32000D0428

KOMISIJAS LĒMUMS

(2000. gada 4. jūlijs),

ar ko nosaka diagnostikas kārtību, paraugu atlases metodes un kritērijus laboratorisko pārbaužu rezultātu vērtējumam attiecībā uz cūku vezikulārās slimības un tās diferenciāldiagnozes apstiprinājumu

(izziņots ar dokumenta numuru C(2000) 1805)

(Dokuments attiecas uz EEZ)

(2000/428/EK)

EIROPAS KOPIENU KOMISIJA,

ņemot vērā Eiropas Kopienas dibināšanas līgumu,

ņemot vērā Padomes 1992. gada 17. decembra Direktīvu 92/119/EEK, ar ko ievieš vispārējus Kopienas pasākumus dažu dzīvnieku slimību kontrolei un īpašus pasākumus attiecībā uz cūku vezikulāro slimību ([1]), kurā jaunākie grozījumi izdarīti ar Austrijas, Somijas un Zviedrijas Pievienošanās aktu, un jo īpaši tā II pielikuma 3. punktu,

tā kā:

(1) Kopienā nosaka diagnostikas kārtību, paraugu atlases metodes un kritērijus laboratorisko pārbaužu rezultātu vērtējumam attiecībā uz cūku vezikulārās slimības apstiprinājumu un tās ātru atpazīšanu no mutes un nagu sērgas, lai nodrošinātu abu slimību kontroles uzlabošanu.

(2) Padomes Direktīva 92/119/EEK III pielikums nosaka Kopienas etalonlaboratorijas funkcijas un pienākumus attiecībā uz cūku vezikulāro slimību, lai, konsultējoties ar Komisiju, koordinētu dalībvalstīs izmantotās metodes šīs slimības diagnosticēšanā; minētās funkcijas un pienākumi ir periodisku salīdzinošu testu organizēšana un standarta reaģentu piegāde Kopienā.

(3) Izstrādā jaunākas laboratoriskās pārbaudes, lai nodrošinātu cūku vezikulārās slimības ātru diagnosticēšanu un atpazīšanu no mutes un nagu sērgas.

(4) Visjaunāko Kopienā veikto salīdzinošo testu rezultāti jo īpaši apliecina, ka izstrādātie testi cūku vezikulārās slimības vīrusa antigēna vai genoma noteikšanai ir droši un šie testi veiksmīgi papildina vīrusa izolācijas testu cūkas vezikulārās slimības virusoloģiskajā diagnosticēšanā.

(5) Pēc pēdējos gados gūtās pieredzes cūku vezikulārās slimības kontrolē nosaka vispiemērotāko paraugu atlases metodiku un kritērijus laboratorisko pārbaužu rezultātu vērtējumam attiecībā uz šīs slimības pareizu diagnosticēšanu dažādos gadījumos.

(6) Ņemot vērā Dzīvnieku veselības un labturības zinātniskās komitejas atzinumu un ieteikumus attiecībā uz cūku vezikulāro slimību.

(7) Šajā lēmumā paredzētie pasākumi ir saskaņā ar Pastāvīgās veterinārijas komitejas atzinumu,

IR PIEŅĒMUSI ŠO LĒMUMU.

1. pants

1. Dalībvalstis nodrošina, ka cūku vezikulārās slimības un mutes un nagu sērgas diferenciāldiagnozes apstiprinājumu pamato ar:

a) slimības klīnisko pazīmju atklāšanu;

([1]) OV L 62, 15.3.1993., 69. lpp.

b) vīrusa, antigēna vai genoma atklāšanu epitēlijaudos, vezikulu šķidrumā vai fēcēs;

c) pierādījumu par specifisko antivielu veidošanos seruma paraugos,

saskaņā ar diagnostikas kārtību, paraugu ņemšanas metodēm un laboratorisko pārbaužu vērtējuma kritērijiem, ko nosaka rokasgrāmata šī lēmuma pieliekumā.

2. Tomēr Direktīvas 92/119/EEK II pielikuma 5. punktā minētās valstu diagnostikas laboratorijas piemēro tādas modifikācijas laboratoriskajās pārbaudēs, kas minētas šī lēmuma rokasgrāmatā, vai izmanto atšķirīgus testus ar noteikumu, ka tie uzrāda vienādu šo testu jutīgumu un specifiskumu.

Tādu modificētu vai atšķirīgu testu jutīgumu un specifiskumu novērtē periodiskajos salīdzinošajos testos, ko organizē Kopienas etalonlaboratorija attiecībā uz cūku vezikulāro slimību.

2. pants

Šo lēmumu piemēro no 2000. gada 1. oktobra.

3. pants

Šis lēmums ir adresēts dalībvalstīm.

Briselē, 2000. gada 4. jūlijā

Komisijas vārdā —

Komisijas loceklis

David BYRNE

PIELIKUMS

ROKASGRĀMATA PAR DIAGNOSTIKAS KĀRTĪBU, PARAUGU ATLASES METODĒM UN LABORATORISKO PĀRBAUŽU REZULTĀTU VĒRTĒJUMA KRITĒRIJI ATTIECĪBĀ UZ CŪKU VEZIKULĀRĀS SLIMĪBAS UN TĀS DIFERENCIĀDIAGNOZES APSTIPRINĀJUMU

I NODAĻA

Ievads, mērķi un definīcijas

1. Šī rokasgrāmata:

   a) sniedz diagnostikas kārtības, paraugu atlases metožu un laboratorisko pārbaužu rezultātu vērtējuma kritēriju vadlīnijas un minimālās prasības attiecībā uz pareizi diagnosticētu cūku vezikulāro slimību. Tomēr jo īpaši uzsverot diferenciāldiagnozi, lai atpazītu šo slimību no mutes un nagu sērgas;

   b) iekļauj Direktīvas 92/119/EEK II pielikuma un jo īpaši tā 4., 7. un 8. punkta noteikumus;

   c) adresāts ir, galvenokārt, iestādes, kas atbildīgas par cūku vezikulārās slimības kontroli. Tādēļ tā uzsver laboratorisko pārbaužu principus un pielietojumu, un to rezultātu vērtējuma izmantošanu, nevis sīki izstrādātas laboratoriskas metodes.

2. Šajā rokasgrāmatā pielieto šādas definīcijas:

   a) "seropozitīva cūka" ir tāda cūka, kuras seruma antivielu titrs ir vienāds ar vai lielāks par cūku vezikulārās slimības standartserumu 4, kas minēts tāda vīrusa neitralizācijas testa X nodaļā, kuru pielieto valsts laboratorija;

   b) "vienīgais seropozitīvais gadījums" ir tāda seropozitīva cūka saimniecībā, kurai vienīgajai ir pozitīvi cūku vezikulārās slimības seroloģisko testu rezultāti, bet iepriekš nav nonākusi saskarē ar cūku vezikulārās slimības vīrusu un nav pierādījumu, ka šī cūka inficētu saskarē nonākušas cūkas. Seropozītīvu cūku apstiprina par vienīgo seropozitīvo gadījumu, ja apstākļi atbilst VIII nodaļas C daļā minētajiem nosacījumiem;

   c) "saskarē nonākušas cūkas" ir cūkas, kas ir vai pēdējās 28 dienās nonākusi tiešā saskarē ar vienu vai vairākām seropozitīvām cūkām vai ar vienu vai vairākām cūkām, kuras iespējami inficētas ar cūku vezikulārās slimības vīrusu. Saskarē nonākušas cūkas ir vai bija vienā vai blakus esošos aizgaldos, ja cūkām iespējams nonākt savstarpējā saskarē starp aizgaldiem.

II NODAĻA

Vadlīnijas par tādu cūku pārbaudēm, kam ir cūku vezikulārās slimības klīniskās pazīmes

1. Aizdomu gadījumā dalībvalstis nodrošina, pēc iespējas ātri, valsts veterinārārsta pārbaudi statistiski nozīmīgam cūku skaitam attiecībā uz cūku vezikulārās slimības vīrusu saimniecībā, lai noteiktu slimības klīniskās pazīmes, kas minētas IX nodaļā.

2. Gadījumā, ja cūkām ir klīniskās pazīmes, kas liecina par cūku vezikulāro slimību vai mutes un nagu sērgu, dalībvalstis nodrošina, pēc iespējas ātri, diferenciāldiagnozes pielietošanu, izmantojot atbilstošu paraugu atlasi un veicot laboratoriskos izmeklējumus saskaņā ar šīs rokasgrāmatas IV, VII un VIII nodaļā minētajiem noteikumiem.

III NODAĻA

Vispārīga paraugu atlases un pārvešanas kārtība

1. Ieejot vai izejot no cūku saimniecības, kurā iespējama cūku vezikulārā slimība, jebkura persona ievēro vajadzīgos visstingrākos sanitāri higiēniskos pasākumus, lai mazinātu inficēšanos vai vīrusa izplatīšanās risku.

2. Visas paraugu atlases cūkas ir īpaši marķētas, lai turpmāk iespējamā paraugu atkārtotā atlasē tās identificētu. Kopā ar īpašo atšķirības zīmi ieteicams uzrakstīt katras paraugu atlases cūkas atrašanās vietu saimniecībā, jo īpaši ja paraugus ņem no iespējami inficētām cūkām.

3. Paraugus nosūta uz laboratoriju, pievienojot atbilstošas veidlapas, kurās iekļauj datus par paraugu atlases cūku anamnēzi un novērotajām klīniskajām pazīmēm, ja tādas ir.

4. Tā kā jebkura cūku saslimšana ar vezikulārām pazīmēm var būt mutes un nagu sērga, veic īpašus piesardzības pasākumus, droši iepakojot iespējami inficētos paraugus. Šos piesardzības pasākumus galvenokārt plāno, lai novērstu konteinera lūzumu vai nosūci un kontaminācijas risku, bet ir svarīgi arī, ka nodrošina paraugu apmierinošu stāvokli, nonākot galamērķī. Ja iepakojumā liek ledu, novērš ūdens noplūdi. Konteinerus ar cūku vezikulārās slimības vīrusu iespējami inficētos paraugus ārpus inficētajām telpām atver tikai vienreiz, pēc to nogādāšanas laboratorijā.

5. Ar cūku vezikulārās slimības vīrusu iespējami inficētos paraugus analizē tikai laboratorijā, kura saskaņā ar Kopienas tiesību aktiem par mutes un nagu sērgu pilnvarota diagnostikas jomā rīkoties ar mutes un nagu sērgas vīrusu, ja vien šī sērga nav pārgājusi.

6. Visus paraugus pārvadā 4 °C, ja nosūtīšanas paredzamais laiks līdz saņēmējlaboratorijai ir mazāks nekā 48 stundas, pretējā gadījumā tos glabā temperatūrā, kas nav zemāka kā –20 °C.

7. No dalībvalstīm, izņemot Apvienoto Karalisti, sūtītajiem paraugiem, kuru galamērķis ir Kopienas etalonlaboratorija, vienīgā atļautā pārvadājuma metode ir gaisa kravas sūtījums uz Londonas lidostu Hītrovā vai Getvikā. Pirms nosūtīšanas laboratoriju informē pa faksu (+ 44 – 1483 23 26 21) vai e-pastu, precizējot lidojuma reisu, datumu, paredzamo ierašanās laiku un gaisa kravas pavadzīmes numuru, lai identificētu paku pēc tās atsūtīšanas. Paku adresē:

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

   Uz etiķetes ir šāda informācija: "Dzīvnieku izcelsmes patoloģisks materiāls bez tirgus vērtības. Ātrbojīgs. Trausls. Lidostā saņem tikai adresāts. Neatvērt ārpus laboratorijas telpām! (*Animal pathological material of no commercial value. Perishable. Fragile. To be collected at airport by addressee. Not to be opened outside the laboratory*)".

   Sūtījumu saņemšanu lidostā atļauj Kopienas etalonlaboratorijas personālam, uzrādot vispārīgu ievešanas atļauju, ko šīs vajadzības dēļ izsniedz Apvienotās Karalistes Lauksaimniecības, pārtikas un zivsaimniecības ministrija. Tā ir pastāvīga atļauja un atsevišķa licence katram ievedumam nav nepieciešama. Nepilnvarots personāls nedrīkst Apvienotajā Karalistē ievest iespējami inficētu vezikulāru materiālu rokas bagāžā. Kurjeru uzņēmumu pakalpojumi aizliegti.

8. Paraugu pārvešanu uz valstu laboratorijām veic saskaņā ar dalībvalstu kompetento iestāžu noteiktajiem norādījumiem.

IV NODAĻA

Paraugu atlases metodika saimniecībā, kurā ir iespējami inficētas cūkas ar klīniskām pazīmēm

1. Ja saimniecībā ir iespējami inficētas cūkas ar vezikulārās slimības vīrusu, tā kā novēro slimības klīniskās pazīmes, lai apstiprinātu slimību un noteiktu diferenciāldiagnozi attiecībā uz mutes un nagu sērgu, savāc attiecīgus paraugus no cūku grupām, kuru pārstāvēm ir šādas pazīmes.

2. Minētajās saimniecībās diagnostikai ieteicamie paraugi ir epitēlijs un vezikulu šķidrums no neplīsušām vai tikko plīsušām vezikulām, ko savāc no cūkām, kurām ir slimībai raksturīgas pazīmes, nosakot cūku vezikulārās slimības vīrusu, tā antigēnus vai genomu šādos paraugos. Paraugus ieteicams ņemt aptuveni no piecām vai sešām tādām cūkām.

3. Pat ja svaigi epitēlijaudi un vezikulu šķidrums ir pieejami pietiekamā daudzumā (1 g un vairāk), savāc arī šādus paraugus:

   a) seroloģiskai pārbaudei asins paraugi no iespējami inficētajām cūkām un saskarē nonākušām cūkām, kā arī

   b) virusoloģiskai pārbaudei fēču paraugi no iespējami inficētajām cūkām un no to aizgaldu un blakus esošo aizgaldu grīdas.

4. Paraugus savāc un pārved saskaņā ar šādu kārtību:

   a) attiecībā uz epitēlija un vezikulu šķidruma paraugiem:

      — ja iespējams, no neplīsušas vai tikko plīsušas vezikulas savāc vismaz 1 g epitēlijaudu. Pirms savāc paraugus cūkas ieteicams nomierināt ar sedatīvu, lai izvairītos no fiziska kaitējuma personālam, kā arī cūku labturības dēļ,

      — ja paraugus uz valsts laboratoriju pārved nekavējoties (ātrāk nekā trīs stundās), epitēlija paraugus pārved sausus un tur atdzesētus. Tomēr, ja šis laiks iespējams pārsniegs trīs stundas, paraugus ievieto maza tilpuma transportierīcē, kas sastāv no vienādām daļām glicerīna un 0,04 M fosfātu buferšķīduma vai cita līdzīga buferšķīduma (HEPES), lai pH līmeni uzturētu mutes un nagu sērgas vīrusa izdzīvošanas optimālā diapazonā (pH no 7,2 līdz 7,6). Transportierīces saturam pievieno antibiotikas papildu antimikrobiālas aktivitātes nodrošināšanai. Piemērotas antibiotikas un to beigu koncentrācija uz ml ir:

         i) 1 000 SV penicilīna,

         ii) 100 SV neomicīna sulfāta,

         iii) 50 SV polimiksīna B sulfāta,

         iv) 100 SV mikostatīna,

      — ja vezikulu šķidrumu paņem no neplīsušas vezikulas, to neatšķaidītu glabā atsevišķā konteinerā;

b) attiecībā uz asins paraugiem:

— savāc asins paraugus seroloģiskajiem vai virusoloģiskajiem testiem. Lai noteiktu antivielas, tomēr parasti tos savāc tikai no iespējami pārslimojušām infekciju ar vai bez klīniskām pazīmēm cūkām, jo vīrusa atklāšanai par asins paraugiem daudz piemērotāki ir epitēlija, vezikulu šķidruma un fēču paraugi no cūkām, kurām ir slimības klīniskās pazīmes. Pilnu asiņu paraugus ieteicams ņemt ar vakutaineriem, nepievienojot antikoagulantus, un šos vakutainerus ved neatvērtus;

c) attiecībā uz fēču paraugiem:

— fēču paraugi no to telpu grīdas, kurās iespējams ir vai bija ar cūku vezikulāro slimību inficētas cūkas, vai fēču uztriepes un fēču paraugus no iespējami inficētām dzīvām cūkām ievieto izturīgā konteinerā, no kura nav iespējama noplūde.

Pirms vešanas uz laboratoriju konteinerus ar iespējami inficētiem paraugiem dezinficē no ārpuses. Piemēroti dezinfekcijas līdzekļi ir:

— nātrija hidroksīds (atšķaidīts 1:100),

— formalīns (formalīna šķīdums, kurā ir vismaz 34 % formaldehīda, atšķaidīts 1:9) un

— nātrija hipohlorīts (2 % pieejama hlora).

Ar šādiem dezinfekcijas līdzekļiem rīkojas uzmanīgi.

V NODAĻA

Cūku vezikulārās slimības seroloģiskās uzraudzības paraugu atlases metodika

1. Ja seroloģisko uzraudzību veic šādā gadījumā:

a) uzraudzība saimniecībās, ja nav pierādījumu vai aizdomu par slimības esamību tajās;

b) uzraudzība lopkautuvē, tirgū, savākšanas centrā vai līdzīgā vietā, atlasot kārtējos seroloģiskos paraugus;

c) nediskriminējoša to cūku uzraudzība, ko attiecīgajā saimniecībā saņem no citām dalībvalstīm;

cūku seroloģiskās pārbaudes asins paraugus savāc vai saskaņā ar paredzētajiem noteikumiem uzraudzības vai izskaušanas programmās vai plānos, kuri apstiprināti ar Lēmumu 90/424/EEK ([1]) vai Direktīvu 90/425/EEK ([2]), vai, ja minēto noteikumu nav, saskaņā ar dalībvalstu kompetentās iestādes noteiktajām procedūrām.

2. Ja seroloģisko uzraudzību veic šādā gadījumā:

a) tādu saimniecību uzraudzība, kas atrodas aizsargjoslu un uzraudzības zonās, kuras noteiktas pēc slimību uzliesmojuma apstiprinājuma saskaņā ar Direktīvas 92/119/EEK II pielikuma 7. punktu un 8. punktu, vai

b) tādu saimniecību uzraudzība, kas minētas Direktīvas 92/119/EEK 9. pantā;

cūku seroloģiskās pārbaudes asins paraugus savāc atbilstīgi šādai shēmai:

— vaislas cūku saimniecībās paraugu ņemšanas procesu izlases kārtā veic tā, lai ar 95 % ticamību atklātu serokonversijas 5 % prevalenci;

— saimniecībās, kurās ir tikai nobarojamās cūkas, paraugu ņemšanas procesā nodrošina, ka kopējais savākto paraugu skaits ir vismaz vienāds ar skaitu, kas vajadzīgs, lai ar 95 % ticamību atklātu 5 % prevalenci. Jebkurā gadījumā paraugus ņem no iespējami vairākiem izlases kārtā izraudzītiem aizgaldiem;

— vaislas un nobarojamo cūku jauktās saimniecībās no katras atsevišķās telpās izmitinātas cūku grupas paraugus ņem tā, lai ar 95 % ticamību atklātu serokonversijas 5 % prevalenci.

VI NODAĻA

Turpmāka rīcība un atkārtotas paraugu atlases metodika, ja atklāj seropozitīvas cūkas

1. Ja pēc V nodaļas 1. punkta a) apakšpunktā vai V nodaļas 2. punktā minētās uzraudzības atklāj, ka saimniecībā seropozitīva ir viena cūka, kompetentā iestāde nodrošina, ka:

a) šajā saimniecībā veic Direktīvas 92/119/EEK 4. pantā minētos pasākumus, ja tie vēl nav realizēti;

b) saimniecībā veic pārbaudi saskaņā ar II nodaļas 1. punktā minētajiem noteikumiem;

([1]) OV L 224, 18.8.1990., 19. lpp.
([2]) OV L 224, 18.8.1990., 29. lpp.

c) seroloģiskai pārbaudei vāc asins paraugus no:

— iespējami inficētas cūkas,

— saskarē nonākušām cūkām, kuras mitinās vienā un blakus esošajos aizgaldos ar iespējami inficēto cūku; šo cūku paraugus ņem tā, lai ar 95 % ticamību atklātu serokonversijas 50 % prevalenci aizgaldā.

2. Tomēr kompetentā iestāde lemj par 1. punkta a) apakšpunktā minēto pasākumu atcelšanu, ja:

a) saskaņā ar Direktīvas 92/119/EEK 8. pantu veiktā epidemioloģiskā izmeklēšana apliecina, ka cūku vezikulārā slimība saimniecībā nav ievazāta;

b) cūku vezikulārās slimības klīniskās pazīmes saimniecībā nav atklātas, un

c) saimniecība pēc slimības uzliesmojuma apstiprinājuma nav noteiktajā uzraudzības vai ierobežotajā zonā un tajā nav realizēti citi ierobežojumi sakarā ar apstiprināto slimības uzliesmojumu;

un ar noteikumu, ka:

— neviena cūka no saimniecības nav izvesta Kopienas iekšējai tirdzniecībai, un

— tikai attiecīgās saimniecības cūkas pārvieto uz lopkautuvi tūlītējai nokaušanai vai uz citu saimniecību, no kuras neviena cūka nav izvesta Kopienas iekšējai tirdzniecībai,

līdz turpmāko pārbaužu un seroloģisko testu rezultāti nenorāda uz cūku vezikulārās slimības noteiktu izbeigšanos.

3. Ja saskaņā ar 1. punkta b) un c) apakšpunktu veiktajās pārbaudēs un seroloģiskajos testos:

a) ir negatīvi rezultāti vai ja pozitīvu rezultātu apstiprina tikai attiecībā uz iepriekš seropozitīvu cūku (vienīgais seropozitīvais gadījums), cūku vezikulāro slimību izslēdz. Šīs nodaļas 1. punkta a) apakšpunktā minētos pasākumus atceļ, ja saimniecība nav aizsargjoslā vai uzraudzības zonā, ko nosaka slimības uzliesmojuma apkārtnē, kur slimības izskaušanas pasākumi ir spēkā saskaņā ar Direktīvas 92/119/EEK II pielikuma 7. vai 8. punktu;

b) norāda, ka saimniecībā ir vairāk nekā viena seropozitīva cūka, vai apstiprina cūku vezikulāro slimību, vai, ja nav izpildīti Direktīvas 92/119/EEK II pielikuma 4. punktā paredzētie nosacījumi, lai apstiprinātu šo slimību, no saimniecības ņem paraugus saskaņā ar 4. punktā minēto paraugu atlases metodiku.

4. Ja pēc V nodaļas 1. punkta a) apakšpunktā, 1. punkta c) apakšpunktā vai 2. punktā minētās paraugu atlases un seroloģiskās pārbaudes saimniecībā atklāj vairāk nekā vienu seropozitīvu cūku, bet nav izpildīti Direktīvas 92/119/EEK II pielikuma 4. punktā paredzētie nosacījumi, lai apstiprinātu cūku vezikulāro slimību, kompetentā iestāde nodrošina, ka:

a) piemēro vai turpina piemērot Direktīvas 92/119/EEK 4. punktā minētos noteikumus;

b) saskaņā ar II nodaļas 1. punktā minētajiem noteikumiem veic saimniecības pārbaudi;

c) no seropozitīvām cūkām un saskarē nonākušām cūkām saskaņā ar 1. punkta c) apakšpunktu vāc jaunus asins paraugus seroloģiskai pārbaudei;

d) seroloģiskās pārbaudes asins paraugus vāc no citās saimniecības ēkās esošajām cūkām saskaņā ar V nodaļas 2. punktā minēto kārtību;

e) virusoloģiskiem testiem vāc pietiekami lielu skaitu fēču paraugus no:

— seropozitīvajām cūkām,

— grīdām aizgaldos, kuros ir seropozitīvas cūkas, un blakus esošajos aizgaldos,

— izlases kārtā izraudzītiem aizgaldiem citās saimniecības ēkās.

Saskaņā ar šī apakšpunkta pirmo un otro ievilkumu savāktos fēču paraugus pēc iespējas ātri pārbauda. Ja šie paraugi ir negatīvi, bet seroloģisko testu rezultāti apliecina cūku vezikulārās slimības vīrusa izplatīšanos citās ēkās, savāktos fēču paraugus pārbauda arī saskaņā ar šā apakšpunkta trešo ievilkumu.

Ja pēc šīm papildu pārbaudēm un testiem nav izpildīti Direktīvas 92/119/EEK II pielikuma 4. punktā paredzētie nosacījumi, kas apstiprina cūku vezikulāro slimību, seropozitīvās cūkas nokauj saskaņā ar Direktīvas 92/119/EEK II pielikuma 4. punkta d) apakšpunktu. Tomēr, ja turpmāk atklāj seropozitīvas cūkas papildus tām, kas atklātas seropozitīvas pēc iepriekšējās paraugu atlases, turpmāk *mutatis mutandis* piemēro a), b), c), d) un e) apakšpunktā paredzētos noteikumus un kārtību.

5. Neierobežojot Direktīvas 92/119/EEK 9. pantā minētos pasākumus, gadījumā, ja saskaņā ar V nodaļas 1. punkta b) vai c) apakšpunktā minētajām uzraudzības darbībām atklāj vienu vai vairākas seropozitīvas cūkas, kompetentā iestāde nodrošina, ka:

   a) vajadzības un iespējamības gadījumā veic atbilstošas turpmākas pārbaudes, tostarp paraugu vākšanu, lai, ņemot vērā vietējos apstākļus, apstiprinātu vai izslēgtu cūku vezikulāro slimību vietā, kur atklāj seropozitīvas cūkas;

   b) šo cūku izcelsmes saimniecībā piemēro Direktīvas 92/119/EEK 4. pantā noteiktos pasākumus;

   c) šo cūku izcelsmes saimniecībā veic pārbaudi saskaņā ar II nodaļas 1. punktā minētajiem noteikumiem, un

   d) saskaņā ar V nodaļas 2. punktā minētajiem noteikumiem seroloģiskās pārbaudes asins paraugus vāc no seropozitīvo cūku izcelsmes saimniecības cūkām.

6. Tomēr kompetentā iestāde lemj par 5. punkta b) apakšpunktā minēto noteikumu atcelšanu, ja:

   a) saskaņā ar Padomes Direktīvas 92/119/EEK 4. un 8. pantu veiktā epidemioloģiskā izmeklēšana apliecina, ka cūku vezikulārā slimība saimniecībā nav ievazāta;

   b) cūku vezikulārās slimības klīniskās pazīmes saimniecībā nav atklātas;

   c) saimniecībā pēc slimības uzliesmojuma apstiprināšanas nav noteikta uzraudzība vai ierobežotā zona un nav piemēroti citi ierobežojumi attiecībā uz apstiprināto slimības uzliesmojumu,

   un ar noteikumu, ka:

   — neviena cūka no saimniecības nav izvesta Kopienas iekšējai tirdzniecībai, un

   — cūkas no saimniecības izved tikai uz lopkautuvi tūlītējai nokaušanai vai uz citu saimniecību, no kuras neviena cūka nav izvesta Kopienas iekšējai tirdzniecībai,

līdz turpmāko to pārbaužu un seroloģisko testu rezultāti, ko veic vietā, kur atklātas seropozitīvās cūkas, un to izcelsmes saimniecībā, nenorāda par cūku vezikulārās slimības noteiktu izbeigšanos.

VII NODAĻA

Virusoloģisko testu principi un pielietošana, kā arī to rezultātu vērtēšana

A. **Vīrusa antigēna noteikšana**

1. Komplementa fiksācijas testu aizstāj ar divslāņu netiešo *ELISA* imūnenzīmreakciju atbilstoši izvēles metodei cūku vezikulārās slimības vīrusa antigēna noteikšanā. Šis tests ir atbilstošs mutes un nagu sērgas slimības diagnostikā pielietotajam. Šo abu slimību testus veic vienlaikus, ja vien mutes un nagu sērga jau nav izbeigusies. Jo īpaši ieteicams veikt testus ar epitēlija vai vezikulāro bojājumu šķidruma paraugiem, kuros akūti inficēto cūku vezikulārās slimības un mutes un nagu sērgas vīrusi ir augstos titros un nosakāmi dažu stundu laikā ([1]).

   Dubultrindas *ELISA* mikrotitrēšanas platēs pārklāj ar trušu imūnserumu pret cūku vezikulārās slimības vīrusu un pret visiem septiņiem mutes un nagu sērgas vīrusa serotipiem. Šie ir sākotnējās atlases serumi. Katrai rindai pievieno testa paraugu suspensijas. Iekļauj arī attiecīgas kontroles. Nākamajā etapā attiecīgajām rindām pievieno homologu jūrascūciņu serumu identifikācijai, pēc tam — trušu pretjūrascūciņu serumu, kas konjugēts ar tādu fermentu kā mārrutku peroksidāzi. Pēc katra etapa veic vispārīgu mazgāšanu, lai likvidētu nesaistītos reaģentus. Ja pēc hromogēna un substrāta pievienošanas notiek krāsu reakcija, tā norāda par pozitīvu reakciju. Spēcīgi pozitīvas reakcijas saskatāmas ar neapbruņotu aci, bet rezultātus nolasa arī spektrofotometriski, un tādā gadījumā absorbcijas lasījums 0,1 virs fona norāda uz pozitīvu reakciju.

2. Cūku vezikulārās slimības antigēna noteikšanai un diferenciāldiagnostikai ar mutes un nagu sērgu epitēlija paraugos, vezikulu šķidrumā vai inficēto audu kultūrā pielieto alternatīvās monoklonālo antivielu *ELISA* testu sistēmas, kurās par sākotnējās atlases antivielu izmanto atlasītās monoklonālās antivielas, bet par noteicošo antivielu izmanto ar peroksidāzi konjugētas monoklonālās antivielas.

3. Lai pētītu antigēnu dažādību starp cūku vezikulārās slimības vīrusa celmiem, izmanto monoklonālo antivielu *ELISA*. Audu kultūrā kultivētus vīrusa antigēnus piesaista trušu hiperimūnserums pret cūku vezikulāro slimību, ko adsorbē līdz cietai fāzei. Pēc tam izraisa reakciju ar atbilstošām monoklonālo antivielu grupām un monoklonālo antivielu saistīšanos ar savvaļas celmiem salīdzina ar monoklonālo antivielu saistīšanos ar parentālajiem celmiem. Vienāda saistīšanās norāda, ka parentālajiem un savvaļas celmiem ir kopīgi epitopi.

([1]) Pozitīvi ELISA testa rezultāti norāda, ka paraugā ir vismaz 105 TCID50 vīrusa (audu kultūras infekciozās devas).

B. **Vīrusu izolēšana un kultivēšana**

1. Dzidrinātās suspensijas ar epitēlija, vezikulārā šķidruma vai fēču paraugus, kuri iespējams inficēti ar cūku vezikulārās slimības vīrusu, sistemātiski inokulē uz jutīgo šūnu kultūrām. Ja pārbaudei nodoto vezikulāro bojājumu paraugu daudzums un kvalitāte nav pietiekama, lai tūlīt veiktu *ELISA* testu, vīrusu kultivē audu kultūrā, lai pastiprinātu vīrusa antigēna ražošanu.

2. Lai izolētu un kultivētu vīrusu, dzidrināto epitēlija suspensiju inokulē uz vienslāņa IB – RS – 2 šūnu līnijas kultūrām. Lai izvairītos no vīrusu kultivēšanas nomākšanas, ko izraisa interferons, kura atbrīvošanās kavē cūku vezikulārās slimības vīrusa kultivēšanu, izmanto divus epitēlija suspensijas atšķaidījumus — viens stipri atšķaidīts (1/500) un viens vāji atšķaidīts (1/10). Lai izolētu vīrusu, uzturēšanas videi pievieno tikai antivielas. Lai veiktu diferenciāldiagnostiku ar mutes un nagu sērgas vīrusu, inokulē arī primārās vērša vairogdziedzera šūnas vai jauna kāmja nieru šūnas (BHK – 21).

3. Ja attīstās citopātiskais efekts, pēc šī efekta beigām no pozitīvām kultūrām savāc virsējo šķidrumu un to izmanto vīrusa identifikācijai ar *ELISA*. Negatīvas kultūras pēc 48 vai 72 stundām inokulē uz svaigām audu kulturām un pēc apmēram 72 stundām šo aklo uzsējumu pārbauda. Ja pēc nākamā aklā uzsējuma citopātiskā efekta nav, paraugu atzīst par negatīvu attiecībā uz dzīva vīrusa klātbūtni.

4. Fēču paraugu suspensijas apstrādā pēc 1. apakšpunkta apraksta. Tā kā fēcēs parasti ir mazāk vīrusa nekā epitēlijā, ir būtiski veikt vēl trešo aklo uzsējumu, ja pirmajos divos uzsējumos nav citopātiskā efekta.

5. Cūku šūnu līnijas un vienas no iepriekšminēto audu kultūru sistēmām (ieteicamas primārās vērša vairogdziedzera šūnas) vienlaicīga inokulācija ir lietderīga, lai novērtētu, vai vezikulu paraugi satur cūku vezikulārās slimības vīrusu vai mutes un nagu sērgas vīrusu, jo cūku vezikulārās slimības vīruss vairojas tikai cūku izcelsmes šūnās. Tomēr mutes un nagu sērgas vīrusa izolāti ar ilgstošu transmisiju cūku vidū labvēlīgi vairojas arī cūku šūnu kultūras sistēmās.

C. **Polimerāzes ķēdes reakcija (PĶR) genoma noteikšanā**

1. Nukleīnskābes atpazīšanas metodes izmanto, lai klīniskajā materiālā noteiktu cūku vezikulārās slimības vīrusa genomu, izmantojot PĶR, un lai konstatētu sakarības starp cūku vezikulārās slimības vīrusa izolātiem, nosakot genoma daļas nukleotīdu secību. Ir izstrādātas metodes, kurās izmanto PĶR, lai uzlabotu diagnostikas jutīgumu. Apraksta nedaudz citādas revertāzes – polimerāzes ķēdes reakcijas metodes, izmantojot praimerus, kas atbilst labi saglabātiem reģioniem 1C un 1D gēnā.

2. PĶR metode ir strauja (rezultāti parasti pieejami 24 stundu laikā), ar to nosaka visus cūku vezikulārās slimības vīrusa genotipus, un tā ir pietiekami jutīga, lai izmantotu paraugos, ko savāc no iespējami inficētām cūkām ar klīniskām pazīmēm.

3. Ja ir aizdomas par subklīnisku infekciju vai ja paraugus savāc pēc slimības klīnisko pazīmju izzušanas, vai ja apstrādā fēču paraugus ar pastiprinātām RT – PĶR metodēm, piemēram, daudzpakāpju RT – PĶR, imunoloģisko PĶR, *ELISA* – PĶR metodi un daudz sarežģītākām RNS ekstrahēšanas metodēm, iegūst vismaz tikpat jutīgu noteikšanas mehānismu, bet ievērojami ātrāku nekā vairākkārtēja pārsēšana uz audu kultūras.

4. Sekvencējot aptuveni 200 nukleotīdus 1D gēnā, kas kodē galveno struktūrproteīnu VP1, cūku vezikulārās slimības vīrusa celmus ir iespējams klasificēt pēc homoloģijas secības un epidemioloģiski attiecināt celmus, kas izraisa slimību dažādos reģionos vai laikos.

D. **Virusoloģisko testu rezultātu vērtēšana**

Antigēnu vai cūku vezikulārās slimības vīrusa genoma noteikšana ar *ELISA* un PĶR ir tāda pati diagnostiskā vērtība kā vīrusa izolēšanai.

Tomēr vīrusa izolēšanu uzskata par standartmetodi un vajadzības gadījumā izmanto kā apstiprinošo testu, jo īpaši ja pozitīvs *ELISA* vai PĶR testa rezultāts nav saistīts ar:

a) slimības klīnisko pazīmju atklāšanu,

b) seropozitīvu cūku atklāšanu vai

c) tiešu epidemioloģisku saikni ar apstiprinātu uzliesmojumu.

VIII NODAĻA

Seroloģisko testu principi un pielietošana, kā arī to rezultātu vērtēšana

A. **Vīrusa neitralizācijas reakcija**

1. Nosakot cūku vezikulārās slimības vīrusa antivielu, vīrusa neitralizācijas kvantitatīvo mikrometodi veic ar IB – RS – 2 šūnu līniju vai līdzīgu šūnu sistēmu šūnu kultivēšanas plakandibena mikrotitrēšanas platēs.

2. Vīrusu kultivē vienslāņa IB – RS – 2 šūnu kultūrās un glabā vai –20 °C pēc 50 % glicerīna pievienošanas, vai arī –70 °C bez glicerīna. Pirms pārbaudes serumus 30 minūtes inaktivē 56 °C.

B. ***ELISA* testi**

1. *ELISA* antivielu noteikšana ir *ELISA* ar specifiskām monoklonālām antivielām. Ja seruma paraugā ir antivielas pret cūku vezikulārās slimības vīrusu, nomāc atlasītu peroksidāzes – monoklonālo antivielu konjugātu pret vīrusa antigēnu.

   Ar šādu *ELISA* testu cūku vezikulārās slimības antigēnu ar monoklonālo antivielu palīdzību piesaista cietajai fāzei; pēc tam serumu paraugus iztur atbilstošā atšķaidījumā, turpmāk pievienojot peroksidāzes – monoklonālo antivielu konjugātu. Tad ar substrāta un hromogēna palīdzību nosaka monoklonālo antivielu saistīšanās kavējumu.

2. Lai noteiktu cūkas inficēšanās vai telpas kontaminācijas laiku, noder netiešās atlases *ELISA*, lai atklātu cūku vezikulārās slimības vīrusa specifisko cūku IgG vai IgM, izmantojot izotipa specifiskās monoklonālās antivielas.

   Izotipa specifiskajā *ELISA* testā vīrusa antigēnu ar antigēnu saistošās antivielas starpniecību piesaista cietajai fāzei. Ja seruma paraugā ir antivielas pret cūku vezikulārās slimības vīrusu, tās nosaka, izmantojot cūku IgG vai IgM monoklonālo antivielu, ko konjugē ar peroksidāzi. Pēc tam šo saistīšanos nosaka ar substrāta un hromogēna palīdzību.

   Specifiskā izotipa *ELISA* tests palīdz arī vienīgos seropozitīvos gadījumus atšķirt no patiesi pozitīvām cūkām, kas minēts C daļā.

C. **Seroloģisko testu pielietošana un rezultātu vērtēšana**

1. Ieteicamie seroloģiskie testi ir vīrusa neitralizācijas reakcija un *ELISA* tests. X nodaļa uzskaita standartserumus, kas pieejami Kopienas etalonlaboratorijā, lai veiktu standartizētus seroloģiskos testus Kopienā.

   Vīrusa neitralizācijas reakciju uzskata par standartmetodi, bet tās trūkums – veic 2 līdz 3 dienās un nepieciešama materiāli tehniskā bāze audu kultūru iegūšanai.

   ELISA tests ir ātrāks un daudz vieglāk standartizējams. *ELISA* ar specifiskām monoklonālām antivielām ir vistic-amākais no līdz šim raksturotā cūku vezikulārās slimības antivielu noteikšanas *ELISA* testa. To iesaka atbilstoši skrīningtestam ar lielu paraugu skaitu.

   Tomēr vajadzības gadījumā atbilstoši apstiprinošajam testam pielieto vīrusa neitralizācijas reakciju, jo īpaši pēc pirmās pozitīvu paraugu atklāšanas saimniecībā. Nav jāņem vērā pēc *ELISA* pozitīvas cūkas, bet negatīvas saskaņā ar vīrusa neitralizācijas reakciju.

2. Aizdomas par vienīgo seropozitīvo gadījumu ([1]) rodas, ja atklāj tikai vienu seropozitīvu cūku un izpilda šādus kritērijus:

   a) saimniecībā nav slimības klīnisko pazīmju;

   b) saimniecībā nav neviena saslimšanas gadījuma ar šīs slimības klīniskajām pazīmēm;

   c) saimniecībai nav nekāda saskare ar zināmu slimības uzliesmojumu.

3. Cūku apstiprina par vienīgo seropozitīvo gadījumu, ja:

   a) turpmākā pārbaudē nav atklātas citas seropozitīvas cūkas;

   b) pēc vienīgā seropozitīvā gadījuma pirmās atklāšanas no saskarē nonākušām cūkām ņemtajos paraugos nav konstatēta serokonversija;

   c) antivielu titrs atkārtotā paraugu analīzē ir nemainīgs vai samazinājies.

([1]) Vienīgo seropozitīvo gadījumu mazu īpatsvaru konstatē ar jebkuru esošo cūku vezikulārās slimības seroloģisko testu. Vienīgo seropozitīvo gadījumu izraisītie faktori nav zināmi. Seroloģisko šķērsreaktivitāti ar cūku vezikulāro slimību izraisa inficēšanās ar citu, vēl neidentificētu pikornavīrusu vai citi nespecifiski seruma faktori.

4. Tomēr, lai apstiprinātu vienīgo seropozitīvo gadījumu, apsver arī šādus papildu kritērijus un principus:

   a) vienīgo seropozitīvo gadījumu izplatība ir aptuveni 1 no 1 000 cūkām;

   b) vienīgajos seropozitīvajos gadījumos parasti ir šādas serumu pazīmes:

      — zems antivielu titrs vīrusa neitralizācijas reakcijā,

      — *ELISA* ar specifiskām monoklonālām antivielām dod šaubīgi pozitīvu rezultātu,

      — veicot cūku vezikulārās slimības izotopa specifisko *ELISA* testu [1], konstatē tikai un vienīgi IgM un nav IgG.

IX NODAĻA

Cūku vezikulārās slimības klīniskās pazīmes un raksturojums

Cūku vezikulārā slimība ir lipīga cūku slimība, ko izraisa pikornavīrusu dzimtas enterovīruss, kas atkarībā no attiecīgā vīrusa celma, inficēšanās veida un infekciozās devas, kā arī cūku turēšanas zootehnikskajiem apstākļiem var būt subklīniska, viegla vai smaga vezikulāra saslimšana. Klīnisko pazīmju attīstību disponē arī papildu stresa faktori – pārvešana, pārvietošana pie citām cūkām un temperatūras galējības.

Slimībai ir raksturīgs viegls drudzis un vezikulas uz koronārās saites, papēžu izliekumiem, kāju ādas un, pavisam reti, uz snuķa, lūpām, mēles un pupiem. Saslimstība sasniedz pat 100 %, bet mirstība ir ļoti zema vai vispār nav.

Attīstās bezsimptomu vai viegla infekcijas forma, kuras gadījumā vispārējais cūku veselības stāvoklis īslaicīgi pasliktinās, bet dažās dienās attīstās vīrusa neitralizācijas antivielas [2].

Tā kā šai slimībai ir subklīniskas vai vieglas formas, bieži pirmās aizdomas ir pēc slimības uzraudzības vai izvešanas apliecības izsniegšanas dēļ veiktajiem seroloģiskajiem testiem. Jaunākie cūku vezikulārās slimības uzliesmojumi Eiropā raksturojas ar vieglām klīniskām pazīmēm vai pazīmju trūkumu, un diagnoze bieži ir atkarīga no seroloģiskajiem testiem.

Tomēr pēc klīniskajām pazīmēm cūku vezikulāro slimību nav iespējams atšķirt no mutes un nagu sērgas. Jebkuru saslimšanu ar vezikulām sākumā ārstē atbilstoši iespējamajai inficēšanās ar mutes un nagu sērgu un pēc iespējas ātri nosaka diferenciāldiagnozi.

Cūku vezikulārās slimības inkubācijas periods atsevišķām cūkām parasti ilgst no divām līdz septiņām dienām, un pēc tam īslaicīgi paaugstinās temperatūra līdz 42 °C, bet klīniskās pazīmes saimniecībā parādās vēl vēlāk. Pēc tam attīstās vezikulas uz koronārās saites, parasti pie savienojuma ar papēdi. Tās skar visu koronāro saiti, izraisot naga zaudēšanu. Daudz retāk vezikulas parādās arī uz snuķa, īpaši uz muguras virsas, uz lūpām, mēles un pupiem, un uz ceļiem redz virspusējas erozijas. Slimās cūkas klibo un dažas dienas neko neēd.

Jaunās cūkas šī slimība skar smagāk, lai gan atšķirībā no mutes un nagu sērgas izraisītās mirstības jaunlopiem, no cūku vezikulārās slimības mirst ļoti reti.

Ir ziņas par nervozitāti, bet tā parādās reti. Aborts nav raksturīga cūku vezikulārās slimības pazīme. Daudzperēkļu miokardīta izraisīta sirds mazspēja ir mutes un nagu sērgas, kā arī encefalomiokardīta pazīme, jo īpaši maziem sivēniem, bet tā nav novērota cūku vezikulārās slimības gadījumā.

Pilnīga atveseļošanās parasti notiek divās līdz trīs nedēļās, un vienīgais pierādījums par pārslimoto infekciju ir tumša, horizontāla līnija uz naga vietā, kur īslaicīgi pārtrauca tā augšanu.

Slimajām cūkām vīruss izdalās no snuķa un mutes, kā arī fēcēs apmēram 48 stundas pirms klīnisko pazīmju parādīšanās. Visvairāk vīrusa saražo pirmajās septiņās dienās pēc inficēšanās, un no snuķa un mutes vīruss parasti pārstāj izdalīties divu nedēļu laikā. Vīrusu apmēram 20 dienas pēc inficēšanās izolē no fēcēm, kaut gan ir ziņas, ka tas saglabājas līdz pat trīs mēnešiem. Ievērojami ilgu laiku tas saglabājas nekrotiskajos audos, kas saistīti ar plīsušām vezikulām un fēcēm.

---

[1] Tādu cūku seruma paraugos, kas inficētas ar cūku vezikulārās slimības vīrusu, parasti konstatē tikai specifisko IgG vai arī gan IgG, gan IgM, turpretim vienīgo seropozitīvo gadījumu serumos parasti ir tikai IgM. Specifiskais IgG nav konstatēts tādu cūku seruma paraugos, kas inficētas ar cūku vezikulārās slimības vīrusu iepriekšējās 10 līdz 14 dienās, kaut gan specifisko IgG vajadzētu konstatēt otrā asins paraugā. Tomēr nesen inficētas cūkas nav droši atšķiramas no vienīgajiem seropozitīvajiem gadījumiem, iekams to imūnatbildes process nepārorientējas no IgM uz IgG ražošanu. Skatīt arī IX nodaļu un 7. zemsvītras piezīmi.

[2] Specifiskus IgM asinīs parasti konstatē divas līdz trīs dienas pēc inficēšanās, un tie pazūd apmēram pēc 30 līdz 50 dienām; specifiskus IgG asinīs parasti konstatē 10 līdz 14 dienas pēc inficēšanās un vēl vismaz dažus gadus. Ig izotipu konstatē ar ELISA testu, ko apraksta VIII nodaļas B daļas 2. punkts.

X NODAĻA

Cūku vezikulārās slimības standartserumi

Standartserums	Izcelsme	Piezīmes ([1])
1	Veselu cūku serums (VCS).	Negatīvās kontroles serums.
2	Cūkas serums, ko savāc pēc 21 dienas inficēšanās ar vīrusa celmu UKG 27/72 (liellopu).	Spēcīgi pozitīvas kontroles serums.
3	Piecas dienas pēc inficēšanās ar celmu *Italy* 8/94 paņemta cūkas seruma 1:10 atšķaidījums veselu cūku serumā.	Vāji pozitīvs cūkas serums drīz pēc inficēšanās ar cūku vezikulārās slimības vīrusa jaunāko Eiropas izolātu. Serumu atšķaida, lai panāktu vāji pozitīvu rezultātu *ELISA* testā un vīrusa neitralizācijas reakcijā.
4	21 dienu pēc inficēšanās ar cūku vezikulārās slimības vīrusa celmu UKG 27/72 ņemta cūkas seruma atšķaidījums 1:40.	Vāji pozitīvs serums, pēc kura nosaka zemāko antivielu līmeni, ko ES dalībvalstu etalonlaboratorijas klasificē kā pozitīvu, izmantojot *ELISA* un vīrusa neitralizāciju. Ekvivalents serumam RS 01 – 04 – 94 ([2]).
5	Cūkas serums, ko savāc četras dienas pēc inficēšanās ar cūku vezikulārās slimības vīrusa celmu UKG 27/72 (liellopu).	Vāji pozitīvs cūkas serums drīz pēc inficēšanās.
6	Cūkas serums, ko savāc piecas dienas pēc inficēšanās ar cūku vezikulārās slimības vīrusa celmu UKG 27/72 (liellopu).	Vāji pozitīvs cūkas serums drīz pēc inficēšanās.

([1]) Šīs atsauksmes attiecas uz atsevišķu cūku pārbaudi. Serouzraudzības gadījumā ņem vērā izmantotā testa jutīgumu.
([2]) T.i., serums ar pietiekami augstāku titru nekā kontrolserums, lai to vienmēr klasificētu kā pozitīvu, izmantojot *ELISA* testu un atkārtotās pārbaudes vīrusa neitralizācijas reakciju.