32000D0428

L 167/22 *EUROOPA ÜHENDUSTE TEATAJA* 7.7.2000

KOMISJONI OTSUS,

4. juuli 2000,

millega kehtestatakse sigade vesikulaarhaiguse diagnoosi kinnitamisel ja eristusdiagnoosil kasutatavad diagnostika- ja proovivõtumeetodid ning laborikatsete tulemuste hindamise kriteeriumid

(teatavaks tehtud numbri K(2000) 1805 all)

(EMPs kohaldatav tekst)

(2000/428/EÜ)

EUROOPA ÜHENDUSTE KOMISJON,

võttes arvesse Euroopa Ühenduse asutamislepingut,

võttes arvesse nõukogu 17. detsembri 1992. aasta direktiivi 92/119/EMÜ, millega kehtestatakse ühenduse üldmeetmed teatavate loomahaiguste tõrjeks ja erimeetmed seoses sigade vesikulaarhaigusega, [1] viimati muudetud Austria, Soome ja Rootsi ühinemisaktiga, eriti selle II lisa punkti 3,

ning arvestades järgmist:

(1) Ühenduse tasandil on vaja sätestada diagnostika- ja proovivõtumeetodid ning laborikatsete tulemuste hindamise kriteeriumid sigade vesikulaarhaiguse diagnoosi kinnitamiseks ja kiireks eristamiseks suu- ja sõrataudist, et tagada mõlema haiguse tõhusam tõrje.

(2) Nõukogu määruse 92/119/EMÜ III lisas sätestatakse sigade vesikulaarhaiguse ühenduse tugilabori ülesanded ja kohustused, et komisjoniga konsulteerides kooskõlastada liikmesriikides kõnealuse haiguse diagnoosimiseks kasutatavad meetodid. Need ülesanded ja kohustused hõlmavad perioodiliste võrdluskatsete korraldamist ja standardreaktiivide tarnimist ühenduse tasandil.

(3) Hiljuti on välja töötatud laborikatsed, mis tagavad sigade vesikulaarhaiguse kiire diagnoosimise ning selle eristamise suu- ja sõrataudist.

(4) Ühenduse tasandil tehtud viimaste võrdluskatsete tulemused näitavad eelkõige, et sigade vesikulaarhaiguse viiruse antigeeni või genoomi avastamiseks on välja töötatud usaldusväärsed katsed ning et need katsed võivad edukalt täiendada sigade vesikulaarhaiguse viroloogilise diagnoosi viirusisolatsiooni testi.

(5) Sigade vesikulaarhaiguse tõrje käigus viimastel aastatel saadud kogemuste alusel on kindlaks määratud kõige sobivamad proovivõtumeetodid ja laborikatsete tulemuste hindamise kriteeriumid, et seda haigust eri olukordades õigesti diagnoosida.

(6) Loomade tervishoiu ja heaolu teaduskomitee arvamust ja soovitusi sigade vesikulaarhaiguse osas on arvesse võetud.

(7) Käesoleva otsusega ettenähtud meetmed on kooskõlas alalise veterinaarkomitee arvamusega,

ON VASTU VÕTNUD KÄESOLEVA OTSUSE:

Artikkel 1

1. Liikmesriigid tagavad, et sigade vesikulaarhaiguse diagnoosi kinnitamise ning suu- ja sõrataudist eristamise aluseks on:

a) haiguse kliiniliste tunnuste avastamine;

[1] EÜT L 62, 15.3.1993, lk 69.

b) viiruse, antigeeni või genoomi avastamine epiteelkoe-, villivedeliku- või fekaaliproovis;

c) spetsiifilise antikeha reaktsiooni esinemine seerumiproovides,

vastavalt käesolevale otsusele lisatud käsiraamatus sätestatud menetlustele, proovivõtumeetoditele ja laborikatsete tulemuste hindamise kriteeriumidele.

2. Direktiivi 92/119/EMÜ II lisa artiklis 5 osutatud riiklikud diagnostikalaborid võivad muuta käesolevale otsusele lisatud käsiraamatus osutatud laborikatseid või kasutada muid katseid, tingimusel et on võimalik tõendada samaväärset tundlikkust ja spetsiifilisust.

Kõnealuste muudetud või muude katsete tundlikkust ja spetsiifilisust tuleb hinnata sigade vesikulaarhaiguse ühenduse tugilabori korraldatud perioodiliste võrdluskatsete raames.

Artikkel 2

Käesolevat otsust kohaldatakse alates 1. oktoobrist 2000.

Artikkel 3

Käesolev otsus on adresseeritud liikmesriikidele.

Brüssel, 4. juuli 2000

Komisjoni nimel

komisjoni liige

David BYRNE

LISA

SIGADE VESIKULAARHAIGUSE DIAGNOOSI KINNITAMISEL JA ERISTUSDIAGNOOSIL KASUTATAVATE DIAGNOSTIKA- JA PROOVIVÕTUMEETODITE NING LABORIKATSETE TULEMUSTE HINDAMISE KRITEERIUMIDE KÄSIRAAMAT

I PEATÜKK

Sissejuhatus, eesmärgid ja mõisted

1. Käesolev käsiraamat:

   a) sisaldab diagnostika- ja proovivõtumeetodite ning laborikatsete tulemuste hindamise kriteeriumide suuniseid ja miinimumnõudeid sigade vesikulaarhaiguse õigeks diagnoosimiseks; erilist rõhku pannakse ka eristamisele suu- ja sõrataudist;

   b) koondab direktiivi 92/119/EMÜ II lisa sätted, eelkõige kõnealuse lisa punktide 4, 7 ja 8 sätted;

   c) on peamiselt suunatud ametiasutustele, kes vastutavad sigade vesikulaarhaiguse tõrje eest. Seepärast pannakse rõhku laborikatsete põhimõtetele ja kasutamisele ning nende tulemuste hindamisele, mitte üksikasjalikele laborimeetoditele.

2. Käesolevas käsiraamatus kasutatakse järgmisi mõisteid:

   a) *seropositiivne siga* – mis tahes siga, kelle seerumi antikeha-tiiter on X peatükis osutatud riikliku labori viirusneutralisatsioonitestis kasutatud sigade vesikulaarhaiguse võrdlusseerumiga 4 võrdne või sellest suurem;

   b) *valepositiivne siga* – põllumajandusettevõtte mis tahes üksik seropositiivne siga, kelle sigade vesikulaarhaiguse seroloogilise testi tulemused on positiivsed, kuid kellel puuduvad kokkupuuted sigade vesikulaarhaiguse viirusega ja kelle puhul puuduvad tõendid nakkuse levitamise kohta kokkupuutes olnud sigadele. Seropositiivne siga on kinnitatud valepositiivne, kui VIII peatüki C osas osutatud tingimused on täidetud;

   c) *kokkupuutunud sead* – sead, kes on otseses kokkupuutes või kes on viimase 28 päeva jooksul olnud otseses kokkupuutes ühe või mitme seropositiivse seaga, kellel kahtlustatakse nakatumist sigade vesikulaarhaiguse viirusega; kokkupuutunud sead võivad või võisid olla samas sulus või naabersulgudes, juhul kui sigadel on võimalik omavahel eri sulgudes kokku puutuda.

II PEATÜKK

Suunised selliste sigade kontrolliks, kellel ilmnevad sigade vesikulaarhaiguse kliinilised tunnused

1. Liikmesriigid tagavad, et sigade vesikulaarhaiguse viiruse kahtluse korral põllumajandusettevõttes kontrollib riiklik veterinaararst võimalikult kiiresti statistiliselt olulist arvu sigu, et avastada haiguse kliinilisi tunnuseid, mis on esitatud IX peatükis.

2. Liikmesriigid tagavad, et kui sigadel ilmnevad kliinilised tunnused, mis viitavad sigade vesikulaarhaigusele või suu- ja sõrataudile, tehakse vastavalt käesoleva käsiraamatu IV, VII ja VIII peatüki sätetele võimalikult kiiresti nõuetekohastel proovidel ja laboriuuringutel põhinev eristusdiagnoos.

III PEATÜKK

Proovivõtmise ja proovide vedamise üldmenetlus

1. Iga sigade vesikulaarhaiguse kahtlusega seakasvatusettevõttesse sisenev või sealt lahkuv isik peab järgima rangeid hügieenimeetmeid, mis on vajalikud viiruse nakkus- või levikuohu vähendamiseks.

2. Kõik sead, kellelt on võetud proov, tuleb märgistada kordumatu märgistusega nii, et neid on võimalik kordusproovi võtmiseks identifitseerida. On soovitatav, et iga sea puhul, kellelt on võetud proov, registreeritakse tema asukoht ettevõttes koos kordumatu märgistusega, eriti kui proov on võetud nakkuskahtlusega sealt.

3. Proovid tuleb saata laborisse koos asjakohaste vormidega, mis sisaldavad nende sigade haiguslugu, kellelt proov on võetud, ning täheldatud kliinilisi tunnuseid, kui neid on.

4. Kuna sigade mis tahes haigusseisund, millega kaasnevad villid, võib osutuda suu- ja sõrataudiks, tuleb võtta erilised ettevaatusabinõud nakkuskahtlusega proovide ohutuks pakendamiseks. Need ettevaatusabinõud peavad peamiselt olema kavandatud mahutite purunemise või lekkimise ja saastumisohu vältimiseks, kuid samuti on oluline tagada näidiste kohalejõudmine rahuldavas seisukorras. Kui pakendisse on lisatud jääd, tuleb vältida vee lekkimist. Mahuteid proovidega, mille puhul kahtlustatakse sigade vesikulaarhaiguse viirust, ei tohi pärast nakatatud ettevõttest lahkumist ja enne laborisse jõudmist avada.

5. Proove, mille puhul kahtlustatakse sigade vesikulaarhaiguse viirust, tuleb vastavalt suu- ja sõrataudi tõrjet käsitlevatele ühenduse õigusaktidele analüüsida ainult laborites, millel on diagnoosimiseks lubatud käidelda suu- ja sõrataudi viirust, välja arvatud juhul, kui suu- ja sõrataud on juba välistatud.

6. Kõiki proove võib vedada temperatuuril 4 °C, kui eeldatav laborisse veo aeg on alla 48 tunni, vastasel korral tuleb proove hoida temperatuuril mitte üle –20 °C.

7. Liikmesriikidest (v.a Ühendkuningriigist) ühenduse tugilaborisse saadetavate proovide ainus lubatud transpordiviis on lennukiga Londoni Heathrow' või Gatwicki lennujaama. Enne lähetamist tuleb laborile faksinumbril (44-1483) 23 26 21 või elektronposti teel teatada lennu number, kuupäev, eeldatav saabumisaeg ja lennusaatekirja number, nii et saadetis oleks võimalik saabumisel kindlaks teha. Saadetis tuleb adresseerida järgmiselt:

   Institute for Animal Health, Pirbright Laboratory
   Community Reference Laboratory for swine vesicular disease
   Ash Road, Pirbright, Woking
   Surrey GU24 ONF
   United Kingdom, UK

   Etiketile tuleb kanda ka järgmine teave: "Animal pathological material of no commercial value. Perishable. Fragile. To be collected at airport by addressee. Not to be opened outside the laboratory." (Kaubandusliku väärtuseta patoloogiline loomne materjal. Kergesti riknev. Kergesti purunev. Adressaadile üleandmiseks lennujaamas. Mitte avada väljaspool laborit.)

   Saadetiste vastuvõtmiseks lennujaamas on volitatud ühenduse tugilabori töötajad üldise impordi eriloa alusel, mille on selleks otstarbeks välja andnud Ühendkuningriigi põllumajandus-, kalandus- ja toiduaineteministeerium. See on alaline kord, igaks impordijuhuks ei nõuta eraldi litsentsi. Nakkuskahtlusega villimaterjali vedu Ühendkuningriiki volitamata töötajate käsipagasis ei ole lubatud. Kullerifirmasid ei tohi kasutada.

8. Proovide vedu riiklikesse laboritesse peab olema kooskõlas liikmesriikide pädevate asutuste sätestatud juhenditega.

IV PEATÜKK

Proovivõtumeetodid ettevõttes, kus on kliinilise nakkuskahtlusega sigu

1. Kui ettevõttes kahtlustatakse sigade vesikulaarhaiguse viirust, sest on täheldatud haiguse kliinilisi tunnuseid, tuleb selliste tunnustega sigade tüüpilistelt rühmadelt võtta asjakohased proovid haiguse kinnitamiseks ning selle eristamiseks suu- ja sõrataudist.

2. Asjaomastes ettevõtetes on eelistatud proovideks haigusele iseloomulike tunnustega sigadelt kogutud epiteel ja vedelik lõhkemata või äsja lõhkenud villidest, milles on võimalik kindlaks teha sigade vesikulaarhaiguse viirust, selle antigeene või genoomi. Soovitatav on võtta proove viielt või kuuelt selliselt sealt.

3. Isegi kui epiteelkude ja villivedelikku on piisavas koguses (1 g või rohkem), tuleb võtta ka järgmised proovid:

   a) nakkuskahtlusega sigade ja kokkupuutunud sigade vereproovid seroloogiliseks testideks ja

   b) nakkuskahtlusega sigadelt ning nende sulu ja naabersulgude põrandalt kogutud fekaaliproovid viroloogilisteks testideks.

4. Proovid tuleb võtta ja neid transportida järgmiselt:

   a) epiteeli proovid ja villivedelik:

      — võimaluse korral tuleb lõhkemata või äsja lõhkenud villidest koguda vähemalt 1 g epiteelkude. Töötajate vigastamise vältimiseks ja sigade heaolu tagamiseks on soovitatav anda sigadele enne proovide võtmist rahustit,

      — kui transport riiklikusse laborisse toimub viivitamata (kolme tunni jooksul), võib epiteeliproove transportida kuivalt ja hoida jahutatuna. Kui transpordiaeg on tõenäoliselt pikem kui kolm tundi, tuleb proovid panna väikesesse kogusesse transpordikeskkonda, mis koosneb võrdsetest osadest glütseroolist ja 0,04 M fosfaatpuhvrist või muust samaväärsest puhvrist (Hepes), nii et pH püsiks optimaalses vahemikus suu- ja sõrataudi viiruse ellujäämiseks (pH 7,2–7,6). Transpordikeskkond peab sisaldama antibiootikume täiendava antimikroobse toime jaoks. Sobivad antibiootikumid ja nende kontsentratsioonid lõpplahuse milliliitri kohta on järgmised:

         i) penitsilliin 1 000 RÜ,

         ii) neomütsiinsulfaat 100 RÜ,

         iii) polümüksiin B sulfaat 50 RÜ,

         iv) mükostatiin 100 RÜ,

      — kui villivedelik koguti lõhkemata villidest, tuleb seda hoida lahjendamata eraldi mahutis;

b) vereproovid:

— vereproove võib võtta seroloogilisteks või viroloogilisteks testideks. Üldiselt võetakse neid antikehade kindlakstegemise eesmärgil üksnes sigadelt, keda arvatakse olevat paranenud kliinilisest või subkliinilisest nakkusest, kuna kliiniliste haigustunnustega sigade epiteel, villivedelik ja fekaaliproovid on viiruste kindlakstegemiseks sobivamad kui vereproovid. On soovitatav, et täisvere proovide võtmiseks kasutataks ilma antikoagulandita Vacutaineri vaakumsüsteeme ja et neid transporditaks suletult;

c) fekaaliproovid:

— fekaaliproovid selliste ruumide põrandalt, mille puhul kahtlustatakse, et seal peetakse või on peetud sigade vesikulaarhaigusega sigu, või nakkuskahtlusega elussigade fekaalide tampooniproovid ja fekaaliproovid tuleb panna vastupidavatesse lekkimiskindlatesse mahutitesse.

Nakkuskahtlusega proove sisaldavad mahutid tuleb enne laborisse transportimist väljastpoolt desinfitseerida. Sobivad desinfektsioonivahendid on järgmised:

— naatriumhüdroksiid (lahjendus 1:100),

— formaliin (vähemalt 34 % formaldehüüdi sisaldava formaliinilahuse lahjendus 1:9) ja

— naatriumhüpoklorit (2 % kloori).

Desinfektsioonivahendeid tuleb käsitseda ettevaatlikult.

V PEATÜKK

Proovivõtumeetodid sigade vesikulaarhaiguse seroloogiliseks järelevalveks

1. Kui seroloogilise järelevalve eesmärgiks on:

a) järelevalve ettevõtetes, kus ei ole tõendeid ega kahtlusi haiguse esinemise kohta;

b) järelevalve tapamajas, turul, kogumiskeskuses või muus sarnases kohas korrapäraste seroloogiliste proovide võtmise teel;

c) teistest liikmesriikidest toodud sigade mittediskrimineeriv järelevalve importivas ettevõttes,

tuleb seroloogiliseks testimiseks võtta sigadelt vereproovid vastavalt otsuse 90/424/EMÜ [1] või 90/425/EMÜ [2] raames heakskiidetud järelevalve- või tõrjeprogrammides või kavades kehtestatud sätetele või, juhul kui niisugused sätted puuduvad, vastavalt liikmesriigi pädeva asutuse kehtestatud meetoditele.

2. Kui seroloogilise järelevalve eesmärgiks on:

a) järelevalve ettevõtete üle, mis asuvad ohustatud tsoonides või järelevalvetsoonides, mis on kehtestatud pärast haiguspuhangu kinnitust vastavalt direktiivi 92/119/EMÜ II lisa punktidele 7 ja 8, või

b) järelevalve direktiivi 92/119/EMÜ artiklis 9 osutatud ettevõtete üle,

tuleb seroloogiliseks testimiseks võtta sigadelt vereproovid vastavalt järgmisele kavale:

— tõuaretusettevõtete puhul tuleb juhuslikud proovid võtta nii, et 5 % serokonversiooni esinemissagedus avastataks 95 % usaldusväärsusega;

— üksnes nuumsigu pidavate ettevõtete puhul peab proovivõtumenetlus tagama, et võetud proovide koguarv on vähemalt võrdne arvuga, mis on nõutav 5 % esinemissageduse avastamiseks 95 % usaldusväärsusega. Igal juhul tuleb proovid võtta võimalikult paljudest juhuslikult valitud sulgudest;

— nii tõuaretus- kui nuumsigu pidavate ettevõtete puhul tuleb igalt eraldi ruumides elavalt sigade rühmalt võtta proovid nii, et 5 % serokonversiooni esinemissagedus avastataks 95 % usaldusväärsusega.

VI PEATÜKK

Edasine tegevus ja kordusproovide võtmise meetodid seropositiivsete sigade avastamise korral

1. Juhul, kui ettevõttes on V peatüki punkti 1 alapunktis a või punktis 2 osutatud järelevalve käigus tehtud kindlaks üks seropositiivne siga, tagab pädev asutus, et:

a) juhul kui ettevõttes ei ole veel kohaldatud direktiivi 92/119/EMÜ artiklis 4 osutatud sätteid, hakatakse neid kohaldama;

b) ettevõtet kontrollitakse vastavalt II peatüki punktis 1 osutatud sätetele;

[1] EÜT L 224, 18.8.1990, lk 19.
[2] EÜT L 224, 18.8.1990, lk 29.

c) seroloogilisteks testideks võetakse vereproovid:

— nakkuskahtlusega sealt,

— kokkupuutunud sigadelt, kes elavad nakkuskahtlusega seaga samas sulus või naabersulgudes; nendelt sigadelt tuleb proovid võtta nii, et 50 % serokonversiooni esinemissagedus sulus avastataks 95 % usaldusväärsusega.

2. Pädev asutus võib otsustada tühistada punkti 1 alapunktis a osutatud meetmed, juhul kui:

a) vastavalt direktiivi 92/119/EMÜ artiklile 8 tehtud epidemioloogilistest uuringutest järeldub, et sigade vesikulaarhaigust ettevõttes ei esine;

b) ettevõttes ei ole avastatud sigade vesikulaarhaiguse kliinilisi tunnuseid ja

c) ettevõte ei asu pärast haiguspuhangu kinnitamist kehtestatud järelevalvetsoonis või ohustatud tsoonis ja selle suhtes ei kohaldata muid kinnitatud haiguspuhanguga seoses kohaldatavaid piiranguid

ning tingimusel, et:

— ettevõttest ei viida sigu välja ühendusesiseseks kauplemiseks ja

— kõnealusest ettevõttest veetakse sigu üksnes tapamajja viivitamatuks tapmiseks või teise ettevõttesse, millest ei viida sigu välja ühendusesiseses kauplemiseks,

kuni täiendavate kontrollide ja seroloogiliste testide tulemused näitavad, et sigade vesikulaarhaiguse võib kindlalt välistada.

3. Kui vastavalt punkti 1 alapunktidele b ja c tehtud kontrollid ja seroloogilised testid:

a) annavad negatiivseid tulemusi või kui positiivseteks jääb üksnes varem positiivne olnud siga (valepositiivne siga), võib sigade vesikulaarhaiguse välistada. Punkti 1 alapunktis a osutatud meetmed tühistatakse, välja arvatud juhul, kui ettevõte asub pärast haiguspuhangut kehtestatud ohustatud tsoonis või järelevalvetsoonis, kus haiguse likvideerimise meetmed peavad jääma jõusse vastavalt direktiivi 92/119/EMÜ II lisa punktile 7 või 8;

b) näitavad, et ettevõttes on rohkem kui üks seropositiivne siga, tuleb sigade vesikulaarhaigus kinnitada või, juhul kui direktiivi 92/119/EMÜ II lisa punktis 4 sätestatud tingimused selle haiguse esinemise kinnitamiseks ei ole täidetud, tuleb ettevõttest võtta täiendavaid proove vastavalt punktis 4 osutatud proovivõtumeetoditele.

4. Juhul kui ettevõttes avastatakse V peatüki punkti 1 alapunktis a või c või punktis 2 osutatud proovivõtu ja seroloogilise testimisega rohkem kui üks seropositiivne siga, kuid direktiivi 92/119/EMÜ II lisa punktis 4 sätestatud tingimused sigade vesikulaarhaiguse kinnitamiseks ei ole täidetud, tagab pädev asutus, et:

a) kohaldatakse direktiivi 92/119/EMÜ artiklis 4 osutatud sätteid või jätkatakse nende kohaldamist;

b) ettevõtet kontrollitakse vastavalt II peatüki punktis 1 osutatud sätetele;

c) seropositiivsetelt sigadelt ja kokkupuutunud sigadelt võetakse vastavalt punkti 1 alapunktile c täiendavaid vereproove seroloogiliseks testimiseks;

d) ettevõtte teistes hoonetes asuvatelt sigadelt võetakse V peatüki punktis 2 osutatud korras täiendavaid vereproove seroloogiliseks testimiseks;

e) viroloogilisteks testideks võetakse piisav arv fekaaliproove:

— seropositiivsetelt sigadelt,

— seropositiivsete sigade sulgude ja naabersulgude põrandalt,

— juhuslikult valitud sulgude põrandalt ettevõtte teistest hoonetest.

Vastavalt esimesele ja teisele taandele kogutud fekaaliproove tuleb uurida niipea kui võimalik. Juhul kui need proovid on negatiivsed, kuid seroloogiliste testide tulemused näitavad, et sigade vesikulaarhaigus võib olla levinud teistesse hoonetesse, tuleb uurida ka vastavalt kolmandale taandele võetud fekaaliproove.

Kui pärast kõnealuseid täiendavaid kontrolle ja teste ei ole täidetud direktiivi 92/119/EMÜ II lisa punktis 4 sätestatud nõuded sigade vesikulaarhaiguse esinemise kinnitamiseks, tapetakse seropositiivsed sead vastavalt direktiivi 92/119/EMÜ II lisa punkti 4 alapunkti d sätetele. Kui edaspidi leitakse lisaks eelnevalt võetud proovide põhjal juba kindlaks tehtutele veel seropositiivseid sigu, kohaldatakse täiendavalt eespool alapunktides a, b, c, d ja e kehtestatud sätteid ja meetmeid *mutatis mutandis*.

5. Ilma et see piiraks direktiivi 92/119/EMÜ artiklis 9 osutatud meetmete kohaldamist ning juhul, kui V peatüki punkti 1 alapunktis b või c osutatud järelevalvetoimingutega on kindlaks tehtud üks või mitu seropositiivset siga, tagab pädev asutus, et:

   a) kui see on vajalik ja teostatav, tehakse asjakohased täiendavad kontrollid (sh võetakse proove), et kinnitada või välistada sigade vesikulaarhaigust kohas, kus asjaomased sead on avastatud, võttes arvesse kohalikku olukorda;

   b) asjaomaste sigade päritoluettevõttes kohaldatakse direktiivi 92/119/EMÜ artiklis 4 osutatud meetmeid;

   c) asjaomaste sigade päritoluettevõtet kontrollitakse vastavalt II peatüki punktis 1 osutatud sätetele ja

   d) V peatüki punktis 2 osutatud korras võetakse seropositiivsete sigade päritoluettevõttes sigadelt vereproove seroloogilisteks testideks.

6. Pädev asutus võib otsustada tühistada punkti 5 alapunktis b osutatud meetmed, juhul kui:

   a) vastavalt nõukogu direktiivi 92/119/EMÜ artiklitele 4 ja 8 tehtud epidemioloogilistest uuringutest järeldub, et sigade vesikulaarhaigust ettevõttes ei esine;

   b) ettevõttes ei ole avastatud sigade vesikulaarhaiguse kliinilisi tunnuseid;

   c) ettevõte ei asu pärast haiguspuhangu kinnitamist kehtestatud järelevalvetsoonis või ohustatud tsoonis ja selle suhtes ei kohaldata muid kinnitatud haiguspuhanguga seoses kohaldatavaid piiranguid

   ning tingimusel, et:

   — ettevõttest ei viida sigu välja ühendusesiseseks kauplemiseks ja

   — kõnealusest ettevõttest veetakse sigu üksnes tapamajja viivitamatuks tapmiseks või teise ettevõttesse, millest ei viida sigu välja ühendusesiseseks kauplemiseks,

kuni seropositiivsete sigade avastamise kohas ja nende päritoluettevõttes tehtud täiendavate kontrollide ja seroloogiliste testide tulemused näitavad, et sigade vesikulaarhaiguse võib kindlalt välistada.

VII PEATÜKK

Viroloogiliste testide põhimõtted ja kohaldamisala ning tulemuste hindamine

A. **Viiruse antigeeni avastamine**

1. Kaudne ELISA (*sandwich*-meetod) on sigade vesikulaarhaiguse viiruse antigeeni tuvastamisel asendanud valikmeetodina komplimendi sidumise testi. Sama testi kasutatakse ka suu- ja sõrataudi diagnoosimiseks. Mõlema haiguse testid tuleb teha ühel ajal, välja arvatud juhul, kui suu- ja sõrataud on juba välistatud. See on soovitatav eelkõige villikahjustustest võetud epiteeli- või vedelikuproovide puhul, milles ägedalt nakatunud sigade puhul on suurel hulgal nii sigade vesikulaarhaiguse kui suu- ja sõrataudi viirust, mis on avastatav mõne tunni jooksul. ([1])

   Duplikaatread mitmeaknalistes ELISA plaatides kaetakse sigade vesikulaarhaiguse viiruse ning suu- ja sõrataudi viiruse kõigi seitsme serotüübi küüliku antiseerumiga. Need on siduvad seerumid. Igale reale lisatakse uuritava proovi suspensiooni. Kasutatakse ka asjakohaseid kontrollaineid. Vastavatesse ridadesse lisatakse järgmisel etapil homoloogilist merisea määramisseerumit, seejärel küüliku merisea antiseerumit, mis on konjugeeritud ensüümi (näiteks mädarõika peroksidaasi) suhtes. Iga etapi vahepeal pestakse hoolikalt, et eemaldada sidumata reaktiivid. Reaktsioon on positiivne, kui kromogeeni ja substraadi lisamisel värvus muutub. Tugevad positiivsed reaktsioonid on nähtavad palja silmaga, kuid tulemusi saab lugeda ka spektrofotomeetriliselt ning sel juhul loetakse positiivseks neeldumise näit 0,1 üle fooni.

2. Alternatiivseid monoklonaalsetel antikehadel põhinevaid ELISA meetodeid, mille puhul siduvate antikehadena kasutatakse valitud monoklonaalseid antikehi ning antikehade avastamiseks peroksidaasi suhtes konjugeeritud monoklonaalseid antikehi, võib kasutada sigade vesikulaarhaiguse antigeeni avastamiseks ja eristamiseks suu- ja sõrataudist epiteeli näidistes, villivedelikus või nakatud koekultuurides.

3. Monoklonaalsetel antikehadel põhinevat ELISAt võib kasutada sigade vesikulaarhaiguse tüvede antigeensete variatsioonide uurimiseks. Koekultuuridel kasvatatud viiruse antigeeni seob küüliku hüperimmuunne sigade vesikulaarhaiguse antiseerum, mis on neeldunud tahkesse faasi. Sobivalt valitud monoklonaalsetel antikehadel lastakse reageerida ning monoklonaalsete antikehade seotust haigusjuhtudes avastatud tüvedega võrreldakse monoklonaalsete antikehade seotusega vanemtüvedega. Sarnane seotus näitab ühiste epitoopide esinemist vanemtüvedes ja avastatud tüvedes.

([1]) Positiivsed ELISA tulemused on seotud vähemalt 105 $TCID_{50}$ (koekultuuri nakatunud doosi) viiruse esinemisega proovis.

B. **Viiruste isoleerimine ja kasv**

1. Tavapäraselt tuleb sigade vesikulaarhaiguse viiruse sisalduse kahtlusega epiteeli-, villivedeliku- või fekaaliproovide selitatud suspensioonidega nakatada tundlikke rakukultuure. Kui villikahjustustest uuringuteks võetud proovide kogus ja kvaliteet ei ole piisav koheseks ELISA-uuringuks, on viiruse antigeeni võimendamiseks vaja kasvatada viirust koekultuuris.

2. Viiruse isoleerimiseks ja kasvatamiseks nakatatakse monokihtseid IB-RS-2 rakukultuure selitatud epiteelsuspensiooniga. Tuleks kasutada kaht epiteelsuspensiooni lahjendust, kõrget (1/500) ja madalat (1/10), et vältida viiruse kasvu mõjutamist interferooni poolt, mille vabastamine mõjutab sigade vesikulaarhaiguse viiruse kasvu. Viiruse isoleerimiseks lisatakse söötmele üksnes antibiootikume. Eristusdiagnoosiks suu- ja sõrataudi viirusest tuleb nakatada ka primaarseid veise kilpnäärmerakke ja hamstripoegade neerurakke (BHK-21).

3. Kui ilmneb tsütopaatiline efekt, tuleb positiivsete kultuuride supernatant mõju lõppemisel kokku koguda ja kasutada viiruse identifitseerimiseks ELISA-meetodil. Negatiivsete kultuuridega tuleb nakatada värskeid koekultuure 48 või 72 tunni möödudes ning seda pimekatsete seeriat uurida kuni 72 tundi hiljem. Kui järgmistes pimekatsetes tsütopaatilist efekti ei ilmne, loetakse proov elusviiruste osas negatiivseks.

4. Fekaaliproovide suspensioone võib töödelda vastavalt punktile 1. Kuna fekaalides on üldjuhul vähem viirusi kui epiteelis, on oluline, et tsütopaatilise efekti puudumisel kahes esimeses katseseerias tuleb teha kolmas pimekatsete seeria.

5. Sea rakuliini ja ühe eespool nimetatud koekultuuride süsteemi (eelistatavalt primaarsete veise kilpnäärmerakkude) üheaegne nakatamine on kasulik selleks, et määrata, kas villiproovid sisaldavad sigade vesikulaarhaiguse või suu- ja sõrataudi viirust, kuna esimene kasvab üksnes searakkudel. Siiski võivad suu- ja sõrataudi viiruse isolaadid, mis on pikka aega kandunud ühelt sealt teisele, eelistada kasvamiseks samuti sea rakukultuuride süsteeme.

C. **Polümeraasi ahelreaktsioon (PCR) genoomide avastamiseks**

1. Nukleiinhappe tuvastamise meetodeid saab kasutada sigade vesikulaarhaiguse viiruse genoomi avastamiseks kliinilises materjalis PCR-i abil ja sigade vesikulaarhaiguse viiruse isolaatide suhete määramiseks nukleotiidijärjestuse määratlemise teel genoomi osas. PCR-i kasutavad meetodid on välja töötatud diagnoosi tundlikkuse tõstmiseks. On kirjeldatud veidi erinevaid vastupidiseid transkriptaas-PCR-menetlusi, kasutades praimereid, mis vastavad 1C- ja 1D-geenide hästi säilinud piirkondadele.

2. PCR-meetod on kiire (tulemused saadakse tavaliselt 24 tunni jooksul), sellega avastatakse kõik sigade vesikulaarhaiguse viiruse genotüübid ja see on piisavalt tundlik kasutamiseks proovide puhul, mis on võetud kliinilise haiguse kahtluse korral.

3. Subkliinilise nakkuse kahtluse korral või kui proovid on võetud pärast kliinilise haiguse lõppu või fekaaliproovide töötlemise ajal, annavad tõhustatud RT-PCR-meetodid (nt *nested* RT-PCR-meetod, immuunsus-PCR-meetod, ELISA-PCR-meetod ja täpsemad RNA eraldamismeetodid) vähemalt sama tundliku, kuid oluliselt kiirema avastamissüsteemi kui korduvad katseseeriad koekultuuridega.

4. Järjestades umbkaudu 200 nukleotiidi 1D-geenis, mis kodeerib suurt VP1 struktuuriproteiini, on võimalik rühmitada sigade vesikulaarhaiguse viiruse tüvesid vastavalt nende järjestuse homoloogilisusele ning siduda epidemioloogiliselt eri piirkondades või eri aegadel haigust põhjustavaid tüvesid.

D. **Viroloogiliste testide tulemuste hindamine**

Sigade vesikulaarhaiguse antigeenide või genoomi avastamine ELISA- ja PCR-meetoditega on diagnostiliselt võrdväärne viiruse isolatsiooniga.

Siiski tuleb viiruse isolatsiooni pidada võrdluskatseks ning kasutada vajaduse korral kinnitava katsena, eelkõige juhtudel, kui ELISA- või PCR-meetodi positiivne tulemus ei ole seotud ühega järgmistest:

a) haiguse kliiniliste tunnuste avastamine,

b) seropositiivsete sigade avastamine või

c) otsene epidemioloogiline seos kinnitatud haiguspuhanguga.

VIII PEATÜKK

Seroloogiliste testide põhimõtted ja kohaldamisala ning tulemuste hindamine

A. **Viirusneutralisatsiooni (VN) test**

1. Kvantitatiivne VN-mikrotest sigade vesikulaarhaiguse viiruse antikehade avastamiseks tehakse IB-RS-2 rakkudega või ekvivalentse rakusüsteemiga lamedapõhjalistel koekultuuri mikrotiiterplaatidel.

2. Viirus kasvatatakse IB-RS-2 rakkude monokihtidel ja seda hoitakse pärast 50 % glütserooli lisamist –20 °C juures või ilma glütseroolita –70 °C juures. Seerumid inaktiveeritakse 56 °C juures 30 minuti jooksul enne testimist.

B. **ELISA-testid**

1. Antikehade avastamiseks ettenähtud ELISA-test on monoklonaalsetel antikehadel põhinev võrdlev ELISA. Kui seerumi proov sisaldab sigade vesikulaarhaiguse viiruse antikehasid, on valitud peroksidaasi suhtes konjugeeritud monoklonaalsete antikehade sidumine viiruse antigeeniga inhibeeritud.

   Selles ELISA-testis seotakse sigade vesikulaarhaiguse viiruse antigeen tahke faasiga monoklonaalsete antikehade abil; seejärel inkubeeritakse seerumi proovid asjakohasel lahjendusastmel ning lisatakse peroksidaasi suhtes konjugeeritud monoklonaalsed antikehad. Seejärel mõõdetakse monoklonaalsete antikehade sidumise inhibitsioon substraadi ja kromogeeni abil.

2. Kaudne siduv ELISA-meetod, mille puhul kasutatakse sigade vesikulaarhaigusele tüüpiliste IgG või IgM proteiinide avastamiseks isotüüpspetsiifilisi monoklonaalseid antikehi, on kasulik nakatumisaja arvestamisel sigade või nakatunud ettevõtete puhul.

   Isotüüpspetsiifilise ELISA-meetodi puhul seotakse viiruse antigeen tahke faasiga antigeene siduva antikeha abil. Kui seerumi proov sisaldab sigade vesikulaarhaiguse antikehi, avastatakse need anti-sea-IgG või anti-sea-IgM monoklonaalsete antikehade abil, mida on konjugeeritud peroksidaasiga. Seejärel mõõdetakse sidumine substraadi ja kromogeeni abil.

   Isotüüpspetsiifilise ELISA abil võib eraldada ka üksikuid valepositiivseid sigu tegelikult positiivsetest sigadest, nagu on osutatud punktis C.

C. **Seroloogiliste testide kohaldamisala ja tulemuste hindamine**

1. VN-test ja ELISA on soovitatavad seroloogilised testid. X peatükis loetletakse võrdlusseerumid, mis on ühenduse tugilaborites kättesaadavad seroloogiliste standardtestide tegemiseks ühenduses.

   VN-testi tuleb pidada võrdlustestiks, kuid selle puuduseks on 2–3 päevane kestus ja koekultuuride kasutamise vajadus.

   ELISA on kiirem ja seda on lihtsam standardida. Monoklonaalse antikeha võrdlev ELISA on hetkel kõige usaldusväärsem sigade vesikulaarhaiguse antikehade ELISA-test. Seda soovitatakse lausteimimiseks suure hulga proovide puhul.

   Siiski tuleb VN-testi kasutada vajaduse korral kinnitava katsena, eelkõige pärast esimeste positiivsete proovide avastamist ettevõttes. Sead, kes on ELISA põhjal positiivsed, kuid VN-testi põhjal negatiivsed, võib kõrvale jätta.

2. Valepositiivse sea ([1]) esinemist võib kahtlustada, kui avastatakse üksik seropositiivne siga ja täidetud on järgmised kriteeriumid:

   a) ettevõttes ei esine haiguse kliinilisi tunnuseid;

   b) kliinilist haigust ei ole ettevõttes varem esinenud;

   c) ei ole olnud kokkupuudet teadaoleva haiguspuhanguga.

3. Siga on kinnitatud valepositiivne siga, kui:

   a) järgnevate testidega ei leita rohkem seropositiivseid sigu;

   b) pärast valepositiivse sea esmast avastamist kokkupuutunud sigadelt võetud proovid ei näita serokonversiooni;

   c) antikehade tiiter jääb korduvproovides püsivaks või väheneb.

([1]) Väikest hulka valepositiivseid sigu on võimalik avastada sigade vesikulaarhaiguse mis tahes kehtiva seroloogilise testiga. Valepositiivseid sigu põhjustavad tegurid on teadmata. Seroloogiline risttoime sigade vesikulaarhaiguse viirusega võib tekkida nakatumise tõttu teise, alles identifitseerimata *picorna*-viirusega või muu seerumile omase täpsustamata teguri tõttu.

4. Siiski tuleb valepositiivse sea kinnitamiseks arvesse võtta ka järgmisi täiendavaid kriteeriume ja põhimõtteid:

   a) valepositiivne siga esineb sagedusega üks tuhande sea kohta;

   b) valepositiivsete sigade seerumil on üldjuhul järgmine profiil:

      — madal antikehade tiiter VN-testil,

      — monoklonaalsetel antikehadel põhineva võrdleva ELISA puhul napilt positiivne,

      — IgM erandlik esinemine ja IgG puudumine sigade vesikulaarhaiguse isotüüpspetsiifilise ELISA puhul. ([1])

IX PEATÜKK

Sigade vesikulaarhaiguse kliinilised tunnused ja omadused

Sigade vesikulaarhaigus on sigade nakkushaigus, mida põhjustab *Picornaviridae* perekonda kuuluv enteroviirus ning mis võib olla subkliiniline, kerge või raske villiline haigusseisund sõltuvalt viiruse tüvest, nakkuse teest ja määrast ning tingimustest, milles sigu peetakse. Täiendavad stressitegurid nagu transport, pidamine koos teiste sigadega ja äärmuslikud temperatuurid võivad samuti kiirendada kliiniliste tunnuste arengut.

Haigusele on iseloomulik väike palavik, villid sõrgade piiril, kandadel ja jäsemete nahal, harvemini kärsal, huultel, keelel ja nisadel. Haigestumuse protsent võib olla kuni 100 %, kuid suremus on väga väike või puudub.

Nakkus võib levida märkamatul või kergel kujul, nii et sigade üldvälimus muutub üksnes ajutiselt, kuid põhjustab viirust neutraliseerivate antikehade arengu juba mõne päevaga. ([2])

Haiguse subkliinilise või kerge iseloomu tõttu kahtlustatakse seda tihti alles pärast haiguse järelevalveprogrammi raames või ekspordisertifikaadi jaoks tehtud seroloogilisi teste. Euroopas viimasel ajal levinud sigade vesikulaarhaiguse puhanguid iseloomustavad kergemad kliinilised tunnused või nende puudumine ning diagnoos on tihti pandud seroloogiliste testide põhjal.

Sigade vesikulaarhaiguse kliinilised tunnused on eristamatud suu- ja sõrataudi tunnustest. Mis tahes villilist haigusseisundit tuleb esialgu käsitleda kui kahtlustatavat suu- ja sõrataudi ning saada võimalikult kiiresti eristusdiagnoos.

Sigade vesikulaarhaiguse inkubatsiooniaeg on olenevalt seast tavaliselt 2–7 päeva, mille järel võib palavik tõusta ajutiselt kuni 41 °C-ni, kuid kliinilised tunnused võivad ettevõttes ilmneda pärast pikemat perioodi. Seejärel tekivad sõrgade piirile villid, tüüpiliselt kanna ühinemiskohas. Need võivad esineda kogu sõrajoonel ning põhjustada sõra eraldumist. Harvemini võivad villid esineda ka kärsal, eriti selle ülemisel poolel, huultel, keelel ja nisadel ning põlvedel võib märgata pindmisi haavandeid. Nakatunud sead võivad mõne päeva jooksul longata ja olla isutud.

Nooremad sead põevad haigust raskemalt, kuigi sigade vesikulaartõve suremus on väga väike, vastupidiselt noorkarjas esinevale suu- ja sõrataudile.

Teatatud on ka närvilisuse ilmingutest, kuid need on harvad. Tiinuse katkemine ei ole sigade vesikulaarhaiguse puhul iseloomulik. Multifokaalse müokardiidi põhjustatud südamepuudulikkus võib olla iseloomulik suu- ja sõrataudile ja entsefalomüokardiidile, eelkõige noorte põrsaste puhul, kuid mitte sigade vesikulaarhaigusele.

Tervenemine kestab tavaliselt kaks või kolm nädalat ning nakatumise ainsaks jäljeks jääb tume horisontaaljoon sõral kohas, kus kasv on ajutiselt peatunud.

Nakatunud sead võivad viirust eritada nina, suu ja väljaheidete kaudu juba 48 tundi enne kliiniliste tunnuste ilmnemist. Suurem osa viirusest tekib esimese seitsme päeva jooksul pärast nakatumist, viiruse eritumine ninast ja suust lõpeb tavaliselt kahe nädala pärast. Viirust võib väljaheidetest isoleerida kuni 20 päeva jooksul pärast nakatumist, kuigi seda on leitud ka veel kolme kuu jooksul. Lõhkenud villide surnud kudedes ja väljaheidetes võib viirus säilida märkimisväärselt kaua.

([1]) Spetsiifiline IgG, kas üksi või koos IgM-iga, avastatakse tavaliselt sigade vesikulaarhaigusesse nakatunud sigade seerumiproovides, kuna valepositiivsete sigade seerum sisaldab üldjuhul üksnes IgM-i. Spetsiifilist IgG-d ei avastata sigade vesikulaarhaiguse viirusega nakatunud sigade seerumiproovides eelmise 10–14 päeva jooksul, kuigi see peaks leiduma teises vereproovis. Siiski ei saa hiljuti nakatunud sigu usaldusväärselt eristada valepositiivsetest sigadest, enne kui nende immuunsüsteem lülitub IgM tootmiselt ümber IgG tootmisele. Vt ka IX peatükk ja joonealune märkus 7.

([2]) Spetsiifiline IgM on tavaliselt veres avastatav kaks kuni kolm päeva pärast nakatumist ning võib kaduda umbes 30–50 päeva pärast; spetsiifiline IgG on tavaliselt veres avastatav 10–14 päeva pärast nakatumist ning see võib kesta mitu aastat. Ig isotüüp on määratav VIII peatüki B osa punktis 2 kirjeldatud ELISA abil.

X PEATÜKK

Sigade vesikulaarhaiguse võrdlusseerumid

Võrdlusseerum	Päritolu	Märkus ([1])
1	Harilik seaseerum	Negatiivne kontrollseerum.
2	Seerum, mis on kogutud sigade vesikulaarhaigust põdevalt sealt 21 päeva pärast nakatumist (ppn) viiruse tüvega UKG 27/72 (puhas)	Kange positiivne kontrollseerum.
3	Seerum, mis on kogutud 5 ppn sigade vesikulaarhaiguse tüvega Italy 8/94 nakatunud sealt ja lahjendatud hariliku seaseerumiga vahekorras 1:10	Veidi pärast sigade vesikulaarhaiguse viimase Euroopa isolaadiga nakatumist saadud madalpositiivne seaseerum. Seerum on lahjendatud, et saada madal positiivne tulemus ELISA ja VN-testiga.
4	Seerum, mis on kogutud 21 ppn sigade vesikulaarhaiguse tüvega UKG 27/72 nakatunud sealt ja lahjendatud vahekorras 1:40	Madalpositiivne seerum antikehade väikseima sisaldusega, mis EÜ riigi tugilaborites annab ELISA ja viirusneutralisatsiooni testides positiivse tulemuse. Samaväärne seerumiga RS 01-04-94 ([2])
5	Seerum, mis on kogutud 4 ppn sigade vesikulaarhaiguse viiruse tüvega UKG 27/72 nakatunud sealt (puhas)	Veidi pärast nakatumist sealt saadud madalpositiivne seerum.
6	Seerum, mis on kogutud 5 ppn sigade vesikulaarhaiguse viiruse tüvega UKG 27/72 nakatunud sealt (puhas)	Veidi pärast nakatumist sealt saadud madalpositiivne seerum.

([1]) Need märkused kehtivad üksikute sigade testimise puhul. Seroloogilise järelevalve puhul võiks arvesse võtta kasutatud testi tundlikkust.

([2]) St seerum tiitriga, mis on nii palju suurem kui piirväärtus, et ELISA ja VN-testi korduvkatsete puhul peaks tulemus olema alati positiivne.