

РЕШЕНИЕ НА КОМИСИЯТА

от 26 май 2003 година

за одобрение на ръководството за диагностика на африканската чума по свинете

(нотифицирано под № C (2003)1696)

(Текст от значение за ЕИП)

(2003/422/ЕО)

КОМИСИЯТА НА ЕВРОПЕЙСКИТЕ ОБЩНОСТИ,

като взе предвид Договора за създаване на Европейската общност,

като взе предвид Директива 2002/60/ЕО на Съвета от 27 юни 2002 г. за определяне на специфични разпоредби за контрол на африканската чума по свинете и за отмяна на Директива 92/119/ЕИО относно болестта на Тешен и африканската чума по свинете¹, и по-точно член 18, параграф 3 от нея,

като има предвид, че:

(1) Съгласно Директива 2002/60/ЕО е необходимо да се установят еднакви процедури за диагностика, методи за вземане на проби и критерии за оценяване на лабораторните тестове, предназначени за потвърждаване на африканската чума по свинете.

(2) В съответствие с тази директива, референтната лаборатория на Общността за африканската чума по свинете има за задача да координира, в консултация с Комисията, използваните методи в държавите-членки за диагностициране на болестта, като организира, *inter alia*, периодични сравнителни тестове и като доставя оригинални реактиви на общностно равнище.

(3) Вирусът на африканската чума по свинете не се счита опасен за човешкото здраве.

(4) Разработени са лабораторни тестове, за да се осигури бърза диагностика на африканската чума по свинете.

(5) Придобитият опит през последните години в борбата срещу африканската чума по свинете е довел до уточняването на най-подходящите методи за вземане на проби на критерии за оценка на резултатите от лабораторните тестове, които позволяват да се диагностицира болестта в различни ситуации.

⁽¹⁾ ОВ L 192, 20.7.2002 г., стр. 27.

(6) Ето защо е необходимо да се одобри ръководство за установяване на тези процедури и критерии.

(7) Националните диагностични лаборатории са упълномощени да променят одобрените лабораторни тестове или да използват различни тестове, с цел да се докажат еднакви чувствителност и специфичност.

Мерките предвидени в настоящото решение са съобразени със становището на Постоянния комитет по хранителната верига и здравето на животните,

РЕШИ:

Член 1

1. Ръководството по диагностика на африканската чума по свинете, което фигурира в приложението е одобрено.
2. Държавите-членки гарантират, че потвърждаването на африканската чума по свинете се прави в съответствие с процедурите, методите за вземане на проби и критериите за оценка на резултатите от лабораторните тестове, описани в ръководството и основани на:
 - а) откриване на клинични признаци и на постмортални увреждания от болестта;
 - б) откриване на вирус, антиген или на геном в пробите от тъкани, органи, кръв или от фекални екскременти на свине;
 - в) доказателство за присъствието на специфични антитела в кръвните проби.
3. Чрез дерогация от параграф 2, националните лаборатории за диагностициране, предвидени в приложение IV към Директива 2002/60/ЕО, могат да внесат промени в отбелязаните в ръководството лабораторните тестове или да използват различни тестове, с цел да се докажат еднакви чувствителност и специфичност.

В случай на прилагане на променени или различни тестове, тяхната чувствителност и специфичност трябва да бъдат преценени в рамките на периодични сравнителни тестове за африканската чума по свинете, провеждани от референтната лаборатория на Общността.

Член 2

Настоящото решение се прилага от 1 юли 2003 г.

Член 3

Адресати на настоящото решение са държавите-членки.

Съставено в Брюксел на 26 май 2003 година.

За Комисията
David BYRNE
Член на комисията

ПРИЛОЖЕНИЕ

Ръководство за диагностика на африканската чума по свинете

Глава 1

Въведение, цели и дефиниции

1. За да гарантира прилагането на еднакви процедури за диагностика на африканската чума по свинете (АЧС), настоящото ръководство:
 - а) формулира насоки и минимални изисквания за процедурите за диагностика, методите за вземане на проби и критериите за прилагане при отчитане на резултатите от клиничните или постмортални изследвания, както и на лабораторните тестове с цел да се установи правилна диагностика на африканската чума по свинете⁽¹⁾;
 - б) определя минималните изисквания по отношение на биологичната безопасност и на качествените норми за спазване от лабораториите за диагностициране на АЧС и по време на транспортирането на пробите;
 - в) определя лабораторните тестове за диагностициране на АЧС и лабораторните техники за използване при установяване на генетичната разновидност на изолатите на вируса на АЧС.
2. Настоящото ръководство е предназначено за подпомагане на компетентните власти за борба с АЧС. Поради това се набляга предимно върху принципите, прилагането на лабораторните тестове и отчитането на резултатите от тях, а не върху детайлизираните лабораторни техники.
3. За целите на настоящото ръководство, освен предвидените дефиниции в член 2 на Директива 2002/60/ЕО се въвеждат следните дефиниции:
 - а) „stopанство, за което има съмнение, че е заразено”: всяко свиневъдно стопанство, в което се наброяват една или няколко свине, за които има съмнение, че са заразени с вируса на АЧС или контактно стопанство по смисъла на член 2, буква к) от Директива 2002/60/ЕО;
 - б) „епидемиологична подгрупа” или „подгрупа”: сградата, мястото или околна площ, където групите свине на стопанството са държани, така че да влизат често в пряк или непряк контакт едни с други, като същевременно са отделени от другите свине, държани в същото стопанство;
 - в) „контактни свине” свине от стопанството, които са били 21 дни в директен контакт с една или няколко свине, за които има съмнение, че са заразени с вируса на АЧС.

Глава II

Описание на АЧС във връзка с диференциалната диагностика

А. ВЪВЕДЕНИЕ

1. Африканската чума по свинете се причинява от ДНК вирус с обвивка от рода *Asfivirus* от семейството на *Asfarviridae*. Вирулентността на вируса на АЧС варира в зависимост от щамовете, макар и да не е възможно да се идентифицират различни серотипове.
2. Вирусът на АЧС е много устойчив в изпражненията на заразени свине, в свински трупове, в прясно свинско месо и в някои продукти от свинско месо. Трябва да се използват подходящи дезинфекционни средства, за да се осигури неговата инактивация в околната среда.
3. В Европа главният естествен път за заразяване на свинете е от устноносен тип, чрез директен и индиректен контакт със заразени свине или чрез даване на животните на, заразени с вируса храни. Все пак, в районите, където съществуват преносители на вируса²; предаването на заразата чрез тях играе много важна роля за устойчивостта и разпространението на вируса. АЧС може също така, да се разпространява чрез индиректен контакт със заразени материали и чрез хапещи насекоми, преносители на вируса на АЧС. Предаването на болестта може също така да става чрез спермата на заразени нерези.
4. Инкубационният период при отделните животни продължава между пет и петнадесет дни, но в реалните условия е възможно клиничните симптоми да се проявят в стопанството няколко седмици след внасяне на вируса, дори повече, ако вирусният щам е засегнат.
5. Съществуват остри, субакутни и хронични форми на АЧС, като разликата се състои главно във вирулентността на вируса.
6. При свинете, които клинично се възстановяват след инфекцията, вирусното състояние продължава от четиридесет до шестдесет дни и те стават вирусоносители. Вирусът на АЧС е бил изолиран от заразени свине до шест месеца след инфектирането.

Б. ОСТРА ФОРМА

1. Появата на висока температура (над 40 °C) е обикновено първият клиничен признак на болестта, който е придружен от следните симптоми: депресия, загуба на апетит, ускорено и затруднено дишане, секреция от носа и очите. Свинете имат смущения в координирането на движенията и застават близо една до друга. При женските има риск от аборт във всеки стадий от бременността. Някои свине може да имат повръщане или запек, други имат кървави диарии. Кръвоизливни или хеморагични подкожни зони стават видими, предимно в крайниците и в ушите. Кома, която се появява един до седем дни след появяването на

² Дефинирани в член 2, точка 1 от Директива 2002/60/ЕО.

клиничните признаци, може да предхожда смъртта на животното. Заболеваемостта и смъртност в стопанството могат да достигнат 100 %. Постморталните прегледи разкриват типичен хеморагичен синдром, с кръвоизливи разпространени по целия труп, кървава течност в гръдния кош и коремната кухина, почернял и разширен далак, кръвоизлив в лимфните възли(особено в бъбречните и стомашно-чернодробните лимфни възли), които приличат на кървави съсиреци, малки червени петна от кръвоизливи в бъбреците (кора, гръбначно-мозъчните пирамиди и бъбречно легенче), коремните серозни ципи, стомашните и чревни слисести мембрани, сърцето (епикарда и ендокарда), хидроторакс и петехнални кръвоизливи на плеврата.

2. Като цяло, острата форма на класическата чума по свинете води до клинична и патологична картина, много близка до тази на африканската чума по свинете. Когато тя се появи кръвоизливите по кожата и ушите се откриват лесно и води до съмнение за класическа или остра африканска чума по свинете. Малко други болести причиняват подобни увреждания. Наличието на остра африканска чума по свинете е за предвиждане в случай на съмнение за еризипел, за свинския дихателен и репродуктивен синдром, за отравяне с кумарин, за тромбопенична пурпура, за синдрома на мултисистемното слабеење след отбиване на кърменето, за свинския дерматичен и нефропатичен синдром, за инфекции от салмонела или пастъорела или за всеки друг чревен или дихателен синдром, придружен с температура, която не се влияе от лечение с антибиотици.

В. СУБАКТИВНИ ФОРМИ

Формите на болестта са по-често срещани в ендемични райони. Субакутната инфекция се характеризира с пристъпи на променлива температура, депресия и пневмония. Сърдечна недостатъчност може да причини смъртта на животното. При субакутната форма на болестта, уврежданията са подобни на тези, които се наблюдават при острата форма, но са по-слабо изразени. Характерните увреждания са големи кръвоизливи в лимфните възли, бъбреците и далака, белодробна конгестия и оток и, в определени случаи, до интерстициална пневмония.

Г. ХРОНИЧНИ ФОРМИ

Хроничните форми на болестта са редки. При хроничните форми могат да се наблюдават вторични бактериални инфекции. Тъй като клиничните признаци на хроничната АЧС не са специфични, много други болести спомагат за установяване на диференциална диагностика. Не всички животни показват непременно повишаване на телесната температура, но поне една част от свинете на заразеното стопанство имат температура.

Клиничните симптоми на хроничната АЧС може да включват дихателни проблеми, аборти, артрит, хронични кожни язви или некрози, които не приличат на типичните клинична картина на инфекциите, причинени от вируса на АЧС. Уврежданията могат да бъдат минимални, дори да липсват. Хистопатологичните наблюдения се характеризират с уголемяване на лимфните възли и на далака, плеврит и фибринозен перикардит, както и инфилтриран пневмонит. Описани са също съсирена фокална некроза и минерализация на белия дроб.

Глава III

Насоки относно основните критерии за обявяване на стопанство, за което има съмнение, че е засегнато от африканската чума по свинете

1. Стопанството ще се счита за подозрително на база на следните констатации, критерии и основания :
 - а) клинични и патологични показатели при свинете. Основните клинични и патологични показатели, които трябва да се вземат под внимание са следните:
 - треска, придружена със заболяване и смъртност при свинете от всички възрасти,
 - треска, придружена с хеморагичен синдром: червени петънца и подкожни кръвоизлизи особено в лимфните възли, бъбреците и далака (който е разширен и черен, особено при острата форма на заболяването), както и на пикочния мехур и язвички на жлъчния мехур
 - б) епидемиологични показатели. Основните епидемиологични показатели, които трябва да се вземат под внимание са следните:
 - свине, които са имали преки и непреки контакти със свиневъден обект, за който е доказано заразяване с АЧС,
 - стопанство, който е доставил свине, които в последствие са се оказали заразени с вируса на АЧС,
 - женски свине, които са били изкуствено осеменени със сперма от съмнителен източник,
 - свине, които са имали преки или непреки контакти с диви свине от популация, където е имало случай на АЧС,
 - свине, държани на открито в зона, където дивите свине са заразени с АЧС,
 - свине, които са били хранени с помия, за която може да се предполага, че не е била обработена за инактивиране на вируса на АЧС,
 - излагане на евентуална опасност, която се дължи предимно от посещение на стопанството от външни лица, транспортни средства, които идват от стопанства, за които има съмнение, че са заразени с вируса на АЧС,
 - векторите се намират на територията на стопанството.
2. В случай, че за дадено стопанство трябва да има съмнение, че е заразено, ако съществува съмнение за класическа чума по свинете в стопанството в следствие на клинични или патологични резултати, но клинични, епидемиологични или лабораторни изследвания не са довели до потвърждаване на това заболяване или

на идентифицирането на други болестотворни източници или агенти във въпросното стопанство.

Глава IV

Процедури за проверки и събиране на проби

А. НАСОКИ И ПРОЦЕДУРИ, ОТНОСНО КЛИНИЧНОТО ИЗСЛЕДВАНЕ И СЪБИРАНЕТО НА ПРОБИ ОТ СВИНЕТЕ В СТОПАНСТВО, ЗА КОЕТО ИМА СЪМНЕНИЕ, ЧЕ Е ЗАРАЗЕНО

1. Държавите-членки гарантират провеждането на необходимите клинични прегледи, вземане на проби и лабораторни изследвания в стопанства, за които има съмнение, че са заразени, за да се потвърди или отхвърли съмнението за АЧС, съгласно насоките и процедурите, дефинирани в точки 2 до 6.

Независимо от приетите мерки, предвидени в член 4, параграф 2, от Директива 2002/60/ЕО, във въпросното стопанство, тези насоки и процедури се прилагат, също така, във всички случаи, в които диференциалната диагностика констатира съмнение за АЧС. Това се отнася, също така, за случаите, в които клиничните признаци и епидемиологичната картина на болестта, наблюдавани при свинете, предвиждат много малка възможност за наличието на АЧС. Във всички други случаи на съмнение, че една или повече свине са заразени с вируса на , предвидените мерки в член 4, параграф 2, от Директива 2002/60/ЕО ще бъдат приложени във въпросното стопанство. В случай на съмнение за АЧС при свине в кланица или в транспортните средства насоките и процедурите, дефинирани в точки от 2 до 6 се прилагат *mutatis mutandis*.

2. Когато официален ветеринарен лекар посещава стопанство, за което има съмнение, че е заразено, с цел да потвърди или да отстрани наличието на АЧС:

- прави проверка на регистрите за производството и за санитарното състояние на стопанството, ако тези регистри са на разположение; пристъпва към инспекция във всяко подразделение на стопанството, за да подбере свинете, които да подложи на клиничен преглед.

Клиничният преглед съдържа измерване на телесната температура и най-напред засяга следните свине или група от свине:

- болни или анорексични свине ,
- свине, които са докарани скоро в стопанството и произхождат от потвърдени огнища или от други източници, за които има съмнение, че са заразени;
- свине държани в подразделения наскоро посетени от външни лица, които скоро са имали контакт със свине, за които има съмнение, че са заразени или са заразени с АЧС или други особено рискови контакти, за които е бил идентифициран потенциален източник на вируса на АЧС,

- свине, от които вече са взети проби и са подложени на серологични тестовите за откриване на АЧС , в случаите, в които резултатите от тези тестовите не позволяват да се отстрани наличието на АЧС, както и на останалите свине,
- свине, които скоро са се възстановили.

Ако инспектирането на стопанството, за което има съмнение, че е заразено не е открило наличие при нито една от свинете или групи от свине, изброени в горната алинея, компетентния орган, без да накърнява другите мерки, които могат да бъдат приложени във въпросното стопанство в съответствие с Директива 2002/60/ЕО и, като държи сметка за епидемиологичната ситуация, следва да:

- извършва други изследвания във въпросното стопанство в съответствие с точка 3,
 - или
 - гарантира, че са взети кръвни проби за лабораторни тестове от свинете във въпросното стопанство (в този случай, процедурите за събиране на проби, уредени в точка 5, и в раздел Е, параграф 2 се прилагат с цел ръководство,
 - или
 - приема или поддържа мерките, уредени в член 4, параграф 2 от Директива 2002/60/ЕО докато изчаква допълнителните изследвания, които се провеждат във въпросното стопанство,
 - или
 - съмнението за африканска чума по свинете е отхвърлено.
3. Когато е направено позоваване на настоящия параграф, провеждането на клинични изследвания във въпросното стопанство трябва да се извърши върху случайно избрани свине от подразделенията на стопанството, където рискът от внасяне на вируса на АЧС е бил констатиран или в тези, за които има съмнение за наличието на вируса. Минималният брой на свине, които трябва да бъдат прегледани трябва да покаже, превес от 10% на болестта в подразделенията с ниво на надеждност от 95%.
4. Ако наличието на мъртви или агонизиращи свине, се констатира в стопанство , за което има съмнение, че е заразено , трябва да се пристъпи към постмортални изследвания, за предпочитане върху най-малко пет от тези свине и особено върху свинете които:
- са показали много ясни признаци за заболяването преди тяхната смърт,
 - са имали много висока температура,
 - са умрели скоро.

Ако тези изследвания не са открили увреждания, които предполагат наличието на АЧС, но по причина на епидемиологичната ситуация, се счита за необходимо да се направят допълнителни изследвания, има основание да се пристъпи:

- към клинично изследване в съответствие с точка 3 в подразделението на стопанството, където тези мъртви или агонизиращи свине са държани, и към вземането на кръвни проби в съответствие с точка 5, и
- към -постмортални изследвания върху три или четири контактни свине, особено, ако тези свине показват клинични признаци.

Независимо от наличието или отсъствието на увреждания, които дават основание да се предположи наличието на АЧС, проби от органи или тъкани от свине, върху, които са били проведени постмортални изследвания, трябва да бъдат взети, за да бъдат подложени на вирусологични тестове в съответствие с глава V, част B, точка 1. Тези проби се вземат, за предпочитане, от свине, които са умрели съвсем скоро.

По време на вземане на постмортални изследвания компетентния орган трябва да гарантира, че:

- се вземат необходимите предпазни и хигиенни мерки, за да се избегне всякакво разпространение на болестта, и,
- когато има свине, които агонизират тяхно умъртвяване да се извършва по хуманен начин, в съответствие с Директива 93/119/ЕИО на Съвета от 22 декември 1993 г. за защита на животните при клане или умъртвяване³, изменена с Регламент (ЕО) № 806/2003⁴⁴.

5. Ако други клинични признаци, или увреждания, които подсказват наличието на АЧС, са констатирани в стопанство, за което има съмнение, че е заразено, но компетентният орган прецени, че те не са достатъчни, за да се потвърди съществуването на огнище на АЧС и, че в последствие е необходими да бъдат направени лабораторни изследвания, кръвни проби за тези изследвания трябва да се вземат от свине, за които има съмнение, че са заразени, както и от другите, във всяко от подразделенията на стопанството, където се държат свине, за които има съмнение, че са заразени, в съответствие със следните процедури:

а) минималният брой на пробите, които се вземат за целите на серологичните тестове трябва да позволи да се открие във въпросните подразделения на стопанството серопозитивност над 10% при ниво на надеждност от 95%;

б) броят на пробите, които се вземат за целите на вирусологичните тестове ще бъде съобразен с инструкциите на компетентния орган, която ще вземе под внимание серията от тестове, които могат да се извършат, чувствителността на използваните лабораторни тестове и епидемиологичната ситуация.

³ ОВ L 340, 31.12.1993 г., стр. 21.

⁴ ОВ L 122, 16.5.2003 г., стр. 1.

6. Ако след проведените изследвания в стопанството, за което има съмнение, че е заразено не се открият клинични признаци нито увреждания, които подсказват появата на АЧС, но компетентният орган прецени, че са необходими допълнителни лабораторни тестове за да се отстрани всякаква вероятност за АЧС, предвидените процедури за вземане на проби в точка 5 ще се приложат за ориентация.

Б. ПРОЦЕДУРИ ЗА ВЗЕМАНЕ НА ПРОБИ В СТОПАНСТВО ПРИ УМЪРТВЯВАНЕ НА СВИНЕ В СЛЕДСТВИЕ НА ПОТВЪРЖДАВАНЕ НА БОЛЕСТТА

1. За да се установи начина на постъпване на вируса на АЧС в заразено стопанство и промеждутъка от време, който е изтекъл след неговото постъпване, по време на умъртвяването на свинете в стопанството след потвърждаване на огнището в съответствие с член 5, параграф 1, буква а) от Директива 2002/60/ЕО, се вземат кръвни проби за серологични тестове наслуки от свинете в момента на тяхното умъртвяване.
2. Минималният брой свине, от които се вземат проби трябва да позволи да се открие серологичен превес от 10% с ниво на надеждност от 95% при свинете от всяко подразделение на стопанството⁵.

Проби за вирусологичните тестове също така ще трябва да се вземат, съгласно инструкциите на компетентния орган власт, която ще вземе предвид серията от тестове, които могат да се направят, чувствителността на използваните лабораторни тестове и епидемиологичната ситуация.

В случай, че наличието на вектори, заразени с вируса на АЧС са били доказани преди това, трябва също да се вземат подходящи образци от меки кърлежи за вирусологичните тестове съобразно с инструкциите на компетентния орган с приложение III към Директива 2002/60/ЕО.

3. Все пак, в случай на появяване на вторични огнища, компетентният орган може да реши да дерогира точки 1 и 2 и да установи други процедури за вземане на проби, като има предвид вече наличната епидемиологична информация за източника и пътя на проникване на вируса в стопанството и за потенциалното разпространение на болестта от стопанството.

В. ПРОЦЕДУРИ ЗА ВЗЕМАНЕ НА ПРОБИ ПО ВРЕМЕ НА УМЪРТВЯВАНЕТО НА СВИНЕТЕ КАТО ПРЕВАНТИВНА МЯРКА В СТОПАНСТВОТО

⁵ При прилагане на дерогацията, предвидена в член 6, параграф 1 от Директива 2002/60/ЕО, вземането на проби трябва да засяга подразделенията на стопанството, чиито свине са били умъртвени, без да накрънява другите изследвания и вземане на проби от свинете на стопанството, които ще се извършат в съответствие с инструкциите на компетентния орган.

1. За да потвърди или отхвърли възможността за наличие на АЧС и за да получи допълнителна епидемиологична информация, по време на умъртвяването на свинете като превантивна мярка в стопанството, за което има съмнение, че е заразено в съответствие с разпоредбите на член 4, параграф 3, буква а) или на член 7, параграф 2, от Директива 2002/60/ЕО, кръвните проби, предназначени за серологични и вирусологични тестове, трябва да се вземат в съответствие с процедурата, определена в точка 2.

2. Вземането на проби се отнася предимно за:

- свинете, които показват признаци или постмортални увреждания, които дават основание да се предположи появата на АЧС, както и на контактните свине,
- други свине, които може да са имали рискови контакти със заразени или свине, за които има съмнение, че са били заразени с вируса на АЧС. Вземането на проби от тези свине трябва да се извършва в съответствие с инструкциите на компетентния орган, която ще вземе предвид епидемиологичната ситуация.

Освен това свинете, които произлизат от всяко едно от подразделенията на стопанството трябва да представляват обект вземане на проби наслуки⁶. В този случай, минималния брой на взетите образци за целите на серологичните тестове трябва да позволи да се открие серологичен превес от 10% с ниво на надеждност 95% във въпросното подразделение.

Типът на пробите за вземане за целите на вирусологичните тестове и тестът за използване ще бъдат съобразени с инструкциите на компетентния орган, която ще има предвид серията тестове, които могат да се извършат, за чувствителността на тези тестове и за епидемиологичната ситуация.

Г. ПРОЦЕДУРИ ПРОВЕРКА И ВЗЕМАНЕ НА ПРОБИ ПРЕДИ ИЗДАВАНЕТО НА РАЗРЕШЕНИЕ ЗА ПРЕМЕСТВАНЕ НА СВИНЕТЕ ОТ СТОПАНСТВАТА РАЗПОЛОЖЕНИ В ЗАЩИТНИТЕ И НАДЗОРНИ ЗОНИ И В СЛУЧАЙ НА КЛАНЕ ИЛИ УБИВАНЕ НА ТЕЗИ СВИНЕ (ЧЛЕНОВЕ 10 И 11 ОТ ДИРЕКТИВА 2002/60/ЕО)

1. Без да накърнява разпоредбите на член 11, параграф 1, буква е), алинея втора, от Директива 2002/60/ЕО, за да бъде позволено да се издаде разрешение да се преместят свинете от стопанства, разположени в защитни или надзорни зони в съответствие с член 10, параграф 3 от упоменатата директива, извършването на клиничното изследване от официален ветеринарен лекар трябва:

⁶ Все пак, ако компетентния орган е ограничил прилагането на превантивно умъртвяване само за частта от стопанството, където са държани свинете, за които има съмнение, че са били инфектирани или заразени с вируса на АЧС в съответствие с член 4, параграф 3, буква а) от Директива 2002/60/ЕО, вземането на проби трябва да засяга подразделенията на стопанството, в което мярката е била приложена, без да накърнява изследванията и вземането на допълнителни проби от останалите в стопанството свине, които ще се извършат в съответствие с инструкциите на компетентния орган.

- да се осъществи в рамките на двадесет и четири часа преди преместването на свинете,

- да бъде съобразно с разпоредбите, изложени в част А, точка 2.

2. В случай, че свинете се транспортират към друго стопанство, освен провежданите изследвания в съответствие с разпоредбите на точка 1, има основание да бъде извършено клинично изследване на свинете, включително измерване на температурата на определен брой от тях, във всяко подразделение на стопанството, където са държани свинете за транспортиране.

Минималният брой свине за преглед трябва да даде възможност да се открие превес от 10% на болестта, в краен случай, с ниво на надеждност 95% в подразделението на въпросното стопанство.

3. Ако свинете са транспортирани към кланица, предприятие за преработване или други места, за да бъдат умъртвени или заклани, освен изследванията, извършени в съответствие с разпоредбите на точка 1, трябва да се проведе клинично изследване на свинете от всяко подразделение, където свинете за транспортиране са държани. В случай, че свинете са на повече от три или четири месеца, този преглед трябва да включва измерване на температурата на определен брой свине.

Минималният брой свинете за преглед трябва да позволи да се открие, във въпросното подразделение на стопанството, превес от 20% на болестта, в краен случай, с ниво на надеждност 95%.

4. По време на клането или на умъртвяването на свинете, посочени в точка 3, от свинете, идващи от всяко от подразделенията, от които са били транспортирани, трябва да се вземат кръвни проби за серологични тестове или кръвни проби или проби от органи, като например сливици, далак или лимфни възли, за вирусологични тестове.

Минималният брой на взетите проби трябва да позволи да се открие серологично преобладаване или превес на вируса от 10% с ниво на надеждност 95% във всяко подразделение.

Типът на взетите проби и на теста за използване ще бъдат съобразени с инструкциите на компетентния орган, която ще има предвид серията от тестове, които могат да се извършат, за чувствителността на тези тестове и за епидемиологичната ситуация.

5. Все пак, ако клиничните признаци или посморталните увреждания, които подсказват наличието на АЧС, се открият в момента на клането или на умъртвяването на свинете, чрез дерогация от точка 4, се прилагат разпоредбите относно вземането на проби, дефинирани в част В.
6. Дерогацията предвидена в член 10, параграф 5 и в член 11, параграф 4 от Директива 2002/60/ЕО може да бъде направена при условие, че компетентните органи гарантират, че интензивна схема за вземане на проби и тестове се прилага също върху групите свине, посочени в точки 2, 3 и 4, които трябва да се

прегледат или, от които трябва да се вземат проби. В рамките на тази схема, минималният брой на взетите кръвни проби, трябва да позволят да се открие серологичен превес от 5% с ниво на надеждност 95% във всяка от въпросните групи свине.

Д. ПРОЦЕДУРИ ЗА ПРОВЕРКА И ВЗЕМАНЕ НА ПРОБИ В СТОПАНСТВО ВЪВ ВРЪЗКА С ПОВТОРНО НАСТАНЯВАНЕ.

1. В случай на повторно въвеждане на свине в стопанство, в съответствие с член 13, параграф 3 от Директива 2002/60/ЕО, трябва да се прилага следната процедура за вземане на проби:

- кръвни проби трябва да се вземат най-рано четиридесет и пет дни след повторното въвеждане на свинете,

- в случай на повторно въвеждане на свине кръвните проби, предназначени за серологични тестове трябва да се вземат наслуки от брой свине, който позволява да се открие серологичен превес от 10% с ниво на надеждност 95% във всяко от подразделенията на стопанството,

- в случай на пълно повторно въвеждане, кръвните проби, предназначени за серологичните тестове трябва да се вземат наслуки от брой свине, който позволява да се открие серологичен превес от 20% с ниво на надеждност 95% във всяко от подразделенията на стопанството.

2. В случай на повторно въвеждане на свине в стопанство в съответствие с член 13, параграф 4 от Директива 2002/60/ЕО, трябва да се прилага следната процедура за вземане на проби:

- кръвни проби трябва да се вземат най-рано четиридесет и пет дни след повторното въвеждане на свинете,

- в случай на частично повторно въвеждане на свине, кръвните проби, предназначени за серологични тестове трябва да се вземат наслуки от определен брой свине, който позволява да се открие серологичен превес от 5% с ниво на надеждност 95% във всяко подразделение на стопанството,

- в случай на пълно повторно въвеждане, кръвните проби, предназначение за серологичните тестове трябва да се вземат наслуки от определен брой свине, който позволяват да се открие серологичен превес от 10% с ниво на надеждност 95% във всяко от подразделенията на стопанството.

В този случай, процедурата, предвидена в трето тире трябва да се повтори най-рано шестдесет дни след пълното повторно въвеждане.

3. След повторното въвеждане на свине компетентния орган гарантира, че в случай на болест или смърт по неизвестни причини при свинете в стопанството, засегнатите свине се подлагат на тест за откриване на АЧС.

Тези разпоредби се прилагат докато ограниченията за движението на свине , предвидени в член 13, параграф 3, букви а) и б) и член 13, параграф 4 от Директива 2002/60/ЕО не са отмени във въпросното стопанство.

Е. ПРОЦЕДУРИ ЗА ВЗЕМАНЕ НА ПРОБИ В СТОПАНСТВА, РАЗПОЛОЖЕНИ В ЗАЩИТНАТА ЗОНА ПРЕДИ ВДИГАНЕ НА ОГРАНИЧЕНИЯТА

1. За да се позволи вдигането на ограниченията, предвидени в член 10 от Директива 2002/60/ЕО в защитна зона, във всички стопанства от зоната трябва да се пристъпи към:
 - клинично изследване съгласно процедурите дефинирани в част А, точка 2 и точка 3,
 - вземане на кръвни проби за серологични тестове в съответствие с точка 2.
2. Минималният брой на взетите кръвни проби трябва да позволи да се открие серологичен превес от 10% с ниво на надеждност 95% при свинете от всяко подразделение на стопанството.
Все пак, дерогацията предвидена в член 10, параграф 5 и в член 11, параграф 4 от Директива 2002/60/ЕО, може да се разреши само ако компетентния орган гарантира, че броят на взетите проби позволява да се открие серологичен превес от 5% с ниво на надеждност 95% в засегнатото подразделение на стопанството.

Ж. ПРОЦЕДУРИ ЗА ВЗЕМАНЕ НА ПРОБИ В СТОПАНСТВА, РАЗПОЛОЖЕНИ В ЗАЩИТНА ЗОНА ПРЕДИ ВДИГАНЕ НА ОГРАНИЧЕНИЯТА

1. За да се позволи вдигането на ограниченията, предвидени в член 11 от Директива 2002/60/ЕО, в надзорна зона, във всички стопанства от зоната трябва да се проведе клинично изследване съобразно с процедурите, дефинирани в част А, точка 2.

Освен това, кръвните проби, предназначени за серологичните тестове трябва да се вземат от свине:

- във всяко друго стопанство, където вземането на проби се счита за необходимо от компетентния орган,
 - във всички центрове за получаване на сперма,
2. Във всички случаи, когато вземането на кръвни проби за серологични тестове се извършва в стопанства, разположени в надзорната зона, броят на взетите в тях кръвни проби трябва да бъде в съответствие с раздел Ж, точка 2, първо изречение.

При все това, дерогацията предвидена в член 10, параграф 5 и в член 11, параграф 4 от Директива 2002/60/ЕО може да се разреши само ако компетентния орган гарантира, че кръвните проби се вземат за целите на серологични тестове във всяко от стопанствата разположени в спомената зона. Минималният брой на

взетите кръвни проби трябва да позволи да се открие серологичен превес от 5% с ниво на надеждност 95% при свинете от всяко подразделение на стопанството.

3. ПРОЦЕДУРИ ЗА СЕРОЛОГИЧЕН МОНИТОРИНГ И ВЗЕМАНЕ НА ПРОБИ В ЗОНИ, ЗА КОИТО ИМА СЪМНЕНИЕ ЗА НАЛИЧИЕ НА АЧС, ИЛИ Е БИЛО ПОТВЪРДЕНО ПРИ ДИВИ СВИНЕ

1. В случай на серологичен мониторинг на диви свине в зони, за които се предполага или е било потвърдено наличието на АЧС, ръстът и географската област на популацията, предмет на взимането на проби, трябва да се дефинират предварително, за да се определи броят на пробите за взимане. Количеството на пробите трябва да се определи в зависимост от броя живи животни, а не в зависимост от броя на отстреляните по време на лов животни.
2. Ако данните за гъстотата и големината на популацията не са на разположение, географската област, която трябва да представлява обект на взимане на проби трябва да се ограничи, като се има предвид постоянното присъствие на диви свине и на съществуването на естествени или изкуствени бариери, които да възпрепятстват масови и продължителни придвижвания на животни. Ако случаят не е такъв или ако пространствата са обширни, се препоръчва да се разграничат пространствата за взимане на проби на около 200 км², които могат да приютят обикновено популация от 400 до 1000 диви свине приблизително.
3. Без да накърнява разпоредбите на член 15, параграф 2, буква в) от Директива 2002/60/ЕО, минималният брой на свинете за подлагане на вземане на проби във вътрешността на ограниченото пространство за вземане на проби трябва да позволи да се открие серологичен превес от 5% с ниво на надеждност 95%. За тази цел е уместно да се подложат на вземане на проби най-малко петдесет и шест животни във всеки от определените райони.
4. Вземането на проби от диви свине, предназначени за вирусологични тестове отстреляни или намерени мъртви, трябва да се извършва в съответствие с разпоредбите на глава V, част Б, точка 1. Когато е необходимо да се проведе вирусологичен мониторинг на диви отстреляни свине, той трябва да се извършва предимно върху животни на възраст под една година.
5. Всички проби за изпращане в лабораторията трябва да се придружават от въпросника, предвиден в член 16, параграф 3, буква з) от Директива 2002/60/ЕО.

Глава V

Общи процедури и критерии относно взимането и транспортирането на пробите

А. ОБЩИ ПРОЦЕДУРИ И КРИТЕРИИ

1. Преди да бъдат взети проби от стопанство, за което има съмнение, че е заразено, се съставя карта на стопанството и се разграничат епидемиологичните подразделения.

2. Винаги, когато се наложи взимането на втора проба, всички свине подложени на взимане на проби трябва да бъдат снабдени със специфичен отличителен знак, за да могат лесно да се подложат на повторно взимане на проби.
3. Всички проби трябва да бъдат изпратени в лабораторията, придружени с подходящи формуляри в съответствие с изискванията, установени от компетентния орган. Тези формуляри включват подробностите относно състоянието, предхождащо болестта, на свинете подложени на взимане на проби, както и на наблюдаваните клинични признаци или постмортални увреждания.

В случай че, свинете са държани в стопанства, се предоставя ясна информация относно възрастта, категорията и стопанството по произход на свинете, от които се вземат проби. Препоръчва се локализирането на всяка една от свинете, от които се вземат проби, да се регистрира в същото време, и по която се поставя специфичният отличителен знак за идентифициране.

Б. ВЗИМАНЕ НА ПРОБИ ЗА ВИРУСОЛОГИЧНИ ТЕСТОВЕ

1. Тъканите, които произхождат от сливиците, лимфните възли (стомашно-чернодробен, бъбречен, субмандибуларен и ретрофарингеален), далака, бъбреците и белите дробове на мъртвите или ефтаназирани свине, представляват най-подходящите проби за откриване на вируса, антигена или генома на АЧС⁷. Когато трупове се автолизират, трябва да се избере цяла дълга кост или стернума.
2. Образци от не съсирена и/или съсирена кръв трябва да се вземат от свине, които имат температура или показват други признаци на заболяване, в съответствие с инструкциите на компетентния орган.

В. ТРАНСПОРТИРАНЕ НА ПРОБИТЕ

1. Препоръчително е всички проби:
 - да са правилно идентифицирани,
 - да се транспортират и складира в непропускливи съдове,
 - да се съхраняват на студено, при температура на охлаждане; въпреки това, ако се очаква пробите да пристигнат в лабораторията след повече от четиридесет и осем часа, трябва да се влезе във връзка с нея, за да бъдат получени инструкции относно най-подходящите температурни условия за транспортиране,
 - да се доставят в лабораторията колкото е възможно най-бързо,
 - да се съхраняват в опаковки, които съдържат торбички с лед или сух лед, за да се осигури охлаждането,
 - тъканите или органите да се поставят в отделни херметически затворени от пластмаса и надлежно етикетирани. След това те ще бъдат поставени в по-големи контейнери и опаковани в достатъчно количество абсорбиращо вещество, за да ги пази от всякакво повреждане и да абсорбира изтичането на течност,

⁷ Препоръчва се да се вземат наравно образци от илеона (подслабинното) черво, които могат да бъдат полезни за да диагностицират класическата чума по свинете.

- когато е възможно, те са директно транспортирани до лабораторията от компетентно лице, така че да се осигури бърз и надежден транспорт.
2. На външната страна на опаковката трябва да бъде написан адреса на лабораторията-получател и следните указания да бъдат видими:
„патологичен материал от животински произход; нетраен, чуплив, да не се отваря извън специализирана лаборатория за АЧС.”
 3. Компетентно лице в лабораторията-получател на пробите трябва да бъде своевременно информирано за пристигането на пробите.
 4. Когато образците се изпращат по въздуха до референтната лаборатория на Общността за АЧС⁸ опаковката трябва да се етикетира в съответствие с регламентите на Международната асоциация за въздушен транспорт (АІТА).

Глава VI

Принципи и използване на вирусологичните тестове и оценяване на техните резултати

A. ОТКРИВАНЕ НА АНТИГЕНИТЕ НА ВИРУСА

1. Тест за пряка имунофлуоресценция

Принципът на теста се базира на микроскопичното откриване на вирусни антигени върху тънък слой натривки или върху фини криогенични разрези от органичен материал от свине, за които има съмнение, че са заразени с вируса на АЧС. Вътрешноклетъчните антигени се откриват с помощта на специфични свързани антитела FIT⁹.

Флуоресцентни клетъчни включвания или гранули се появяват в цитоплазмата на инфектираните клетки.

Подходящи органи са бъбрека, далака, както и различни лимфни възли. За дивите свине може да се използва също така тънък слой натривка от костен мозък, ако техните органи не са на разположение или са автолизирани.

Теста може да се направи за два часа. Тъй като пробите от органите могат да се вземат само от мъртви животни, тяхното използване за скриниране е ограничено. Това е извънредно чувствителен тест за използване в случаи на остра форма на АЧС. При субакутни или хронични форми, чувствителността на директния имунофлуоресцентен тест е само около 40%, вероятно по причина на присъствието на комплексни антигени-антитела, което блокира реакцията със свързаното антитяло на АЧС.

Надеждността на резултатите може да намалее заради съмнителни оцветявания, особено когато придобитият опит по отношение на провеждането на тестове не е голям или когато изследваните органи са автолизирани.

⁸ Референтната лаборатория на Общността разполага с неограничено разрешение да приема диагностични проби и изолати на вируса на АЧС, които произхождат от независимо коя държава-членка. Ако пробата произхожда от външността на Европейския съюз, може да бъде поискано копие от разрешителното на тази лаборатория за внос преди транспортирането и сложено в плик, прикрепен на външната страна на опаковката

⁹ Флуоресцеинов изотиоцианат.

2. Метод Елайза за откриване на антиген

Вирусният антиген може също да се открие с помощта на метода Елайза, но този тест се препоръчва само при острите форми на заболяването, поради слабата чувствителност в присъствието на комплекси антигени-антитела.

Чувствителността на антигена Елайза е достатъчна, за да се постигне положителен резултат при животните, които проявяват клинични признаци на острата форма на АЧС. Във всеки случай, се препоръчва този тест да се използва само като ”стаден тест” и съвместно с други вирусологични тестове.

Б. ИЗОЛИРАНЕ И ИДЕНТИФИЦИРАНЕ НА ВИРУСА С ПОМОЩТА НА ХЕМАДСОРБЦИОНЕН ТЕСТ (HAD)

1. Изолирането на вируса се базира върху инокулацията на материал от пробата върху култури от първични клетки от свински произход, клетки на моноцити и макрофаги. Най-добрите образци за техниката на изолиране на вируса на АЧС, са левкоцити и кръв взети от некоагулирани кръвни проби или от органите посочени в част А, точка 1. Ако вирусът на АЧС се намира в пробата, той ще се размножи в клетките и ще се появи характерен цитопатичен ефект в инфектираните клетки.
2. Методът HAD се препоръчва за идентификацията на изолатите от вируса на АЧС, благодарение на неговата висока чувствителност и специфичност. HAD се базира върху способността на вируса на АЧС да се възпроизвежда в свинските макрофаги и да предизвиква хемадсорпция при наличието на свинските еритроцити. Около инфектираните макрофаги се образува характерна розетка от еритроцити. Въпреки това, малък брой вирусни и диви (които не се присъединяват) щам на АЧС не може да въведе хемадсорпцията, но може да произведе цитопатичен ефект. Тези щамове могат да се идентифицират по специфичен начин с помощта на теста DIF върху седименти от клетъчни култури или чрез полимеразно-верижна реакция (PCR).
3. Изолирането на вируса е техника по-подходяща за анализ на проби, от малък брой животни, отколкото за масово наблюдение. Процедурата за изолиране на вируса изисква високо интензивна работа на лаборантите, а резултатите излизат от един до три дни по-късно. Две други клетъчни култури могат да се окажат необходими, за да се открие малко количество вируси в пробата. При тях срокът за изследването е до десет дни, преди да се получи крайният резултат. Автолизираните проби могат да бъдат цитоксични за клетъчната културата и, поради това, да ограничат нейното използване.
4. Изолирането на вируса и неговата идентификация чрез HAD се препоръчва като сравнителен тест, за да се получи потвърждение на положителни резултати от предхождащи тестове Елайза, PCR или DIFT. Те също се препоръчват, когато АЧС е била вече потвърдена чрез други методи, особено в случай на първично огнище или в случай на АЧС.
Изолираните вируси на АЧС в макрофагите на свинете могат да се използват за харектизиране на вируса и за молекулярна епидемиология.
5. Всички изолати на вируса на АЧС, които произлизат от всички първични огнища, от първичните случаи при дивите свине или от констатирани случаи в клиника или в транспортните средства, трябва да представляват предмет на харектизиране от референтна национална лаборатория в държавите-членки,

или от всяка друга одобрена лаборатория във въпросната държава-членка, или от референтната лаборатория на Общността, в съответствие с част Д.

При всички случаи, тези изолати на вируса трябва да се изпратят незабавно в референтната лаборатория на Общността, за да бъдат прибавени при събирането на вируса.

В. ОТКРИВАНЕ НА ГЕНОМА НА ВИРУСА.

1. Полимеразно-верижната реакция (PCR) се прилага за откриване на вируса в проби от кръв, серум, тъкани или органи. Малки фрагменти от вирусна ДНК се увеличават с PCR в количества, които могат да бъдат доловени. Възможно е да се открие широка гама от изолати, които принадлежат на всички познати генотипи на вируса, включително не хемадсорбиращи вируси и изолати с ниска вирулентност, като се използва примамки от добре запазена зона на генома. Откакто този тест открива само поредица от генома на вируса, PCR може да даде положителен резултат, дори когато не се открива инфекциозен вирус чрез изолиране (например в автолизираните тъкани или пробите от свине, които са се възстановили след боледуване и са станали клинично нормални.).
2. Методът PCR може да се използва върху малък брой проби, грижливо селектирани от животни, за които има съмнение, че са заразени. Този метод се препоръчва за проби от органи, които са цитоксични, тъй като тогава изолирането на вируса е невъзможно (особено проби от диви свине).
3. Подходящият материал за PCR е от органи описани за изолирането на вируса и серум. Хомогенатите на кърлежа могат също да се анализират с PCR.
4. PCR може да се проведе в рамките на един работен ден. Той изисква подходяща лабораторна екипировка, отделни помещения и квалифициран персонал. Едно от неговите преимущества се състои във факта, че инфекциозният вирус не трябва да се възпроизвежда в лаборатория. PCR е много чувствителен, но лесно може да стане заразяване, което води до фалшиви положителни резултати. Нужни са строги мерки за контрол на качеството.

Г. ПРЕПОРЪЧИТЕЛНИ ВИРУСОЛОГИЧНИ ТЕСТОВЕ И ОЦЕНЯВАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ.

Необходими са вирусологични тестове, за да се потвърди наличието на АЧС.

Изолирането на вируса и HAD се считат за референтни вирусологични тестове и трябва да се използват като тестове за потвърждаване, когато е необходимо. Тяхното използване особено се препоръчва, когато положителни DIF или PCR резултати не са свързани с откриването на клинични признаци или на увреждания от болестта, както и във всеки друг съмнителен случай.

Въпреки това, първично огнище на АЧС може да се потвърди, ако клиничните признаци или уврежданията от болестта са били открити върху въпросните свине и върху пробите и ако поне два различни теста за откриване на антиген, на геном или на анти тяло са дали положителен резултат върху проби, взети от същите тези свине, за които има съмнение, че са заразени.

Вторично огнище на АЧС може да се потвърди, ако освен епидемиологичната връзка с огнище или потвърден случай, клинични признаци или увреждания от

болестта са били открити при въпросните свине и ако тест за откриване на антиген, на геном или на антитяло е дал положителен резултат.

Появяването на първичен случай на АЧС при диви свине може да се потвърди след изолиране на вируса или ако поне два теста за откриване на антигена, на генома или на антитялото са дали положителен резултат. Други случаи на АЧС при дивите свине, за които е била установена епидемиологична връзка със случаи потвърдени по-рано, могат да се потвърдят ако тест за откриване на антиген, геном или антитяло е дал положителен резултат.

Е. ГЕНЕТИЧНО ХАРАКТЕРИЗИРАНЕ НА ИЗОЛАТИТЕ НА ВИРУСА НА АЧС

1. Генетичното характеризиране на изолатите на вируса на АЧС се постига чрез определянето на ензиматично ограничените профили и на нуклеотидните поредици на части от генома на вируса. Сходството между тези ограничителни профили или поредиците и тези вече получени от предишни изолати на вируса, може да покаже дали огнищата на болестта са причинени от вируси, които следват европейски или африкански молекулярен модел.

Генетичното характеризиране на изолатите на вируса на АЧС е извънредно важно за подобряването на сегашните познания по молекулярна епидемиология за АЧС и за генетичното изменение на вируса. Молекулярните данни позволяват класирането на нови изолати и предоставят информация за техния възможен произход.

2. Ако молекулярното характеризиране на вируса не може да се извърши в национална лаборатория или във всяка друга одобрена лаборатория за диагностициране на АЧС в кратък срок, оригиналната проба или изолата на вируса трябва да се изпрати в референтната лаборатория на Общността, за да се извърши молекулярното характеризиране възможно най-бързо.

Данните относно анализа за ензимния рестриктивен анализ и за поредицата на изолатите на вируса на АЧС, с които разполагат одобрените лаборатории за диагностициране на АЧС, трябва да бъде предаден на референтна лаборатория на Общността, с цел въвеждането на тази информация в базата данни на тази лаборатория.

Информацията, включена в тази база данни трябва да бъде на разположение на всички референтни национални лаборатории на държавите-членки. Все пак, за публикуване в научни списания, по молба на въпросната лаборатория, референтната лаборатория на Общността гарантира конфиденциалността на данните до тяхното публикуване.

Глава VII

Принципи и използване на серологични тестове и оценяване на техните резултати

А. ОСНОВНИ ПРИНЦИПИ И ДИАГНОСТИЧНА СТОЙНОСТ.

1. Откриването на специфични антитела на АЧС се препоръчва при субакутните и хронични форми на болестта, както и за широкомащабните тестове и за програмите за пълно унищожаване на АЧС, по много причини:

(i) антителата се произвеждат бързо при инфектирана свиня. При тези свине, антителата обикновено се забелязват в пробите от серум, взети седем до десет дни след инфектиране;

(ii) срещу АЧС не съществуват никакви ваксини . Това означава, че специфичните антитела на АЧС се произвеждат само след инфектиране с вируса на АЧС ;

(iii) устойчивост на антитялото. При оздравели свине, високи нива на специфични антитела могат да се открият в продължение на много месеци дори през целият живот на някои от тях.

Специфични антитела на АЧС с произход от майката, могат да се открият през първите седмици от живота на прасенцата. Периода на полуживот на майчините антитела при прасенцата е около три седмици. Ако те се открият при прасенца на повече от три месеца, малко вероятно е антителата на африканската чума по свинете да са с произход от майката.

3. Откриването на антитела срещу вируса на АЧС в ексудатите от серум или от плазма на предоставени, органи служи да улесни диагностиката на АЧС в стопанствата, за които има съмнение, че са заразени, да установи датата на въвеждане на инфекцията в случай на потвърдено огнище и за мониторингови и надзорни цели.

Локализирането на серопозитивните свине в стопанството може да предостави полезна информация за това как и откъде вирусът на АЧС е попаднал в стопанството.

Въпреки това, трябва да се пристъпи към точно оценяване на резултатите от серологичните тестове, като се вземат предвид всички клинични, вирусологични и епидемиологични резултати в рамките на провеждане на анкетата в случай на съмнение или на потвърждаване на АЧС в съответствие с член 8 от Директива 2002/60/ЕО.

Б. ПРЕПОРЪЧЕЛНИ СЕРОЛОГИЧНИ ТЕСТОВЕ.

1. Тестът Елайза, тестът за индиректна имунофлуоресценция (IIFT) и тестът базиран върху техниката на Western blot са най-добрите тестове за получаване на серологично потвърждение на АЧС.

Качеството и ефикасността на серологичната диагностика извършена от националните лаборатории трябва да бъдат редовно контролирани в рамките на теста за периодично междулабораторно сравнение организирано от референтната лаборатория на Общността.

2. Тестът Елайза е най-надеждният и най-полезният за широко мащабни серологични проучвания. Той се основава на откриването на антитела на вируса на АЧС, прикрепени към вирусните протеини, се прикрепят към твърдата фаза чрез

прибавка на протеин А свързан с ензим, който произвежда оцветена реакция, видима когато реагира с подходящ субстрат.

2. Националните лаборатории трябва да извършват редовно качествен контрол на чувствителността и специфичността на всички партии реактиви Елайза, като използват серия от серуми за съпоставка доставени от референтната лаборатория на Общността.

Тази серия съдържа:

- серуми с произход от свине, които се намират в началния стадий на заразяване с вируса на АЧС (до седемнадесет дни след заразяването),
- серуми с произход от свине, които се възстановяват след боледуване (повече от седемнадесет дни след заразяването).

Тестове Елайза, използвани за серологично диагностициране на АЧС, трябва да откриват всички серуми за сравнение с произход от свине, които се възстановяват след боледуване. Всички резултати, получени със серумите за сравнение трябва да са възпроизводителни. Препоръчва се да се откриват всички положителни серуми още от началната фаза. Получените резултати от серумите за сравнение с произход от свинете, които се намират в началната фаза на заразяването дават указания за чувствителността на теста Елайза.

4. ИФТ е бърза техника, с висока чувствителност и специфичност за откриване на антитела на вируса на АЧС, които произлизат от серуми или тъканни ексудати. Той е базиран на откриването на антитела на вируса на АЧС, които се свързват с монопласт от MS клетки инфектирани от адаптиран вирус на АЧС. Реакцията антитяло-антиген се открива с помощта на флуоресцентен и етиктиран протеин А. Положителните проби създават специфична флуоресценция близо до ядрото на инфектираните клетки.
DIFT и ИФТ, използвани заедно за тестване на орган, кръв или ексудати, събрани от животни, които имат клинични признаци на АЧС могат да доведат до бързо и надеждно потвърждение на болестта.
5. IB тестът е много специфична и много чувствителна техника, базирана върху използването на ленти от нитроцелулоза, които съдържат вирусни протеини като антигени. Специфичната реакция антитяло-антиген се открива чрез прибавка на пероксидаза от протеин А, смесена с подходящ субстрат. Тази техника е много полезна за тестване на серуми, за които тестът Елайза не показва задоволителни резултати.

Глава VIII

Минимални изисквания за безопасност за лаборатории за АЧС

1. Изискванията, дефинирани в таблица 1 трябва да се спазват във всяка лаборатория, в която вирусът на АЧС е разширен чрез репликация в клетъчни култури. Въпреки това, постморталните изследвания, подготовката на тъканите за DIFT или PCR и серология, чрез използване на инактивирани антигени, могат да се извършват според по-малко стриктни изисквания, при условие, че минималните условия, дефинирани в таблица 1 се спазват,

основните хигиенни норми се прилагат и се извършват операциите по дезинфекция след завършване на манипулациите за отстраняване на трупове, на тъканите и на серумите в условията на безопасност.

2. Изискванията дефинирани в таблица 2 трябва да се спазват от всяка лаборатория, в която свинете са заразени с вируса на АЧС.
3. Всички налични запаси от вируса на АЧС трябва да се съхраняват на сигурно място, в замразено или лиофилизирано състояние. Всяка ампула трябва да се етикетира прегледно и изчерпателни регистри трябва да описват складовите наличности на вируса, както и датата и резултатите от проверките за качество. Трябва също да има регистри за вписване на добавените вируси към складовата наличност, като за тях се уточнява източника, както и вирусите с произход от други лаборатории.
4. Препоръчва се към помещенията за обработка на вирусите на АЧС, проектирани съгласно принципите за биологична безопасност, да се прибавят пространства, където вирусът не се обработва. Тези пространства би трябвало да са на разположение за подготовка на стъклените прибори и места за поддържане и за подготовка на неинфектирани клетъчни култури, за обработка на серуми и за серологични изследвания (други освен методите, които използват живия вирус на АЧС) за административна дейност и офиси.

Таблица 1

Норми за биологично ограничение, приложими в лабораториите по диагностика

	Минимални условия	Допълнителни условия
Обикновена околна среда	Нормално атмосферно налягане Отделни помещения, чието използване е ограничено за определени процедури	Нормално атмосферно налягане. Обикновено филтриране на изходящия въздух – HEPA. Отделни помещения, предназначени изключително за процедурите за диагностика на АЧС. Обработка на притоци от изпарения и течности, които са податливи на заразяване и могат да инактивират вируса на АЧС (чрез термични или химични способности)
Лабораторно облекло	Специално горно облекло, предназначено за използване в само в блока, предназначен за вируса на АЧС. Ръкавици за еднократна употреба за всички манипулации с инфектиран	Пълна смяна на облекло на входа. Лабораторно облекло за използване само в помещението предназначено за вируса на африканската чума по свинете. Ръкавици за еднократна употреба за всички манипулации

	материал. Стерилизация на горното облекло преди излизане от блока или изпиране при висока температура в блока	с инфектиран материал. Стерилизация на облеклото преди излизане от блока или изпиране при висока температура в блока.
Контрол на персонала	Достъп в блока на определения персонал, надлежно инструктиран. Миене и дезинфекция на ръцете при излизане от блока. Забрана за персонала да влиза в помещенията, където се намират свинете за времето от четиридесет и осем часа след излизане от блока.	Достъп в блока на определения персонал, надлежно инструктиран Миене и дезинфекция на ръцете при излизане от блока. Забрана за персонала да влиза в помещенията, където се намират свинете за времето от четиридесет и осем часа след излизане от блока.
Оборудване	Вътрешно биологично помещение за безопасност (клас I и II), предназначено за всички манипулации с живи вируси. Вътрешното помещение трябва да разполага с уред за двойно филтриране на изходящия въздух HEPA. Всички необходими съоръжения за лабораторните процедури трябва да бъдат на разположение във вътрешността на помещенията предназначени за лабораторията.	

Таблица 2

Условия за биологична безопасност на помещенията предназначени за лабораторните животни

	Условия
Обикновена околна среда	Контролирано проветряване чрез отрицателно налягане Обикновено филтриране на изходящия въздух HEPA Устройство за пълно опушване/ обеззаразяване в края на опита Обработка на всички твърди и течни притоци за инактивиране на вируса африканската чума по свинете (чрез термични или химични способности).
Лабораторни облекла	Пълна смяна на облеклото на входа Стерилизация на дрехите преди излизане от блока или изпиране при висока температура в блока
Контрол на персонала	Достъп до блока на определен персонал, надлежно инструктиран Уместно е да се оставят дрехите във вътрешността преди да се вземе душ. Цялостен душ преди излизане от блока. Забрана за персонала да влиза в помещенията, където се намират свинете за времето от четиридесет и осем часа след излизане от блока.
Оборудване	Всички необходими съоръжения за лабораторните процедури трябва да бъдат на разположение вътре в блока.

	Стерилизация на целия материал на излизане от блока или в случая на проби от животински произход обвиване в двойна опаковка и поставяне в непропусклив съд, повърхностно дезинфекциран за транспортиране към компетентна лаборатория за АЧС.
Животни	Умъртвяване на всички животни преди излизане от блока, постмортални изследвания, извършвани в определените места за биологична безопасност, изгаряне на трупове, използвани при изследванията.