge. Prvi znaki okužbe so neješčnost, zaspanost ali otopelost, povišana telesna temperatura, vnetje očesnih veznic, otekle bezgavke, motnje pri dihanju in zaprtost s poznejšo drisko.

   Značilne krvavitve na koži se običajno pojavijo na ušesih, repu, trebuhu in notranji strani okončin med drugim in tretjim tednom po okužbi vse do smrti. Pogosto se opažajo živčni znaki kot na primer opotekanje zadnjega dela telesa, motena koordinacija in krči.

   Vedno nastopi povišana telesna temperatura. Ta je običajno višja od 40 °C, vendar se lahko zgodi, da pri odraslih prašičih ne preseže 39,5 °C.

2. Virus klasične prašičje kuge povzroča resno levkopenijo (zmanjšanje števila belih krvničk) in imunosupresijo (oslabelost imunskega sistema), ki pogosto privede do sekundarnih okužb črevesja in dihal. Klinični znaki teh sekundarnih okužb lahko prikrijejo ali prekrijejo najznačilnejše simptome klasične prašičje kuge in lahko zavedejo kmeta ali veterinarja.

   Smrt običajno nastopi v enem mesecu. Ozdravljenje nastopi z nastankom specifičnih protiteles, najpogosteje pri odraslih plemenskih živalih, ki ne kažejo resnih kliničnih znakov. Protitelesa proti virusu klasične prašičje kuge je mogoče ugotoviti šele 2 do 3 tedne po začetku okužbe in pozneje.

3. Patološke spremembe, vidne pri patoanatomskem pregledu, se najbolj pogosto opazijo na bezgavkah in na ledvicah. Limfni vozliči postanejo otečeni, vodenični in krvavijo. Krvavitve na ledvicah se pojavljajo v različnem obsegu, od komaj vidnih petehialnih, do ehimotskih krvavitev. Podobne krvavitve je mogoče opaziti na sečnem mehurju, grlu, epiglotisu in na srcu, včasih pa se razširijo prek potrebušnice in poprsnice. Pogosto je prisotno negnojno vnetje možganov. Prisotne so tudi patološke spremembe zaradi sekundarnih okužb, kar lahko zavede veterinarja pri postavljanju diagnoze klasične prašičje kuge. Tipični za klasično prašičjo kugo so infarkti vranice, vendar se pojavljajo le redko.

4. Akutna oblika afriške prašičje kuge vodi do klinične in patološke slike, ki je v splošnem zelo podobna tisti pri klasični prašičji kugi. Kadar nastopijo, so krvavitve na koži in ušesih zlahka vidne in vodijo do suma na akutno afriško prašičjo kugo. Podobne spremembe so značilne za le malo drugih bolezni.

   Na klasično prašičjo kugo je treba diferencialno diagnostično pomisliti tudi pri sumu na: prašičjo rdečico, prašičji respiratorni in reproduktivni sindrom (PRRS), zastrupitev s kumarinom, hemoragično purpuro, multisistemski sindrom hiranja po odstavitvi, sindrom dermatitisa in nefropatije, okužbe s salmonelami ali pasterelami, in pri katerem koli obolenju črevesja ali dihal s povišano telesno temperaturo, ki ne reagira na zdravljenje z antibiotiki.

5. Virus klasične prašičje kuge se širi s slino, urinom in blatom, vse od nastopa kliničnih znakov bolezni pa do smrti. Virus klasične prašičje kuge se lahko širi tudi s semenom.

▼B

C. **Kronična oblika**

1. Kronična oblika okužbe nastopi, kadar prašiči niso sposobni razviti učinkovitega imunskega odziva proti virusu klasične prašičje kuge. Začetni znaki kronične okužbe so podobni tistim pri akutni okužbi. Kasneje so prisotni predvsem nespecifični simptomi, t.j. ponavljajoča se povišana telesna temperatura, kronični črevesni katar in hujšanje. Tipičnih krvavitev na koži ni.

   Ti prašiči lahko kažejo klinične znake bolezni 2 do 3 mesece pred poginom. Virus klasične prašičje kuge se nenehno izloča vse od nastopa kliničnih znakov bolezni pa do smrti. Protitelesa je mogoče občasno zaznati v vzorcih seruma.

2. Patološke spremembe niso tako tipične, zlasti se lahko zgodi, da ni opaziti krvavitev po organih in po serozah. Pri živalih s kronično drisko so običajno prisotne nekrotične spremembe po ileumu, ileocekalni zapori in rektumu.

3. Ker so klinični znaki pri kronični klasični prašičji kugi precej nespecifični, je treba pri diferencialni diagnozi upoštevati mnoge druge bolezni. Povišana telesna temperatura ni nujno prisotna pri vsaki živali, vendar je na okuženem gospodarstvu mogoče ugotoviti povišano temperaturo pri vsaj nekaj prašičih.

D. **Prenatalna oblika in zakasneli izbruh bolezni**

1. Virus klasične prašičje kuge lahko prehaja skozi placento brejih živali in okuži zarodke, vendar je bolezen pri svinjah pogosto subklinična.

   Izid okužbe zarodkov preko placente je v precejšnji meri odvisen od stopnje brejosti in virulence virusa. Okužba v zgodnji brejosti lahko povzroči zvrgavanja in mrtvorojene plodove, mumifikacije in spačke. Vse to se odraža v znižanju kazalcev plodnosti na gospodarstvu.

   Okužbe svinj pred 90 dnevom brejosti lahko privedejo do rojstva pujskov klicenoscev, ki so lahko ob rojstvu klinično brez posebnosti in živijo več mesecev. Po rojstvu lahko pri teh živalih zaznamo slabši prirast, hiranje in občasno kongenitalni tremor. Ta potek okužbe se imenuje „zakasneli izbruh klasične prašičje kuge“. Ti prašički lahko odigrajo ključno vlogo pri širjenju bolezni in ohranjanju virusa v populaciji, ker nenehno, vse do smrti, izločajo virus.

2. Prepoznavanje klasične prašičje kuge je lahko težavno zlasti na prašičerejskih obratih za vzrejo plemenskih prašičev, saj je potek okužbe pri teh živalih lahko zelo blag in se lahko zamenja z mnogimi drugimi patološkimi stanji. Znižano plodnost in zvrgavanja lahko povzroča tako virus klasične prašičje kuge kakor tudi okužba s parvovirusi, PRRS, leptospiroza in Aujeszkyeva bolezen. Zvržkov zaradi okužbe s klasično prašičjo kugo patološko ni moč ločevati od tistih, ki so jih povzročili povzročitelji drugih bolezni.

   V primeru suma kužne bolezni rodil je treba, kadarkoli bi bilo zadevno gospodarstvo lahko ogroženo (npr. zaradi lokacije gospodarstva na območju, kjer se pojavlja klasična prašičja kuga pri divjih prašičih), takoj opraviti preiskave na klasično prašičjo kugo, v vsakem primeru pa takoj, ko se izključijo druge, bolj običajne kužne bolezni rodil.

POGLAVJE III

***Smernice za glavna merila za označitev gospodarstev za gospodarstva, na katerih je bil ugotovljen sum na klasično prašičjo kugo***

Sklep o označitvi gospodarstva za sumljivo gospodarstvo se sprejme na podlagi naslednjih ugotovitev, meril in utemeljitev:

(a) klinične in patološke ugotovitve pri prašičih. Upoštevajo se naslednje glavne klinične in patološke ugotovitve:

   — povišana telesna temperatura s povečano obolevnostjo in umrljivostjo;

   — povišana telesna temperatura s hemoragičnim sindromom;

   — povišana telesna temperatura z živčnimi znaki;

   — povišana telesna temperatura neznanega izvora, kjer zdravljenje z antibiotiki ni izboljšalo zdravstvenega stanja;

   — zvrgavanja in plodnostne motnje v zadnjih treh mesecih;

▼B

— kongenitalni tremor pri prašičkih;

— kronično bolne živali;

— mlade živali, ki zaostajajo v rasti (zahiranci);

— petehialne in ehimotske krvavitve, zlasti v bezgavkah, ledvicah, vranici, mehurju in grlu;

— infarkti ali krvni strdki (hematomi), zlasti v vranici;

— razjede (butoni) na debelem črevesju pri kroničnih primerih, zlasti v bližini ileocekalnega stika.

(b) epidemiološke ugotovitve. Upoštevajo se naslednje glavne epidemiološke ugotovitve:

— kadar so bili prašiči v neposrednem ali posrednem stiku s prašičerejskim obratom, ki je dokazano okužen s klasično prašičjo kugo;

— kadar je gospodarstvo dobavljalo prašiče, za katere se je naknadno izkazalo, da so okuženi s klasično prašičjo kugo;

— kadar so bile svinje umetno osemenjene s semenom iz sumljivega vira;

— kadar pride do posrednega ali neposrednega stika z divjimi prašiči iz populacije, pri kateri se pojavlja klasična prašičja kuga;

— pri reji prašičev na prostem na območju, kjer so divji prašiči okuženi s klasično prašičjo kugo;

— kjer so prašiči krmljeni s pomijami in obstaja sum, da te pomije niso obdelane na način, ki bi inaktiviral virus klasične prašičje kuge;

— kadar obstaja možnost, da je prišlo do izpostavljenosti virusu klasične prašičje kuge, npr. zaradi oseb, ki so vstopile na gospodarstvo, prevozov itd.

(c) ugotovitve v zvezi z rezultati seroloških preiskav. Upoštevajo se naslednje glavne laboratorijske ugotovitve:

— serološka reakcija, ki jo povzroči neopažena okužba z virusom klasične prašičje kuge ali cepljenje ([1]);

— navzkrižna reakcija med protitelesi proti virusu klasične prašičje kuge in protitelesi proti drugim pestivirusom ([2]);

— ugotovitev nespecifičnih reaktorjev ([3]).

POGLAVJE IV

***Postopki preverjanja in vzorčenja***

A. **Smernice in postopki za klinično preiskavo in odvzem vzorcev pri prašičih na sumljivih gospodarstvih**

1. Države članice zagotovijo, da se na sumljivih gospodarstvih izvedejo ustrezne klinične preiskave, vzorčenje in laboratorijske preiskave, da se potrdi ali izključi klasična prašičja kuga, skladno s smernicami in postopki iz pododstavkov 2 do 7.

   Ne glede na sprejem ukrepov iz člena 4(2) Direktive 2001/89/ES na zadevnem gospodarstvu, te smernice in postopki veljajo tudi v primerih bolezni, kjer se klasična prašičja kuga upošteva v diferencialni diagnozi. To velja tudi v primerih, kjer so možnosti pojava klasične prašičje kuge na podlagi opaženih kliničnih znakov in epidemioloških podatkov o bolezni pri prašičih zelo majhne.

   V vseh drugih primerih pa se, kadar obstaja sum, da je eden ali več prašičev okuženih z virusom klasične prašičje kuge, na zadevnem

([1]) Če so bili prašiči cepljeni proti klasični prašičji kugi z običajnim cepivom, je izvid lahko pozitiven zaradi samega cepljenja, ali pa zaradi latentne okužbe pri cepljenih živalih.

([2]) V nekaterih okoliščinah ima lahko do 10 % prašičev v čredi protitelesa na pestiviruse prežvekovalcev, ki povzročajo virusno drisko (BVD) in Borderjevo bolezen (BD). Na primer, kadar so prašiči v neposrednem stiku z živino ali ovcami, okuženimi z virusom BVD ali BD, ali kadar so prašiči v stiku z materiali, ki so kontaminirani s pestivirusi prežvekovalcev.

([3]) Pri vseh znanih seroloških testih na protitelesa proti klasični prašičji kugi je majhen odstotek rezultatov lažno pozitivnih, bodisi zaradi slabše specifičnosti uporabljene metode ali zaradi nespecifičnih reaktorjev.

▼B

sumljivem gospodarstvu sprejmejo ukrepi iz člena 4(2) Direktive 2001/89/ES.

V primeru suma klasične prašičje kuge pri prašičih v klavnici ali med transportom se uporabijo tudi predpisane smernice in postopki iz pododstavkov 2 do 7, s potrebnimi spremembami.

2. Kadar sumljivo gospodarstvo obišče uradni veterinar z namenom potrditve ali izključitve klasične prašičje kuge:

   — je treba pregledati proizvodni register in zdravstvene evidence gospodarstva, če so razpoložljive;

   — je treba, da se izberejo prašiči za klinično preiskavo, pregledati vsako podenoto gospodarstva.

   Klinična preiskava mora vključevati merjenje telesne temperature in mora zajeti predvsem naslednje prašiče ali skupine prašičev:

   — bolne prašiče ali neješče (anoreksične) prašiče;

   — prašiče, ki so nedavno okrevali po bolezni;

   — prašiče, ki so bili pred nedavnim pripeljani na gospodarstvo iz potrjenih izbruhov ali iz drugih sumljivih virov;

   — prašiče, nastanjene v podenotah, ki so jih pred nedavnim obiskali zunanji obiskovalci, ki so bili pred kratkim v tesnem stiku s prašiči, osumljenimi okužbe ali okuženimi z virusom klasične prašičje kuge, ali za katere se ugotovijo drugi, posebej tvegani stiki s potencialnim virom virusa klasične prašičje kuge;

   — prašiče, na katerih je že bilo izvedeno vzorčenje in serološke preiskave na klasično prašičjo kugo, če na podlagi rezultatov opravljenih preiskav ni mogoče izključiti klasične prašičje kuge, in prašiče, ki so bili v stiku s temi prašiči.

   Če pregled sumljivega gospodarstva ne pokaže prisotnosti prašičev ali skupin prašičev iz gornjega pododstavka, pristojni organ, brez vpliva na druge ukrepe, ki se lahko uporabijo na zadevnem gospodarstvu, skladno z Direktivo 2001/89/ES in ob upoštevanju epidemiološkega stanja:

   — opravi nadaljnje preiskave na zadevnem gospodarstvu skladno s pododstavkom 3 spodaj; ali

   — zagotovi, da se prašičem na zadevnem gospodarstvu odvzamejo vzorci krvi za laboratorijske preiskave. V tem primeru se kot smernice uporabijo postopki vzorčenja iz pododstavkov 5 in F.2; ali

   — sprejme ali ohrani ukrepe iz člena 4(2) Direktive 2001/89/ES, do nadaljnjih preiskav na zadevnem gospodarstvu; ali

   — izključi možnost klasične prašičje kuge.

3. Ob sklicevanju na ta odstavek je treba na zadevnem gospodarstvu opraviti klinične preiskave na naključno izbranih prašičih v podenotah, za katere se ugotovi ali sumi možnost vnosa virusa klasične prašičje kuge.

   Najmanjše število prašičev, določenih za preiskavo mora omogočati odkrivanje povišane telesne temperature ob 10 % razširjenosti s 95 % zanesljivostjo v teh podenotah.

   Vendar:

   — mora, pri plemenskih svinjah, najmanjše število svinj za preiskavo omogočati odkrivanje povišane telesne temperature ob 5 % razširjenosti s 95 % zanesljivostjo v teh podenotah;

   — je treba, v osemenjevalnih središčih, opraviti preiskavo na vseh merjascih.

4. Če se na gospodarstvu ugotovijo mrtvi ali poginjajoči prašiči, je treba opraviti patoanatomske preiskave, po možnosti na najmanj petih takšnih prašičih in zlasti na prašičih:

   — ki so pred poginom kazali zelo očitne znake bolezni;

   — z zelo povišano telesno temperaturo;

   — ki so poginili pred nedavnim.

▼B

Če pri teh preiskavah niso bile ugotovljene spremembe, značilne za klasično prašičjo kugo, vendar se zaradi epidemiološkega stanja ugotovi, da so potrebne nadaljnje preiskave:

— je treba v podenoti, kjer so bili nastanjeni mrtvi ali umirajoči prašiči, opraviti klinično preiskavo iz pododstavka 3 in vzorčenje iz pododstavka 5; in

— treba je opraviti patoanatomske preiskave na 3 do 4 prašičih, ki so bili v stiku z okuženimi prašiči.

Ne glede na prisotnost ali odsotnost sprememb, značilnih za klasično prašičjo kugo, je treba prašičem, na katerih je bila opravljena patoanatomska preiskava, odvzeti vzorce organov ali tkiv, za virološke preizkuse skladno s poglavjem V B.1 Priporočljivo je, da se vzorčenje izvede na prašičih, ki so poginili nedavno.

Med potekom patoanatomskih preiskav mora pristojni organ:

— zagotoviti potrebne varnostne in sanitarne ukrepe za preprečevanje morebitnega širjenja bolezni; in,

— poskrbeti, da se poginjajoči prašiči pokončajo na human način skladno z Direktivo Sveta 93/119/EGS.

5. Če se na sumljivem gospodarstvu ugotovijo nadaljnji klinični znaki ali spremembe, značilne za klasično prašičjo kugo, vendar pristojni organ meni, da te ugotovitve ne zadostujejo za potrditev izbruha klasične prašičje kuge in da je zato treba opraviti laboratorijske preiskave, je treba sumljivim prašičem in drugim prašičem v vsaki podenoti, v kateri so nastanjeni sumljivi prašiči, odvzeti vzorce, skladno s spodaj opisanimi postopki.

   Najmanjše število vzorcev za serološke preiskave mora v zadevni podenoti omogočati ugotavljanje 10 % seroprevalence s 95 % zanesljivostjo.

   Vendar:

   — mora, za plemenske svinje, najmanjše število svinj za vzorčenje omogočati ugotavljanje5 % seroprevalence s 95 % zanesljivostjo ([1]);

   — je treba, v osemenjevalnih središčih, odvzeti vzorce krvi vsem merjascem.

   Število odvzetih vzorcev za virološke preiskave mora biti skladno z navodili pristojnega organa, ki mora upoštevati vrste preiskav, ki se lahko izvedejo, občutljivost laboratorijskih metod, ki se bodo uporabile, in epidemiološko stanje.

6. Če se sum klasične prašičje kuge na zadevnem gospodarstvu navezuje na rezultate predhodno opravljenih seroloških preiskav,, se, poleg odvzema vzorcev krvi prašičem iz pete alinee drugega pododstavka odstavka 2, uporabijo naslednji postopki:

   (a) če so ugotovljene seropozitivne živali breje svinje, je treba nekaj takšnih živali, po možnost najmanj tri, usmrtiti in opraviti patoanatomski pregled. Pred usmrtitvijo je treba odvzeti vzorec krvi za nadaljnje serološke preiskave. Na zarodkih se opravi preiskava na virus klasične prašičje kuge, virusni antigen ali genom virusa, skladno s poglavjem VI, zaradi ugotavljanja intrauterine okužbe;

   (b) če so ugotovljeni seropozitivni prašiči svinje s sesnimi mladiči, je treba vsem prašičkom odvzeti vzorce krvi in opraviti preiskavo na virus klasične prašičje kuge, virusni antigen ali genom virusa, skladno s poglavjem VI. Vzorce krvi je treba odvzeti tudi svinjam za nadaljnje serološke preiskave.

7. Če se po opravljeni preiskavi na sumljivem gospodarstvu klinični znaki ali spremembe, značilne za klasično prašičjo kugo, ne ugotovijo, pristojni organ pa meni, da na podlagi teh ugotovitev klasične prašičje kuge ni mogoče izključiti in je zato treba opraviti nadaljnje laboratorijske preiskave, se kot smernice uporabijo postopki vzorčenja iz pododstavka 5.

([1]) V nekaterih primerih, npr. kadar obstaja sum klasične prašičje kuge na gospodarstvu z omejenim številom mladih prašičev, je lahko delež okuženih svinj zelo majhen. V takih primerih je treba vzorčenje opraviti na večjem številu svinj.

▼B

B. **Postopki vzorčenja na gospodarstvu, v primeru usmrtitve prašičev po potrditvi bolezni**

1. Da bi lahko ugotovili, kako je virus klasične prašičje kuge prišel na okuženo gospodarstvo, in določili čas, ki je potekel od njegovega vnosa, je treba ob usmrtitvi prašičev na gospodarstvu, ki sledi potrditvi izbruha skladno s členom 5(1)(a) Direktive 2001/89/ES, prašičem odvzeti naključne vzorce krvi za serološke preiskave.

2. Najmanjše število prašičev za vzorčenje mora omogočati dokazovanje 10 % seroprevalence s 95 % zanesljivostjo v vsaki podenoti na gospodarstvu ([1]).

   Lahko se odvzamejo tudi vzorci za virološke preiskave, skladno z navodili pristojnega organa, ki morajo upoštevati vrste preiskav, ki se lahko izvedejo, občutljivost uporabljenih laboratorijskih preiskav in epidemiološko stanje.

3. Vendar se lahko v primeru sekundarnih izbruhov pristojni organ odloči za odstopanje od pododstavkov 1 in 2, ter zahteva takojšnje postopke vzorčenja, ob upoštevanju razpoložljivih epidemioloških informacij o viru in sredstvu vnosa virusa na gospodarstvo ter o možnosti širjenja bolezni z gospodarstva.

C. **Postopki vzorčenja ob preventivni usmrtitvi prašičev na sumljivem gospodarstvu**

1. Da bi lahko potrdili ali izključili klasično prašičjo kugo in pridobili dodatne epidemiološke podatke, je treba ob preventivni usmrtitvi prašičev na sumljivem gospodarstvu, skladno z določbami člena 4(3)(a) ali člena 7 (2) Direktive 2001/89/ES, odvzeti vzorce krvi za serološke preiskave kakor tudi vzorce krvi ali tonzil za virološke preiskave, skladno s postopkom iz pododstavka 2.

2. Vzorčenje mora zajeti predvsem:

   — prašiče, ki kažejo klinične znake ali pri katerih se ugotovijo patoanatomske spremembe, značilne za klasično prašičjo kugo, in prašiče, ki so bili v stiku s temi prašiči;

   — druge prašiče, ki so morda bili v tveganih stikih z okuženimi ali sumljivimi prašiči, ali ki bi lahko bili kontaminirani z virusom klasične prašičje kuge.

   Tem prašičem je treba odvzeti vzorce skladno z navodili pristojnega organa, ki pri tem upošteva epidemiološko stanje. V tem primeru se kot smernice uporabijo postopki vzorčenja iz drugega, tretjega in četrtega pododstavka spodaj.

   Poleg tega se naključno vzorči prašiče iz vsake podenote gospodarstva ([2]). V tem primeru mora najmanjše število vzorcev za serološke preiskave v zadevni podenoti omogočati ugotavljanje 10 % seroprevalence s 95 % zanesljivostjo.

   Vendar:

   — mora, za plemenske svinje, najmanjše število svinj za vzorčenje omogočati ugotavljanje 5 % seroprevalence s 95 % zanesljivostjo ([3]);

   — je treba v osemenjevalnih središčih odvzeti vzorce krvi vsem merjascem.

   Vrsta vzorcev, odvzetih za virološke preiskave in uporabljena metoda morata biti v skladu z navodili pristojnega organa, ki mora upoštevati

([1]) Vendar se mora, ob uporabi odstopanja iz člena 6(1) Direktive 2001/89/ES, vzorčenje opraviti na podenotah gospodarstva, kjer so bili prašiči pobiti, kar pa ne vpliva na nadaljnje preiskave in vzorčenja, ki se izvedejo na preostalih prašičih na gospodarstvu, kar se izvede skladno z navodili pristojnega organa.

([2]) Vendar, če je pristojni organ omejil uporabo preventivnih usmrtitev na tisti del gospodarstva, kjer so bili prašiči, osumljeni okužbe ali kontaminacije z virusom klasične prašičje kuge, nastanjeni, se, skladno s členom 4(3)(a) Direktive 2001/89/ES, vzorčenje opravi v tistih podenotah gospodarstva, kjer je bil ta ukrep uporabljen, kar pa ne vpliva na nadaljnje preiskave in vzorčenja, ki se izvedejo na preostalih prašičih na gospodarstvu, kar se izvede skladno z navodili pristojnega organa.

([3]) V nekaterih primerih, npr. kadar obstaja sum klasične prašičje kuge na gospodarstvu z manjšim številom mladih prašičev, je lahko delež okuženih svinj zelo majhen. V takih primerih je treba vzorčenje opraviti na večjem številu svinj.

▼B

vrste preiskav, ki se lahko izvedejo, občutljivost teh metod in epidemiološko stanje.

D. **Postopki preverjanja in vzorčenja pred odobritvijo premestitve prašičev iz gospodarstev, ki se nahajajo na zaščitnih ali nadzorovanih območjih, in v primeru zakola ali usmrtitve teh prašičev**

1. Brez vpliva na določbe drugega pododstavka člena 11(1)(f) Direktive 2001/89/ES, da se premestitev prašičev z gospodarstev, ki se nahajajo na zaščitnih ali nadzorovanih območjih lahko odobri skladno s členom 10 (3) navedene direktive, mora biti klinična preiskava, ki jo opravi uradni veterinar:

   — opravljena v 24 urah pred premestitvijo prašičev;

   — skladna z določbami iz A.2.

2. V primeru premestitve prašičev na drugo gospodarstvo je treba, poleg preiskav, ki se izvedejo skladno s pododstavkom 1, opraviti klinično preiskavo na prašičih iz vsake podenote gospodarstva, od koder prihajajo prašiči, ki se premeščajo. Za prašiče, starejše od treh do štirih mesecev, mora ta preiskava vključevati merjenje temperature na ustreznem delu populacije prašičev.

   Najmanjše število pregledanih prašičev v teh podenotah mora omogočati ugotavljanje povišane telesne temperature ob 10 % razširjenosti s 95 % zanesljivostjo.

   Vendar:

   — mora, za plemenske svinje, najmanjše število svinj za preiskavo v podenoti, v kateri so živali, ki se premeščajo, nastanjene, omogočati ugotavljanje povišane telesne temperature ob 5 % razširjenosti s 95 % zanesljivostjo;

   — je treba, za merjasce, preiskavo opraviti na vseh merjascih, ki se premeščajo.

3. V primeru premestitve prašičev v klavnico, predelovalni obrat ali na druga mesta zaradi usmrtitve ali zakola, je treba, poleg poizvedb, ki se izvedejo skladno s pododstavkom 1, opraviti klinično preiskavo na prašičih v vsaki podenoti gospodarstva, v kateri se nahajajo prašiči, ki se premeščajo. Za prašiče, starejše od treh do štirih mesecev, mora ta preiskava vključevati merjenje telesne temperature na ustreznem delu populacije prašičev.

   Najmanjše število prašičev za preiskavo v zadevnih podenotah mora omogočati ugotavljanje povišane telesne temperature ob 20 % razširjenosti s 95 % zanesljivostjo.

   Vendar mora, za plemenske svinje ali merjasce, najmanjše število prašičev za preiskavo v podenoti, v kateri so nastanjeni prašiči, ki se premeščajo, omogočati ugotavljanje povišane telesne temperature ob 5 % razširjenosti s 95 % zanesljivostjo.

4. Ob zakolu ali usmrtitvi prašičev iz pododstavka 3 je treba prašičem iz vsake podenote, iz katere so bili prašiči premeščeni, odvzeti vzorce krvi za serološke preiskave ali vzorce krvi ali tonzil za virološke preiskave.

   Najmanjše število odvzetih vzorcev v vsaki podenoti mora omogočati ugotavljanje 10 % seroprevalence ali razširjenosti virusa s 95 % zanesljivostjo.

   Vendar mora, za plemenske svinje ali merjasce v podenoti, v kateri so bili nastanjeni prašiči, najmanjše število vzorčenih živali omogočati dokazovanje 5 % seroprevalence ali razširjenosti virusa s 95 % zanesljivostjo.

   Vrsta odvzetih vzorcev in uporabljena testna metoda morata biti v skladu z navodili pristojnega organa, ki mora upoštevati vrste preiskav, ki se lahko izvedejo, občutljivost teh metod in epidemiološko stanje.

5. Vendar, če se ob usmrtitvi ali zakolu prašičev ugotovijo klinični znaki ali patoanatomske spremembe, značilne za klasično prašičjo kugo, se, kot odstopanje od pododstavka 4, za vzorčenje uporabijo določbe iz C.

▼B

E. **Postopki preverjanja in vzorčenja na gospodarstvu ob ponovnem vnosu živali**

1. Ob ponovnem vnosu prašičev na gospodarstvo, skladno s členom 13(2) (a) ali (2)(b) ali točko (b) drugega pododstavka člena 19(8) Direktive 2001/89/ES, se uporabijo naslednji postopki:

   — v primeru vnosa poskusnih prašičev je treba v vsaki podenoti gospodarstva odvzeti vzorce krvi za serološke preiskave tolikšnemu številu naključno izbranih živali, ki omogoča ugotavljanje, 10 % seroprevalence s 95 % zanesljivostjo;

   — v primeru popolne obnove populacije je treba v vsaki podenoti gospodarstva odvzeti vzorce krvi za serološke preiskave tolikšnemu številu naključno izbranih živali, da je možno ugotavljanje 20 % seroprevalence s 95 % zanesljivostjo.

   Vendar mora, za plemenske svinje ali merjasce, najmanjše število odvzetih vzorcev omogočati dokazovanje 10 % seroprevalence s 95 % zanesljivostjo.

2. Po ponovnem vnosu prašičev pristojni organ zagotovi, da se, v primeru kakršne koli bolezni ali pogina prašičev na gospodarstvu iz neznanih razlogov, na zadevnih prašičih takoj opravijo preiskave na klasično prašičjo kugo. Te določbe se uporabljajo do odprave omejitev iz drugega pododstavka člena 13(2)(a) in drugega stavka točke (b) drugega pododstavka člena 19(8) Direktive 2001/89/ES na zadevnem gospodarstvu.

F. **Postopki vzorčenja na gospodarstvih na zaščitnem območju pred odpravo omejitev**

1. Da bi na zaščitnem območju lahko odpravili ukrepe iz člena 10 Direktive 2001/89/ES, je treba na vseh gospodarstvih na zadevnem območju:

   — opraviti klinične preiskave skladno s postopki iz A.2 in 3;

   — odvzeti vzorce krvi za serološke preiskave, skladno s pododstavkom 2.

2. Najmanjše število odvzetih vzorcev mora pri prašičih v vsaki podenoti na gospodarstvu omogočati dokazovanje 10 % seroprevalence s 95 % zanesljivostjo.

   Vendar:

   — mora, za plemenske svinje, najmanjše število odvzetih vzorcev omogočati dokazovanje 5 % seroprevalence s 95 % zanesljivostjo;

   — je treba v osemenjevalnih središčih odvzeti vzorce krvi vsem merjascem.

G. **Postopki vzorčenja na gospodarstvih na nadzorovanem območju pred odpravo omejitev**

1. Da bi na zavarovanem območju lahko odpravili ukrepe iz člena 11 Direktive 2001/89/ES, je treba na vseh gospodarstvih na zadevnem območju opraviti klinične preiskave skladno s postopki iz A.2.

   Poleg tega je treba prašičem odvzeti vzorce krvi za serološke preiskave:

   — na vseh gospodarstvih, kjer ni prašičev starih od dveh do osmih mesecev;

   — kadarkoli pristojni organ meni, da obstaja možnost, da se je klasična prašičja kuga neopaženo razširila med plemenske svinje;

   — na katerem koli drugem gospodarstvu, za katerega pristojni organ meni, da je vzorčenje potrebno;

   — v vseh osemenjevalnih središčih.

2. Kadarkoli se na gospodarstvih na nadzorovanem območju opravi odvzem vzorcev za serološke preiskave, mora biti število odvzetih vzorcev na teh gospodarstvih skladno z F.2. Vendar se lahko, če pristojni organ meni, da obstaja možnost, da se je klasična prašičja kuga razširila med plemenske svinje, vzorčenje izvede samo v tistih podenotah, kjer so te živali nastanjene.

▼B

H. **Postopki serološkega spremljanja in vzorčenja na območjih, kjer obstaja sum prisotnosti klasične prašičje kuge ali kjer je ta potrjena pri divjih prašičih**

1. Za serološko spremljanje divjih prašičev na območjih, kjer je klasična prašičja kuga potrjena ali kjer obstaja sum o njeni prisotnosti, je treba predhodno opredeliti velikost in geografsko območje ciljne populacije, na kateri se izvaja vzorčenje, da bi ugotovili število vzorcev za odvzem. Velikost vzorca se določi glede na ocenjeno število živih živali in ne glede na število ustreljenih živali.

2. Če ni razpoložljivih podatkov o gostoti in velikosti populacije, je treba geografsko območje vzorčenja opredeliti ob upoštevanju stalne prisotnosti divjih prašičev in prisotnosti naravnih ali umetnih ovir, ki učinkovito preprečujejo velike in nenehne premike živali. V odsotnosti takih razmer, ali za večja območja, je priporočljivo, da se območje vzorčenja omeji na 200 $km^2$, kjer navadno živi populacija 400 do 1 000 divjih prašičev.

3. Najmanjše število prašičev za odvzem vzorcev na opredeljenem območju vzorčenja mora omogočati dokazovanje 5 % seroprevalence s 95 % zanesljivostjo, kar pa ne vpliva na določbe člena 15(2)(c) Direktive 2001/89/ES. V ta namen je treba odvzeti vzorce najmanj 59 živalim na vsakem opredeljenem območju.

   Priporoča se tudi, da:

   — spada, na območjih, kjer se lov pogosto in redno izvaja, ali kjer se izvaja selektivni lov kot sredstvo za nadzor bolezni, približno 50 % vzorčenih živali v starostno skupino treh mesecev do enega leta, 35 % v starostno skupino enega do dveh let in 15 % v starostno skupino živali, starejših od 2 let;

   — se, na območjih, kjer se lov izvaja le redko ali nikoli, vzorčenje izvede na najmanj 32 živalih iz vsake od treh navedenih starostnih skupin;

   — se vzorčenje izvede v kratkem času, po možnosti v največ enem mesecu;

   — se starost živali v vzorcu opredeli glede rast zob.

4. Odvzem vzorcev za virološke preiskave ustreljenim divjim prašičem ali živalim, ki so bile najdene mrtve, je treba izvesti skladno s točko B.1 poglavja V.

   Kadar se zdi, da je potrebno virološko spremljanje ustreljenih divjih prašičev, se mora le-to izvajati predvsem na živalih v starosti treh mesecev do enega leta.

5. Vsi vzorci, ki se pošljejo v laboratorij, morajo biti opremljeni z vprašalnikom iz člena 16(3)(1) Direktive 2001/89/ES.

POGLAVJE V

***Splošni postopki in merila za odvzem in prenos vzorcev***

A. **Splošni postopki in merila**

1. Preden se izvede vzorčenje na sumljivem gospodarstvu, je treba pripraviti načrt gospodarstva in opredeliti epidemiološke podenote gospodarstva.

2. Kadar se oceni, da bo morda potrebno ponovno vzorčenje prašičev, je treba vse živali za vzorčenje označiti na način, ki omogoča enostavno ponovno vzorčenje.

3. Brez poseganja v poglavje IV A.5.b se vzorčenje za serološke preiskave se ne sme izvajati na prašičkih, mlajših od osem tednov.

4. Vse vzorce je treba poslati v laboratorij z ustreznimi obrazci, skladno z zahtevami, ki jih predpiše pristojni organ. Ti obrazci vključujejo podatke o časovnem razvoju sprememb v zdravstvenem stanju vzorčenih prašičev in opažene klinične znake ali patoanatomske spremembe.

   Za prašiče, ki so nastanjeni na gospodarstvih, je treba predložiti jasne podatke o starosti, kategoriji in gospodarstvu izvora vzorčenih prašičev. Priporoča se, da se mesto nastanitve vsakega vzorčenega prašiča na gospodarstvu zabeleži skupaj z njegovo edinstveno identifikacijsko oznako.

▼B

B. **Odvzem vzorcev za virološke preiskave**

1. Za ugotavljanje virusa klasične prašičje kuge, antigena ali genoma pri mrtvih ali usmrčenih prašičih, so najprimernejši vzorci tkiva tonzil, vranice, in ledvic. Poleg tega se priporoča odvzem dveh vzorcev drugih limfatičnih tkiv, kakor so retrofaringealni, parotidni, mandibularni ali mezentrialni limfni vozliči (bezgavke) in vzorec ileuma. V primeru razpadajočih kadavrov je najprimernejši vzorec celotna dolga kost ali grodnica.

2. Vzorce nekoagulirane krvi ali strjene krvi je treba odvzeti prašičem s povišano telesno temperaturo ali drugimi simptomi bolezni, skladno z navodili pristojnega organa.

3. Za bolne živali se priporočajo virološke preiskave. Njihova vrednost je navadno omejena, kadar se uporabljajo za spremljanje zdravstvenega stanja živali, ki ne kažejo kliničnih znakov. Vendar, če je namen obsežnega vzorčenja, da se odkrije virus klasične prašičje kuge pri prašičih, ki so v inkubacijskem obdobju, so najprimernejši vzorci tonzile.

C. **Prenos vzorcev**

1. Priporoča se, da se vsi vzorci:

   — prenašajo in hranijo v neprepustnih posodah;

   — ne zamrznejo, ampak se hranijo ohlajeni na temperaturo hladilnika;

   — kar najhitreje dostavijo v laboratorij;

   — hranijo v embalaži, kjer se za vzdrževanje nizke temperature uporabijo hladilni vložki namesto mokrega ledu;

   — tkiva ali organov shranijo v ločenih zapečatenih plastičnih in ustrezno označenih vrečah. Te se nato shranijo v večje, robustne zunanje posode in obložijo z ustrezno količino vpojnega materiala za zaščito pred poškodbami in za vpijanje uhajajočih tekočin;

   — kadarkoli je le mogoče, odpeljejo neposredno v laboratorij s strani strokovnega osebja, da se zagotovi hiter in zanesljiv prevoz.

2. Zunanjost pošiljke mora biti opremljena z naslovom namembnega laboratorija in naslednjim besedilom, ki mora biti dobro vidno: Patološki material živalskega izvora; Pokvarljivo; Lomljivo; Ne odpirati izven laboratorija za klasično prašičjo kugo.

3. O času in načinu prispetja vzorcev je treba predhodno obvestiti namembni laboratorij.

4. Za zračni prevoz vzorcev v referenčni laboratorij Skupnosti za klasično prašičjo kugo ([1]) iz držav članic razen Nemčije ali iz tretjih držav je treba paket opremiti z nalepkami skladno s predpisi IATA.

POGLAVJE VI

***Načela in uporaba viroloških preiskav in ocenjevanje rezultatov***

A. **Dokazovanje virusnega antigena**

1. *Test s fluorescenčnimi protitelesi (FAT)*

   Preizkus temelji na dokazovanju virusnega antigena na tankih rezinah tkiv organov prašičev, osumljenih okužbe z virusom klasične prašičje kuge. Antigen v celicah se nato dokazuje s protitelesi, konjugiranimi s FITC. Pozitivni rezultat je treba potrditi s ponovitvijo barvanja tkiva s specifičnimi monoklonskimi protitelesi.

   Primerni organi so tonzile, ledvice, vranica, različne bezgavke in ileum. V primeru preiskave vzorcev divjih prašičev se lahko, če navedeni organi niso razpoložljivi ali če razpadajo, uporabi tudi razmaz celic kostnega mozga.

   Preizkus se lahko opravi v enem dnevu. Ker se lahko vzorci organov pridobijo samo od mrtvih živali, je njegova uporaba za namene spremljanja okužbe omejena. Zanesljivost rezultatov preizkusa je lahko omejena zaradi dvomljivega barvanja, zlasti v primeru pomanjkanja

([1]) Referenčni laboratorij Skupnosti ima neomejeno dovoljenje za sprejem diagnostičnih vzorcev in izolatov virusa klasične prašičje kuge. Od tega laboratorija se pred prevozom lahko zahteva kopija uvoznega dovoljenja in se priloži v ovojnici, ki se pritrdi na zunanjo stran embalaže.

▼B

potrebnih izkušenj pri izvedbi in ocenjevanju rezultatov testa ali če se test izvaja na razpadajočih organih.

2. *Test ELISA za dokazovanje antigena*

Virusni antigen se dokazuje z uporabo različnih izvedb testa ELISA. Občutljivost testa ELISA za dokazovanje antigena mora biti vsaj tolikšna, da zagotavlja pozitiven rezultat pri živalih, ki kažejo klinične znake klasične prašičje kuge.

Uporaba testa ELISA za dokazovanje antigena se priporoča za vzorce, pridobljene od živali s klasičnimi kliničnimi znaki ali patoanatomskimi spremembami, značilnimi za bolezen. Za preiskovanje posamičnih živali ni primeren. Primerni vzorci so levkociti, serum, nekoagulirana kri ter suspenzije, pripravljene iz tkiv organov iz pododstavka 1, pridobljenih od prašičev, osumljenih okužbe z virusom klasične prašičje kuge ([1]).

Test ELISA se lahko izvede v enem dnevu in se lahko opravi z avtomatizirano opremo. Največja prednost metode je, da je lahko v kratkem času obdelano veliko število vzorcev. Priporoča se uporaba testov ELISA za dokazovanje antigena, ki dajejo zadovoljive rezultate na referenčnem materialu. Vendar so trenutno vsi komercialni testi ELISA manj občutljivi od metode izolacije virusa na celični kulturi, njihova občutljivost pa je bistveno višja pri vzorcih krvi prašičkov kot pri vzorcih krvi odraslih prašičev.

B. **Izolacija virusa**

1. Izolacija virusa temelji na nasajanju vzorčnega materiala na dovzetne celične kulture tkiv prašičjega izvora. Če je v vzorcu prisoten virus klasične prašičje kuge, se bo v celicah namnožil do količine, ki jo je mogoče zaznati z imunskim barvanjem okuženih celic s konjugiranimi protitelesi. Za razlikovanje od drugih pestivirusov so potrebna protitelesa, specifična za virus klasične prašičje kuge.

2. Najprimernejši vzorci za izolacijo virusa klasične prašičje kuge so levkociti, ali plazma, pridobljena iz vzorcev nekoagulirane krvi ali organov iz A.1, ali polna kri.

3. Izolacija virusa je kot metoda najbolj primerna za preiskovanje vzorcev majhnega števila živali in ne za množični nadzor. Postopek izolacije virusa zahteva veliko dela, rezultati pa so v najboljšem primeru znani po treh dneh od začetka preiskave. Za ugotovitev majhne količine virusa v vzorcu sta lahko potrebni še dve nadaljnji pasaži na celičnih kulturah. Zaradi tega lahko traja preiskava do 10 dni, preden je znan končni rezultat. Razpadajoči vzorci so lahko citotoksični za celično kulturo in posledično omejijo uporabnost metode.

4. Priporoča se, da se izolacija virusa opravi tudi v primeru predhodne potrditve klasične prašičje kuge z drugimi metodami. Kot referenčna metoda se izolacija virusa uporablja za potrditev pozitivnih rezultatov predhodno opravljenih testov – bodisi testa ELISA za dokazovanje virusnega antigena, metode PCR, metode FAT ali posrednih metod s peroksidaznim barvanjem.

Tako pridobljeni izolati virusa klasične prašičje kuge so uporabni za ugotavljanje lastnosti virusa vključno z genotipizacijo in molekularno epidemiologijo.

5. Vsi izolati virusa klasične prašičje kuge iz vseh primarnih izbruhov, primarnih primerov pri divjih prašičih ali primerov v klavnicah ali med transportom, morajo biti, skladno z določili iz E, genotipizirani v nacionalnih referenčnih laboratorijih držav članicah ali v katerem koli drugem laboratoriju, ki ga odobri zadevna država članica, ali v referenčnem laboratoriju Skupnosti.

V vsakem primeru je trebe te izolate virusa takoj poslati v referenčni laboratorij Skupnosti za zbiranje vzorcev.

C. **Dokazovanje virusnega genoma**

1. Za dokazovanje virusnega genoma v vzorcih krvi, tkiv ali organov se uporablja metoda verižne reakcije s polimerazo (PCR). Majhni odseki virusne RNK se prevedejo v odseke DNK, ti pa se s PCR namnožijo do zaznavnih količin. Ker ta test ugotavlja zgolj genomsko sekvenco

([1]) Na trgu je več testov ELISA za ugotavljanje antigenov virusa klasične prašičje kuge, ki so preizkušene z različnimi tipi vzorcev.

▼B

(zaporedje nukleotidov) virusa, je lahko rezultat PCR pozitiven kljub temu, da v vzorcu ni kužnega virusa (npr. pri vzorcih razpadajočih tkivih ali vzorcih, pridobljenih od okrevajočih prašičev).

2. PCR se lahko uporabi na majhnem številu pazljivo izbranih vzorcev, pridobljenih od sumljivih živali ali na materialu abortiranih plodov. Pri trupih divjih merjascev, kjer material razpada, izolacija virusa pa zaradi citotoksičnosti ni več mogoča, je to lahko najustreznejša metoda.

3. Material, primeren za diagnostično PCR so organi, opisani pri izolaciji virusa, ali nestrjena kri.

4. PCR se lahko izvede v 48 urah. Metoda zahteva ustrezno laboratorijsko opremo, ločene prostore in usposobljeno osebje. Prednost metode je v tem, da namnoževanje kužnih delcev virusa v laboratoriju ni potrebno. Metoda je izredno občutljiva, vendar lahko zaradi velike možnosti kontaminacije zlahka pride do lažno pozitivnih rezultatov. Zato so bistvenega pomena strogi postopki preverjanja kakovosti izvajanja postopka. Nekatere izvedbe metode so specifične zgolj za pestiviruse in zahtevajo za dokazovanje virusa klasične prašičje kuge nadaljnje potrditvene teste, na primer določanje nukleotidnega zaporedja DNK, namnožene med PCR.

D. **Ocenjevanje rezultatov virooloških preiskav**

1. Virološke preiskave so bistvene za potrditev klasične prašičje kuge.

   Izolacija virusa velja za referenčno virološko preiskavo in se po potrebi uporablja kot potrditveni preizkus. Njena uporaba se zlasti priporoča v primeru, ko pozitivni rezultati preizkusov FAT, ELISA ali PCR niso povezani z ugotovitvijo ustreznih kliničnih znakov ali sprememb, značilnih za bolezen, kakor tudi v vseh drugih dvomljivih primerih.

   Vendar pa se primarni izbruh klasične prašičje kuge lahko potrdi, če se pri zadevnih prašičih ugotovijo klinični znaki ali spremembe, značilne za bolezen, in je bil izvid pri vsaj dveh testih za dokazovanje virusnega antigena ali genoma pozitiven.

   Sekundarni izbruh klasične prašičje kuge se lahko potrdi, če se, poleg epidemiološke povezave s potrjenim izbruhom ali primerom bolezni, pri zadevnih prašičih ugotovijo klinični znaki ali patoanatomske spremembe, značilne za bolezen, in je bil izvid testa za dokazovanje virusnega antigena ali genoma pozitiven.

   Primarni izbruh klasične prašičje kuge pri divjih prašičih se lahko potrdi po izolaciji virusa ali če je bil rezultat pri vsaj dveh testih za dokazovanje virusnega antigena ali genoma pozitiven. Nadaljnji primeri klasične prašičje kuge pri divjih prašičih, za katere je bila ugotovljena epidemiološka povezava s predhodno potrjenimi primeri, se lahko potrdi s pozitivnim rezultatom testa za dokazovanje virusnega antigena ali genoma.

2. Kot pozitivne na klasično prašičjo kugo lahko ovrednotimo rezultate tistih testov za dokazovanje virusnega genoma ali antigena, ki uporabljajo protitelesa ali PCR primerje (začetna zaporedja nukleotidov), specifične za virus klasične prašičje kuge. Če uporabljeni test ni specifičen na virus klasične prašičje kuge, ampak je specifičen zgolj za pestiviruse, je treba preiskavo ponoviti z uporabo reagentov, specifičnih za klasično prašičjo kugo.

E. **Genotipizacija izolatov virusa klasične prašičje kuge**

1. Genotipizacija izolatov virusa klasične prašičje kuge se izvaja z določanjem zaporedja nukleotidov posameznih delov virusnega genoma, in sicer posebnih delov 5' nekodirajočega področja in/ali gena za glikoprotein E2. Primerjava teh zaporedij z istovetnimi že znanimi zaporedji predhodno pridobljenih virusnih izolatov lahko pokaže, ali so izbruhe bolezni povzročili novi ali že znani sevi, ali ne. S tem se lahko potrdi ali ovrže hipotezo o poteh prenosa, predvidenih predhodno z epidemiološkim sledenjem.

   Genotipizacija izolatov virusa klasične prašičje kuge je bistvenega pomena za določitev vira bolezni. Vendar pa velika podobnost med virusi, izoliranimi med različnimi izbruhi, ni absolutni dokaz neposredne epidemiološke povezave.

2. Če tipizacije virusa ni mogoče v kratkem času opraviti v nacionalnem laboratoriju ali v katerem koli laboratoriju, pooblaščenem za postavljanje diagnoze klasične prašičje kuge, je treba prvotni vzorec ali izolat virusa čim prej poslati v tipizacijo v referenčni laboratorij Skupnosti.

▼B

Podatke o tipizaciji in določenem nukleotidnim zaporedjem izolatov virusa klasične prašičje kuge, s katerimi razpolagajo pooblaščeni laboratoriji za ugotavljanje klasične prašičje kuge, je treba posredovati referenčnemu laboratoriju Skupnosti zaradi vnosa teh podatkov v podatkovno bazo tega laboratorija.

Podatki iz te podatkovne baze morajo biti dostopni vsem nacionalnim referenčnim laboratorijem v državah članicah. Vendar pa, zaradi objav v znanstvenih revijah, referenčni laboratorij Skupnosti na zahtevo zadevnega laboratorija zagotovi zaupnost teh podatkov do njihove objave.

POGLAVJE VII

***Načela in uporaba seroloških preiskav in ocenjevanje rezultatov***

A. **Osnovna načela in diagnostična vrednost**

1. Običajno se lahko pri prašičih, okuženih z virusom klasične prašičje kuge, ugotavljajo protitelesa v serumskih vzorcih po dveh do treh tednih okužbe. Pri prašičih, ki so okrevali po bolezni, se lahko zaščitna nevtralizacijska protitelesa dokažejo več let ali celo vse življenje. Protitelesa se občasno lahko ugotovijo tudi v končnem stadiju pri na smrt bolnih živalih. Pri nekaterih prašičih s kronično obliko klasične prašičje kuge je ugotavljanje protiteles možno le nekaj dni ob koncu prvega meseca po okužbi.

   Prašiči, ki se okužijo v maternici, so lahko imunotolerantni na homologne seve virusa klasične prašičje kuge in ne tvorijo specifičnih protiteles. Vendar pa je v prvih dneh po rojstvu mogoče ugotoviti maternalna protitelesa, torej protitelesa, ki izvirajo od matere. Razpolovna doba maternalnih protiteles pri neviremičnih zdravih prašičkih je približno dva tedna. Za protitelesa na klasično prašičjo kugo, ugotovljena pri prašičkih, starejših od treh mesecev, je zelo malo verjetno, da izvirajo od matere.

2. Dokazovanje protiteles na virus klasične prašičje kuge v vzorcih seruma ali plazme se izvaja zaradi lažjega postavljanja diagnoze klasične prašičje kuge na sumljivih gospodarstvih, za določanje trajanja okužbe v primeru potrjenega izbruha ter za namene spremljanja in nadzorovanja bolezni. Vendar pa imajo serološke preiskave omejeno vrednost pri zgodnjem dokazovanju klasične prašičje kuge v primeru nedavne okužbe na gospodarstvu.

   Nekaj seropozitivnih prašičev z nizkim nevtralizacijskim titrom je lahko znak nedavne okužbe (dva do štiri tedne). Če ima veliko prašičev visok nevtralizacijski titer, je to lahko znak, da se je virus pojavil na gospodarstvu pred več kot enim mesecem. Opredelitev lokacije seropozitivnih prašičev na gospodarstvu lahko poda dragocene informacije o tem, kako je bil virus klasične prašičje kuge vnesen na gospodarstvo.

   Vendar pa je treba v okviru preiskave, ki se izvede v primeru suma ali potrditve klasične prašičje kuge, skladno s členom 8 Direktive 2001/89/ES, izdelati natančno oceno rezultatov seroloških preiskav, upoštevajoč vse klinične, virološke in epidemiološke ugotovitve.

B. **Priporočene serološke preiskave**

1. Najprimernejši metodi za serološko diagnozo klasične prašičje kuge sta test nevtralizacije virusa ali virus-nevtralizacijski test (VNT) in test ELISA.

   Kakovost in učinkovitost serološke diagnostike, ki jo postavijo nacionalni laboratoriji, je treba redno preverjati v okviru medlaboratorijske kontrole ali primerjalnega preizkušanja laboratorijev, ki ga organizira referenčni laboratorij Skupnosti.

2. Preizkus VNT temelji na ugotavljanju virusno nevtralizacijske aktivnosti protiteles v vzorcu seruma, ki se izrazi kot ND 50 (nevtralizacijska doza 50 oz. tisto redčenje seruma v VNT, ki še preprečuje razmnoževanje virusa v 50 % nacepljenih celičnih kultur).

   Stalna količina virusa klasične prašičje kuge se inkubira pri 37 °C z redčenji seruma. Za namene spremljanja serološkega stanja se serumi na začetku redčijo v razmerju 1/10. Kadar je potrebna popolna titracija, se pripravijo dvojna redčenja seruma, začenši z redčenjem 1/2 ali 1/5. Vsakemu redčenju seruma se doda enaka količina virusne suspenzije, ki vsebuje 100 infekcijskih odmerkov (TCID 50).

▼B

Po inkubaciji se mešanica nasadi na celične kulture, ki se inkubirajo tri do pet dni. Po tem inkubacijskem obdobju se kulture fiksirajo, vsako morebitno razmnoževanje virusa v okuženih celicah pa se ugotovi s pomočjo imunološkega označevanja. Uporabi se lahko bodisi nevtralizacijski test s protitelesi, konjugiranimi s peroksidazo, bodisi nevtralizacijski imunofluorescenčni test (NIF).

Rezultati preizkusa VNT se izrazijo kot recipročna vrednost tistega redčenja seruma, pri kateri pri polovici nasajenih celičnih kultur (ND 50) ne pride do razmnoževanje virusa (ni specifičnega imunološkega označevanja). Z oceno se opredeli točka med dvema redčenjema. Končno redčenje predstavlja dejansko redčenje seruma med nevtralizacijsko reakcijo, t.j. po dodajanju virusa, vendar pred dodajanjem celične suspenzije.

3. VNT je najbolj občutljiv in najzanesljivejši preizkus za ugotavljanje protiteles proti virusu klasične prašičje kuge. Zato se ta metoda priporoča za serološke preiskave posamičnih živali kakor tudi za preiskave na ravni črede. Vendar pa je s tem testom mogoče zaznati navzkrižno reagirajoča nevtralizacijska protitelesa, ki se pri prašičih oblikujejo zaradi okužb s pestivirusi prežvekovalcev.

   Za preizkuse VNT za dokazovanje protiteles proti virusu BVD in BD veljajo enaka, zgoraj navedena načela, izvajajo pa se zaradi diferencialne diagnoze klasične prašičje kuge.

4. V nevtralizacijskih testih se uporabljajo sevi pestivirusov, ki jih priporoča referenčni laboratorij Skupnosti.

5. Obstaja več metod za test ELISA z uporabo monoklonskih protiteles, ki temeljijo na dveh osnovnih oblikah: kompetitivni ali „blocking“ test ELISA in indirektni test ELISA.

   Kompetitivni test ELISA je običajno zasnovan na monoklonskih protitelesih. Če serumski vzorec vsebuje protitelesa proti virus klasične prašičje kuge, ta protitelesa onemogočajo vezavo izbranega monoklonskega protitelesa, konjugiranega s peroksidazo, na antigene virusa, kar povzroči zmanjšanje signala v testu.

   Pri indirektnem testu ELISA se vezava serumskih protiteles na antigen meri neposredno s protitelesi proti prašičjim imunoglobulinom, konjugiranimi s peroksidazo.

6. Nacionalni laboratoriji morajo občutljivost in specifičnost vsake serije testa ELISA redno preverjati z uporabo izbora referenčnih serumov, ki ga zagotovi referenčni laboratorij Skupnosti. Ta izbor vključuje:

   — serume prašičev v zgodnjem stadiju okužbe z virusom klasične prašičje kuge (pred 21. dnevom po okužbi);

   — serume okrevajočih prašičev (po 21. dnevu po okužbi);

   — serume prašičev, okuženih s pestivirusi prežvekovalcev.

   Test ELISA, ki naj bi se uporabljal v serološki diagnostiki klasične prašičje kuge, mora prepoznati vse referenčne serume, pridobljene od okrevajočih prašičev. Vsi rezultati testa, ki se nanašajo na referenčne serume, morajo biti ponovljivi. Nadalje je priporočljivo, da zaznajo vse pozitivne serume iz zgodnjega stadija bolezni in da ne prikažejo navzkrižnih reakcij s serumi, pridobljenimi od prašičev, okuženih s pestivirusi prežvekovalcev.

   Rezultati, ki se nanašajo na referenčne serume, pridobljene od prašičev v zgodnjem stadiju okužbe, so pokazatelj občutljivosti testa ELISA.

7. Velja, da je občutljivost testa ELISA manjša od tiste pri VNT, in se zato priporoča kot test za preverjanje prisotnosti okužbe na nivoju črede. Vendar pa test ELISA zahteva manj specializirane opreme in se, po zaslugi avtomatiziranih sistemov, lahko izvede veliko hitreje kot VNT.

   Preizkus ELISA mora zagotoviti identifikacijo vseh okužb s klasično prašičjo kugo v stadiju okrevanja, navzkrižne reakcije s protitelesi proti pestivirusom prežvekovalcev pa naj bi vplivale na rezultate testa v čim manjši možni meri.

C. **Ocenjevanje rezultatov seroloških preiskav in razlikovanje od okužb s pestivirusi prežvekovalcev (BVDV in BDV)**

1. Brez vpliva na določbe člena 4(3)(a) ali člena 7(2) Direktive 2001/89/ES se v primeru, ko se v serumskih vzorcih, odvzetih enemu ali več

▼B

prašičem, ugotovi pri nevtralizaciji virusa klasične prašičje kuge titer nevtralizacijskih protiteles, enak ali večji od 10 ND 50, ali v primeru pozitivnega rezultata testa ELISA pri serumskih vzorcih, pridobljenih od skupine prašičev, se na zadevnem gospodarstvu takoj uporabijo ali se še naprej uporabljajo ukrepi iz člena 4(2) Direktive 2001/89/ES.

Predhodno odvzete vzorce prašičev s tega gospodarstva je treba ponovno preizkusiti z VNT s primerjalno titracijo nevtralizacijskih protiteles proti virusu klasične prašičje kuge in proti pestivirusom prežvekovalcev.

2. Če primerjalni preizkusi ugotovijo protitelesa proti pestivirusom prežvekovalcev in odsotnost ali očitno nižje titre (manj kot trikratne) protiteles proti virusu klasične prašičje kuge, se možnost klasične prašičje kuge lahko izključi, razen če obstajajo drugi razlogi za nadaljnjo uporabo ukrepov iz člena 4(2) Direktive 2001/89/ES na zadevnem gospodarstvu.

3. Če primerjalni preizkusi pri več kot enem prašiču pokažejo titer nevtralizacijskih protiteles, enak ali večji od 10 ND 50, in je ta titer enak ali večji od titrov na druge pestiviruse, pristojni organ zagotovi potrditev klasične prašičje kuge, pod pogojem, da obstajajo epidemiološki dokazi za prisotnost bolezni na zadevnem gospodarstvu.

4. Brez vpliva na določbe člena 4(3) Direktive 2001/89/ES, če ne obstajajo epidemiološki dokazi za bolezen ali v primeru dvomljivih rezultatov opravljenih preiskav, pristojni organ zagotovi, da se na zadevnem gospodarstvu:

   — še naprej uporabljajo ukrepi iz člena 4(2) Direktive 2001/89/ES;

   — čim prej opravijo nadaljnje preiskave, da se potrdi ali izključi klasična prašičja kuga, skladno s poglavjem IV.

5. Če pa nadaljnji pregledi in preizkusi iz pododstavka 4 ne omogočajo potrditve ali izključitve klasične prašičje kuge, se na gospodarstvu po preteku vsaj dveh tednov od prejšnjih preverjanj odvzamejo nadaljnji vzorci krvi za serološke preiskave.

   V okviru tega nadaljnjega odvzema vzorcev se prašičem, na katerih je bilo vzorčenje in preizkušanje že opravljeno, ponovno odvzamejo vzorci za primerjalne serološke preiskave s predhodno odvzetimi vzorci zaradi odkrivanja morebitne serokonverzije (porasta titra specifičnih protiteles) na virus klasične prašičje kuge ali na pestiviruse prežvekovalcev.

   Če ta nadaljnja preverjanja in preiskave ne omogočijo potrditve klasične prašičje kuge, se ukrepi iz člena 4 Direktive 2001/89/ES odpravijo.

▼M1

POGLAVJE VIII

***Potrditveni test v primeru cepljenja v nujnih primerih***

A. **Osnovna načela**

1. Potrditveni serološki test ELISA (potrditveni test) se uporablja za uspešno razločevanje prašičev, ki so bili cepljeni z markirnimi cepivi, ki povzročijo nastanek protiteles le proti glikoproteinu E2 virusa klasične prašičje kuge, od prašičev, ki so bili okuženi z divjim tipom virusa klasične prašičje kuge. Ta test je namenjen odkrivanju protiteles proti glikoproteinu $E^{rns}$ virusa klasične prašičje kuge. Osnovan je na načelu, da neokužene živali, cepljene z markirnimi cepivi, proizvajajo le protitelesa proti glikoproteinu E2 virusa klasične prašičje kuge, medtem ko živali, okužene z divjim virusom, reagirajo tudi na druge virusne antigene in proizvajajo protitelesa tudi proti njim.

   Ta potrditveni test je občutljiv in specifičen [1]. Vendar pa bodo tudi prašiči, okuženi s pestivirusi razen virusa klasične prašičje kuge, kakršna sta virusa BVD (bovine virusne diareje) in BB (Borderske bolezni), reagirali pozitivno na $E^{rns}$. Poleg tega občutljivost testa ni idealna, saj je mogoče, da nekatere živali, ki so bile cepljene z markirnim cepivom in nato okužene, ne reagirajo pozitivno na $E^{rns}$.

   Trenutno razpoložljivi podatki kažejo, da se potrditveni test ne more zanesljivo uporabljati za testiranje vzorcev serumov divjih prašičev.

[1] V skladu z rezultati študije, ki so jo opravili referenčni laboratorij Skupnosti za klasično prašičjo kugo in nacionalni laboratoriji za klasično prašičjo kugo, je občutljivost potrditvenega testa okoli 94 % in specifičnost okoli 98 %.

▼M1

2. Potrditveni test je bloking encimsko-imunski preskus za določanje protiteles v tekoči fazi. Vzorci, ki se testirajo, se inkubirajo na mikroploščah, prevlečenih z monoklonskimi protitelesi proti $E^{rns}$, skupaj z določeno količino antigena $E^{rns}$. Vsako protitelo, specifično za $E^{rns}$, se veže z določeno količino antigena $E^{rns}$ v raztopini in tako se oblikuje kompleks antigen – protitelo, ki ne reagira s protitelesi proti $E^{rns}$ na mikroplošči. Potem ko se plošče sperejo, zato, da se odstrani nevezan material, se doda konjugat proti $E^{rns}$, označen s peroksidazo, ki se veže na antigen $E^{rns}$ vezan v kompleksu s protitelesom na površini mikroplošče. Nevezani konjugat se odstrani s spiranjem, nato se doda substrat s kromogenom. Stopnja obarvanosti, ki se razvije je obratno sorazmerna s količino protitelesa, specifičnega za $E^{rns}$ v vzorcu. Če vzorec ne vsebuje protiteles (negativen vzorec), se večji del antigena $E^{rns}$, ki je bil dodan, lahko veže na protitelesa proti $E^{rns}$ na plošči in opazimo močno barvno reakcijo.

   Rezultat se dobi s primerjavo optične gostote (OD) v jamicah, ki vsebujejo vzorce, ki jih testiramo in tistih jamic, ki vsebujejo negativne in pozitivne kontrole.

B. **Smernice za uporabo potrditvenega testa v okviru cepljenja v nujnih primerih z markirnim cepivom, na gospodarstvih s prašiči, v okviru člena 19 Direktive 2001/89/ES**

Potrditveni test je namenjen dokazovanju prisotnosti ali odsotnosti virusa klasične prašičje kuge v populaciji, cepljeni z markirnim cepivom. Razpoložljivi podatki kažejo, da ga je v navedeni namen mogoče uporabljati za črede, vendar pa ne more zanesljivo izključiti možnosti, da niso posamezni prašiči okuženi z virusom klasične prašičje kuge. Zlasti pa specifičnost potrditvenega testa lahko ne bi bila dovolj za zanesljivo razločevanje prašičev, cepljenih z markirnih cepivom, od okuženih prašičev, v primeru cepljenja odraslih prašičev. V primeru sumljivih rezultatov pa je treba zadevne prašiče zaklati ali pokončati na human način v skladu z Direktivo 93/119/ES, njihove organe pa testirati na prisotnost virusa klasične prašičje kuge. Najprimernejša testa za to sta izolacija virusa in PCR.

Te vidike je treba upoštevati pri oblikovanju strategije cepljenja z markirnim cepivom v nujnih primerih in interpretacije rezultatov pregleda na virus klasične prašičje kuge v populaciji, cepljeni z markirnim cepivom.

Postopek za vzorčenje in testiranje cepljene populacije prašičev pred umikom omejitev, ki se uporabljajo na območju cepljenja v skladu s členom 19 Direktive 2001/89/ES, naj bo odvisen od starosti cepljenih prašičev, kategorije prašičev (pitanci/klavni, plemenski) in želene ravni varnosti glede odsotnosti virusa v populaciji.

Podrobni podatki o postopku za vzorčenje in testiranje se določijo v načrtu za cepljenje v nujnih primerih, ki se predloži Komisiji v skladu s členom 19 (3) Direktive 2001/89/ES.

▼B

POGLAVJE IX

***Minimalne varnostne zahteve za laboratorije za klasično prašičjo kugo***

1. Vsak laboratorij, v katerem poteka delo z virusom klasične prašičje kuge, pa čeprav gre za le majhno količino virusa, potrebno za izolacijo virusa ali pri virus-nevtralizacijskem testu, mora izpolnjevati zahteve iz tabele 1. Vendar pa se lahko obdukcije mrtvih živali, obdelava tkiv za FAT in serološke preiskave z uporabo inaktiviranega antigena, izvajajo na nižji ravni obvladovanja, pod pogojem, da se uporablja osnovna higiena in pooperacijsko razkuževanje ob varnem odstranjevanju tkiv in serumov.

2. Vsak laboratorij, v katerem se izvajajo postopki, ki vključujejo obsežno razmnoževanje virusa, mora izpolnjevati dodatne zahteve iz tabele 1.

3. Vsak laboratorij, v katerem se z virusom klasične prašičje kuge izvajajo poskusi na živalih, mora izpolnjevati zahteve iz tabele 2.

4. V vsakem primeru je treba vse zaloge virusa klasične prašičje kuge hraniti na varnem, bodisi globoko zamrznjene ali liofilizirane. Priporoča se, da se zamrzovalniki in hladilniki, v katerih se hranijo sevi virusa klasične prašičje kuge ne uporabljajo za shranjevanje drugih virusov ali drugega materiala, ki ni povezan z diagnostiko klasične prašičje kuge. Vsaka posamična ampula mora biti jasno označena, voditi pa je treba tudi obsežne evidence o zalogah virusa skupaj z datumi in rezultati preverjanj kakovosti. Evidence je treba

▼B

voditi tudi o virusih, dodanih k zalogi, s podatki o viru, ter o virusih, izdanih drugim laboratorijem.

5. Priporoča se, da delovanje biološko-varne enote za delo z virusom klasične prašičje kuge podpirajo druge enote s prostori, v katerih ne potekajo postopki z virusom klasične prašičje kuge. Ti prostori morajo biti na voljo za pripravo steklovine in gojišč, za vzdrževanje in pripravo neokuženih celičnih kultur, obdelavo serumov in serološke preiskave (razen za metode, pri katerih se uporablja živ virus klasične prašičje kuge), in za zagotavljanje upravne in pisarniške dejavnosti.

Tabela 1

***Načela biološkega obvladovanja za diagnostične laboratorije***

| | Dodatne zahteve | Minimalne zahteve |
|---|---|---|
| Okolje v splošnem | Normalen zračni pritisk.<br>Dvojno HEPA filtriranje izhodnega zraka.<br>Namenski prostori, ki se uporabljajo izključno za diagnostične postopke v zvezi s klasično prašičjo kugo. | Normalen zračni pritisk.<br>Namenski prostori, katerih uporaba je omejena na opredeljene postopke. |
| Laboratorijska oblačila | Popolna menjava oblačil ob vstopu.<br>Laboratorijska oblačila se uporabljajo samo v enoti za klasično prašičjo kugo.<br>Rokavice za enkratno uporabo za vsako rokovanje z okuženim materialom.<br>Oblačila se, preden zapustijo enoto, sterilizirajo ali se operejo v enoti. | Namenska zunanja oblačila, ki se uporabljajo samo v enoti za klasično prašičjo kugo.<br>Rokavice za enkratno uporabo za vsako rokovanje z okuženim materialom.<br>Zunanja oblačila se, preden zapustijo enoto, sterilizirajo ali se operejo v enoti. |
| Nadzor osebja | Vstop v enoto je omejen na imenovano in usposobljeno osebje.<br>Umivanje in razkuževanje rok ob izhodu iz enote.<br>Osebje se 48 ur potem, ko zapusti enoto, ne sme približati prašičem. | Vstop v enoto je omejen na imenovano in usposobljeno osebje.<br>Umivanje in razkuževanje rok ob izhodu iz enote.<br>Osebje se 48 ur potem, ko zapusti enoto, ne sme približati prašičem. |
| Oprema | Varnostna mikrobiološka komora (razreda I ali II), ki se uporablja za vse postopke z živim virusom. Komora mora imeti dvojno HEPA filtriranje izhodnega zraka.<br>Vsa potrebna oprema za laboratorijske postopke mora biti na voljo v namenskih laboratorijskih prostorih. | |

Tabela 2

***Biološko-varnostne zahteve za prostore za živali***

| | Zahteve |
|---|---|
| Okolje v splošnem | Nadzorovano prezračevanje s podtlakom.<br>Dvojno HEPA filtriranje izhodnega zraka.<br>Oprema za celovito fumigacijo/dezinfekcijo ob koncu poskusa.<br>Vse odplake se (toplotno ali kemično) obdelajo, da se inaktivira virus klasične prašičje kuge. |
| Laboratorijska oblačila | Popolna menjava oblačil ob vstopu.<br>Rokavice za enkratno uporabo pri vseh postopkih.<br>Oblačila se, preden zapustijo enoto, sterilizirajo ali se operejo v enoti. |
| Nadzor osebja | Vstop v enoto je omejen na imenovano usposobljeno osebje.<br>Popolno prhanje ob izstopu iz enote.<br>Osebje se 48 ur potem, ko zapusti enoto, ne sme približati prašičem. |

▼B

| | Zahteve |
|---|---|
| Oprema | Vsa potrebna oprema za postopke na živalih mora biti na voljo v namenskih laboratorijskih prostorih.<br>Vsi materiali se ob odstranitvi iz enote sterilizirajo ali se, če gre za živalske vzorce, zavijejo v dvojno embalažo in shranijo v neprepustne posode z razkuženo površino za prenos v laboratorij za klasično prašičjo kugo. |
| Živali | Vse živali se, preden zapustijo enoto, usmrtijo, obdukcije mrtvih živali se zaključijo na biološko varnem območju, trupla pa se po končani obdukciji sežgejo. |