

32003D0422

11.6.2003

ÚŘEDNÍ VĚSTNÍK EVROPSKÉ UNIE

L 143/35

ROZHODNUTÍ KOMISE**ze dne 26. května 2003,****kterým se schvaluje diagnostická příručka pro africký mor prasat***(oznámeno pod číslem K(2003) 1696)***(Text s významem pro EHP)****(2003/422/ES)**

KOMISE EVROPSKÝCH SPOLEČENSTVÍ,

s ohledem na Smlouvu o založení Evropského společenství,

s ohledem na směrnici Rady 2002/60/ES ze dne 27. června 2002, kterou se stanoví zvláštní ustanovení pro tlumení afrického moru prasat a kterou se mění směrnice 92/119/EHS, pokud jde o těšinskou chorobu prasat a africký mor prasat ⁽¹⁾, a zejména na čl. 18 odst. 3 uvedené směrnice,

vzhledem k těmto důvodům:

- (1) Podle směrnice 2002/60/ES je nutné stanovit jednotné diagnostické postupy, metody odběru vzorků a vyhodnocovací kritéria výsledků laboratorních testů k potvrzení výskytu afrického moru prasat.
- (2) Podle uvedené směrnice má referenční laboratoř Společenství pro africký mor prasat po konzultaci s Komisí koordinovat metody používané v členských státech k diagnostikování choroby, mimo jiné organizováním pravidelných porovnávacích testů a dodáváním standardních reagentů na úrovni Společenství.
- (3) Virus afrického moru prasat se nepovažuje za nebezpečný pro lidské zdraví.
- (4) Byly vyvinuty laboratorní testy umožňující rychlé potvrzení afrického moru prasat.
- (5) Zkušenosti získané v oblasti tlumení afrického moru prasat v posledních letech vyústily v identifikaci nejvhodnějších postupů odběru vzorků a vyhodnocovacích kritérií výsledků laboratorních testů pro správnou diagnózu této choroby v různých situacích.
- (6) Proto je vhodné schválit příručku, která stanoví tyto postupy a kritéria.
- (7) Národní diagnostické laboratoře by měly být oprávněny pozměnit schválené laboratorní testy nebo použít odlišné testy za předpokladu, že lze prokázat stejnou citlivost a specifčnost.
- (8) Opatření tohoto rozhodnutí jsou v souladu se stanoviskem Stálého výboru pro potravinový řetězec a zdraví zvířat,

PŘIJALA TOTO ROZHODNUTÍ:

Článek 1

1. Schvaluje se diagnostická příručka pro africký mor prasat uvedená v příloze.

2. Členské státy zajistí, aby se potvrzování afrického moru prasat provádělo postupy, metodami odběru vzorků a vyhodnocovacími kritérii výsledků laboratorních testů, které jsou stanoveny v příručce, a bylo založeno na

- a) zjištění klinických příznaků a postmortálních lézí charakteristických pro tuto chorobu;
- b) zjištění přítomnosti viru, antigenu nebo genomu ve vzorcích tkání, orgánů, krve nebo výměšků prasete;
- c) demonstraci specifické reakce protilátky ve vzorcích krve.

3. Odchylně od odstavce 2 mohou národní diagnostické laboratoře stanovené v příloze IV směrnice 2002/60/ES pozměnit laboratorní testy uvedené v této příručce nebo použít odlišné testy, pokud lze prokázat jejich stejnou citlivost a specifčnost.

Pokud se používají pozměněné nebo odlišné testy, jejich citlivost a specifčnost se musí hodnotit v rámci pravidelných porovnávacích testů organizovaných referenční laboratoří Společenství pro africký mor prasat.

Článek 2

Toto rozhodnutí se použije ode dne 1. července 2003.

Článek 3

Toto rozhodnutí je určeno členským státům.

V Bruselu dne 26. května 2003.

Za Komisi

David BYRNE

člen Komise

⁽¹⁾ Úř. věst. L 192, 20.7.2002, s. 27.

PŘÍLOHA

DIAGNOSTICKÁ PŘÍRUČKA PRO AFRICKÝ MOR PRASAT

Kapitola I

Úvod, cíle a definice

1. S cílem zajistit jednotné postupy diagnostikování afrického moru prasat (dále jen „AMP“) tato příručka:
 - a) stanoví pokyny a základní požadavky na diagnostické postupy, metody odběru vzorků a vyhodnocovací kritéria výsledků klinických a postmortálních vyšetření a laboratorních testů pro správnou diagnostiku AMP⁽¹⁾;
 - b) stanoví minimální požadavky na biologickou bezpečnost a normy jakosti, které mají být dodržovány v diagnostických laboratořích pro AMP a během přepravy vzorků;
 - c) stanoví laboratorní testy používané k diagnostice AMP a laboratorní postupy pro genetické typování izolátů viru AMP.
2. Tato příručka je určena hlavně pro orgány odpovědné za tlumení AMP. Důraz je proto kladen na zásady a používání laboratorních testů a vyhodnocování jejich výsledků spíše než na podrobné laboratorní techniky.
3. Pro účely této příručky se kromě definic uvedených v článku 2 směrnice 2002/60/ES použijí tyto definice:
 - a) „podezřelým hospodářstvím“ se rozumí prasečinec, ve kterém se nachází jedno nebo více prasat podezřelých z infekce virem AMP nebo kontaktní hospodářství ve smyslu čl. 2 písm. k) směrnice 2002/60/ES;
 - b) „epizootologickou podjednotkou“ nebo „podjednotkou“ se rozumí budova, místo nebo půda, poblíž kterých jsou skupiny prasat v hospodářství drženy tak, že často přicházejí do vzájemného přímého nebo nepřímého kontaktu, ale současně jsou drženy odděleně od ostatních prasat tohoto hospodářství;
 - c) „prasaty, která jsou v kontaktu“ se rozumí prasata, která během uplynulých 21 dní žila v hospodářství v přímém kontaktu s jedním nebo více prasaty podezřelými z infekce virem AMP.

Kapitola II

Popis AMP s důrazem na diferenční diagnózu

A. ÚVOD

1. AMP způsobuje zapouzdřený virus DNA, který patří do rodu *Asfivirus* čeledi *Asfarviridae*. Kmeny viru AMP mají odlišnou virulenci, i když odlišné sérotypy nelze identifikovat.
2. Virus AMP je velmi stabilní v exkretech infikovaných prasat, v mrtvých tělech, v čerstvém vepřovém mase a v některých produktech z vepřového masa. Pro jeho zničení v okolním prostředí je nutné použít vhodné dezinfekční prostředky.
3. Hlavní přirozenou cestou infekce prasat v Evropě je cesta oronazální prostřednictvím přímého nebo nepřímého kontaktu s infikovanými prasaty nebo krmení krmivem kontaminovaným virem. V oblastech s výskytem vektorů⁽²⁾ však při přetrvávání a šíření viru hraje velmi významnou úlohu přenos prostřednictvím těchto vektorů. AMP se může šířit také nepřímým kontaktem s kontaminovanými materiály a kousavým hmyzem, který mechanicky přenáší virus AMP. K přenosu choroby může dojít také prostřednictvím spermatu infikovaných kanců.
4. Inkubační doba je u jednotlivých zvířat asi 15 dní, ale v polních podmínkách mohou klinické příznaky v hospodářství začít být zřejmé až několik týdnů po zavlečení viru, v případě zeslabených kmenů dokonce i později.

⁽¹⁾ Při stanovení počtu vzorků, které se mají odebrat pro laboratorní testy, je třeba také zohlednit citlivost testu. Není-li citlivost použitého testu příliš vysoká, vzorky se odeberou od většího počtu zvířat, než je uvedeno v této příručce.

⁽²⁾ Definovány v čl. 2 písm. r) směrnice 2002/60/ES.

5. Vyskytují se akutní, subakutní a chronické formy AMP, které se liší především virulencí viru.
6. U prasat, která se po infekci klinicky zotavila, přetrvává virémie 40 až 60 dní a tato prasata se stávají nositeli viru. Virus AMP byl z prasat, která jsou nositeli viru, izolován až šest měsíců po infekci.

B. AKUTNÍ FORMA

1. Prvním klinickým příznakem choroby je obvykle vysoká horečka (vyšší než 40 °C), která je provázena ochablostí, ztrátou chuti k jídlu, rychlým a ztíženým dýcháním a výtokem z nosu a očí. Prasata se pohybují nekoordinovaně a tlačí se k sobě. Prasnice mohou potratit v jakémkoli stupni březosti. Některá prasata se mohou dávit a mít zácpu, jiná mohou mít krvavý průjem. Objevují se překrvené nebo krvácející podkožní partie, zejména na končetinách a uších. Před smrtí, která nastává jeden až sedm dní po vzniku klinických příznaků, může dojít ke komatu. Poměr nemocnosti a úmrtnosti v hospodářství může být 100 %.

Postmortální nálezy indikují typický hemoragický syndrom s celkovým překrvením mrtvého těla, krvavou tekutinou v hrudní a břišní dutině, zvětšenou černou slezinu, hemoragické mizní uzliny, zejména ledvinové a jaterní, připomínající trombus, petechiální krvácení v ledvinách (korových a dřevových pyramidách a ledvinné pánvičce), břišní seróze, žaludeční a střevní sliznici a srdci (epikardu a endokardu), hydrotorax a petechiální krvácení pohlavního orgánu.

2. Akutní forma klasického moru prasat má obecně velmi podobný klinický a patologický obraz jako africký mor prasat. Případný výskyt krvácení na kůži a uších lze poměrně snadno odhalit a dojít tím k podezření na akutní formu klasického nebo afrického moru prasat. Podobné léze způsobuje jen málo jiných chorob.

O akutní formě afrického moru prasat je třeba uvažovat také v případech podezření na ržku, respiračního a reprodukčního syndromu prasat, otravy kumarinem, tečkovitého krvácení pod kůží, syndromu soustavného chřadnutí po odstavení, dermatitidy prasat a syndromu nefropatie, infekce salmonelou nebo pasteurelou nebo jakýchkoli enterických či respiračních syndromů s horečkou, které nereagují na léčbu antibiotiky.

C. SUBAKUTNÍ FORMY

Subakutní formy choroby jsou běžnější v epizootických oblastech. Subakutní infekce je charakteristická kolísající horečkou, ochablostí a zápallem plic. Může dojít k úmrtí v důsledku srdečního selhání. Léze při subakutní formě jsou podobné lézím při formě akutní, jsou pouze mírnější. Typickými lézemi jsou rozsáhlá krvácení v mizních uzlinách, ledvinách a slezině, překrvení a otok plic a v některých případech intersticiální zápal plic.

D. CHRONICKÉ FORMY

Chronické formy choroby jsou vzácné. Při chronických formách lze pozorovat sekundární bakteriální infekce. Jelikož klinické příznaky chronické formy AMP jsou poměrně nespecifické, pro stanovení diagnózy je nutné uvažovat mnoho jiných chorob. Každé zvíře nemusí mít nutně zvýšenou teplotu, ale v zamořeném hospodářství lze horečku zjistit přinejmenším u některých prasat.

Mezi klinické příznaky chronického AMP lze zahrnout problémy s dýcháním, potraty, artritidu, chronické kožní vředy nebo nekrózu, které nepřipomínají typický klinický obraz infekce virem AMP. Léze mohou být nepatrné nebo žádné. Pro histopatologické nálezy jsou typické zvětšené mizní uzliny a slezina, zánět pohlavního orgánu, fibrinózní zánět osrdečníku a prostupující intersticiální zánět plic. Také byla popsána kaseózní nekróza a mineralizace plíce.

Kapitola III

Pokyny pro hlavní kritéria, která se mají uvažovat pro uznání hospodářství jako podezřelého z infekce AMP

1. Rozhodnutí o uznání hospodářství jako podezřelého se přijme na základě těchto nálezů, kritérií a důvodů:
 - a) klinické a patologické nálezy. Hlavní zvažované klinické a patologické nálezy jsou:
 - horečka s nemocností a úmrtností prasat jakéhokoli stáří,
 - horečka s hemoragickým syndromem; petechiální a echymózní krvácení zejména v mizních uzlinách, ledvinách, slezině (která je zejména při akutních formách zvětšená a černá) a v močovém měchýři a zvrhnutí žlučníku,

- b) epizootologické nálezy. Hlavní zvažované epizootologické nálezy jsou:
- jestliže prase bylo v přímém nebo nepřímém kontaktu s hospodářstvím, které bylo prokázáno jako infikované virem AMP,
 - jestliže hospodářství dodalo prasata, která se následně ukázala jako infikovaná virem AMP,
 - jestliže byly prasnice inseminovány spermatem pocházejícím z podezřelého zdroje,
 - jestliže došlo k přímému nebo nepřímému kontaktu s volně žijícími prasaty z populace s výskytem AMP,
 - jestliže jsou prasata držena venku v regionech, ve kterých jsou volně žijící prasata infikována virem AMP,
 - jestliže byla prasata krmena pomyji a existuje podezření, že tyto pomyje nebyly upraveny tak, aby se zničil virus AMP,
 - jestliže například díky osobám vstupujícím do hospodářství, přepravním obalům atp., které pocházejí z hospodářství podezřelých z infekce nebo infikovaných virem AMP, mohlo dojít k případnému vystavení viru,
 - jestliže se v hospodářství vyskytují vektory.
2. Hospodářství musí být v každém případě považováno za podezřelé, pokud v něm díky klinickým nebo patologickým nálezům vznikne podezření na klasický mor prasat, ale klinická, epizootologická a laboratorní vyšetření nevedou k potvrzení této choroby nebo k identifikaci jiných zdrojů či původců choroby v dotčeném hospodářství.

Kapitola IV

Postupy kontroly a odběru vzorků

A. POKYNY A POSTUPY PRO KLINICKÉ VYŠETŘENÍ A ODBĚR VZORKŮ U PRASAT V PODEZŘELÝCH HOSPODÁŘSTVÍCH

1. Členské státy zajistí, aby se v podezřelých hospodářstvích prováděla vhodná klinická vyšetření, odběr vzorků a laboratorní vyšetření podle pokynů a postupů stanovených v bodech 2 a 6 k potvrzení nebo vyloučení AMP.

Bez ohledu na opatření uvedená v čl. 4 odst. 2 směrnice 2002/60/ES přijatá v dotyčných hospodářstvích se tyto pokyny a postupy použijí také v případech choroby, kdy se při stanovení diagnózy uvažuje o AMP. To se bude týkat i situací, kdy na základě klinických příznaků a epizootologického vzoru choroby zjištěných u prasat je pravděpodobnost výskytu AMP velmi nízká.

Ve všech ostatních případech, kdy je jedno nebo více prasat podezřelých z infekce virem AMP, se v dotyčných podezřelých hospodářstvích přijmou opatření uvedená v čl. 4 odst. 2 směrnice 2002/60/ES.

V případě podezření na AMP u prasat na jatkách nebo v dopravních prostředcích se také obdobně použijí pokyny a postupy stanovené v bodech 2 až 6.

2. Pokud úřední veterinární lékař navštíví podezřelé hospodářství za účelem potvrzení nebo vyloučení AMP,
- musí se provést kontrola produkčních a hygienických výkazů, jsou-li k dispozici; v každé podjednotce hospodářství se musí provést inspekce, aby se vybrala prasata pro klinické vyšetření.

Klinické vyšetření musí zahrnovat změření tělesné teploty a musí se provést v první řadě u těchto prasat nebo skupin prasat:

- nemocných nebo anorektických prasat,
- prasat, která byla v poslední době přivezena z potvrzených ohnisek choroby nebo z jiných podezřelých zdrojů,
- prasat držených v podjednotce navštívené v poslední době externími návštěvníky, kteří přišli nedávno do blízkého kontaktu s prasaty podezřelými z infekce či infikovanými AMP nebo u kterých byly zjištěny jiné zvláště rizikové kontakty s možným zdrojem viru AMP,
- prasat, která již byla vzorkována a sérologicky vyšetřena na AMP, pokud výsledky těchto vyšetření neumožňují vyloučit AMP, a prasat, která jsou v kontaktu,
- prasat nedávno zotavených z choroby.

Pokud inspekce v podezřelém hospodářství nezjistí přítomnost prasat nebo skupiny prasat uvedených v předcházejícím pododstavci, aniž jsou dotčena ostatní opatření, která se mohou v dotyčném hospodářství použít podle směrnice 2002/60/ES a s přihlédnutím k epizootologické situaci, příslušný orgán:

- provede v dotyčném hospodářství další vyšetření podle bodu 3, nebo
- zajistí, aby prasatům v dotyčném hospodářství byly odebrány vzorky krve pro laboratorní testy (v tomto případě se jako vodičko použijí postupy odběru vzorků stanovené v bodě 5 a v oddíle F bodě 2), nebo
- až do dalšího šetření v dotyčném hospodářství přijme nebo ponechá opatření stanovená v čl. 4 odst. 2 směrnice 2002/60/ES, nebo
- vyloučí podezření na výskyt AMP.

3. V případě odkazu na tento odstavec se v dotyčném hospodářství musí provést klinická vyšetření u náhodně vybraných prasat v podjednotkách, u kterých bylo zjištěno nebezpečí zavlečení viru AMP nebo která jsou z tohoto nebezpečí podezřelá.

Musí se vyšetřit takový minimální počet prasat, aby v těchto podjednotkách bylo možné odhalit 10 % prevalence případného výskytu horečky se spolehlivostí 95 %.

4. Pokud jsou v podezřelém hospodářství zjištěna mrtvá nebo umírající prasata, postmortální vyšetření se musí provést přednostně u posledních pěti takových prasat a zejména u prasat, která:

- před smrtí vykazovala velmi zjevné známky choroby,
- měla vysokou horečku,
- zemřela v poslední době.

Pokud tato vyšetření neprokáží léze ukazující na AMP, ale pokud jsou vzhledem k epizootologické situaci považována za nutná další vyšetření:

- v podjednotce, ve které byla mrtvá nebo umírající prasata držena, se musí provést klinická vyšetření podle bodu 3 a odběr vzorků krve podle bodu 5 a
- mohou se provést postmortální vyšetření tří až čtyř prasat, jež byla v kontaktu, zejména pokud tato prasata vykazovala klinické příznaky.

Bez ohledu na přítomnost nebo nepřítomnost lézí ukazujících na AMP se u prasat, která byla podrobena postmortálnímu vyšetření, musí odebrat vzorky orgánů nebo tkání podle kapitoly V oddílu B bodu 1 pro virologické testy. Tyto vzorky musí být odebrány přednostně u nedávno uhynulých prasat.

Při provádění postmortálních vyšetření musí příslušný orgán zajistit:

- přijetí preventivních a hygienických opatření bránících rozšíření choroby, a
- aby umírající prasata byla utrácena bezbolestně v souladu se směrnicí Rady 93/119/EHS ze dne 22. prosince 1993 o ochraně zvířat při porážce nebo utrácení⁽¹⁾, naposledy pozměněnou nařízením (ES) č. 806/2003⁽²⁾.

5. Zjistí-li se v podezřelém hospodářství další klinické příznaky nebo léze, které mohou ukazovat na výskyt AMP, ale příslušný orgán se domnívá, že tyto nálezy nejsou dostačující pro potvrzení ohniska AMP, a proto jsou nutné laboratorní testy, musí se u podezřelých a ostatních prasat každé podjednotky, ve které byla podezřelá prasata držena, odebrat vzorky krve pro laboratorní testy, a to podle těchto postupů:

- a) odebere se takový minimální počet vzorků pro sérologické testy, aby bylo možné v dotyčných podjednotkách odhalit 10 % prevalence sérokonverze s 95 % spolehlivostí;
- b) počet vzorků odebraných pro virologické testy bude v souladu s pokyny příslušného orgánu, který přihlédne k rozsahu prováděných testů, citlivosti použitých laboratorních testů a epizootologické situaci.

⁽¹⁾ Úř. věst. L 340, 31.12.1993, s. 21.

⁽²⁾ Úř. věst. L 122, 16.5.2003, s. 1.

6. Pokud po vyšetřeních provedených v podezřelém hospodářství nebudou odhaleny klinické příznaky nebo léze ukazující na výskyt AMP, ale příslušný orgán bude pro vyloučení AMP považovat za nutné provedení dalších laboratorních testů, použijí se jako vodítko postupy odběru vzorků stanovené v bodě 5.

B. POSTUPY ODBĚRU VZORKŮ V HOSPODÁŘSTVÍCH, VE KTERÝCH BYLA PRASATA UTRACENA PO POTVRZENÍ CHOROBY

1. Aby se mohl určit způsob zavlečení viru AMP do infikovaného hospodářství a doba, která od jeho zavlečení uplynula, je nutné při utrácení prasat v hospodářství po potvrzení ohniska podle čl. 5 odst. 1 písm. a) směrnice 2002/60/ES provést náhodný odběr vzorků krve pro sérologické testy.
2. Musí se ověřovat takový minimální počet prasat, aby bylo možné u prasat v každé podjednotce hospodářství odhalit 10 % prevalenci sérokonverze s 95 % spolehlivostí⁽¹⁾.

Podle pokynů příslušného orgánu, který přihlédne k rozsahu prováděných testů, citlivosti použitých laboratorních testů a epizootologické situaci, je třeba odebrat také vzorky pro virologické testy.

V oblastech, ve kterých byla dříve prokázána přítomnost vektorů infikovaných virem AMP, je nutné podle pokynů příslušného orgánu a přílohy III směrnice 2002/60/ES provést příslušné odběry měkkých tkání pro virologické testy.

3. V případě sekundárních ohnisek však může příslušný orgán rozhodnout o odchylce od bodů 1 a 2 a s ohledem na již dostupné epizootologické informace o zdroji, způsobech zavlečení viru do hospodářství a případném šíření choroby z hospodářství stanovit jiné postupy odběru vzorků.

C. POSTUPY ODBĚRU VZORKŮ V PŘÍPADĚ, KDY JSOU PRASATA UTRÁCENA JAKO PREVENTIVNÍ OPATŘENÍ V PODEZŘELÉM HOSPODÁŘSTVÍ

1. S cílem potvrdit nebo vyloučit výskyt AMP a získat další epizootologické informace je podle čl. 4 odst. 3 písm. a) nebo čl. 7 odst. 2 směrnice 2002/60/ES nutné při utrácení prasat jako preventivního opatření v podezřelém hospodářství odebrat vzorky krve pro sérologické i virologické testy postupem podle bodu 2.
2. Odběr vzorků se musí v první řadě provést u:

- prasat, která vykazují příznaky nebo postmortální léze ukazující na AMP a prasat, která jsou s nimi v kontaktu;
- ostatních prasat, která mohla přijít do nebezpečného kontaktu s prasaty infikovanými či podezřelými z infekce nebo která jsou podezřelá z infekce virem AMP. U těchto prasat musí být odebrány vzorky podle pokynů příslušného orgánu, který přihlédne k epizootologické situaci.

Kromě toho se musí provést náhodný odběr vzorků u prasat pocházejících z každé podjednotky hospodářství⁽²⁾. V tomto případě se musí pro sérologické testy odebrat takový minimální počet vzorků, aby bylo možné v dotčené jednotce odhalit 10 % prevalenci sérokonverze s 95 % spolehlivostí.

Typ vzorků odebraných pro virologické testy a použité testy budou v souladu s pokyny příslušného orgánu, který přihlédne k rozsahu prováděných testů, jejich citlivosti a epizootologické situaci.

⁽¹⁾ Avšak v případě uplatnění odchylky stanovené v čl. 6 odst. 1 směrnice 2002/60/ES se odběr vzorků musí týkat podjednotek hospodářství, ve kterých byla prasata utrácena, aniž jsou dotčena další vyšetření a odběr vzorků prováděné u zbývajících prasat v hospodářství podle pokynů příslušného orgánu.

⁽²⁾ Avšak pokud příslušný orgán v souladu s čl. 4 odst. 3 písm. a) směrnice 2002/60/ES omezil používání preventivního utrácení pouze na tu část hospodářství, kde jsou držena prasata podezřelá z infekce nebo infikovaná virem AMP, musí se odběr vzorků provést v podjednotkách hospodářství, ve kterých bylo použito toto opatření, aniž jsou dotčena další vyšetření a odběr vzorků prováděné u zbývajících prasat v hospodářství podle pokynů příslušného orgánu.

D. POSTUPY KONTROLY A ODBĚRU VZORKŮ PŘED UDĚLENÍM POVOLENÍ K PŘEMÍSTĚNÍ PRASAT Z HOSPODÁŘSTVÍ, KTERÉ SE NACHÁZÍ V OCHRANNÉM PÁSMU NEBO V PÁSMU DOZORU A V PŘÍPADĚ, KDY JSOU TATO PRASATA PORÁŽENA NEBO UTRÁCENA (ČLÁNKY 10 A 11 SMĚRNICE 2002/60/ES)

1. Aniž jsou dotčena ustanovení č. 11 odst. 1 písm. f) druhého pododstavce směrnice 2002/60/ES, aby mohlo být podle čl. 10 odst. 3 uvedené směrnice uděleno povolení k přemístění prasat z hospodářství nacházejících se v ochranném pásmu nebo v pásmu dozoru, musí být klinické vyšetření prováděné úředním veterinárním lékařem:

— provedeno do 24 hodin před přemístěním prasat,

— v souladu s ustanoveními oddílu A bodu 2.

2. U prasat přemísťovaných do jiného hospodářství se vedle šetření prováděných podle bodu 1 musí v každé podjednotce hospodářství, ve které jsou prasata určena k přemístění držena, provést u části prasat klinické vyšetření zahrnující změření teploty.

Musí se zkontrolovat takový minimální počet prasat, aby bylo možné v těchto podjednotkách odhalit 10 % prevalence případného výskytu horečky s 95 % spolehlivostí.

3. U prasat přemísťovaných na jatka, do zpracovatelského závodu nebo na jiná místa, kde mají být následně utracena nebo porážena, se vedle šetření prováděných podle bodu 1 musí v každé podjednotce, ve které jsou prasata určena k přemístění držena, provést klinické vyšetření prasat. U části prasat starších než 3 až 4 měsíce musí toto vyšetření zahrnovat změření teploty.

Musí se zkontrolovat takový minimální počet prasat, aby bylo možné v dotyčné podjednotce odhalit 20 % prevalence případného výskytu horečky s 95 % spolehlivostí.

4. Pokud jsou prasata uvedená v bodě 3 porážena nebo utracena, musí se u prasat pocházejících z každé podjednotky, ze které byla přemístěna, odebrat vzorky krve pro sérologické testy nebo krev či vzorky orgánů jako jsou mandle, slezina nebo mízní uzliny pro virologické testy.

Musí se odebrat takový minimální počet vzorků, aby bylo možné v každé podjednotce odhalit 10 % prevalence sérokonverze nebo viru s 95 % spolehlivostí.

Typ odebraných vzorků a použité testy budou v souladu s pokyny příslušného orgánu, který přihlédne k rozsahu prováděných testů, jejich citlivosti a epizootologické situaci.

5. Avšak pokud se při porážení nebo utracení prasat zjistí klinické příznaky nebo postmortální léze ukazující na AMP, při odběru vzorků se odchýlně od bodu 4 použijí ustanovení oddílu C.

6. Odchylna stanovená v čl. 10 odst. 5 a čl. 11 odst. 4 směrnice 2002/60/ES může být udělena tehdy, pokud příslušný orgán zajistí, že u skupin prasat uvedených v bodech 2, 3 a 4, u kterých se má provádět kontrola a odběr vzorků, je rovněž uplatňován režim intenzivního odběru vzorků a testování. V souvislosti s tímto režimem se musí odebrat takový minimální počet vzorků krve, aby bylo možné ve skupině dotyčných prasat odhalit 5 % prevalence sérokonverze s 95 % spolehlivostí.

E. POSTUPY KONTROLY A ODBĚRU VZORKŮ V HOSPODÁŘSTVÍ V SOUVISLOSTI SE ZNOVUOBSAZENÍM

1. Po novém zástavu prasat v hospodářství podle čl. 13 odst. 3 směrnice 2002/60/ES se musí provést tyto postupy odběru vzorků:

— vzorky krve se odeberou nejdříve za 45 dní po novém zástavu prasat,

— při novém zástavu ověřovacími prasaty se musí náhodný odběr vzorků krve pro sérologické testy provést u takového počtu prasat, aby bylo možné v každé podjednotce hospodářství odhalit 10 % prevalence sérokonverze s 95 % spolehlivostí,

— při úplném znovuoobsazení se musí náhodný odběr vzorků krve pro sérologické testy provést u takového počtu prasat, aby bylo možné v každé podjednotce hospodářství odhalit 20 % prevalence sérokonverze s 95 % spolehlivostí.

2. Po novém zástavu prasat v hospodářství podle čl. 13 odst. 4 směrnice 2002/60/ES se musí provést tyto postupy odběru vzorků:

- vzorky krve se odeberou nejdříve za 45 dní po novém zástavu,
- při novém zástavu ověřovacími prasaty se musí náhodný odběr vzorků krve pro sérologické testy provést u takového počtu prasat, aby bylo možné v každé podjednotce hospodářství odhalit 5 % prevalence sérokonverze s 95 % spolehlivostí,
- při úplném znovuobsazení se musí náhodný odběr vzorků krve pro sérologické testy provést u takového počtu prasat, aby bylo možné v každé podjednotce hospodářství odhalit 10 % prevalence sérokonverze s 95 % spolehlivostí,

Postup stanovený v uvedené třetí odrážce se opakuje nejdříve za 60 dní po úplném znovuobsazení.

3. Po novém zástavu prasaty příslušný orgán zajistí, aby v případě choroby nebo úmrtí prasat v hospodářství z neznámých důvodů byla tato prasata neprodleně otestována na AMP.

Tato ustanovení se použijí až do odvolání omezení pro přemísťování prasat platných v dotyčném hospodářství a uvedených v čl. 13 odst. 3 písm. a) a b) a odst. 4 směrnice 2002/60/ES.

F. POSTUPY ODBĚRU VZORKŮ V HOSPODÁŘSTVÍCH V OCHRANNÉM PÁSMU PŘED ODVOLÁNÍM OMEZENÍ

1. Aby bylo možné odvolat v ochranném pásmu opatření uvedená v článku 10 směrnice 2002/60/ES, musí se ve všech hospodářstvích v pásmu:

- provést klinická vyšetření postupy podle oddílu A, bodů 2 a 3;
- odebrat vzorky krve pro sérologické testy podle bodu 2.

2. Musí se odebrat takový minimální počet vzorků krve, aby bylo možné u prasat v každé podjednotce hospodářství odhalit 10 % prevalence sérokonverze s 95 % spolehlivostí.

Odchylka stanovená v čl. 10 odst. 5 a čl. 11 odst. 4 směrnice 2002/60/ES však může být udělena pouze tehdy, pokud příslušný orgán zajistí, že se odebere takový minimální počet vzorků krve, aby bylo možné v každé podjednotce hospodářství odhalit 5 % prevalence sérokonverze s 95 % spolehlivostí.

G. POSTUP ODBĚRU VZORKŮ V HOSPODÁŘSTVÍCH V PÁSMU DOZORU PŘED ODVOLÁNÍM OMEZENÍ

1. Aby bylo možné odvolat v pásmu dozoru opatření uvedená v článku 11 směrnice 2002/60/ES, musí se ve všech hospodářstvích v pásmu provést klinická vyšetření postupem podle oddílu A bodu 2.

Mimo to se vzorky krve pro sérologické vyšetření odeberou od prasat:

- jiného hospodářství, kde to příslušný orgán považuje za nutné,
- ve všech inseminačních stanicích.

2. Při odběru vzorků krve pro sérologické testy v hospodářství, které se nachází v pásmu dozoru, musí být počet vzorků v souladu s první větou oddílu F bodu 2.

Odchylka stanovená v čl. 10 odst. 5 a čl. 11 odst. 4 směrnice 2002/60/ES však může být udělena pouze tehdy, pokud příslušný orgán zajistí odebrání vzorků krve pro sérologické testy v každém hospodářství pásma. Musí se odebrat takový minimální počet vzorků krve, aby bylo možné v každé podjednotce hospodářství odhalit 5 % prevalence sérokonverze s 95 % spolehlivostí.

H. POSTUPY SÉROLOGICKÉHO SLEDOVÁNÍ A ODBĚRU VZORKŮ V OBLASTECH S PODEZŘENÍM NA VÝSKYT A POTVRZENÍM VÝSKYTU AMP U VOLNĚ ŽIJÍCÍCH PRASAT

1. Při sérologickém sledování volně žijících prasat v oblastech s podezřením na výskyt nebo potvrzením výskytu AMP je třeba nejdříve vymezit velikost a zeměpisnou oblast vzorkované cílové populace, aby se mohl stanovit počet odebíraných vzorků. Velikost vzorku je třeba stanovit jako funkci odhadovaného počtu žijících, nikoliv zastřelených zvířat.
2. Nejsou-li k dispozici údaje o velikosti a hustotě populace, vymezí se zeměpisná oblast s ohledem na trvalý výskyt volně žijících prasat a existenci přírodních či umělých překážek účinně bránících rozsáhlému a nepřetržitému přemísťování zvířat. Pokud tyto okolnosti nenastanou nebo v případě rozlehlých oblastí, kde obvykle žije populace 400 až 1 000 kusů volně žijících prasat, se doporučuje vymezit pro odběr vzorků oblasti o rozloze asi 200 km².
3. Aniž jsou dotčena ustanovení čl. 15 odst. 2 písm. c) směrnice 2002/60/ES, musí se ve vymezené vzorkovací oblasti ovzorkovat takový minimální počet prasat, aby bylo možné odhalit 5 % prevalence sérokonverze s 95 % spolehlivostí. Za tímto účelem musí být v každé vymezené oblasti ovzorkováno nejméně 56 zvířat.
4. Odběr vzorků pro virologické testy u zastřelených nebo nalezených uhynulých volně žijících prasat se provede podle kapitoly V oddílu B bodu 1.

Je-li považováno za nutné virologické sledování zastřelených volně žijících prasat, provede se přednostně u zvířat mladších jednoho roku.

5. Všechny vzorky se zasílají do laboratoře, provázené dotazníkem uvedeným v čl. 16 odst. 3 písm. h) směrnice 2002/60/ES.

Kapitola V

Obecné postupy a kritéria pro odběr a přepravu vzorků

A. OBECNÉ POSTUPY A KRITÉRIA

1. Před odebíráním vzorků v podezřelém hospodářství se připraví mapa hospodářství a identifikují se epizootologické podjednotky hospodářství.
2. Vždy, když se uvažuje o případném nutném novém vzorkování, se všechna ovzorkovaná prasata musí jednoznačně označit tak, aby mohla být snadno znovu ovzorkována.
3. Všechny vzorky se zasílají do laboratoře, provázené příslušným formulářem v souladu s požadavky příslušného orgánu. V těchto formulářích se uvádějí podrobnosti o historii vzorkovaných prasat a o zjištěných klinických příznacích nebo postmortálních lézích.

V případě prasat držených v hospodářství se uvedou jasné údaje o stáří, kategorii a hospodářství původu vzorkovaných prasat. Doporučuje se zaznamenat umístění každého vzorkovaného prasete v hospodářství společně s jeho jednoznačnou identifikační značkou.

B. ODBĚR VZORKŮ PRO VIROLOGICKÉ TESTY

1. Pro odhalení výskytu viru, antigenu nebo genomu AMP u mrtvých nebo bezbolestně usmrčených prasat jsou nejvhodnější vzorky tkáně pocházející z mandlí, mizních uzlin (jaterních, ledvinových, podčelistních a zahltanových), sleziny, ledviny a plíce⁽¹⁾. U autolyzovaných mrtvých těl lze jako vzorek zvolit nějakou celou dlouhou kost nebo kost hrudní.
2. U prasat vykazujících známky horečky nebo jiné známky choroby se v souladu s pokyny příslušného orgánu odeberou vzorky antikoagulované a/nebo sražené krve.

⁽¹⁾ Doporučuje se odebrat také vzorky kyčelníku, které mohou být vhodné pro diagnózu klasického moru prasat.

C. PŘEPRAVA VZORKŮ

1. Doporučuje se, aby všechny vzorky:
 - byly řádně identifikovány,
 - byly přepravovány a skladovány v nepropustných nádobách,
 - byly drženy v chladu při teplotě jako v chladničce; avšak jestliže je předpokládána doba dopravy do laboratoře delší než 48 hodin, je třeba se s laboratoří spojit a obdržet pokyny ohledně nejvhodnějších teplotních podmínek během přepravy,
 - byly dodány do laboratoře co nejrychleji,
 - byly drženy v obalu obsahujícím sáčky s ledem nebo suchým ledem, který je udrží v chladu,
 - tkáně nebo orgány byly uloženy v oddělených zapečetěných plastových nádobách a byly řádně označeny. Ty se pak uloží do větších nádob a zabalí do dostatečně absorbujícího materiálu, který je bude chránit před poškozením a bude absorbovat jakýkoli průsak,
 - byly příslušnou osobou pokud možno rychle a spolehlivě přepraveny přímo do laboratoře.
2. Na vnější straně obalu musí být označena adresa přijímající laboratoře a výrazně vyznačeno toto sdělení:
„Patologický materiál živočišného původu; podléhá zkáze; křehké; neotevírat mimo laboratoř pro AMP.“
3. Odpovědná osoba v laboratoři přijímající vzorky musí být o příjezdu vzorků včas informována.
4. Při letecké přepravě vzorků do referenční laboratoře Společenství pro AMP ⁽¹⁾ musí být obal označen podle předpisů IATA.

Kapitola VI

Zásady a používání virologických testů a vyhodnocování jejich výsledků

A. ZJIŠTĚNÍ ANTIGENŮ VIRU

1. Test přímé imunofluorescence (DIFT)

Test spočívá v mikroskopickém zjištění virových antigenů ve stěrech nebo tenkých zmrazených řezech orgánů prasat podezřelých z infekce virem AMP. Nitrobuněčné antigeny se zjišťují pomocí specifických antilátek konjugovaných na FIT ⁽²⁾. V cytoplazmě infikovaných buněk se objeví fluoreskující tělíska nebo zrnka.

Vhodnými orgány jsou ledvina, slezina a různé mízní uzliny. U volně žijících prasat se může použít také stěr z kostní dřeně, pokud jejich orgány nejsou k dispozici nebo jsou autolyzované.

Test lze provést během dvou hodin. Jelikož vzorky orgánů lze získat pouze z mrtvých zvířat, jejich použití pro účely vyšetřování je omezené.

Jedná se o vysoce citlivý test pro případy akutního AMP. U subakutních nebo chronických forem má DIFT citlivost pouze asi 40 %, což je pravděpodobně způsobeno přítomností komplexů antigen-protilátka, které brání reakci s protilátkou vázající se na AMP. Přesnost výsledku testu může být omezena nejasným vybarvením preparátu, zejména pokud test nebyl prováděn s dostatečnou zkušeností nebo pokud testované orgány byly autolyzované.

2. Test ELISA pro zjištění antigenu viru

Virové antigeny lze zjistit také pomocí techniky ELISA, která se však kvůli nízké citlivosti v případě přítomnosti komplexu antigen-protilátka doporučuje pouze pro akutní formy choroby. Citlivost antigenu ELISA by měla být dostatečně vysoká, aby se u zvířat vykazujících klinické příznaky akutního AMP docílilo pozitivního výsledku. V každém případě se doporučuje použít tento test pouze jako skupinový test a v kombinaci s jinými virologickými testy.

⁽¹⁾ Referenční laboratoř Společenství má otevřenou licenci pro přijímání diagnostických vzorků a izolátů viru AMP z jiných členských států. Pochází-li vzorek ze třetí země, může být před přepravou do laboratoře vyžadována kopie dovozního povolení, která bude v obálce připevněna na vnější straně obalu.

⁽²⁾ Fluorescein isothiokyanát.

B. IZOLACE VIRU A JEHO IDENTIFIKACE POMOCÍ TESTU HEMADSORPCE (HAD)

1. Izolace viru je založena na inokulaci vnímavých primárních buněk prasečího původu, monocytů a makrofágů vzorkovým materiálem. Upřednostňovanými vzorky pro izolaci viru AMP jsou čistá krev a leukocyty získané ze vzorků nesražené krve nebo orgánů uvedených v oddíle A bodě 1. Je-li ve vzorku přítomen virus AMP, bude se v buňkách replikovat a v infikovaných buňkách dojde k typickému cytopatickému efektu.
2. Technika HAD se doporučuje pro identifikaci izolátů viru AMP vzhledem k její vysoké citlivosti a specifičnosti. HAD je založena na schopnosti viru AMP replikovat se v prasečích makrofágách a za přítomnosti prasečích erytrocytů vyvolávat hemadsorpci. Okolo infikovaných makrofágů se vytvoří charakteristická „růžice“. Malý počet terénních kmenů viru AMP však nemůže vyvolat hemadsorpci, ale vytváří cytopatický efekt. Tyto kmeny lze přesně identifikovat pomocí DIF testu na sedimentech buněčných kultur nebo reakcí polymerázového řetězce (PCR).
3. Izolace viru je nejvhodnější pro vyšetření vzorků od malého počtu zvířat, spíše než pro hromadný dozor. Postup izolace viru je pracovně náročný a trvá jeden až tři dny, než jsou výsledky k dispozici. Pro zjištění malých množství viru ve vzorku mohou být potřebné další dvě pasáže buněčné kultury. Tím se může doba vyšetření prodloužit až na 10 dní, než budou získány konečné výsledky. Autolyzované vzorky mohou být cytotoxické na buněčné kultury a následkem toho je jejich použití omezené.
4. Izolace a identifikace viru pomocí HAD se doporučuje jako referenční test pro potvrzení pozitivních výsledků před metodami ELISA, PCR nebo DIFT. Doporučuje se také v případě potvrzení AMP jinými metodami, zejména v případě primárního ohniska nebo případu AMP.

Viry AMP izolované v prasečích makrofágách lze využít pro určení typu viru a molekulární epizootologii.

5. Všechny izoláty viru AMP ze všech primárních ohnisek, primárních případů u volně žijících prasat nebo případů na jatcích či v dopravních prostředcích musí být určeny podle oddílu E národní referenční laboratoří v členských státech nebo jinou laboratoří schválenou dotyčným členským státem nebo referenční laboratoří Společenství.

V každém případě musí být tyto izoláty viru neprodleně odeslány do referenční laboratoře Společenství pro odběr virů.

C. ZJIŠŤOVÁNÍ GENOMU VIRU

1. Pro zjišťování genomu viru ve vzorcích krve, séra, tkání nebo orgánů se používá reakce polymerázového řetězce (PCR). Malé fragmenty virové DNA se pomocí PCR zvětšují na zjistitelná množství. Použitím primerů ze silně konzervovaných regionů genomu lze zjistit širokou škálu izolátů, náležejících ke všem známým genotypům viru, včetně nehemadsorpčních virů a izolátů s nízkou virulencí. Jelikož tento test odhalí pouze sekvenci genomu viru, může být pozitivní i v případě, kdy se izolací viru nezjistí žádný infekční virus (např. v autolyzovaných tkáních nebo vzorcích od zotavujících se nebo zotavených prasat a jsou z klinického hlediska normální).
2. PCR lze použít na omezený počet vzorků, které byly pečlivě vybrány od podezřelých zvířat. Je doporučenou metodou pro vzorky orgánů, které jsou cytotoxické a kde není možné provést izolaci viru (např. vzorky od volně žijících prasat).
3. Vhodným vzorkovým materiálem pro PCR jsou orgány popsané pro izolaci viru a sérum. PCR mohou být také analyzovány husté stejnorodé látky (homogenáty).
4. PCR lze provést za jeden pracovní den. Vyžaduje příslušné laboratorní vybavení, samostatné prostory a kvalifikovaný personál. Výhodou je, že se infekční virus nemusí replikovat v laboratoři. PCR je vysoce citlivá, ale snadno může dojít ke kontaminaci, což vede k nesprávným pozitivním výsledkům. Proto jsou nezbytné přísné kontroly jakosti.

D. DOPORUČENÉ VIROLOGICKÉ TESTY A VYHODNOCOVÁNÍ VÝSLEDKŮ

Virologické testy jsou nezbytné pro potvrzení AMP.

Metody izolace viru a HAD je nutné považovat za referenční virologické testy a musí se používat jako potvrzovací testy tam, kde je to nezbytné. Doporučuje se používat je zejména v případech, kdy pozitivní výsledky DIF nebo PCR nejsou spojené se zjištěním klinických příznaků nebo lézí způsobených chorobou a v jiných sporných případech.

Primární ohnisko AMP však lze potvrdit, pokud u dotyčných prasat byly zjištěny klinické příznaky nebo léze způsobené chorobou a pokud nejméně dva odlišné testy na zjištění antigenu, genomu nebo protilátky u vzorků odebraných od téhož podezřelého prasete měly pozitivní výsledek.

Sekundární ohnisko AMP lze potvrdit, pokud vedle epizootologické vazby na potvrzené ohnisko nebo případ byly u dotyčných prasat zjištěny klinické příznaky nebo léze způsobené chorobou a pokud test na zjištění antigenu, genomu nebo protilátky měl pozitivní výsledek.

Primární případ AMP u volně žijících prasat lze potvrdit izolací viru nebo v případě, kdy nejméně dva testy na zjištění antigenu, genomu nebo protilátky měly pozitivní výsledek. Další případy AMP u volně žijících prasat, u kterých byla zjištěna epizootologická vazba na dříve potvrzené případy, lze potvrdit v případě, kdy test na zjištění antigenu, genomu nebo protilátky měl pozitivní výsledek.

E. GENETICKÉ URČENÍ TYPU ISOLÁTŮ VIRU AMP

1. Genetické určení typu izolátů viru AMP se dosáhne určením vzorů restrikčních enzymů a nukleotidové sekvence části genomu viru. Podobnost těchto restrikčních vzorů nebo sekvencí s těmi již získanými z předchozích izolátů viru může naznačit, zda jsou ohniska choroby způsobena virem sledujícími evropský nebo africký molekulární model.

Genetické určení typu izolátů viru AMP má zásadní význam pro zlepšení současných znalostí o molekulární epizootologii AMP a genetické variabilitě virů. Molekulární údaje umožňují klasifikovat nové izoláty a poskytují informace o jejich možném původu.

2. Pokud molekulární určení typu viru nelze v krátké době provést v národní nebo jiné laboratoři schválené pro diagnostikování AMP, originální vzorek izolátu viru se za tímto účelem co nejdříve zašle do referenční laboratoře Společenství.

Údaje z analýzy restrikčního enzymu a sekvencování izolátů viru AMP, které mají laboratoře schválené pro diagnostikování AMP k dispozici, se zašlou referenční laboratoři Společenství, aby je mohla uložit do databáze, kterou vede.

Informace obsažené v této databázi musí být přístupné pro všechny národní referenční laboratoře v členských státech. Avšak pro účely zveřejnění ve vědeckých časopisech zajistí referenční laboratoř Společenství důvěrnost těchto údajů až do jejich zveřejnění, pokud to dotyčná laboratoř vyžaduje.

Kapitola VII

Zásady a používání sérologických testů a vyhodnocování jejich výsledků

A. ZÁKLADNÍ ZÁSADY A DIAGNOSTICKÁ HODNOTA

1. Zjišťování specifických protilátek viru AMP je doporučováno pro subakutní a chronické formy, jakož i pro rozsáhlé testování a programy eradikace AMP, z několika důvodů:
 - i) v infikovaném praseti se rychle vytvářejí protilátky. U těchto prasat jsou protilátky ve vzorcích séra obvykle zjištělné sedm až deset dní po infekci;
 - ii) proti AMP neexistuje žádná očkovací látka. To znamená, že specifické protilátky AMP se vytvářejí pouze při infekci virem AMP;
 - iii) dlouhodobá reakce protilátek. U prasat zotavených z choroby lze zjistit vysoké hladiny specifických protilátek po mnoho měsíců, u některých prasat dokonce po celou dobu života.

Specifické protilátky AMP pocházející od matky lze u selat zjistit během prvních týdnů života. Poločas mateřských protilátek u selat je asi tři týdny. Najdou-li se tyto protilátky u selat starších tří měsíců, s velkou pravděpodobností nepocházejí od matky.

2. Zjištění protilátek viru AMP v séru nebo plazmových exsudátech předložených orgánů se provádí za účelem pomoci při diagnostikování AMP v podezřelých hospodářstvích, odhadnutí data zavlečení infekce v případě potvrzeného ohniska a pro účely sledování a dozoru.

Umístění séropozitivních prasat v hospodářství může poskytnout cenné informace o tom, jak a kudy se virus dostal do hospodářství.

V rámci šetření prováděného v případě podezření na výskyt nebo potvrzení výskytu AMP podle článku 8 směrnice 2002/60/ES se však musí provést přesné vyhodnocení sérologických testů s přihlédnutím ke všem klinickým, virologickým a epizootologickým nálezům.

B. DOPORUČENÉ SÉROLOGICKÉ TESTY

1. Pro sérologické potvrzení AMP lze použít test ELISA, test přímé imunofluorescence (IIFT) a imunoblotting testy (IB).

Kvalita a účinnost sérologických testů prováděných národními laboratořemi se musí pravidelně kontrolovat v rámci mezilaboratorního porovnávacího testu pravidelně organizovaného referenční laboratoří Společenství.

2. ELISA je nejspolehlivějším a nejvhodnějším testem pro rozsáhlé sérologické studie. Je založen na zjišťování protilátek viru AMP vázaných na virové proteiny, které jsou zachyceny na pevné fázi přidáním proteinu A konjugovaného s enzymem, který při reakci s vhodným substrátem vyvolává viditelnou barevnou reakci.
3. Národní laboratoře provádějí pravidelné kontroly kvality citlivosti a specifčnosti každé šarže ELISA reagentů za použití panelu referenčního séra, dodaného referenční laboratoří Společenství. Tento panel obsahuje:

- sérum od prasat v rané fázi infekce virem AMP (méně než 17 dní po infekci),
- sérum od zotavujících se prasat (více než 17 dní po infekci).

ELISA použitá pro sérologické diagnostikování AMP musí zjistit všechna referenční séra od zotavujících se prasat. Veškeré výsledky získané pomocí referenčního séra musí být opakovatelné. Doporučuje se zjistit také všechna pozitivní séra z rané fáze. Výsledky získané pomocí referenčního séra od prasat v rané fázi infekce ukazují citlivost testu ELISA.

4. IIFT je rychlá technika s vysokou citlivostí a specifčností pro zjištění protilátek AMP ze séra nebo tkáňových exsudátů. Je založena na zjištění protilátek AMP, které se váží na monovrstvu MS buněk infikovaných adaptovaným virem AMP. Reakce mezi protilátkou a antigenem se zjistí pomocí označeného proteinu A fluoresceinu. Pozitivní vzorky vykazují fluorescenci v okolí jader infikovaných buněk.

Kombinované použití DIFT a IIFT pro testování orgánů, krve a exsudátů odebraných u zvířat, která vykazují klinické příznaky AMP, může vést k rychlému a spolehlivému potvrzení choroby.

5. Test IB je vysoce specifická a citlivá technika založená na použití proužků nitrocelulózy obsahujících virové proteiny jako antigeny. Charakteristická reakce mezi protilátkou a antigenem se zjistí přidáním konjugátu peroxidázy proteinu A a vhodného substrátu. Velmi vhodné je testovat séra, která jsou neprůkazná v testu ELISA.

Kapitola VIII

Minimální bezpečnostní požadavky pro laboratoře AMP

1. Laboratoř, ve které se má virus AMP množit replikací v buněčných kulturách, musí splňovat požadavky stanovené v tabulce 1. Postmortální vyšetření, zpracovávání tkání pro DIFT nebo PCR a sérologie používající inaktivované antigeny se však mohou provádět při menším omezení za předpokladu, že jsou splněny minimální požadavky stanovené v tabulce 1, dodržuje se základní hygiena a po skončení pracovní doby se provádí dezinfekce s bezpečným zlikvidováním mrtvých těl, tkání a sér.

2. Laboratoř, ve které jsou zvířata inokulována virem AMP, musí splňovat požadavky stanovené v tabulce 2.
3. Veškeré zásoby viru AMP musí být bezpečně uskladněné, a to zmrazené nebo lyofilizované. Jednotlivé ampule musí být jasně označeny a musí se vést úplné záznamy o zásobách viru a datech a výsledcích kontrol kvality. Záznamy se musí vést také o virech doplněných do zásob, spolu s podrobnými údaji o jejich zdroji a o virech vydaných do jiných laboratoří.
4. Doporučuje se, aby jednotka pro práci s virem AMP, která se řídí zásadami biologické bezpečnosti, byla vybavena prostorami, ve kterých se nebude manipulovat s virem AMP. Tyto ostatní prostory by měly sloužit pro přípravu skla a médií, údržbu a přípravu neinfekčních buněčných kultur, zpracovávání séra a sérologické testování (jiné než metody používající živé viry AMP) a zajištění administrativních a kancelářských prací.

Tabulka 1

Z á s a d y b i o l o g i c k é h o o m e z e n í p r o d i a g n o s t i c k é l a b o r a t o ř e

	Minimální požadavky	Doplňkové požadavky
Celkové prostředí	Normální tlak vzduchu. Vyhrazené prostory určené pouze pro stanovené postupy.	Normální tlak vzduchu. Jedna HEPA filtrace odsávaného vzduchu. Vyhrazené prostory použít výlučně pro diagnostikování klasického moru prasat nebo AMP. Potenciálně zamořené odpady upravit tak, aby se zničil virus AMP (teplem nebo chemicky).
Laboratorní oděv	Vyhrazený svrchní oděv používaný pouze v jednotce pro virus AMP. Rukavice na jedno použití pro veškerou manipulaci s infekčním materiálem. Svrchní oděv při opuštění jednotky sterilizovat nebo uvnitř jednotky vyprat při vysoké teplotě.	Úplné převlečení po vstupu. Laboratorní oděv používat pouze v jednotce pro virus AMP. Rukavice na jedno použití pro veškerou manipulaci s infekčním materiálem. Oděv při opuštění jednotky sterilizovat nebo uvnitř jednotky vyprat při vysoké teplotě.
Kontrola personálu	Vstup do jednotky omezen na vyjmenované proškolené zaměstnance. Při odchodu z jednotky umýt a vydezinfikovat ruce. Zaměstnancům není dovoleno vstupovat do míst, kde se nacházejí prasata, po dobu 48 hodin od opuštění jednotky.	Vstup do jednotky omezen na vyjmenované proškolené zaměstnance. Při odchodu z jednotky umýt a vydezinfikovat ruce. Zaměstnancům není dovoleno vstupovat do míst, kde se nacházejí prasata, po dobu 48 hodin od opuštění jednotky.
Vybavení	Biologicky bezpečná místnost (třídy I nebo II) sloužící k veškeré manipulaci s živým virem. Místnost by měla mít dvojitou HEPA filtraci odsávaného vzduchu. Ve vyhrazené laboratoři k dispozici veškeré vybavení potřebné pro laboratorní postupy.	

Tabulka 2

P o ž a d a v k y n a b i o l o g i c k o u b e z p e č n o s t v p r o s t o r á c h s p o k u s n ý m i z v í ř á t y

	Požadavky
Celkové prostředí	Automaticky kontrolovaná podtlaková ventilace. Jedna HEPA filtrace odsávaného vzduchu. Zařízení pro úplnou dekontaminaci nebo fumigaci na konci pokusu. Veškeré tuhé a kapalné odpady upravit tak, aby se zničil virus AMP (teplem/spálením nebo chemicky).

	Požadavky
Laboratorní oděv	Úplné převlečení po vstupu. Oděv před opuštěním jednotky sterilizovat nebo uvnitř jednotky vyprat při vysoké teplotě.
Kontrola personálu	Vstup do jednotky omezen na určené proškolené zaměstnance. Ponechání oděvu uvnitř jednotky před osprchováním. Úplné osprchování při opuštění jednotky. Zaměstnancům není dovoleno vstupovat do míst, kde se nacházejí prasata, po dobu 48 hodin od opuštění jednotky.
Vybavení	V jednotce k dispozici veškeré vybavení potřebné pro postupy vykonávané se zvířaty. Veškerý materiál musí být při opuštění jednotky sterilizován nebo, v případě vzorků živočišného původu, pro přepravu do laboratoře pro AMP dvojité zabalen v nepropustné nádobě, jejíž povrch je dezinfikován.
Zvířata	Veškerá zvířata musí být před opuštěním jednotky usmrcena, v biologicky bezpečné oblasti musí být dokončena postmortální vyšetření a mrtvá těla poté spálena.