32000D0428

L 167/22 *EUROPOS BENDRIJŲ OFICIALUSIS LEIDINYS* 2000 7 7

KOMISIJOS SPRENDIMAS

2000 m. liepos 4 d.

nustatantis diagnozavimo procedūras, mėginių ėmimo metodus ir laboratorinių tyrimų vertinimo kriterijus, kurie patvirtina kiaulių vezikulinę ligą bei diferencinę diagnozę

(pranešta dokumentu Nr. C(2000) 1805)

(tekstas svarbus EEE)

(2000/428/EB)

EUROPOS BENDRIJŲ KOMISIJA,

atsižvelgdama į Europos bendrijos steigimo sutartį,

atsižvelgdama į 1992 m. gruodžio 17 d. Tarybos direktyvą 92/119/EEB, nustatančią Bendrijos bendrąsias tam tikrų gyvūnų ligų kontrolės priemones ir konkrečias priemones nuo kiaulių vezikulinės ligos ([1]), su paskutiniais pakeitimais, padarytais Austrijos, Suomijos ir Švedijos stojimo aktu, ypač į jo II priedo 3 dalį,

kadangi:

(1) Būtina Bendrijos lygiu nustatyti diagnozavimo procedūras, mėginių ėmimo metodus ir kriterijus, kad būtų galima įvertinti laboratorinių tyrimų rezultatus, kurie patvirtina kiaulių vezikulinę ligą, leidžia greitai atskirti ją nuo snukio ir nagų ligos, siekiant užtikrinti veiksmingesnę abiejų ligų kontrolę.

(2) Tarybos direktyvos 92/119/EEB III priedu nustatomos Bendrijos etaloninių laboratorijų kiaulių vezikulinei ligai tirti funkcijos ir uždaviniai tam, kad konsultuojantis su Komisija būtų galima koordinuoti metodus, kurie taikomi valstybėse narėse ligai diagnozuoti; šios funkcijos ir uždaviniai apima periodišką palyginamųjų tyrimų organizavimą ir etaloninių reagentų tiekimą Bendrijos lygiu.

(3) Neseniai buvo sukurti laboratoriniai tyrimai, leidžiantys užtikrinti, kad kiaulių vezikulinė liga bus greitai diagnozuota ir atskirta nuo snukio ir nagų ligos.

([1]) OL L 62, 1993 3 15, p. 69.

(4) Naujausių palyginamųjų tyrimų, atliktų Bendrijoje, rezultatai visų pirma reiškia, kad buvo sukurti patikimi tyrimai kiaulių vezikulinės ligos viruso antigenui ar genomui aptikti ir kad šie tyrimai gali sėkmingai papildyti viruso izoliavimo tyrimą, atliekamą kiaulių vezikulinės ligos virusologinei diagnozei patvirtinti.

(5) Pastaraisiais metais įgyta patirtis kiaulių vezikulinės ligos kontrolės srityje leido sukurti tinkamiausias mėginių ėmimo procedūras ir kriterijus, pagal kuriuos galima įvertinti laboratorinių tyrimų, leidžiančių teisingai diagnozuoti šią ligą esant įvairioms situacijoms, rezultatus.

(6) Buvo atsižvelgta į Gyvūnų sveikatos ir gerovės mokslinio komiteto nuomonę ir rekomendacijas dėl kiaulių vezikulinės ligos.

(7) Šiame sprendime numatytos priemonės atitinka Veterinarijos nuolatinio komiteto nuomonę,

PRIĖMĖ ŠĮ SPRENDIMĄ:

1 straipsnis

1. Valstybės narės užtikrina, kad patvirtinant kiaulių vezikulinę ligą ir nustatant diferencinę diagnozę su snukio ir nagų liga būtų remiamasi:

a) aptiktais ligos klinikiniais požymiais;

b) dengiamajame audinyje, pūslelių skystyje ar išmatų mėginiuose aptiktu virusu, antigenu ar genomu;

c) specifinio antikūno atsako nustatymu serumo mėginiuose,

laikantis prie šio sprendimo pridėtame vadove nurodytų procedūrų, mėginių ėmimo metodų ir kriterijų laboratorinių tyrimų rezultatams įvertinti.

2. Tačiau nacionalinės diagnostikos laboratorijos, nurodytos Direktyvos 92/119/EEB II priedo 5 punkte, gali modifikuoti laboratorijose atliekamus tyrimus, nurodytus prie šio sprendimo pridėtame vadove, arba atlikti skirtingus tyrimus su sąlyga, kad bus pasiektas lygiavertis jautrumas ir tikslumas.

Šių modifikuotų ar skirtingų tyrimų jautrumas ir tikslumas turi būti įvertinti remiantis periodiškai atliekamais palyginamaisiais tyrimais, organizuojamais Bendrijos etaloninės laboratorijos kiaulių vezikulinei ligai.

2 straipsnis

Šis sprendimas taikomas nuo 2000 m. spalio 1 d.

3 straipsnis

Šis sprendimas skirtas valstybėms narėms.

Priimta Briuselyje, 2000 m. liepos 4 d.

Komisijos vardu

David BYRNE

Komisijos narys

PRIEDAS

DIAGNOZAVIMO PROCEDŪRŲ, MĖGINIŲ ĖMIMO METODŲ IR LABORATORINIŲ TYRIMŲ VERTINIMO KRITERIJŲ, KURIE PATVIRTINA KIAULIŲ VEZIKULINĘ LIGĄ BEI DIFERENCINĘ DIAGNOZĘ, VADOVAS

I SKYRIUS

Įvadas, tikslai ir sąvokų apibrėžimai

1. Šis vadovas:

   a) pateikia rekomendacijas ir būtinuosius reikalavimus dėl diagnozavimo procedūrų, mėginių ėmimo metodų ir kriterijų, laboratorinių tyrimų rezultatų įvertinimui, kurie patvirtina teisingą kiaulių vezikulinės ligos diagnozę. Tačiau ypatingas dėmesys taip pat turi būti skiriamas ir nustatant diferencinę diagnozę su snukio ir nagų liga;

   b) integruoja Direktyvos 92/119/EB II priedo nuostatas, ypač minėto priedo 4, 7 ir 8 punktų nuostatas;

   c) labiausiai skirtas institucijoms, atsakingoms už kiaulių vezikulinės ligos kontrolę. Todėl akcentuojami principai, laboratorinių tyrimų taikymas ir gautų rezultatų įvertinimas, o ne išsami laboratorinė metodika.

2. Šiame vadove vartojamos sąvokos:

   a) *seroteigiama kiaulė*: bet kuri kiaulė, kurios serumo antikūnų titras, lygus ar didesnis už kiaulių vezikulinės ligos etaloninį serumui 4, nurodytam X skyriuje, nacionalinei laboratorijai atlikus viruso neutralizacijos tyrimą;

   b) *pavienis židinys*: bet kuri pavienė serologiškai teigiama kiaulė ūkyje, kurios serologinio tyrimo dėl kiaulių vezikulinės ligos rezultatas yra teigiamas, tačiau nežinoma jos sąlyčio su kiaulių vezikulinės ligos virusu istorija ir nėra įrodymų, kad infekcija išplito tarp sąlytį turinčių kiaulių. Serologiškai teigiama kiaulė patvirtinama esanti pavieniu židiniu, jei ji atitinka VIII skyriaus C poskyryje nurodytas sąlygas;

   c) *sąlytį turinčios kiaulės*: kiaulės, kurios tiesiogiai kontaktavo ar kontaktavo per paskutines 28 dienas su viena ar daugiau serologiškai teigiamų kiaulių, arba su viena ar daugiau kiaulių, kurios įtariamos užsikrėtusios kiaulių vezikulinės ligos virusu. Sąlytį turinčios kiaulės yra arba galėjo būti tame pačiame ar gretimuose aptvaruose, kur jos gali kontaktuoti vienos su kitomis.

II SKYRIUS

Rekomendacijos dėl klinikinių kiaulių vezikulinės ligos požymių turinčių kiaulių patikrinimo

1. Valstybės narės užtikrina, kad įtarus kiaulių vezikulinės ligos virusą ūkyje, oficialiai paskirtas veterinarijos gydytojas nedelsdamas ištirtų statistiškai patikimą kiaulių skaičių, kuriuo remiantis būtų nustatyti klinikiniai ligos požymiai, nurodyti IX skyriuje.

2. Valstybės narės užtikrina, kad aptikus kiaules turint kiaulių vezikulinės ligos ar snukio ir nagų ligos klinikinių požymių, nedelsiant būtų atlikta diferencinė diagnostika naudojantis atitinkamais mėginių ėmimo ir laboratoriniais tyrimais šio vadovo IV, VII ir VIII skyriuose nustatyta tvarka.

III SKYRIUS

Bendros mėginių ėmimo ir transportavimo procedūros

1. Bet kuris asmuo, atvykstantis į kiaulių ūkį, kuriame įtariama kiaulių vezikulinė liga, ar iš jo išvykstantis, turi laikytis griežčiausių higienos reikalavimų, kad būtų kuo mažesnė užkrėtimo ar viruso išplitimo rizika.

2. Visos atrinktos kiaulės turi būti paženklintos specialia žyma, kuri padėtų jas identifikuoti atliekant galimą pakartotinį mėginių ėmimą. Rekomenduojama, kad kartu su specialia identifikavimo žyma būtų pasižymėta ir kiekvienos atrinktos kiaulės buvimo vieta ūkyje, ypač jei mėginiams imti atrenkamos įtariamos kiaulės.

3. Mėginiai, kartu su lydraščiais, kuriuose turi būti nurodomos atrinktų kiaulių ligos istorijos detalės ir pastebėti klinikiniai požymiai, jei jų aptinkama, turi būti išsiunčiami laboratorijai.

4. Kadangi pūslelės gali būti snukio ir nagų ligos simptomas, reikia imtis ypatingų atsargumo priemonių, kad įtariami mėginiai būtų saugiai įpakuoti. Labiausiai šios atsargumo priemonės turi užtikrinti, kad mėginių tara nesudužtų, būtų sandari ir užkratas neišplistų, bet taip pat svarbu, kad jos užtikrintų pakankamai geros būklės mėginių pristatymą į laboratoriją. Jei į pakuotę dedama ledo, reikia pasirūpinti, kad neišbėgtų vanduo. Po to, kai tara su įtariamu kiaulių vezikulinės ligos virusu, išgabenama iš užkrėstų patalpų, jos negalima atidaryti, kol ji nepristatoma į laboratoriją.

5. Mėginiai įtariant kiaulių vezikulinę ligą turi būti tiriami tik laboratorijoje, kuri turi leidimą diagnostiniais tikslais atlikti tyrimus su snukio ir nagų ligos virusu Bendrijos teisės aktų dėl snukio ir nagų ligos nustatyta tvarka, nebent įtarimas dėl snukio ir nagų ligos prieš tai jau buvo atmestas.

6. Visus mėginius galima transportuoti 4 °C temperatūroje, jei tikimasi juos pristatyti į laboratoriją ne ilgiau kaip per 48 valandas. Priešingu atveju juos reikia laikyti ne aukštesnėje nei –20 °C temperatūroje.

7. Vienintelis leistinas mėginių, skirtų Bendrijos etaloninei laboratorijai, transportavimo būdas iš kitų valstybių narių nei Didžioji Britanija yra pervežimas oro transportu į Heathrow ar Gatwick oro uostus Londone. Prieš išsiunčiant mėginius, laboratoriją reikia išsamiai informuoti faksu ((44-1483) 23 26 21) ar elektroniniu paštu apie skrydžio numerį, datą, numatomą atvykimo laiką ir oro transporto važtaraščio numerį tam, kad būtų galima nustatyti atvykusį siuntinį. Siuntinys turi būti adresuotas:

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

   Etiketėje taip pat turi būti užrašyta tokia informacija: „Gyvūnų patologinė medžiaga, neturinti komercinės vertės. Greitai gendanti. Dūžtanti. Oro uoste turi atsiimti tik adresatas. Draudžiama atidaryti ne laboratorijoje.(*Animal pathological materialo of no commercial value. Perishable. Fragile. To be collected at airport by addressee. Not to be opened outside laboratory*.)“

   Sankcionuotą siuntų atsiėmimą iš oro uosto vykdo Bendrijos etaloninės laboratorijos personalas pagal šiam tikslui Jungtinės Karalystės žemės ūkio, maisto ir žvejybos ministerijos išduotą specialų bendrojo importo leidimą. Tai nuolatinis susitarimas, atskiros licencijos kiekvienam importavimui nereikia. Jungtinėje Karalystėje leidimo neturinčiam asmeniui draudžiama kaip rankinį bagažą transportuoti vezikulinės ligos virusu įtariamą užkrėstą medžiagą. Negalima naudotis kurjerių bendrovių paslaugomis.

8. Mėginiai į nacionalines laboratorijas turi būti transportuojami laikantis instrukcijų, kurias nustato kompetentingos valstybių narių institucijos.

IV SKYRIUS

Mėginių ėmimo procedūra ūkyje, iš kliniškai įtariamų kiaulių

1. Iš pastebėtų klinikinių ligos požymių įtarus kiaulių vezikulinės ligos viruso buvimą ūkyje, turi būti paimami atitinkami mėginiai iš reprezentatyvių kiaulių grupių, kuriose šių požymių buvo pastebėta tam, kad būtų galima patvirtinti ligą ir atlikti diferencinę diagnozę dėl snukio ir nagų ligos.

2. Iš šiuose ūkiuose paimtų mėginių diagnozei nustatyti labiausiai tinka iš kiaulių, kurioms pasireiškia tipiški ligos požymiai, surinktas epitelinis audinys ar pūslelių skystis iš nepratrūkusių ar šviežiai pratrūkusių vezikulių, kur galima aptikti kiaulių vezikulinės ligos virusą, jo antigenų ar genomą. Rekomenduojama mėginius paimti iš maždaug penkių ar šešių tokių kiaulių.

3. Net esant pakankamam šviežio epitelinio audinio ir pūslelių skysčio kiekiui (1 g ar daugiau), reikia imti šiuos mėginius:

   a) įtariamų ir sąlytį turinčių kiaulių kraujo mėginius serologiniams tyrimams atlikti; ir

   b) įtariamų kiaulių bei nuo šių kiaulių arba gretimų aptvarų grindų surinktus išmatų mėginius virusologiniams tyrimams atlikti.

4. Mėginiai turi būti imami ir transportuojami laikantis tokios procedūros:

   a) epitelio ir pūslelių skysčio mėginiai:

      — jeigu galima, reikia paimti mažiausiai 1 g epitelinio audinio iš nepratrūkusios ar neseniai pratrūkusios vezikulės. Prieš imant mėginius kiaulėms rekomenduojama įšvirkšti raminamųjų vaistų siekiant apsaugoti personalą nuo sužeidimų ir dėl kiaulės gerovės,

      — jeigu iš karto pristatoma į nacionalinę laboratoriją (ne ilgiau nei tris valandas), epitelio mėginius galima transportuoti sausai ir laikyti atšaldytus. Tačiau jei transportavimas trunka ilgiau nei tris valandas, mėginiai dedami į nedidelio tūrio transportavimo terpę, kurią sudaro tolygus glicerolio ir 0,04 M fosfatinio buferio tirpalas ar kitas lygiavertis buferinis tirpalas (HEPES), palaikantis optimalius terpės pH duomenis, reikalingus snukio ir nagų ligos virusui išlikti (pH nuo 7,2 iki 7,6). Dėl papildomo antimikrobinio aktyvumo transportavimo terpėje turi būti antibiotikų. Tinkami antibiotikai ir jų galutinė koncentracija ml yra tokie:

         i) 1 000 IU (tarptautinių vienetų) penicilino;

         ii) 100 IU neomicino sulfato;

         iii) 50 IU polimiksino B sulfato;

         iv) 100 IU mikostatino,

      — jeigu iš nepratrūkusios vezikulės galima paimti skysčio, jis turi būti laikomas neatskiestas atskiroje taroje;

b) kraujo mėginiai:

— kraujo mėginiai gali būti imami serologiniams ar virusologiniams tyrimams atlikti. Tačiau paprastai jie paimami tik iš kiaulių, kurios, kaip manoma, išgyveno po klinikinės ar subklinikininės infekcijos, antikūnams aptikti, nes kiaulių, turinčių klinikinių ligos požymių, epitelio, vezikulinio skysčio ir išmatų mėginiai yra tinkamesni virusui aptikti nei kraujo mėginiai. Kraujo mėginiams rekomenduojama naudoti vakuuminius mėgintuvėlius be antikoagulianto, juos transportuoti uždarytas;

c) išmatų mėginiai:

— išmatų mėginiai, paimti nuo grindų patalpose, kuriose, kaip įtariama, yra arba buvo kiaulių, užsikrėtusių kiaulių vezikuline liga, ar tamponai ir išmatų mėginiai, paimti iš įtariamų gyvų kiaulių, turi būti įdėti į tvirtą, hermetišką tarą.

Tarą su įtariamais mėginiais turi būti dezinfekuota iš išorės prieš transportuojant ją į laboratoriją. Tinkamos dezinfekcinės medžiagos yra tokios:

— natrio hidroksidas (atskiedimo santykis 1:100),

— formalinas (formalino tirpalo, kuriame yra mažiausiai 34 % formaldehido, atskiedimo santykis 1:9),

— natrio hipochloritas (esant 2 % chloro).

Su šiomis dezinfekcinėmis medžiagomis reikia elgtis atsargiai.

V SKYRIUS

Mėginių ėmimo procedūros atliekant kiaulių vezikulinės ligos serologinę stebėseną

1. Kai serologinė stebėsena atliekama siekiant:

a) ištirti ūkius, kuriuose nėra įrodymų ar įtarimo dėl galimo ligos buvimo;

b) ištirti skerdyklas, turgus, surinkimo punktus ar panašias vietas, atliekant įprastinį serologinių mėginių ėmimą;

c) atlikti kiaulių, gaunamų iš kitų valstybių narių, nediskriminuojantį tyrimą importuojančiame ūkyje,

serologiniams tyrimams kiaulių kraujo mėginiai imami monitoringo ar likvidavimo programų ar planų nuostatose, patvirtintose Sprendimo 90/424/EEB [1] ar Direktyvos 90/425/EEB [2] nustatyta tvarka, arba, jeigu tokių nuostatų nėra, valstybių narių kompetentingų institucijų nustatyta tvarka.

2. Kai serologinė stebėsena atliekama siekiant:

a) ištirti ūkius, esančius apsaugos ir stebėjimo zonose, kurie buvo įsteigti patvirtinus ligos protrūkius Direktyvos 92/119/EEB II priedo 7 ir 8 punktuose nustatyta tvarka; arba

b) prižiūrėti ūkius, nurodytus Direktyvos 92/119/EEB 9 straipsnyje,

kiaulių kraujo mėginiai serologiniams tyrimams turi būti imami tokia tvarka:

— veislininkystės ūkiuose mėginių ėmimo atsitiktine tvarka procedūrą reikia atlikti taip, kad 95 % patikimumu būtų nustatytas 5 % serologinis paplitimas,

— ūkiuose, kuriuose laikomos tik penimos kiaulės, mėginių ėmimo procedūra turi užtikrinti, kad bendras paimtų mėginių skaičius yra bent jau toks, kad būtų galima nustatyti 5 % paplitimą esant 95 % patikimumui. Bet kuriuo atveju, mėginius reikia paimti iš kaip galima daugiau atsitiktinai pasirinktų aptvarų,

— bendruose veislininkystės ir penimų kiaulių ūkiuose mėginius reikia imti iš kiekvienos kiaulių, gyvenančių atskirose patalpose, grupės taip, kad 95 % tikslumu būtų nustatytas 5 % serologinis paplitimas.

VI SKYRIUS

Tolesni veiksmai ir pakartotinos mėginių ėmimo procedūros aptikus serologiškai teigiamas kiaules

1. Jei, atlikus tyrimą, nurodytą V skyriaus 1 punkto a papunktyje ar V skyriaus 2 punkte, ūkyje nustatoma viena serologiškai teigiama kiaulė, kompetentinga institucija užtikrina, kad:

a) šiame ūkyje būtų taikomos priemonės, nurodytos Direktyvos 92/119/EEB 4 straipsnyje, jei jos dar nebuvo pritaikytos;

b) ūkyje būtų atliekamas patikrinimas II skyriaus 1 punkte nustatyta tvarka;

[1] OL L 224, 1990 8 18, p. 19.
[2] OL L 224, 1990 8 18, p. 29.

c) kraujo mėginiai serologiniams tyrimams atlikti būtų paimami iš:

— įtariamos kiaulės,

— sąlytį turinčių kiaulių, kurios gyvena tame pačiame, kaip ir įtariama kiaulė, ar gretimame aptvare; mėginiai iš šių kiaulių turi būti paimti taip, kad aptvare 95 % tikslumu būtų nustatytas 50 % serologinis paplitimas.

2. Tačiau kompetentinga institucija gali nuspręsti netaikyti priemonių, nurodytų 1 punkto a papunktyje, jeigu:

a) epidemiologinis tyrimas, atliktas Direktyvos 92/199/EEB 8 straipsnyje nustatyta tvarka, rodo, kad ūkyje nėra kiaulių vezikulinės ligos;

b) ūkyje neaptikta kiaulių vezikulinės ligos klinikinių požymių; ir

c) ūkio vieta yra ne stebėjimo ar apribojimų zonoje, įsteigtoje patvirtinus ligos protrūkį, arba ūkiui nėra taikoma kitų apribojimų dėl patvirtinto ligos protrūkio,

ir jeigu:

— iš ūkio neišvežamos kiaulės Bendrijos vidaus prekybai, ir

— kiaulės iš stebimo ūkio yra išvežamos tik į skerdyklas skubiai paskersti ar į kitą ūkį, iš kurio kiaulės neišvežamos Bendrijos vidaus prekybai,

kol tolesnių patikrinimų ir serologinių tyrimų rezultatais nustatoma, kad kiaulių vezikulinė liga tikrai nepasitvirtino.

3. Jei patikrinimai ir serologiniai tyrimai, atliekami 1 punkto b ir c papunkčiuose nustatyta tvarka:

a) patvirtina neigiamą rezultatą ar teigiamą tik ankstesnės serologiškai teigiamos kiaulės (pavienis židinys) rezultatą, įtarimas dėl kiaulių vezikulinės ligos gali būti atmestas. Nesiimama priemonių, nurodytų 1 punkto a papunktyje, jei ūkio vieta yra ne apsaugos ar stebėjimo zonoje, įsteigtoje ligos protrūkio apylinkėse, kur ligos likvidavimo priemonės turi likti galioti Direktyvos 92/119/EEB II priedo 7 ar 8 punktuose nustatyta tvarka;

b) rodo, kad ūkyje yra daugiau nei viena serologiškai teigiama kiaulė, turi būti arba patvirtinta kiaulių vezikulinė liga arba, jei sąlygos ligai patvirtinti, nurodytos Direktyvos 92/119/EEB II priedo 4 punkte, nėra įvykdomos, iš ūkio reikia paimti papildomų mėginių pagal 4 punkte nurodytą mėginių ėmimo procedūrą.

4. Jei, surinkus mėginius ir atlikus serologinius tyrimus, nurodytus V skyriaus 1 punkto a papunktyje, 1 punkto c papunktyje ar 2 punkte, ūkyje nustatoma daugiau nei viena serologiškai teigiama kiaulė, tačiau neįvykdomos sąlygos kiaulių vezikulinei ligai patvirtinti, nurodytos Direktyvos 92/119/EEB II priedo 4 punkte, kompetentinga institucija užtikrina, kad:

a) būtų taikomos ar toliau būtų taikomos nuostatos, nurodytos Direktyvos 92/119/EEB 4 straipsnyje;

b) ūkyje būtų atliktas patikrinimas II skyriaus 1 punkte nustatyta tvarka;

c) būtų toliau renkami serologiškai teigiamų kiaulių ir sąlytį turinčių kiaulių kraujo mėginiai serologiniams tyrimams atlikti 1 punkto c papunktyje nustatyta tvarka;

d) būtų renkami kiaulių, esančių kituose ūkio pastatuose, kraujo mėginiai serologiniams tyrimams atlikti pagal V skyriaus 2 punkte nurodytą procedūrą;

e) virusologiniams tyrimams atlikti būtų paimtas pakankamas kiekis išmatų mėginių:

— iš serologiškai teigiamų kiaulių,

— nuo aptvarų, kuriose yra serologiškai teigiamų kiaulių ir gretimų aptvarų grindų,

— iš kituose ūkio pastatuose esančių ir atsitiktine tvarka pasirinktų aptvarų.

Išmatų mėginiai, surinkti pirmiau minėtose pirmojoje ir antrojoje įtraukose nustatyta tvarka, turi būti kuo skubiau ištirti. Jei šie mėginiai yra neigiami, tačiau serologinių tyrimų rezultatai rodo, kad kiaulių vezikulinės ligos virusas galėjo išplisti į kitus pastatus, taip pat reikia ištirti išmatų mėginius, surinktus pirmiau minėtoje trečiojoje įtraukoje nustatyta tvarka.

Jei, atlikus šiuos papildomus patikrinimus ir tyrimus, neįvykdomos sąlygos kiaulių vezikulinei ligai patvirtinti, nurodytos Direktyvos 92/119/EEB II priedo 4 punkte, serologiškai teigiamos kiaulės yra nužudomos ar paskerdžiamos Direktyvos 92/119/EEB II priedo 4 punkto d dalyje nustatyta tvarka. Tačiau jei patvirtinama, kad, be jau nustatytų serologiškai teigiamų kiaulių, atlikus ankstesnį mėginių ėmimą, kitos kiaulės taip pat buvo serologiškai teigiamos, nuostatos ir procedūros, nurodytos a, b, c, d ir e papunkčiuose, toliau taikomos *mutatis mutandis*.

5. Nepažeidžiant galimybės imtis priemonių, nurodytų Direktyvos 92/119/EEB 9 straipsnyje, jei atlikus tyrimus, nurodytus V skyriaus 1 punkto b ar c papunkčiuose, nustatoma viena ar daugiau serologiškai teigiamų kiaulių, kompetentinga institucija užtikrina, kad:

   a) jei būtina ir įmanoma, būtų toliau atlikti atitinkami patikrinimai, įskaitant mėginių ėmimą, kiaulių vezikulinei ligai patvirtinti ar atmesti vietose, kur buvo aptikta tokių kiaulių, atsižvelgiant į situaciją vietoje;

   b) šių kiaulių kilmės ūkyje būtų taikomos priemonės, nurodytos Direktyvos 92/119/EEB 4 straipsnyje;

   c) šių kiaulių kilmės ūkyje būtų atliktas patikrinimas II skyriaus 1 punkte nustatyta tvarka; ir

   d) serologiniams tyrimams atlikti būtų surinkti mėginiai iš kiaulių, esančių serologiškai teigiamų kiaulių kilmės ūkyje, V skyriaus 2 punkte nustatyta tvarka.

6. Tačiau kompetentinga institucija gali nuspręsti netaikyti priemonių, nurodytų 5 punkto b papunktyje, jeigu:

   a) epidemiologinis tyrimas, atliktas Direktyvos 92/199/EEB 8 straipsnyje nustatyta tvarka, rodo, kad ūkyje nėra kiaulių vezikulinės ligos;

   b) ūkyje neaptikta kiaulių vezikulinės ligos klinikinių požymių;

   c) ūkio vieta yra ne stebėjimo ar apribojimų zonoje, įsteigtoje patvirtinus ligos protrūkį, arba ūkiui nėra taikoma kitų apribojimų dėl patvirtinto ligos protrūkio,

   ir jeigu:

   — iš ūkio neišvežamos kiaulės Bendrijos vidaus prekybai; ir

   — kiaulės iš stebimo ūkio yra išvežamos tik į skerdyklas skubiai paskersti ar į kitą ūkį, iš kurio kiaulės neišvežamos Bendrijos vidaus prekybai,

kol tolesnių patikrinimų ir serologinių tyrimų rezultatais nustatoma, kad kiaulių vezikulinė liga tikrai nepasitvirtino.

VII SKYRIUS

Virusologinių tyrimų principai ir jų taikymas bei gautų rezultatų įvertinimas

A. **Viruso antigeno nustatymas**

1. Netiesioginis daugiasluoksnis ELISA metodas pakeitė komplemento sujungimo metodą, taikytą kaip atrankos metodas kiaulių vezikulinės ligos virusiniam antigenui nustatyti. Tai toks pats tyrimas, kaip nustatant snukio ir nagų ligos diagnozę. Šių dviejų ligų tyrimus reikia atlikti tuo pačiu metu, nebent snukio ir nagų liga prieš tai buvo atmesta. Tai ypač rekomenduojama tiriant epitelio ar iš vezikulių paimto skysčio mėginius, kur, esant aukštiems titrams stipriai infekuotose kiaulėse, gali būti kiaulių vezikulinės ligos bei snukio ir nagų ligos virusų, kuriuos galima nustatyti per keletą valandų [1].

   Dvigubos eilės daugiaertmėse ELISA plokštelės padengiamos triušio antiserumu prieš kiaulių vezikulinės ligos virusą ir prieš kiekvieną iš septynių snukio ir nagų ligos viruso serotipą. Tai sugaudymo serumai. Kiekvienoje eilėje dedama tiriamo mėginio suspensijų. Taip pat įtraukiamos atitinkamos kontrolinės grupės. Kitame etape atitinkamose eilėse dedama jūrų kiaulytės homologinio detekcijos serumo, po to triušio ir jūrų kiaulytės antiserumas konjuguojamas tokiu fermentu, kaip krieno peroksidazė. Po kiekvieno etapo laisvi reagentai pašalinami kruopščiai nuplaunant. Spalvinė reakcija, išryškėjusi įdėjus chromogeno ar substrato, reiškia, kad reakcija yra teigiama. Stiprios teigiamos reakcijos matomos plika akimi, tačiau rezultatus taip pat galima nustatyti spektrofotometriškai – šiuo atveju absorbcijos rodiklis 0,1 virš bazinės ribos reiškia teigiamą rezultatą.

2. Kiaulių vezikulinės ligos antigenui epitelio mėginiuose, pūslelių skystyje ar infekuoto audinio kultūrose nustatyti ir diferencinei diagnozei su snukio ir nagų liga patvirtinti gali būti naudojamos alternatyvios ELISA monokloninių antikūnų sistemos, atrenkant iš ląstelės klonuotus antikūnus kaip sugaudymo antikūną, o peroksidaze konjuguotus monokloninius antikūnus kaip detekcijos antikūną.

3. ELISA monokloninių antikūnų metodas gali būti naudojamas antigeno pakitimams kiaulių vezikulinės ligos viruso kultūrose tirti. Audinio kultūroje išauginti viruso antigenai yra tiriami su triušio hiperimuniniu antiserumu prieš kiaulių vezikulinę ligą, absorbuojant iki kietos fazės. Po to suaktyvinamos iš ląstelės klonuotų antikūnų grupės ir monokloninių antikūnų jungimasis su išoriniais štamais yra palyginamas su monokloninių antikūnų ir pirminių štamų jungimusi. Panašus jungimasis reiškia, kad pirminiai ir išoriniai štamai pasidalija epitopais.

[1] ELISA tyrimo rezultatai yra teigiami mėginyje esant mažiausiai 105 TCID50 (infekuoto audinio kultūrų dozės) virusų.

B. **Viruso išskyrimas ir dauginimas**

1. Įprastai, išgrynintos epitelio, vezikulinio skysčio ar išmatų, įtariamų turint kiaulių vezikulinės ligos virusą, mėginių suspensijos turi būti inokuliuotos į jautriąsias ląstelės kultūras. Jei tyrimams iš vezikulių paimtų mėginių kiekis ir kokybė yra nepakankami skubiam ELISA tyrimui atlikti, viruso antigenui sustiprinti virusą reikia padauginti audinio kultūrose.

2. Virusui išskirti ir padauginti, išgryninta epitelio suspensija yra inokuliuojama į IB-RS-2 ląstelių monomolekulinių sluoksnių kultūras. Kad interferonas, kurį atpalaidavus kiaulių vezikulinės ligos virusas negalės normaliai daugintis, neblokuotų viruso dauginimosi, turėtų būti naudojami du epitelio suspensijos tirpalai – vienas aukštas (1/500), kitas žemas (1/10). Virusui išskirti į palaikančiąją reakcijos terpę dedama tik antibiotikų. Diferencinei diagnozei nuo snukio ir nagų ligos viruso patvirtinti taip pat reikia inokuliuoti galvijų skydliaukės pirmines ląsteles ar žiurkėno inkstų ląsteles (BHK-21).

3. Jei pasireiškia citopatinis efektas, jam užsibaigus ir identifikuojant virusą ELISA metodu, nuo teigiamų kultūrų reikia surinkti paviršiuje plūduriuojantį skystį. Neigiamas kultūras reikia inokuliuoti ant šviežio audinio kultūrų 48 ar 72 valandoms, o šio aklojo perkėlimo į kitą terpę rezultatus ištirti praėjus 72 valandoms. Jei citopatinis efektas neišsivysto po pakartotinių aklųjų perkėlimų, galima skelbti neigiamą gyvo viruso rezultatą mėginiuose.

4. Išmatų mėginių suspensijos gali būti apdorotos, kaip nurodyta 1 punkte. Kadangi išmatose viruso kiekis paprastai yra mažesnis nei epitelyje, svarbu atlikti trečiąjį akląjį perkėlimą, kai citopatinis efektas nepasireiškia per pirmuosius du perkėlimus.

5. Sinchroniška kiaulės ląstelių sekos ir vienos iš pirmiau minėtų audinio kultūrų sistemų (pageidautina pirminių galvijų skydliaukės ląstelių) inokuliacija yra naudingas orientyras nustatant, ar vezikuliniai mėginiai turi kiaulių vezikulinės ligos virusą, ar snukio ir nagų ligos virusą, nes pirmasis dauginsis tik kiaulinės kilmės ląstelėse. Kita vertus, išskirtas snukio ir nagų ligos virusas, esant ilgai užsitęsusiai jo perdavimo tarp kiaulių istorijai, taip pat gali lengvai daugintis kiaulių ląstelių kultūrų sistemose.

C. **Polimerazinė grandininė reakcija (PGR) genomui aptikti**

1. Kiaulių vezikulinės ligos viruso genomui aptikti klinikinėje medžiagoje taikant PGR ir sąsajoms tarp išskirtų kiaulių vezikulinės ligos virusų nustatyti pagal genomo dalies nukleotidų seką taip pat galima naudoti nukleino rūgšties atpažinimo metodus. Diagnozės jautrumui pagerinti taikant PGR buvo sukurta keletas technikų. Kiek skirtingos atvirkštinės transkriptazės – PGR procedūros buvo apibūdintos pagal pradmenų rinkinius, atitinkančius ypač atsparias sritis 1C ir 1D genuose.

2. PGR technika užima mažai laiko (rezultatai paprastai gaunami per 24 valandas), ją taikant aptinkami visi kiaulių vezikulinės ligos viruso genotipai, ji yra pakankamai jautri tiriant mėginius, surinktus įtariamos klinikinės ligos atvejais.

3. Kai patobulintos AT-PGR technikos, kaip antai lizdinė AT-PGR, imuninė PGR, ELISA-PGR ir nuodugnesni RNR išskyrimo metodai, taikomos įtarus poklinikinę infekciją, surinkus mėginius klinikinei ligai pasibaigus ar apdorojant išmatų mėginius, sukuriama beveik tokio pat jautrumo, tik žymiai spartesnė, nei daugkartinis audinio kultūrų perkėlimas, aptikimo sistema.

4. Nustačius maždaug 200 nukleotidų seką 1D gene, pagal kurį nustatomas pagrindinio struktūrinio proteino VP1 genetinis kodas, kiaulių vezikulinės ligos viruso štamus galima sugrupuoti pagal jų sekos homologiją ir epidemiologiškai susieti štamus, kurie sukelia ligas skirtingose srityse ar skirtingu laiku.

D. **Virusologinių tyrimų rezultatų įvertinimas**

Kiaulių vezikulinės ligos viruso antigenų ar genomo nustatymas taikant ELISA ir PGR turi tokią pat diagnostinę vertę, kaip ir viruso išskyrimas.

Tačiau viruso išskyrimas laikytinas etaloniniu tyrimu ir jį reikia taikyti kaip patvirtinamąjį tyrimą, kai būtina, ypač jei teigiamas ELISA ar PGR rezultatas nėra siejamas su:

a) klinikinių ligos požymių nustatymu;

b) serologiškai teigiamų kiaulių nustatymu; ar

c) tiesioginiu epidemiologiniu ryšiu su patvirtintu ligos protrūkiu.

VII SKYRIUS

Serologinių tyrimų principai, taikymas ir gautų rezultatų įvertinimas

A. **Viruso neutralizavimo (VN) testas**

1. Kiekybinis VN mikrotyrimas kiaulių vezikulinės ligos viruso antikūnui nustatyti atliekamas su IB-RD-2 ląstelėmis ar lygiaverte ląstelių sistema plokščiadugnėse audinio kultūrų profiliuotose mikrotitrinėse plokštelėse.

2. Virusas dauginamas IB-RD-2 ląstelių monomolekuliniuose sluoksniuose ir laikomas –20 °C temperatūroje papildomai įdėjus 50 % glicerolio arba –70 °C temperatūroje be glicerolio. Serumai dezaktyvuojami 56 °C temperatūroje likus 30 minučių iki tyrimo pradžios.

B. **ELISA metodai**

1. ELISA antikūnams nustatyti taikomas monoklonalinių antikūnų lygiagretusis ELIZA metodas. Jei serumo mėginyje yra antikūnų prieš kiaulių vezikulinės ligos virusą, atrinkto peroksidaze konjuguoto monoklonalinio antikūno jungimasis su viruso antigenu bus blokuojamas.

   Taikant šį ELISA metodą kiaulių vezikulinės ligos viruso antigenas sugaunamas kietoje fazėje naudojant monoklonalinius antikūnus; po to serumų mėginiai veisiami atitinkamame tirpale, prieš tai įvedus peroksidaze konjuguotą monoklonalinį antikūną. Po to monokloninio antikūno jungimosi blokavimas įvertinamas naudojant substratą ir chromogeną.

2. Netiesioginio sugaudymo ELISA metodas naudojant specifinės izomorfinės struktūros monoklonalinius antikūnus kiaulių vezikulinės ligos virusui būdingiems kiaulių IgG ar IgM aptikti, yra naudingas nustatant infekcijos išplitimo kiaulės organizme ar užkrėstose patalpose laiką.

   Taikant specifinės izomorfinės struktūros ELISA metodą viruso antigeną kietoje fazėje sugauna antigeną gaudantis antikūnas. Jei serumo mėginyje yra antikūnų prieš kiaulių vezikulinės ligos virusą, jie aptinkami naudojant kiaulių priešvirusinį IgG ar IgM monoklonalinį antikūną, konjuguotą peroksidaze. Po to šis jungimasis įvertinamas naudojant substratą ir chromogeną.

   Specifinės izomorfinės struktūros ELISA metodas taip pat gali padėti atskirti pavienius židinius nuo tikrai serologiškai teigiamų kiaulių, kaip nurodyta C dalyje.

C. **Serologinių tyrimų taikymas ir rezultatų įvertinimas**

1. VN tyrimas ir ELISA metodas yra rekomenduojami serologiniai testai. X skyriuje išvardijami etaloniniai serumai, kurių turi Bendrijos etaloninės laboratorijos, kad būtų galima atlikti standartizuotus serologinius tyrimus Bendrijoje.

   VN tyrimas laikytinas etaloniniu tyrimu, tačiau jo trūkumas yra tai, kad jo užbaigimas trunka 2–3 dienas, be to, audinio kultūroms reikia sąlygų.

   ELISA užima mažiau laiko, jį lengviau standartizuoti. Monoklonalinių antikūnų lygiagretusis ELIZA metodas yra patikimiausias iki šiol aprašytas kiaulių vezikulinės ligos antikūno nustatymo ELISA metodas. Jis rekomenduojamas kaip patikros tyrimas esant dideliam mėginių kiekiui.

   Tačiau VN tyrimą reikia taikyti kaip patvirtinamąjį tyrimą, kai būtina, ypač pirmą kartą ūkyje aptikus teigiamų mėginių. Teigiamas pagal ELISA, bet neigiamas pagal VN tyrimą kiaules galima ignoruoti.

2. Galima įtarti esant pavienį reaktorių ([1]), kai nustatoma vienintelė serologiškai teigiama kiaulė ir atitinkant šiems kriterijams:

   a) ūkyje nėra klinikinių ligos požymių;

   b) ūkyje nenustatyta tiesiogiai susijusi klinikinės ligos istorija;

   c) nenustatyta sąlyčio su žinomu ligos protrūkiu istorija.

3. Patvirtinama, kad kiaulė yra pavienius židinys, kai:

   a) papildomai atlikti tyrimai nerodo esant kitų serologiškai teigiamų kiaulių;

   b) po pirminio pavienio židinio aptikimo iš sąlytį turinčių kiaulių surinkti mėginiai nerodo serologinio paplitimo;

   c) antikūno titras pakartotinai surinktuose mėginiuose yra pastovus arba mažėja.

([1]) Nedidelę pavienių židinių proporciją galima aptikti taikant bet kurį dabartinį kiaulių vezikulinės ligos serologinį tyrimą. Pavienių židinių atsiradimo veiksniai nėra žinomi. Serologinis kryžminis reaktyvumas su kiaulių vezikulinės ligos virusu gali kilti dėl infekcijos su kitu, kol kas nenustatytos kilmės pikornavirusu, ar gali atsirasti dėl kitų nespecifinių veiksnių, esančių serume.

4. Patvirtinant pavienį židinį taip pat reikia atsižvelgti ir į tokius papildomus kriterijus ir principus:

   a) pavienių židinių pasitaiko vyraujant apytiksliam kiaulių santykiui 1 su 1 000;

   b) serumai iš pavienių židinių turi tokius požymius:

      — žemas VN tyrimo antikūno titras,

      — tarpinis teigiamas rezultatas tiriant monoklonalinių antikūnų lygiagrečiuoju ELIZA metodu,

      — išimtinai IgM, o ne IgG, tiriant kiaulių vezikulinės ligos specifinės izomorfinės struktūros ELISA metodu ([1]).

IX SKYRIUS

Kiaulių vezikulinės ligos klinikiniai požymiai ir ypatybės

Kiaulių vezikulinė liga yra užkrečiama liga, kurią sukelia *pikornaviridae* šeimos enterovirusas, galinti pasireikšti poklinikine, lengva ar sunkia vezikuline forma – tai priklauso nuo susijusio viruso štamo, infekcijos išplitimo būdo ir jos apimties, ūkio, kuriame laikomos kiaulės, sąlygų. Papildomi streso veiksniai, pavyzdžiui, transportavimas, maišymas su kitomis kiaulėmis ir dideli temperatūrų svyravimai, taip pat galėtų sąlygoti pirmųjų klinikinių požymių atsiradimą.

Ligai būdingi požymiai yra lengvas karščiavimas, vezikulių susidarymas ant vainikinės jungiamojo audinio plėvės, kulno gumburų, galūnių odos, rečiau ant šnipo, lūpų, liežuvio ir spenelių. Sergamumo rodiklis gali siekti 100 %, tačiau mirtingumas labai žemas arba nulinis.

Gali vystytis nepastebimos ar švelnios formos infekcija, pasireiškianti tik laikinu bendros kiaulių išvaizdos pablogėjimu, tačiau po keleto dienų susiformuoja virusą neutralizuojantys antikūnai ([2]).

Dėl poklinikinės ar švelnios ligos formos, dažnai pirmą kartą ji įtariama tik atlikus serologinius tyrimus dėl ligos sekimo ar eksporto pažymėjimo išdavimo. Paskutiniai kiaulių vezikulinės ligos protrūkiai Europoje pasižymėjo švelnesne forma ar klinikinių požymių nebuvimu, o diagnozė dažniausiai buvo nustatoma pagal serologiją.

Tačiau kiaulių vezikulinės ligos klinikiniai požymiai nesiskiria nuo snukio ir nagų ligos klinikinių požymių. Bet kuri vezikulinė ligos forma iš pradžių turi būti gydoma kaip įtariama snukio ir nagų liga, ir kiek įmanoma skubiau turi būti diferencinė diagnozė nustatoma.

Kiaulių vezikulinės ligos inkubacinis periodas pavienėms kiaulėms paprastai tęsiasi nuo dviejų iki septynių dienų, po ko gali prasidėti laikinas karščiavimas iki 41 °C, tačiau klinikiniai požymiai ūkyje gali išryškėti praėjus ilgesniam laikotarpiui. Vėliau vezikulių susidaro ant vainikinės jungiamojo audinio plėvės, paprastai ties jungtimi su kulnu. Jos gali pažeisti visą vainikinės jungiamojo audinio plėvės plotą, dėl ko netenkama viso kojos nago. Rečiau vezikulių atsiranda ant šnipo, ypač ant nugaros, lūpų, liežuvio ir spenelių, ant kelių galima pastebėti negilių išėdimų. Užsikrėtusios kiaulės gali apšlubti keletui dienų ir neėsti.

Jaunesnių kiaulių infekcija pasireiškia stipriau, nors mirtingumas dėl kiaulių vezikulinės ligos labai retas, palyginti su jaunų gyvūnų snukio ir nagų ligos atvejais.

Yra pranešimų apie nervingumo požymius, bet jie reti. Persileidimas nėra tipiškas kiaulių vezikulinės ligos požymis. Širdies veiklos sutrikimas dėl multifokalinio miokardito gali būti snukio ir nagų ligos ir encefalomiokardito požymis, ypač jauniems paršeliams, tačiau nepasitaiko, esant kiaulių vezikulinei ligai.

Paprastai pagyjama per dvi ar tris savaites, lieka vienintelė akivaizdi infekcijos žymė – tamsi, horizontali linija ant kojos nago, kur buvo laikinai nutrūkęs augimo procesas.

Užsikrėtusios kiaulės gali išskirti virusą pro nosį, burną ar per išmatas likus 48 valandoms iki klinikinių požymių atsiradimo. Labiausiai viruso kiekis padidėja per septynias dienas po infekcijos, o jo išskyrimas pro nosį ir burną paprastai liaujasi per dvi savaites. Virusą galima išskirti iš išmatų praėjus maždaug 20 dienų po infekcijos, nors jis ir buvo nustatytas prieš tris mėnesius. Negyvame audinyje jis išlieka palyginti ilgai pratrūkus vezikulėms ar išmatose.

([1]) Tik specifinis IgG arba kartu IgG ir IgM paprastai aptinkami serumo mėginiuose, surinktuose iš kiaulių, užsikrėtusių kiaulių vezikulinės ligos virusu, o pavienių židinių serume paprastai yra tik IgM. Specifinis IgG neaptinkamas serumo mėginiuose, surinktuose iš kiaulių, užsikrėtusių kiaulių vezikulinės ligos virusu prieš 10 ar 14 dienų, nors IgG turėtų būti aptiktas antrajame kraujo mėginyje. Neseniai užsikrėtusių kiaulių neįmanoma patikimai atskirti nuo pavienių židinių, kol jų imuninis atsakas nepasikeičia iš IgM į IgG gamybą. Taip pat žr. IX skyrių ir 7 išnašą.

([2]) Specifinį IgM kraujyje paprastai galima aptikti praėjus dviems trims dienoms po užsikrėtimo, po 30–50 dienų jis išnyksta; specifinis IgG kraujyje paprastai aptinkamas praėjus 10–14 dienų po užsikrėtimo, jis išsilaiko keletą metų. Ig izotipą galima aptikti ELISA metodu, aprašytu VIII skyriaus B dalies 2 punkte.

X SKYRIUS

Kiaulių vezikulinės ligos etaloniniai serumai

Etaloniniai serumai	Kilmė	Pastabos [1]
1	Normalios kiaulės serumas (NKS)	Neigiamas kontrolinis serumas.
2	Kiaulių vezikulinės ligos viruso štamu UKG 27/72 užsikrėstos kiaulės serumas, paimtas praėjus 21 dienai po infekcijos (dpi) (švarus)	Stipriai teigiamas kontrolinis serumas.
3	Serumo, paimto praėjus penkioms dpi iš kiaulės, užkrėstos kiaulių vezikulinės ligos štamu Italija 8/94,1:10 tirpalas NKS	Silpnai teigiamas serumas, paimtas iš kiaulės iš karto po infekcijos su neseniai išskirtu Europos kiaulių vezikulinės ligos virusu. Serumas buvo atskiestas, kad būtų gautas silpnai teigiamas rezultatas tiriant ELISA metodu ir atliekant VN tyrimą.
4	Serumo, paimto praėjus 21 dpi iš kiaulės, užkrėstos kiaulių vezikulinės ligos štamu UKG 27/42,1:40 tirpalas	Silpnai teigiamas serumas, rodantis žemiausią antikūnų lygį, kurį ES nacionalinės etaloninės laboratorijos turėtų nuosekliai pateikti kaip teigiamą rezultatą pagal ELISA ir viruso neutralizavimą. Lygiavertis serumui RS 01-04-9 [2].
5	Serumas, paimtas praėjus keturioms dpi iš kiaulės, užkrėstos kiaulių vezikulinės ligos štamu UKG 27/72 (švarus)	Silpnai teigiamas serumas, paimtas iš kiaulės iš karto po infekcijos.
6	Serumas, paimtas praėjus penkioms dpi iš kiaulės, užkrėstos kiaulių vezikulinės ligos štamu UKG 27/72 (švarus).	Silpnai teigiamas serumas, paimtas iš kiaulės iš karto po infekcijos.

[1] Šios pastabos susijusios su pavienių kiaulių tyrimais. Atliekant serumo tyrimus reikėtų atsižvelgti į atliekamo tyrimo jautrumą.
[2] Kitaip tariant, serumas su žymiai aukštesniu titru nei serumo titras, kuris visada turėtų būti pateikiamas kaip teigiamas rezultatas pagal ELISA ir VN tyrimą tiriant pakartotinai.