

KOMMISSIONENS BESLUTNING
af 26. maj 2003
om godkendelse af en diagnostisk manual for afrikansk svinepest

(meddelt under nummer K(2003) 1696)

(EØS-relevant tekst)

(2003/422/EF)

KOMMISSIONEN FOR DE EUROPÆISKE FÆLLESSKABER HAR —

under henvisning til traktaten om oprettelse af Det Europæiske Fællesskab,

under henvisning til Rådets direktiv 2002/60/EF af 27. juni 2002 om specifikke bestemmelser for bekæmpelse af afrikansk svinepest og om ændring af direktiv 92/119/EØF for så vidt angår Teschener syge og afrikansk svinepest⁽¹⁾, særlig artikel 18, stk. 3, og

ud fra følgende betragtninger:

- (1) Ifølge direktiv 2002/60/EF bør der fastsættes ensartede diagnosticeringsprocedurer, prøvetagningsmetoder og kriterier for evaluering af resultaterne af laboratorieprøver til bekræftelse af afrikansk svinepest.
- (2) Ifølge direktivet skal EF-referencelaboratoriet for afrikansk svinepest i samråd med Kommissionen koordinere de metoder til diagnosticering af sygdommen, der anvendes i medlemsstaterne, bl.a. ved med mellemrum at tilrettelægge sammenlignende undersøgelser og stille referencereagenser til rådighed på EF-plan.
- (3) Afrikansk svinepestvirus anses ikke for at udgøre nogen fare for menneskers sundhed.
- (4) Der er udviklet laboratorieprøver, som sikrer, at diagnosen afrikansk svinepest hurtigt kan bekræftes.
- (5) På grundlag af de erfaringer, der er gjort med bekæmpelsen af afrikansk svinepest i de seneste år, er de prøvetagningsmetoder og kriterier for evaluering af resultaterne af laboratorieprøver blevet indkredset, der er bedst egnede til at stille en korrekt diagnose af sygdommen i forskellige situationer.
- (6) Derfor bør den manual, hvor disse metoder og kriterier er fastlagt, godkendes.
- (7) De nationale diagnoselaboratorier bør bemyndiges til at ændre de godkendte laboratorieprøver eller anvende andre prøver, hvis det kan godtgøres, at der opnås lige så stor følsomhed og specificitet.
- (8) De i denne beslutning fastsatte foranstaltninger er i overensstemmelse med udtalelse fra Den Stående Komité for Fødevarer og Dyresundhed —

VEDTAGET FØLGENDE BESLUTNING:

Artikel 1

1. Den diagnostiske manual for afrikansk svinepest i bilaget godkendes.

2. Medlemsstaterne sørger for, at afrikansk svinepest bekræftes efter de procedurer, prøvetagningsmetoder og kriterier for evaluering af resultaterne af laboratorieprøver, der er fastlagt i manualen, og på basis af:

- a) påvisning af kliniske tegn og post mortem-læsioner
- b) påvisning af virus, antigen eller genom i prøver af væv, organer, blod eller ekskrementer fra svin
- c) påvisning af en specifik antistofrespons i blodprøver

3. Uanset stk. 2, kan de nationale diagnoselaboratorier, der er nævnt i bilag IV til direktiv 2002/60/EF, ændre de laboratorieprøver, der er fastlagt i manualen, eller anvende alternative prøver, hvis det kan godtgøres, at der opnås lige så stor følsomhed og specificitet.

Hvis der anvendes ændrede eller alternative prøver, skal følsomheden og specificiteten af disse prøver evalueres som led i de sammenlignende undersøgelser, der med mellemrum tilrettelægges af EF-referencelaboratoriet for afrikansk svinepest.

Artikel 2

Denne beslutning anvendes fra den 1. juli 2003.

Artikel 3

Denne beslutning er rettet til medlemsstaterne.

Udfærdiget i Bruxelles, den 26. maj 2003.

På Kommissionens vegne

David BYRNE

Medlem af Kommissionen

⁽¹⁾ EFT L 192 af 20.7.2002, s. 27.

BILAG

DIAGNOSTISK MANUAL FOR AFRIKANSK SVINEPEST

Kapitel I

Indledning, mål og definitioner

1. For at sikre ensartede procedurer for diagnosticering af afrikansk svinepest er der i denne manual fastsat:
 - a) retningslinjer for og minimumskrav til diagnosticeringsprocedurer, prøvetagningsmetoder og kriterier for evaluering af resultaterne af kliniske undersøgelser, post mortem-undersøgelser og laboratorieprøver med henblik på at stille en korrekt diagnose af afrikansk svinepest ⁽¹⁾
 - b) minimumskrav til biosikkerhed og kvalitetsnormer, som skal overholdes af laboratorier, der diagnosticerer afrikansk svinepest, og ved transport af prøver
 - c) laboratorieprøver, der skal anvendes til diagnosticering af afrikansk svinepest, og laboratoriemetoder, der skal anvendes til gentybestemmelse af isolater af afrikansk svinepestvirus.
2. Denne manual henvender sig hovedsagelig til de myndigheder, der er ansvarlige for bekæmpelsen af afrikansk svinepest. Der er derfor lagt vægt på principperne og anvendelsesområderne for laboratorieprøver og evalueringen af resultaterne frem for på detaljerede laboratoriemetoder.
3. Ved anvendelsen af denne manual gælder foruden definitionerne i artikel 2 i direktiv 2002/60/EF følgende definitioner:
 - a) »mistænkt bedrift«: en svinebedrift med et eller flere svin, der mistænkes for at være inficeret med afrikansk svinepestvirus, eller en kontaktbedrift som defineret i artikel 2, litra k), i direktiv 2002/60/EF
 - b) »epidemiologisk underenhed« eller »underenhed«: den bygning, det sted eller det areal i nærheden, hvor grupper af svin på en bedrift holdes på en sådan måde, at de hyppigt har direkte eller indirekte indbyrdes kontakt, men samtidig holdes adskilt fra andre svin, der holdes på samme bedrift
 - c) »kontaktsvin«: svin, der har været holdt på en bedrift i direkte kontakt med et eller flere svin, som mistænkes for at være inficeret med afrikansk svinepestvirus inden for de sidste 21 dage.

Kapitel II

Beskrivelse af afrikansk svinepest med særlig vægt på differentialdiagnose

A. INDLEDNING

1. Afrikansk svinepest fremkaldes af et kappebærende DNA-virus, som tilhører Asfivirus-slægten af Asfarviridæefamilien. Virusstammernes virulens varierer, selv om det ikke er muligt at identificere forskellige serotyper.
2. Afrikansk svinepestvirus er meget stabilt i ekskretter fra inficerede svin, svinekroppe og fersk svinekød og nogle svinekødsprodukter. For at inaktivere det i miljøet, må der anvendes de virksomme desinfektionsmidler.
3. Den vigtigste naturlige infektionsvej for svin i Europa er oro-nasal ved direkte eller indirekte kontakt med inficerede svin eller ved fodring med viruskontamineret foder. I områder, hvor der findes vektorer ⁽²⁾, spiller overførsel via disse vektorer en meget vigtig rolle for virussets persistens og spredning. Afrikansk svinepest kan også spredes via indirekte kontakt med kontamineret materiale og via bidende insekter, som overfører virusset mekanisk. Sygdommen kan også overføres via sæd fra inficerede orner.
4. Inkubationstiden hos det enkelte dyr er på 5-15 dage, men under naturlige betingelser ses de kliniske symptomer på en bedrift måske først flere uger efter virussets introduktion eller endog senere, hvis der er tale om milde virusstammer.

⁽¹⁾ Når det afgøres, hvor mange prøver der skal tages til laboratorieundersøgelse, skal følsomheden af de anvendte test også tages i betragtning. Det antal dyr, der tages prøver af, skal være større end det antal, der er anført i denne manual, hvis følsomheden af den anvendte test ikke er ret stor.

⁽²⁾ Som defineret i artikel 2, litra r), i direktiv 2002/60/EF.

5. Der findes akutte, subakutte og kroniske former for afrikansk svinepest, hvor forskellen hovedsageligt afhænger af virussets virulens.
6. Svin, som opnår klinisk helbredelse efter infektion, har stadig viræmi i 40 til 60 dage, og disse svin bliver virusbærere. Afrikansk svinepestvirus er blevet isoleret fra smittebærende svin op til seks måneder efter infektionen.

B. AKUT FORM

1. Det første kliniske tegn på sygdommen plejer at være høj feber (over 40 °C) efterfulgt af depression, manglende ædelyst, et hurtigt og besværet åndedræt samt flåd fra næse og øjne. Svinene får ukoordinerede bevægelser og klumper sig tæt sammen. Søer kan abortere på ethvert tidspunkt i drægtighedsperioden. Nogle svin kaster op og har forstoppelse, mens andre får blodig diarré. Røde eller blålige misfarvninger ses i huden, især på ben og ører. Svinene kan blive bevidstløse, inden døden indtræffer, hvilket sker en til syv dage efter udviklingen af de kliniske tegn. Morbiditeteten og dødeligheden på en bedrift kan nå op på 100 %.

Ved obduktion ses et typisk hæmoragisk syndrom med omfattende indre blødninger i hele kroppen, blodig væske i bryst- og bughule, forstørret mørk milt, hæmoragiske lymfeknuder, som ligner blodkoagler, specielt de renale og gastrohepatiske lymfeknuder, petekkier i nyre (nyrebark, nyrepapiller og nyrebækken), serøse hinder i bughulen, mave- og tarmslimhinder, hjertet (i epicardium og endocardium), hydrothorax og petekkier i lungehinden.

2. I almindelighed ligner den akutte form for klassisk svinepest afrikansk svinepest meget, klinisk og patologisk. Når der forekommer blødninger i hud og ører, er de meget lette at opdage og vækker mistanke om akut klassisk eller afrikansk svinepest. Få andre sygdomme fremkalder lignende læsioner.

Akut afrikansk svinepest må også tages i betragtning i tilfælde af mistanke om rødsyge, porcint reproduktions- og respirationssyndrom, kumarinforgiftning, purpura haemorrhagica, post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS), porcin dermatitis og nephropati-syndrom, salmonellose eller pasteurellose eller tarm- eller luftvejssyndromer med feber, som ikke reagerer på antibiotikabehandling.

C. SUBAKUTTE FORMER

Subakutte former af sygdommen er mere almindelige i endemiske områder. Den subakutte infektion er kendetegnet ved svingende feber, depression og lungebetændelse. Døden kan indtræffe som følge af hjerteinsufficiens. Ved de subakutte former ligner læsionerne dem, som forekommer ved den akutte form, men er ikke så markante. Karakteristiske læsioner er store blødninger i lymfeknuder, nyre og milt samt lungestase og -ødem og i visse tilfælde interstitiel pneumoni.

D. KRONISKE FORMER

Kroniske former af sygdommen er sjældne. Ved kroniske former kan der ses bakterielle sekundærinfektioner. Da de kliniske tegn på kronisk afrikansk svinepest er ret uspecifikke, må mange andre sygdomme tages i betragtning som differentialdiagnoser. Forhøjet kropstemperatur optræder ikke nødvendigvis hos alle dyr, men på en inficeret bedrift kan feber i det mindste påvises hos nogle svin.

Blandt kliniske symptomer på kronisk afrikansk svinepest ses åndedrætsbesvær, aborter, arthritis, kroniske hudsår eller nekroser, som ikke ligner det typiske kliniske billede på en infektion med afrikansk svinepestvirus. Læsionerne kan være ganske små eller helt mangle. Karakteristisk for de histopatologiske fund er forstørrede lymfeknuder og forstørret milt, pleuritis og fibrinøs pericarditis og interstitiel pneumoni. Der findes også beskrivelser af fokal kaseøs nekrose og mineralisering af lungen.

Kapitel III

Retningslinjer for, hvilke kriterier der først og fremmest skal tages i betragtning ved klassificering af en bedrift som mistænkt for afrikansk svinepest

1. Beslutningen om at klassificere en bedrift som mistænkt træffes på grundlag af følgende fund, kriterier og grunde:
 - a) kliniske og patologiske fund i svin, hvor de vigtigste fund, som skal tages i betragtning, er:
 - feber med morbiditet og dødelighed hos svin i alle aldersklasser
 - feber med hæmoragisk syndrom petekkier og ekkymoser, navnlig i lymfeknuder, nyre, milt (som er forstørret og mørkfarvet, især ved de akutte former) og urinblære samt sår på galdeblære

- b) epidemiologiske fund, hvor de vigtigste fund, som skal tages i betragtning, er tilfælde:
- hvor svin har haft direkte eller indirekte kontakt med en svinebedrift, som er inficeret med afrikansk svinepestvirus
 - hvor en bedrift har leveret svin, som senere har vist sig at være inficeret med afrikansk svinepestvirus
 - hvor søer er blevet insemineret med sæd fra en mistænkt kilde
 - hvor der har været indirekte eller direkte kontakt med vildtlevende svin fra en population, hvor der forekommer afrikansk svinepest
 - hvor svin holdes udendørs i en region, hvor vildtlevende svin er inficeret med afrikansk svinepestvirus
 - hvor svin er blevet fodret med køkkenaffald og der er mistanke om, at dette køkkenaffald ikke er blevet behandlet på en sådan måde, at afrikansk svinepestvirus er blevet inaktiveret
 - hvor der kan være forekommet eksponering, f.eks. via personer, der er kommet på bedriften, transporter osv. fra bedrifter, der mistænkes for at være inficeret eller er inficeret med afrikansk svinepestvirus
 - hvor der findes vektorer på bedriftens område.
2. Under alle omstændigheder må en bedrift betragtes som mistænkt, hvis der på bedriften er mistanke om klassisk svinepest som følge af kliniske eller patologiske fund, og hvis det ikke ved kliniske og epidemiologiske undersøgelser samt laboratorieundersøgelser har været muligt at bekræfte denne sygdom eller identificere andre sygdomskilder eller -agenser på den pågældende bedrift.

Kapitel IV

Kontrol- og prøvetagningsprocedurer

A. RETNINGSLINJER OG PROCEDURER FOR KLINISK UNDERSØGELSE OG PRØVETAGNING AF SVIN PÅ MISTÆNKTE BEDRIFTER

1. Medlemsstaterne sørger for, at der gennemføres passende kliniske undersøgelser, prøvetagning og laboratorieundersøgelser, når det gælder mistænkte bedrifter, for at bekræfte eller udelukke afrikansk svinepest i overensstemmelse med retningslinjerne og procedurene i henhold til punkt 2 til 6.

Uanset gennemførelsen af foranstaltningerne i henhold til artikel 4, stk. 2, i direktiv 2002/60/EF på den pågældende bedrift gælder disse retningslinjer og procedurer også ved sygdomstilfælde, der undersøges for afrikansk svinepest som led i differentialdiagnosticeringen, herunder tilfælde, hvor de kliniske tegn og det epidemiologiske mønster, der observeres hos svinene, tyder på, at sandsynligheden for forekomst af afrikansk svinepest er meget ringe.

I alle andre tilfælde, hvor et eller flere svin mistænkes for at være inficeret med afrikansk svinepestvirus, anvendes foranstaltningerne i henhold til artikel 4, stk. 2, i direktiv 2002/60/EF på den pågældende mistænkte bedrift.

Ved mistanke om afrikansk svinepest hos svin på et slagteri eller i et transportmiddel finder retningslinjerne og procedurene i henhold til punkt 2 og 6 tilsvarende anvendelse.

2. Når en embedsdyrlæge besøger en mistænkt bedrift for at bekræfte eller udelukke afrikansk svinepest:
- skal der foretages en kontrol af bedriftens registre over produktion og sundhedstilstand, hvis sådanne registre foreligger; og der skal foretages en inspektion i hver enkelt underenhed på bedriften for at udvælge de svin, der skal undersøges klinisk.

Den kliniske undersøgelse skal i alle tilfælde omfatte måling af kropstemperaturen og vedrører hovedsagelig følgende svin eller grupper af svin:

- syge eller anoreksiske svin
- svin, der for nylig er indsat fra bekræftede udbrud eller fra andre mistænkte kilder
- svin, der holdes i underenheder, hvor der for nylig er kommet personer udefra, som inden for den seneste tid har været i nær kontakt med svin, der mistænkes for at være eller er inficeret med afrikansk svinepest, eller personer udefra, hvorom det er blevet fastslået, at de har haft anden særligt risikabel kontakt med en potentiel kilde til afrikansk svinepestvirus
- svin, som allerede har undergået prøvetagning og serologiske undersøgelser for afrikansk svinepest, hvis resultaterne af disse test ikke gør det muligt at udelukke afrikansk svinepest, og kontaktsvin
- svin, der for nylig er kommet sig efter en sygdom.

Hvis der ved inspektionen på den mistænkte bedrift ikke konstateres svin eller grupper af svin som omhandlet i ovennævnte afsnit, skal myndighederne, uden at dette berører andre foranstaltninger, som eventuelt anvendes på bedriften i henhold til direktiv 2002/60/EF, og under hensyntagen til den epidemiologiske situation:

- gennemføre yderligere undersøgelser på bedriften i henhold til punkt 3, eller
 - sørge for, at der tages blodprøver fra svinene på den pågældende bedrift til laboratorieundersøgelse; i dette tilfælde fungerer prøvetagningsprocedurerne i punkt 5 og i afsnit F, punkt 2, som en rettesnor, eller
 - indføre eller opretholde de foranstaltninger, der er fastsat i artikel 4, stk. 2, i direktiv 2002/60/EF, i afventning af yderligere undersøgelser på den pågældende bedrift, eller
 - udelukke mistanken om afrikansk svinepest.
3. Når der henvises til dette punkt, skal den kliniske undersøgelse på den pågældende bedrift foretages på tilfældigt udvalgte svin i de underenheder, hvor der er identificeret eller er mistanke om en risiko for introduktion af afrikansk svinepestvirus.

Der skal mindst undersøges så mange svin, at der med 95 % sikkerhed kan påvises en feberprævalens på 10 % i disse underenheder.

4. Hvis det konstateres, at der er døde eller døende svin på en mistænkt bedrift, skal der foretages en post mortem-undersøgelse, så vidt muligt af mindst fem af disse svin og navnlig svin:
- der udviste meget tydelige tegn på sygdommen, inden de døde
 - der havde høj feber
 - der døde for nylig.

Hvis der ved disse undersøgelser ikke er konstateret læsioner, som tyder på afrikansk svinepest, men det på grund af den epidemiologiske situation findes nødvendigt at foretage yderligere undersøgelser:

- skal der foretages en klinisk undersøgelse i henhold til punkt 3 og tages blodprøver i henhold til punkt 5 i den underenhed, hvor de døde eller døende dyr blev holdt, og
- 3-4 kontaktsvin kan undersøges post mortem, navnlig hvis disse dyr viser kliniske tegn.

Uanset om der forekommer eller ikke forekommer læsioner, som tyder på afrikansk svinepest, skal prøver af organerne eller vævene fra svin, som har undergået post mortem-undersøgelse, indsamles til virologisk undersøgelse i henhold til kapitel V, afsnit B, punkt 1. Disse prøver skal helst indsamles fra nyligt døde svin.

Når der foretages post mortem-undersøgelser, skal myndighederne sørge for:

- at der træffes de nødvendige forholdsregler og hygiejneforanstaltninger for at forhindre, at sygdommen breder sig, og
 - når det gælder døende svin, at de aflives humanitært i henhold til Rådets direktiv 93/119/EØF af 22. december 1993 om beskyttelse af dyr på slagte- eller aflivningstidspunktet⁽¹⁾, ændret ved forordning (EF) nr. 806/2003⁽²⁾.
5. Hvis der på en mistænkt bedrift konstateres yderligere kliniske tegn eller læsioner, som kan tyde på afrikansk svinepest, men myndighederne ikke skønner, at disse fund er tilstrækkelige til at bekræfte et udbrud af afrikansk svinepest, og at laboratorieprøver derfor er nødvendige, skal der tages blodprøver til laboratorieundersøgelse fra de mistænkte svin og fra andre svin i hver af de underenheder, hvor de mistænkte svin holdes, efter de nedenfor fastsatte procedurer:
- a) til de serologiske undersøgelser skal der mindst udtages så mange prøver, at der med 95 % sikkerhed kan påvises en serumprævalens på 10 % i den pågældende underenhed
 - b) antallet af prøver til virologisk undersøgelse bestemmes af myndighederne, som tager hensyn til, hvilke prøver der kan udføres, laboratorieprøvernes følsomhed og den epidemiologiske situation.

⁽¹⁾ EFT L 340 af 31.12.1993, s. 21.

⁽²⁾ EUT L 122 af 16.5.2003, s. 1.

6. Hvis der ved den undersøgelse, som foretages på en mistænkt bedrift, ikke konstateres kliniske tegn eller læsioner, der tyder på afrikansk svinepest, men myndighederne skønner, at yderligere laboratorieprøver er nødvendige for at udelukke afrikansk svinepest, anvendes prøvetagningsprocedurerne i punkt 5 som en rettesnor.

B. PRØVETAGNING PÅ EN BEDRIFT, HVOR SVIN AFLIVES EFTER BEKRÆFTELSE AF SYGDOM

1. For at fastslå, hvordan afrikansk svinepestvirus er kommet ind på en inficeret bedrift, og hvor lang tid der er gået siden virussets introduktion, skal der ved aflivningen af svin efter bekræftelse af et udbrud i henhold til artikel 5, stk. 1, litra a), i direktiv 2002/60/EF tages blodprøver fra tilfældigt udvalgte dyr til serologisk undersøgelse.
2. Der skal mindst tages prøver fra så mange svin, at der med 95 % sikkerhed kan påvises en serumprævalens på 10 % hos svinene i hver underenhed på bedriften ⁽¹⁾.

Der skal også tages prøver til virologisk undersøgelse efter myndighedernes instruktioner, som tager hensyn til, hvilke analyser der kan udføres, laboratorieanalysernes følsomhed og den epidemiologiske situation.

I områder, hvor der tidligere er påvist vektorer inficeret med afrikansk svinepestvirus, skal der også indsamles bløde flåter til virologisk undersøgelse i overensstemmelse med myndighedernes instruktioner og bilag III til direktiv 2002/60/EF.

3. Når der er tale om sekundære udbrud, kan myndighederne dog beslutte at fravige punkt 1 og 2 og fastlægge en anden form for prøvetagning under hensyntagen til de allerede foreliggende epidemiologiske oplysninger om viruskilden, om, hvordan virusset er kommet ind på bedriften, og om den potentielle sygdomsspredning fra bedriften.

C. PRØVETAGNING, NÅR SVIN AFLIVES SOM FOREBYGGENDE FORANSTALTNING PÅ EN MISTÆNKET BEDRIFT

1. For at bekræfte eller udelukke afrikansk svinepest og opnå supplerende epidemiologiske oplysninger skal der, når svin aflives som forebyggende foranstaltning på en mistænkt bedrift i henhold til artikel 4, stk. 3, litra a), eller artikel 7, stk. 2, i direktiv 2002/60/EF, tages blodprøver til serologisk undersøgelse og blodprøver til virologisk undersøgelse efter proceduren i punkt 2.

2. Der skal først og fremmest tages prøver fra:

- svin, som viser tegn eller post mortem-læsioner, der tyder på afrikansk svinepest, og kontaktsvin
- andre svin, der kan have været i kontakt med inficerede eller mistænkte svin, eller som mistænkes for at være blevet kontamineret med afrikansk svinepestvirus. Der skal tages prøver fra disse svin efter myndighedernes instruktioner, som tager hensyn til den epidemiologiske situation.

Desuden skal der tages prøver fra tilfældigt udvalgte svin fra hver enkelt af underenhederne på bedriften ⁽²⁾. I dette tilfælde skal der mindst tages så mange prøver til serologisk undersøgelse, at der med 95 % sikkerhed kan påvises en serumprævalens på 10 % i den pågældende underenhed.

Den type prøver, som skal tages til virologisk undersøgelse, og den test, der skal anvendes, bestemmes af myndighederne, som tager hensyn til, hvilke analyser der kan udføres, analysernes følsomhed og den epidemiologiske situation.

⁽¹⁾ Hvis der er gjort brug af undtagelsen i henhold til artikel 6, stk. 1, i direktiv 2002/60/EF, skal prøverne dog tages i de underenheder på bedriften, hvor svin er blevet aflivet, uden at dette berører de yderligere undersøgelser og den yderligere prøvetagning af de resterende svin på bedriften, som gennemføres i overensstemmelse med myndighedernes instruktioner.

⁽²⁾ Hvis myndighederne har begrænset anvendelsen af forebyggende aflivning til den del af bedriften, hvor de svin, der mistænkes for at være inficeret eller kontamineret med afrikansk svinepestvirus, blev holdt, jf. artikel 4, stk. 3, litra a), i direktiv 2002/60/EF, skal prøverne dog tages i de underenheder på bedriften, hvor denne foranstaltning er blevet anvendt, uden at dette berører de yderligere undersøgelser og den yderligere prøvetagning af de resterende svin på bedriften, som gennemføres i overensstemmelse med myndighedernes instruktioner.

D. KONTROL OG PRØVETAGNING, INDEN DER GIVES TILLADELSE TIL FLYTNING AF SVIN FRA BEDRIFTER I IAGTTAGELSESDISTRIKTER ELLER OVERVÅGNINGSOMRÅDER, OGSÅ MED HENBLIK PÅ SLAGTNING ELLER AFLIVNING (ARTIKEL 10 OG 11 I DIREKTIV 2002/60/EF)

1. Uden at dette berører artikel 11, stk. 1, litra f), andet afsnit, i direktiv 2002/60/EF, skal den kliniske undersøgelse, som skal udføres af en embedsdyrlæge, for at der kan gives tilladelse til flytning af svin fra bedrifter i iagttagelsesdistrikter eller overvågningsområder i henhold til artikel 10, stk. 3, i nævnte direktiv:

— foretages senest 24 timer før svinenes flytning

— foregå i henhold til afsnit A, punkt 2.

2. Når det gælder svin, der skal flyttes til en anden bedrift, skal der ud over undersøgelserne i henhold til punkt 1 foretages en klinisk undersøgelse, der skal omfatte måling af kropstemperaturen på en bestemt andel af svinene, i hver af de underenheder på bedriften, hvor de svin, der skal flyttes, holdes.

Der skal mindst kontrolleres så mange svin, at der med 95 % sikkerhed kan påvises en feberprævalens på 10 % i disse underenheder.

3. Når der er tale om svin, som skal flyttes til et slagteri, en forarbejdningsvirksomhed eller andre steder med henblik på aflivning eller slagtning, skal der ud over undersøgelserne i henhold til punkt 1 foretages en klinisk undersøgelse af svinene i hver af de underenheder, hvor de svin, der skal flyttes, holdes. Hvis svinene er mere end tre-fire måneder gamle, skal denne undersøgelse også omfatte måling af kropstemperaturen på en bestemt andel af svinene.

Der skal mindst kontrolleres så mange svin, at der med 95 % sikkerhed kan påvises en feberprævalens på 20 % i de pågældende underenheder.

4. Når de i punkt 3 nævnte svin slagtes eller aflives, skal der tages blodprøver til serologisk undersøgelse eller blod- eller organprøver, som f.eks. tonsiller, milt eller lymfeknuder, til virologisk undersøgelse fra svinene fra hver enkelt af de underenheder, hvorfra der er flyttet svin.

Der skal mindst tages så mange prøver, at der med 95 % sikkerhed kan påvises en serumprævalens eller virusprævalens på 10 % i hver enkelt underenhed.

Den type prøver, som skal tages, og den test, der skal anvendes, bestemmes af myndighederne, som tager hensyn til, hvilke analyser der kan udføres, analysernes følsomhed og den epidemiologiske situation.

5. Hvis der imidlertid konstateres kliniske tegn eller post mortem-læsioner, som tyder på afrikansk svinepest, når svinene slagtes eller aflives, gælder som undtagelse fra punkt 4 prøvetagningsbestemmelserne i afsnit C.
6. Den undtagelse, der er hjemlet i artikel 10, stk. 5, og artikel 11, stk. 4, i direktiv 2002/60/EF, kan indrømmes, hvis myndighederne sørger for, at der også anvendes en intensiv prøvetagnings- og undersøgelsesordning for de grupper af svin, der skal kontrolleres og undersøges som anført i punkt 2, 3 og 4. Som led i denne ordning skal der mindst tages så mange blodprøver, at der med 95 % sikkerhed kan påvises en serumprævalens på 5 % i den pågældende gruppe svin.

E. KONTROL OG PRØVETAGNING VED GENINDSÆTTELSE AF SVINEBESÆTNINGER

1. Når der genindsættes svin på en bedrift i henhold til artikel 13, stk. 3, i direktiv 2002/60/EF, skal følgende prøvetagningsprocedurer anvendes:

— der må tidligst indsamles blodprøver 45 dage efter, at svinene er genindsat

— ved genindsættelse af kontrolsvin skal der tages blodprøver til serologisk undersøgelse fra et så stort antal tilfældigt udvalgte svin, at der med 95 % sikkerhed kan påvises en serumprævalens på 10 % i hver enkelt underenhed på bedriften

— ved genindsættelse af en hel besætning skal der tages blodprøver til serologisk undersøgelse fra et så stort antal tilfældigt udvalgte svin, at der med 95 % sikkerhed kan påvises en serumprævalens på 20 % i hver enkelt underenhed på bedriften.

2. Når der genindsættes svin på en bedrift i henhold til artikel 13, stk. 4, i direktiv 2002/60/EF, skal følgende prøvetagningsprocedurer anvendes:

- der må tidligst indsamles blodprøver 45 dage efter, at svinene er genindsat
- ved genindsættelse af kontrolsvin skal der tages blodprøver til serologisk undersøgelse fra et så stort antal tilfældigt udvalgte svin, at der med 95 % sikkerhed kan påvises en serumprævalens på 5 % i hver enkelt underenhed på bedriften
- ved genindsættelse af en hel besætning skal der tages blodprøver til serologisk undersøgelse fra et så stort antal tilfældigt udvalgte svin, at der med 95 % sikkerhed kan påvises en serumprævalens på 10 % i hver enkelt underenhed på bedriften.

Derefter må den procedure, der er fastlagt i tredje led ovenfor, tidligst gentages 60 dage efter genindsættelse af en hel besætning.

3. Efter enhver genindsættelse sørger myndighederne for, at der, hvis der forekommer sygdom eller dødsfald på bedriften af ukendte årsager, straks foretages en undersøgelse af de pågældende svin for afrikansk svinepest.

Disse bestemmelser gælder, indtil flytningsrestriktionerne for svin, jf. artikel 13, stk. 3, litra a) og b), og artikel 13, stk. 4, i direktiv 2002/60/EF, ophæves for den pågældende bedrift.

F. PRØVETAGNING PÅ BEDRIFTER I IAGTTAGELSESDISTRIKTET, INDEN RESTRIKTIONERNE OPHÆVES

1. For at foranstaltningerne i henhold til artikel 10 i direktiv 2002/60/EF kan ophæves i et iagttagelsesdistrikt, skal der på alle bedrifter i distriktet:

- foretages en klinisk undersøgelse efter procedurerne i afsnit A, punkt 2 og 3
- tages blodprøver til serologisk undersøgelse i henhold til punkt 2.

2. Der skal mindst tages så mange blodprøver, at der med 95 % sikkerhed kan påvises en serumprævalens på 10 % hos svinene i hver enkelt underenhed på bedriften.

Den undtagelse, der er hjemlet i artikel 10, stk. 5, og artikel 11, stk. 4, i direktiv 2002/60/EF, kan kun indrømmes, hvis myndighederne sørger for, at der tages så mange blodprøver, at der med 95 % sikkerhed kan påvises en serumprævalens på 5 % i hver enkelt underenhed på bedriften.

G. PRØVETAGNING PÅ BEDRIFTER I OVERVÅGNINGSOMRÅDET, INDEN RESTRIKTIONERNE OPHÆVES

1. For at foranstaltningerne i henhold til artikel 11 i direktiv 2002/60/EF kan ophæves i et overvågningsområde, skal der på alle bedrifter i området foretages en klinisk undersøgelse efter procedurerne i afsnit A, punkt 2.

Desuden skal der tages blodprøver til serologisk undersøgelse fra svin:

- på enhver anden bedrift, hvor myndighederne finder prøvetagning nødvendig
- på alle ornestationer.

2. Når der tages blodprøver til serologisk undersøgelse på bedrifter i overvågningsområdet, skal antallet af blodprøver, som tages på disse bedrifter, være i overensstemmelse med afsnit F, punkt 2, første punktum.

Den undtagelse, der er hjemlet i artikel 10, stk. 5, og artikel 11, stk. 4, i direktiv 2002/60/EF, kan kun indrømmes, hvis myndighederne sørger for, at der tages blodprøver til serologisk undersøgelse på alle bedrifter i området. Der skal mindst tages så mange blodprøver, at der med 95 % sikkerhed kan påvises en serumprævalens på 5 % i hver enkelt underenhed på bedriften.

H. SEROLOGISK OVERVÅGNING OG PRØVETAGNING I OMRÅDER, HVOR DER ER MISTANKE OM ELLER ER BEKRÆFTET AFRIKANSK SVINEPEST HOS VILDTLEVENDE SVIN

1. I tilfælde af serologisk overvågning af vildtlevende svin i områder, hvor der er bekræftet eller er mistanke om afrikansk svinepest, bør størrelsen af og det geografiske område for den målpopulation, der skal undersøges, først bestemmes, så det kan fastslås, hvor mange prøver der skal tages. Prøvens størrelse skal fastlægges i forhold til det anslåede antal levende dyr og ikke i forhold til antallet af nedskudte dyr.
2. Hvis der ikke foreligger oplysninger om populationens tæthed og størrelse, skal det geografiske område, hvor prøvetagningen skal finde sted, afgrænses under hensyntagen til den stadige tilstedeværelse af vildtlevende svin og tilstedeværelsen af naturlige eller menneskeskabte hindringer, der effektivt forhindrer omfattende og kontinuerlige vandringer. Når sådanne forhold ikke gør sig gældende, eller når der er tale om store områder, anbefales det at afgrænse prøvetagningsområder på ca. 200 km², hvor der normalt er en population på ca. 400-1 000 vildtlevende svin.
3. Uden at dette berører artikel 15, stk. 2, litra c), i direktiv 2002/60/EF, skal der mindst tages prøver fra så mange svin, at der i det afgrænsede prøvetagningsområde med 95 % sikkerhed kan påvises en serumprævalens på 5 %. Dette indebærer, at der mindst tages prøver fra 56 dyr i hvert enkelt afgrænset område.
4. Indsamling af prøver til virologisk undersøgelse fra vildtlevende svin, der er nedskudt eller fundet døde, skal gennemføres i henhold til kapitel V, afsnit B, punkt 1.

Når virologisk overvågning af nedskudte vildtlevende svin findes nødvendig, skal den først og fremmest gennemføres på dyr, der er under et år gamle.

5. Alle prøver, som sendes til laboratoriet, skal være ledsaget af det spørgeskema, der er nævnt i artikel 16, stk. 3, litra h), i direktiv 2002/60/EF.

Kapitel V

Generelle procedurer og kriterier for indsamling og transport af prøver

A. GENERELLE PROCEDURER OG KRITERIER

1. Inden der gennemføres prøvetagning på en mistænkt bedrift, skal der tegnes et kort over bedriften, og de epidemiologiske underenheder på bedriften skal identificeres.
2. Hver gang en ny prøvetagning af svin findes nødvendig, skal alle svin, der tages prøver fra, mærkes entydigt på en sådan måde, at der nemt kan tages prøver fra dem på ny.
3. Alle prøver skal sendes til laboratoriet ledsaget af de relevante formularer som fastsat af myndighederne. Disse formularer skal indeholde nærmere oplysninger om de af prøvetagningen omfattede svins sygdomshistorie og de observerede kliniske tegn eller post mortem-læsioner.

Når der er tale om svin, som holdes på bedrifter, skal der gives klare oplysninger om de af prøvetagningen omfattede svins alder, kategori og oprindelsesbedrift. Det anbefales, at det sted, hvor hvert svin, der er taget prøver af på bedriften, befinder sig, registreres tillige med dets entydige identifikationsmærke.

B. INDSAMLING AF PRØVER TIL VIROLOGISK UNDERSØGELSE

1. Til påvisning af afrikansk svinepestvirus, -antigen eller -genom fra døde eller aflivede svin er tonsiller, lymfeknuder (gastrohepatiske, renale, submandibulære og retrofaryngeale), milt-, nyre- og lungevæv de mest velegnede prøver⁽¹⁾. Hvis der er tale om autolyserede kroppe, er en hel lang knogle eller sternum det mest velegnede prøvemateriale.
2. Prøver af blod fra svin tilsat antikoaguleringsmiddel og/eller størknet blod indsamles fra svin med tegn på feber eller andre sygdomstegn i henhold til myndighedernes instruktioner.

⁽¹⁾ Det anbefales også at indsamle prøver af ileum, da de kan anvendes til diagnosticering af klassisk svinepest.

C. TRANSPORT AF PRØVER

1. Det kræves, at alle prøver:
 - identificeres korrekt
 - transporteres og opbevares i tætte beholdere
 - holdes kolde ved køleskabstemperatur; men hvis det forventes, at prøverne vil være mere end 48 timer om at nå frem til laboratoriet, bør der tages kontakt til laboratoriet for at få at vide, hvilken temperatur der bør holdes under transporten
 - leveres til laboratoriet hurtigst muligt
 - transporteres i en emballage, hvor der anvendes køleelementer eller tøris til at holde dem kolde
 - anbringes i særskilte, tæt lukkede og behørigt mærkede plastbeholdere, når det gælder væv eller organer; disse plastbeholdere anbringes derpå i større beholdere, der er foret med tilstrækkeligt absorberende materiale til at beskytte dem og absorbere eventuelt udsivende væske
 - så vidt muligt transporteres direkte til laboratoriet af en myndighedsperson, så der sikres hurtig og pålidelig transport.
2. Emballagen skal være mærket med modtagerlaboratoriets adresse, og følgende angivelse skal kunne ses tydeligt:
Patologisk materiale fra dyr, fordærveligt, skrøbeligt — Må kun åbnes i et laboratorium for afrikansk svinepest.
3. Den ansvarlige person i modtagerlaboratoriet skal underrettes om prøvernes ankomst i rimelig tid forinden.
4. Hvis prøver transporteres til EF-referencelaboratoriet for afrikansk svinepest ⁽¹⁾ ad luftvejen, skal emballagen mærkes i henhold til IATA-reglerne.

Kapitel VI

Principper for og anvendelse af virologiske undersøgelser og evaluering af resultaterne

A. PÅVISNING AF VIRUSANTIGEN

1. Direkte immunofluorescens-test (DIFT)

Testprincippet er mikroskopisk påvisning af virusantigen på udstrygninger eller tynde snit af frosset organmateriale fra svin, der mistænkes for at være inficeret med afrikansk svinepestvirus. Intracellulære antigener påvises ved hjælp af FIT ⁽²⁾-konjugerede specifikke antistoffer. I inficerede cellers cytoplasma ses fluorescerende inklusionslegemer eller granula.

Egnede organer er nyrer, milt og forskellige lymfeknuder. Når det gælder vildtlevende svin, kan en udstrygning af knoglemarvsceller også anvendes, hvis deres organer ikke kan fremskaffes eller er autolyserede.

Testen kan udføres på to timer. Da organprøver kun fås fra døde dyr, er den kun af begrænset værdi ved screening.

Denne test er yderst følsom for akut afrikansk svinepest. Når det gælder subakutte eller kroniske former, giver DIFT kun en følsomhed på ca. 40 %, formodentlig fordi der dannes antigen-antistof-komplekser, som blokerer reaktionen med det afrikansk svinepestkonjugerede antistof. Tilliden til testresultaterne kan være begrænset på grund af tvivlsom farvning, navnlig når der ikke er gjort nogen større erfaring med udførelse af testen, eller når de testede organer er autolyserede.

2. ELISA til antigenpåvisning

Virusantigen kan også påvises ved hjælp af ELISA-metoder, men det anbefales kun for de akutte former af sygdommen, fordi følsomheden er lav, når der findes antigen-antistof-komplekser. Antigen-ELISA'ens følsomhed bør være stor nok til at give et positivt resultat for dyr med kliniske tegn på akut afrikansk svinepest. Under alle omstændigheder anbefales det kun at benytte denne test til at undersøge hele besætninger, og da kombineret med andre virologiske test.

⁽¹⁾ EF-referencelaboratoriet har uindskrænket tilladelse til at modtage diagnostiske prøver og isolater af afrikansk svinepestvirus fra enhver anden medlemsstat. Hvis prøven kommer fra et land uden for EU, kan der fra dette laboratorium inden transporten rekvireres en kopi af importtilladelsen, som lægges i en konvolut, der anbringes udvendigt på emballagen.

⁽²⁾ Fluoresceinisothiocyanat.

B. VIRUSISOLATION OG -IDENTIFIKATION VED HJÆLP AF HÆMADSORPTIONSTEST (HAD)

1. Virusisolation er baseret på podning af prøvemateriale på modtagelige primære svinecellekulturer, monocytter og makrofager. De mest velegnede prøver til isolation af afrikansk svinepestvirus er fuldblod og leukocytter fra ikke-koagulerede blodprøver eller de i afsnit A, punkt 1, nævnte organer. Hvis der er afrikansk svinepestvirus i prøven, formerer det sig i cellerne og giver en karakteristisk cytopatisk effekt i de inficerede celler.
2. Hæmadsorptionsmetoden anbefales til identifikation af isolater af afrikansk svinepestvirus, fordi den er yderst følsom og specifik. HAD er baseret på afrikansk svinepestvirus' evne til at formere sig i svinemakrofager og fremkalde hæmadsorption, når der også er svineerythrocytter til stede. Der udvikler sig en karakteristisk »rosset« af erythrocytter rundt om de inficerede makrofager. Dog fremkalder et lille antal vilde stammer af afrikansk svinepestvirus ikke nødvendigvis hæmadsorption, men giver en cytopatisk effekt. Disse stammer kan identificeres via DIFT på cellekultursedimenter eller via PCR (polymerasekædereaktion).
3. Virusisolation er bedre egnet til undersøgelse af prøver fra et mindre antal dyr end til omfattende overvågning. Virusisolation er arbejdskrævende og varer en til tre dage, inden der foreligger resultater. To yderligere passager på cellekultur kan være nødvendige, for at der kan påvises en lille mængde virus i prøven. Dette kan resultere i en undersøgelsestid på op til 10 dage, før et endeligt resultat opnås. Autolyserede prøver kan være cytotoxiske for cellekulturen og dermed mindre anvendelige.
4. Virusisolation og -identifikation ved hjælp af HAD anbefales som referencetest til bekræftelse af positive resultater af en tidligere ELISA, PCR eller DIFT. Denne fremgangsmåde anbefales også, når det allerede ved andre metoder er bekræftet, at der er udbrudt afrikansk svinepest, specielt hvis der er tale om et primærudbrud eller et primært tilfælde.

Afrikansk svinepestvirus, der er isoleret i svinemakrofager, kan anvendes til viruskarakterisering og molekylær epidemiologi.

5. Alle isolater af afrikansk svinepestvirus fra alle primærudbrud, primært tilfælde hos vildtlevende svin eller tilfælde i slagterier eller transportmidler skal karakteriseres af et nationalt referencelaboratorium i medlemsstaten eller af ethvert andet laboratorium, som den pågældende medlemsstat har godkendt, eller af EF-referencelaboratoriet i henhold til afsnit E.

Under alle omstændigheder skal disse virusisolater hurtigst muligt sendes til EF-referencelaboratoriet, så de kan indgå i virussamlingen.

C. PÅVISNING AF VIRUSGENOM

1. Polymerasekædereaktionen (PCR) anvendes til påvisning af virusgenom i blod-, serum-, vævs- eller organprøver. Små fragmenter virus-DNA forstærkes ved PCR til påviselige mængder. En lang række isolater fra alle kendte virusgenotyper, inklusive både ikke-hæmadsorberende virus og lavvirulente isolater, kan påvises ved hjælp af primere fra en velbevaret del af genomet. Da denne test kun påviser en virusgenomsekvens, kan PCR være positiv, selv om der ikke er påvist noget infektiøst virus ved virusisolation (f.eks. i autolyserede væv eller prøver fra svin, som er i bedring, eller fra svin, som er kommet sig helt efter sygdommen).
2. PCR egner sig til undersøgelse af et begrænset antal omhyggeligt udvalgte prøver fra mistænkte dyr. Det er den anbefalede metode til organprøver, som er cytotoxiske, og hvor det derfor ikke er muligt at isolere virusset (f.eks. prøver fra vildtlevende svin).
3. Egnede prøvemateriale til PCR er de samme organer som organerne til virusisolation og serum. Flåt-homogenater kan også analyseres ved hjælp af PCR.
4. PCR kan udføres på en arbejdsdag. Den kræver det relevante laboratorieudstyr, særskilte faciliteter og erfarent personale. Det er en fordel, at infektiøs virus ikke skal opformeres på laboratoriet. PCR er yderst følsom, men der kan nemt forekomme kontamination, som fører til falsk-positive resultater. Derfor er streng kvalitetskontrol ubetinget nødvendig.

D. ANBEFALEDE VIROLOGISKE PRØVER OG EVALUERING AF RESULTATERNE

Virologiske prøver er ubetinget nødvendige til bekræftelse af afrikansk svinepest.

Virusisolation og HAD må betragtes som de virologiske referenceprøver og skal anvendes som bekræftende prøver, når det er nødvendigt. De anbefales navnlig i tilfælde, hvor positive DIF- eller PCR-resultater ikke er forbundet med påvisning af kliniske tegn eller læsioner, og i alle andre tvivlsomme tilfælde.

Et primærudbrud af afrikansk svinepest kan dog bekræftes, hvis der er påvist kliniske tegn eller læsioner hos de pågældende svin, og hvis prøver fra de samme mistænkte svin i mindst to forskellige test til påvisning af antigen, genom eller antistof har givet et positivt resultat.

Et sekundærudbrud af afrikansk svinepest kan bekræftes, hvis der ud over den epidemiologiske forbindelse med et bekræftet udbrud eller tilfælde er påvist kliniske tegn eller læsioner hos de pågældende svin, og hvis en test til påvisning af antigen, genom eller antistof har givet et positivt resultat.

Et primært tilfælde af afrikansk svinepest hos vildtlevende svin kan bekræftes ved virusisolation, eller hvis mindst to test til påvisning af antigen, genom eller antistof har givet et positivt resultat. Yderligere tilfælde af afrikansk svinepest hos vildtlevende svin, hvor der er konstateret en epidemiologisk forbindelse med tidligere bekræftede tilfælde, kan bekræftes, hvis en test til påvisning af antigen, genom eller antistof har givet et positivt resultat.

E. GENETISK KARAKTERISERING AF ISOLATER AF AFRIKANSK SVINEPESTVIRUS

1. Genetisk karakterisering af isolater af afrikansk svinepestvirus opnås ved at bestemme sekvenser af restriktionsenzymer og nukleotidsekvenser af dele af virusgenomet. Overensstemmelsesgraden mellem disse sekvenser og dem, der allerede er opnået fra tidligere virusisolater, kan indicere, hvorvidt sygdomsudbrud er forårsaget af virus med en europæisk eller afrikansk molekylærstruktur.

Genetisk karakterisering af isolater af afrikansk svinepestvirus er af afgørende betydning for at få større viden om virusets molekylære epidemiologi og de genetiske virusvarianter. Oplysningerne om molekylærstrukturen gør det muligt at klassificere nye isolater og giver information om, hvor de kan tænkes at stamme fra.

2. Hvis der ikke kan udføres molekylær karakterisering af virus på et nationalt laboratorium eller på et andet laboratorium, der er godkendt til at diagnosticere afrikansk svinepest, på kort tid, skal den oprindelige prøve eller virusisolatet snarest muligt sendes til EF-referencelaboratoriet til molekylær karakterisering.

De data fra restriktionszymanalysen og sekvenseringen af isolater af afrikansk svinepestvirus, som de laboratorier, der er godkendt til at diagnosticere afrikansk svinepest, ligger inde med, skal sendes til EF-referencelaboratoriet til indlæsning i dette laboratoriums database.

Oplysningerne i denne database skal være til rådighed for alle nationale referencelaboratorier i medlemsstaterne. Hvis det er hensigten, at oplysningerne skal offentliggøres i videnskabelige tidsskrifter, skal EF-referencelaboratoriet dog efter anmodning herom fra det pågældende laboratorium garantere, at de behandles fortroligt, indtil de er offentliggjort.

Kapitel VII

Principper for og anvendelse af serologiske undersøgelser og evaluering af resultaterne

A. GRUNDPRINCIPPER OG DIAGNOSTISK VÆRDI

1. Det anbefales at anvende en specifik test til påvisning af antistoffer mod afrikansk svinepest ved subakutte og kroniske former, ligesom i større undersøgelser og i udryddelsesprogrammer for afrikansk svinepest, og det af flere grunde:
 - i) der produceres hurtigt antistoffer i de inficerede svin; hos disse svin kan antistofferne som regel påvises i serumprøver syv til ti dage efter infektionen
 - ii) der findes ingen vacciner mod afrikansk svinepest; det betyder, at specifikke antistoffer kun dannes efter en infektion med afrikansk svinepestvirus, og
 - iii) antistofferne kan påvises i lang tid efter infektionen: hos svin, som er kommet sig efter sygdommen, kan der i mange måneder efter påvises talrige specifikke antistoffer, og hos en del af disse svin endog i hele deres levetid.

Hos smågrise kan der i de første ti uger af deres levetid påvises specifikke maternelle antistoffer mod afrikansk svinepestvirus. Halveringstiden for maternelle antistoffer i smågrise er ca. tre uger. Hvis der konstateres antistoffer mod afrikansk svinepest i smågrise på over tre måneder, stammer de næppe fra moderdyret.

2. Påvisningen af antistoffer mod afrikansk svinepestvirus i vævssaft fra indleverede organer tjener til at støtte diagnosen afrikansk svinepest på mistænkte bedrifter, til i tilfælde af et bekræftet udbrud at anslå, hvornår infektionen er blevet introduceret, og til sygdomsovervågning.

Lokalisering af seropositive svin på bedriften kan give nyttige oplysninger om, hvordan og hvor afrikansk svinepestvirus er kommet ind på bedriften.

Der må dog foretages en nøjagtig evaluering af resultaterne af de serologiske prøver under hensyntagen til alle de kliniske, virologiske og epidemiologiske fund som led i den undersøgelse, der skal gennemføres ved mistanke om eller bekræftelse af afrikansk svinepest i henhold til artikel 8 i direktiv 2002/60/EF.

B. ANBEFALEDE SEROLOGISKE PRØVER

1. ELISA-testen, den indirekte immunofluorescenstest (IIFT) og immunoblottingstesten er de foretrukne analysemetoder til serologisk bekræftelse af afrikansk svinepest.

Kvaliteten og sensitiviteten af den serologiske diagnose, der stilles på de nationale laboratorier, må regelmæssigt kontrolleres som led i den sammenlignende undersøgelse, som EF-referencelaboratoriet med mellemrum tilrettelægger for laboratorierne.

2. ELISA-testen er den mest pålidelige og nyttige test ved omfattende serologiske undersøgelser. Den går ud på at påvise antistoffer mod afrikansk svinepestvirus bundet til virusprotein, som er hæftet til en fast fase, ved at der tilsættes A-protein konjugeret med et enzym, som fremkalder en synlig farvareaktion, når det reagerer med det rigtige substrat.
3. De nationale laboratorier skal med regelmæssige mellemrum foretage kvalitetskontrol af følsomheden og specificiteten af hver batch af ELISA-reagenser ved hjælp af det sæt referencesera, som EF-referencelaboratoriet leverer. Dette sæt skal omfatte:

- sera fra svin i den tidlige fase af infektion med afrikansk svinepestvirus (mindre end 17 dage efter infektion)
- sera fra svin, der er ved at komme sig (mere end 17 dage efter infektion).

Den ELISA-test, der skal anvendes til den serologiske diagnosticering af afrikansk svinepest, skal kunne påvise alle referencesera fra de svin, som er ved at komme sig. Alle resultater, der opnås med referenceseraene, skal være reproducerbare. Desuden bør alle positive sera fra den tidlige fase også påvises. De resultater, der opnås med referenceseraene fra svin i den tidlige infektionsfase, er en indikation af ELISA-testens følsomhed.

4. IIFT er en hurtig metode med stor følsomhed og specificitet, når det gælder påvisning af antistoffer mod afrikansk svinepest fra enten sera eller vævsekssudater. Den går ud på at påvise antistoffer mod afrikansk svinepest, som er bundet til et monolayer af MS-celler, der er inficeret med et tilpasset afrikansk svinepestvirus. Antigen-antistofreaktionen påvises ved hjælp af et mærket fluorescerende A-protein. Positive prøver viser specifik fluorescens nær ved de inficerede cellers kerne.

En kombineret anvendelse af DIFT og IIFT til at undersøge organer, blod og eksudater fra dyr med kliniske tegn på afrikansk svinepest giver mulighed for en hurtig og pålidelig bekræftelse af sygdommen.

5. Immunoblottingstesten er en yderst specifik og følsom metode, der går ud på at anvende nitrocellulose strips, der indeholder virusproteiner som antigen. Den specifikke antigen-antistofreaktion påvises ved at tilsætte et A-protein-peroxidasekonjugat og et passende substrat. Metoden er meget velegnet til at undersøge sera, som ikke har givet noget sikkert resultat med ELISA-testen.

Kapitel VIII

Minimumskrav til sikkerheden på laboratorier for afrikansk svinepest

1. Kravene i tabel 1 skal være opfyldt på alle laboratorier, hvor afrikansk svinepestvirus skal forstærkes ved dyrkning i cellekulturer. Post mortem-undersøgelser, behandling af væv til DIFT eller PCR og serologi med anvendelse af inaktiveret antigen kan dog foregå på et lavere indeslutningsniveau, forudsat at minimumskravene i tabel 1 er opfyldt, og at der er garanteret grundlæggende hygiejne og desinfektion efter gennemført arbejde samt sikker bortskaffelse af kroppe, væv og sera.

2. Kravene i tabel 2 skal være opfyldt af alle laboratorier, hvor afrikansk svinepestvirus podes på dyr.
3. Alle lagre af afrikansk svinepestvirus skal opbevares sikkert, enten i frossen eller frysetørret form. Hver enkelt ampul skal være tydeligt mærket, og der skal føres detaljerede registre over viruslagrene med angivelse af datoer for og resultater af kvalitetskontroller. Der skal også føres registre over tilgangen af virus til lageret med udførlige oplysninger om kilden og over virus, som afgives til andre laboratorier.
4. Det anbefales, at der til sikkerhedsområdet, hvor der arbejdes med afrikansk svinepestvirus, knyttes områder, hvor der ikke håndteres afrikansk svinepestvirus. Disse andre områder bør være til rådighed til klargøring af glas og fremstilling af substrater, vedligeholdelse og tilberedning af ikke-inficerede cellekulturer, behandling af sera og serologiske undersøgelser (uden brug af levende afrikansk svinepestvirus) og administrativ støtte.

Tabel 1

Principper for biologisk indeslutning, som er relevante for diagnostiske laboratorier

	Minimumskrav	Supplerende krav
Arbejds miljøet i almindelighed	Normalt atmosfæretryk. Rum, der udelukkende benyttes til bestemte procedurer.	Normalt atmosfæretryk, HEPA-filtrering af afgangsluften. Rum, der udelukkende benyttes til diagnosticering af klassisk eller afrikansk svinepest. Alt spildevand, som kan være kontamineret, skal behandles for at inaktivere afrikansk svinepestvirus (varme eller ad kemisk vej).
Laboratoriebeklædning	Særlig yderbeklædning, som kun benyttes i enheden for afrikansk svinepestvirus. Engangshandsker til al håndtering af inficeret materiale. Yderbeklædningen steriliseres, inden den fjernes fra enheden, eller vaskes ved høj temperatur i enheden.	Fuldstændig omklædning ved ankomst. Laboratoriebeklædning, som kun benyttes i enheden for afrikansk svinepestvirus. Engangshandsker til al håndtering af inficeret materiale. Beklædningen steriliseres, inden den fjernes fra enheden, eller vaskes ved høj temperatur i enheden.
Kontrol af personale	Kun adgang til enheden for uddannet personale, hvis navne på forhånd er oplyst. Hænderne vaskes og desinficeres, inden enheden forlades. Personalet må ikke komme på steder, hvor der er svin, i 48 timer efter at have forladt enheden.	Kun adgang til enheden for uddannet personale, hvis navne på forhånd er oplyst. Hænderne vaskes og desinficeres, inden enheden forlades. Personalet må ikke komme på steder, hvor der er svin, i 48 timer efter at have forladt enheden.
Udstyr	Biologisk sikkerhedskabinet (klasse I eller II) til al håndtering af levende virus. Kabinettet bør have dobbelt HEPA-filtrering af afgangsluften. Alt udstyr til laboratoriearbejdet skal forefindes i den pågældende laboratorieafdeling.	

Tabel 2

Krav til biologisk sikkerhed gældende for forsøgslokaler

	Krav
Arbejds miljøet i almindelighed	Kontrolleret undertrykventilation. HEPA-filtrering af afgangsluften. Udstyr til fuldstændig dekontaminering eller rygning ved forsøgets afslutning. Alt fast eller flydende affald skal behandles for at inaktivere afrikansk svinepestvirus (varme/forbrænding eller ad kemisk vej).

	Krav
Laboratoriebeklædning	Fuldstændig omklædning ved ankomst. Beklædningen steriliseres, inden den fjernes fra enheden, eller vaskes ved høj temperatur i enheden.
Kontrol af personale	Kun adgang til enheden for uddannet personale, hvis navne på forhånd er oplyst. Beklædningen efterlades indenfor før brusebadet. Brusebad, når enheden forlades. Personalet må ikke komme på steder, hvor der er svin, i 48 timer efter at have forladt enheden.
Udstyr	Alt udstyr, der kræves til laboratoriearbejdet, skal forefindes i enheden. Alle materialer skal steriliseres, når de fjernes fra enheden, eller skal, når det gælder prøver fra dyr, anbringes i to tætte beholdere — en inder- og en yderbeholder — med desinficeret overflade med henblik på transport til laboratoriet for afrikansk svinepest.
Dyr	Alle dyr skal slagtes, inden de fjernes fra enheden, post mortem-undersøgelserne skal udføres inden for sikkerhedsområdet, og kroppene skal forbrændes ved undersøgelsernes afslutning.