

Dieses Dokument ist lediglich eine Dokumentationsquelle, für deren Richtigkeit die Organe der Gemeinschaften keine Gewähr übernehmen

► **B**

ENTSCHEIDUNG DER KOMMISSION

vom 1. Februar 2002

zur Genehmigung eines Diagnosehandbuchs mit Diagnosemethoden, Probenahmeverfahren und Kriterien für die Auswertung von Laboruntersuchungen zur Bestätigung der Klassischen Schweinepest

(Bekannt gegeben unter Aktenzeichen K(2002) 381)

(Text von Bedeutung für den EWR)

(2002/106/EG)

(ABl. L 39 vom 9.2.2002, S. 71)

Geändert durch:

		Amtsblatt		
		Nr.	Seite	Datum
► <u>M1</u>	Entscheidung 2003/859/EG der Kommission vom 5. Dezember 2003	L 324	55	11.12.2003

Berichtigt durch:

► **C1** Berichtigung, ABl. L 211 vom 18.8.2011, S. 35 (2002/106/EG)



ENTSCHEIDUNG DER KOMMISSION

vom 1. Februar 2002

zur Genehmigung eines Diagnosehandbuchs mit Diagnosemethoden, Probenahmeverfahren und Kriterien für die Auswertung von Laboruntersuchungen zur Bestätigung der Klassischen Schweinepest

(Bekannt gegeben unter Aktenzeichen K(2002) 381)

(Text von Bedeutung für den EWR)

(2002/106/EG)

DIE KOMMISSION DER EUROPÄISCHEN GEMEINSCHAFTEN —

gestützt auf den Vertrag zur Gründung der Europäischen Gemeinschaft,

gestützt auf die Richtlinie 2001/89/EG des Rates vom 23. Oktober 2001 über Maßnahmen der Gemeinschaft zur Bekämpfung der klassischen Schweinepest ⁽¹⁾, insbesondere auf Artikel 17 Absatz 3 und Artikel 29 Absatz 1,

in Erwägung nachstehender Gründe:

- (1) Es ist angezeigt, auf Gemeinschaftsebene Diagnosemethoden, Beprobungsverfahren und Kriterien für die Auswertung der Ergebnisse von Laboruntersuchungen festzulegen, die zur Bestätigung der Klassischen Schweinepest (KSP) durchgeführt werden.
- (2) Gemäß Anhang IV der Richtlinie 2001/89/EG bestehen die Befugnisse und Aufgaben des Gemeinschaftlichen Referenzlabors für Klassische Schweinepest darin, im Benehmen mit der Kommission die in den Mitgliedstaaten angewandten Methoden zur Diagnose der Seuche zu koordinieren, u. a. durch regelmäßige Durchführung von Tests zum Vergleich der Diagnoseverfahren und Bereitstellung von Standardreagenzien auf Gemeinschaftsebene.
- (3) Das KSP-Virus gilt als für den Menschen nicht gesundheitsgefährdend.
- (4) In letzter Zeit sind Labortests entwickelt worden, die eine schnelle Diagnose der Klassischen Schweinepest gewährleisten.
- (5) Aufgrund der Erfahrungen, die in den vergangenen Jahren bei der Bekämpfung der Klassischen Schweinepest erzielt wurden, konnten Beprobungsverfahren und Kriterien für die Auswertung von Laborbefunden festgelegt werden, die in unterschiedlichen Situationen eine sichere Diagnose gewährleisten.
- (6) Die in dieser Entscheidung vorgesehenen Maßnahmen entsprechen der Stellungnahme des Ständigen Veterinärausschusses —

HAT FOLGENDE ENTSCHEIDUNG ERLASSEN:

Artikel 1

(1) Die Mitgliedstaaten tragen dafür Sorge, dass die Bestätigung der Klassischen Schweinepest nach folgenden Kriterien erfolgt:

a) Feststellung klinischer Krankheitssymptome und Sektionsbefunde;

⁽¹⁾ ABl. L 316 vom 1.12.2001, S. 5.

▼B

b) Nachweis von Virus, Virusantigenen oder Virusgenom in Gewebe-, Organ- oder Blutproben sowie Sekreten von Schweinen;

c) Nachweis einer spezifischen Antikörperreaktion in Blutproben,

wobei den im Handbuch im Anhang dieser Entscheidung festgelegten Diagnosemethoden, Verfahrensvorschriften für Stichprobenuntersuchungen und Kriterien für die Auswertung von Laborbefunden Rechnung zu tragen ist.

(2) Die nationalen Diagnoselaboratorien gemäß Anhang III Nummer 1 der Richtlinie 2001/89/EG können die im Handbuch im Anhang dieser Entscheidung festgelegten Laboruntersuchungen jedoch ändern oder andere Testmethoden anwenden, sofern dieselbe Empfindlichkeit und Spezifität gewährleistet sind.

Empfindlichkeit und Spezifität geänderter oder anderer Testmethoden sind im Rahmen regelmäßiger Vergleichstests, die das Gemeinschaftliche Referenzlabor für Klassische Schweinepest durchführt, zu prüfen.

Artikel 2

Die Anhänge I und IV der Richtlinie 80/217/EWG des Rates über Maßnahmen der Gemeinschaft zur Bekämpfung der klassischen Schweinepest⁽¹⁾, zuletzt geändert durch die Akte über den Beitritt Österreichs, Finnlands und Schwedens, werden aufgehoben.

Artikel 3

Diese Entscheidung gilt ab 1. November 2002.

Artikel 4

Diese Entscheidung ist an alle Mitgliedstaaten gerichtet.

⁽¹⁾ ABl. L 47 vom 21.2.1980, S. 11.



ANHANG

HANDBUCH ZUR DIAGNOSE DER KLASSISCHEN SCHWEINEPEST

KAPITEL I

Einleitung, Ziele und Definitionen

1. Um sicherzustellen, dass die Klassische Schweinepest nach einheitlichen Methoden diagnostiziert wird, enthält dieses Handbuch
 - a) Leitlinien und Mindestkriterien für Diagnosemethoden und Probenahmeverfahren sowie Kriterien für die Auswertung der Ergebnisse klinischer und postmortaler Untersuchungen sowie von Laboruntersuchungen zur gezielten KSP-Diagnose ⁽¹⁾;
 - b) Mindestanforderungen hinsichtlich der biologischen Sicherheit sowie Qualitätsnormen für KSP-Diagnoselaboratorien und die Beförderung von Proben;
 - c) Vorgaben für Laboruntersuchungen zur KSP-Diagnose und Labortechniken für die genetische Typisierung von KSPV-Isolaten.
2. Dieses Handbuch richtet sich im Wesentlichen an die für die Bekämpfung der Klassischen Schweinepest zuständigen Behörden und ist daher mehr den Prinzipien und Anwendungsbereichen von Laboruntersuchungen und der Auswertung von Laborbefunden gewidmet als detaillierten Labormethoden.
3. Im Sinne dieses Handbuchs gelten zusätzlich zu den Begriffsbestimmungen gemäß Artikel 2 der Richtlinie 2001/89/EG folgende Definitionen:
 - a) „seuchenverdächtiger Betrieb“: Schweinehaltungsbetrieb mit einem oder mehreren KSP-verdächtigen Schweinen oder Kontaktbetrieb im Sinne des Artikels 2 Buchstabe v) der Richtlinie 2001/89/EG;
 - b) „Einzelreagent“ (singleton reactor): einzelnes Schwein mit seropositivem KSP-Befund, das nicht mit dem KSP-Virus in Berührung gekommen ist und den Erreger nachweislich nicht auf Kontaktschweine übertragen hat ⁽²⁾;
 - c) „epidemiologische Untereinheit“ oder „Untereinheit“: Gebäude, Ort oder angrenzende Fläche, wo Gruppen von Schweinen innerhalb eines Betriebs so gehalten werden, dass sie häufig direkt oder indirekt miteinander in Berührung kommen, gleichzeitig jedoch von anderen Schweinen desselben Betriebs abgesondert sind;
 - d) „Kontaktschweine“: Schweine eines Betriebs, die in den letzten 21 Tagen direkten Kontakt zu einem oder mehreren KSPV-verdächtigen Schweinen hatten.

KAPITEL II

Charakteristik der Klassischen Schweinepest und Bedeutung der Differentialdiagnose

A. Einleitung

1. Der Erreger der Klassischen Schweinepest ist ein lipidumhülltes RNA-Virus des Genus Pestivirus der Familie Flaviviridae. Er ist verwandt mit den für die Virusdiarrhoe des Rindes (BVD) und die Border Disease des Schafes (BD) verantwortlichen Pestiviren. Diese Verwandtschaft ist für die Diagnose insofern bedeutsam, als Kreuzreaktionen auftreten, die zu falsch-positiven Laborbefunden führen können.

⁽¹⁾ Bei der Entscheidung über die Zahl der Probenahmen für Laboruntersuchungen ist die Empfindlichkeit der vorgesehenen Tests zu berücksichtigen. Ist der Test nicht sehr empfindlich, so müssen Proben von mehr Tieren entnommen werden als in diesem Handbuch vorgesehen.

⁽²⁾ Einzelreagenten können virusneutralisierende Antikörpertiter aufweisen, die vom Grenzfalle (die Regel) bis zu stark positiven Befunden reichen. Bei Wiederholungsuntersuchungen können Einzelreagenten einen abnehmenden oder konstanten Titerwert zeigen. Im Allgemeinen manifestieren sich diese falsch-positiven Reaktionen nur bei wenigen Tieren eines Bestands.

▼ B

2. Das KSP-Virus ist in Exkreten infizierter Schweine, in Schlachtkörpern, frischem Schweinefleisch und bestimmten Schweinefleischerzeugnissen relativ stabil. Es lässt sich durch Detergentien, flüssige Lösemittel, Proteasen und gängige Desinfektionsmittel wirksam abtöten.
3. Die Übertragung erfolgt auf natürlichem Wege, in der Regel oro-nasal, durch direkten oder indirekten Kontakt zu infizierten Schweinen oder durch Aufnahme kontaminierter Futtermittel. In Gebieten mit hoher Schweinebesatzdichte wird der Erreger leicht auf Nachbarbetriebe übertragen. Eine Infektion kann auch über das Sperma infizierter Eber erfolgen.
4. Die Inkubationszeit beträgt beim Einzeltier in der Regel 7-10 Tage; unter Feldbedingungen ist es jedoch nicht unüblich, dass sich in einem Betrieb klinische Symptome erst zwei bis vier Wochen nach der Viruseinschleppung oder noch später manifestieren, wenn nur ausgewachsene Zuchtschweine betroffen sind oder es sich um schwachvirulente Virusstämme handelt.
5. Die klinischen Symptome der Klassischen Schweinepest sind sehr variabel und können mit zahlreichen anderen Krankheiten verwechselt werden. Die Schwere der Symptome hängt im Wesentlichen vom Alter der Tiere und von der Virusvirulenz ab. Jungtiere sind gewöhnlich schwerer betroffen als ältere Tiere. Bei älteren Zuchttieren nimmt die Krankheit oft einen milden oder sogar subklinischen Verlauf.
6. Es wird zwischen akuter, chronischer und pränataler Verlaufsform unterschieden.

B. Akute Verlaufsform

1. Akut erkranken am häufigsten Absetzferkel und Mastschweine. Erste Anzeichen sind Anorexie, Lethargie, Fieber, Konjunktivitis, Lymphknotenschwellungen, Entzündungen des Respirationstraktes und Konstipation mit anschließender Diarrhoe.

Die typischen Hautblutungen an Ohr, Schwanz, Abdomen und der Innenseite der Gliedmaßen manifestieren sich in der Regel ab der zweiten und dritten Woche post infectionem bis zum Tod. Häufig beobachtete neurologische Symptome sind taumelnder Gang (Hinterläufe), unkoordinierte Bewegungen und Konvulsionen.

Akute KSP-Erkrankungen gehen stets mit Fieber einher, das in der Regel über 40 °C beträgt, bei ausgewachsenen Tieren mitunter jedoch nicht über 39,5 °C hinausgeht.

2. Das KSP-Virus verursacht schwere Leukopenie und Immunsuppression, die häufig zu enteralen oder respiratorischen Sekundärinfektionen führen, deren Symptome die typischen Anzeichen der Schweinepest verschleiern und den Tierhalter oder Tierarzt irreführen können.

Der Tod tritt in der Regel binnen eines Monats ein. Die Tiere, insbesondere ausgewachsene Zuchttiere mit schwachen Symptomen, können sich jedoch erholen und Antikörper ausbilden, die ab der 2.-3. Woche post infectionem feststellbar sind.

3. Bei der Sektion sichtbar werdende pathologische Veränderungen betreffen am häufigsten Lymphknoten und Nieren. Die Lymphknoten schwellen an, und es kommt zu Ödemen und Blutungen. Nierenblutungen reichen von kaum sichtbaren petechialen Blutungen bis zu ecchymatösen Hämorrhagien. Ähnliche Blutungen können auch in der Harnblase, an Kehlkopf, Kehldeckel und am Herzen sowie großflächig mitunter auch an Bauch- und Brustfell vorkommen. Häufig wird eine nichteitrige Enzephalitis festgestellt. Etwaige, durch Sekundärinfektionen bedingte Läsionen können den Tierarzt irreführen. Infarkte in der Milz gelten als pathognomonisch, sind aber eher selten.
4. Im Allgemeinen geht die akute Form der Afrikanischen Schweinepest mit einem klinischen und pathologischen Krankheitsbild einher, das dem der Klassischen Schweinepest sehr ähnlich ist. Etwaige Haut- und Ohrenblutungen sind relativ gut erkennbar und lenken den Verdacht automatisch auf akute Afrikanische oder Klassische Schweinepest; derartige Läsionen bilden sich nur bei wenigen anderen Krankheiten aus.

▼B

Akute Klassische Schweinepest muss auch in Betracht gezogen werden bei Verdacht auf Rotlauf, seuchenhaftem Spätabort, Kuminvergiftung, Thrombozytopenische Purpura, multisystemisches Kümmerwuchssyndrom der Absetzferkel, porcine Dermatitis und Nephropathiesyndrom, Salmoneiose, Pasteurelose oder andere enterale oder respiratorische fieberhafte Syndrome, die auf eine antibiotische Behandlung nicht ansprechen.

5. Das KSP-Virus wird ab den ersten klinischen Symptomen bis zum Tod über Speichel, Urin und Kot ausgeschieden. Es kann auch durch Sperma übertragen werden.

C. Chronische Verlaufsform

1. Die Seuche verläuft chronisch, wenn Schweine keine wirksame Immunantwort gegen das Virus ausbilden können. Die ersten Anzeichen einer chronischen Infektion entsprechen in etwa denen der akuten Form. Danach überwiegen unspezifische Symptome, d. h. intermittierendes Fieber, chronische Enteritis und Kümern. Die typischen Hautblutungen fehlen.

Die Schweine können 2-3 Monate lang klinische Symptome zeigen, bevor sie sterben. Der Erreger wird ab dem Auftreten klinischer Symptome bis zum Tod des Tieres kontinuierlich ausgeschieden. In Serumproben können zeitweilig Antikörper nachgewiesen werden.

2. Pathologische Veränderungen sind weniger typisch; Blutungen an Organen und serösen Häuten fehlen häufig ganz. Bei Tieren mit chronischer Diarrhoe zeigen sich häufig nekrotische Läsionen an Ileum, Ileozäkalklappe und Rektum.
3. Da die klinischen Anzeichen der chronischen Verlaufsform eher unspezifisch sind, muss die Seuche differentialdiagnostisch von vielen anderen Krankheiten abgegrenzt werden. Erhöhte Körpertemperatur findet sich nicht unbedingt bei jedem Tier; allerdings sind in einem infizierten Betrieb jedoch immer einige Tiere mit Fieber betroffen.

D. Pränatale Verlaufsform und spätes Einsetzen der Krankheit („late onset disease“)

1. Das KSP-Virus kann über die Plazenta der trächtigen Sau auf den Fötus übertragen werden, wobei die Sau oft subklinisch infiziert ist.

Der Verlauf der transplazentalen Infektion des Fötus hängt weitgehend vom Trächtigkeitsstadium und von der Virusvirulenz ab. Eine Infektion im Frühstadium der Trächtigkeit kann zu Abort und Totgeburt, Mumifikation und Missbildungen führen und den Fertilitätsindex des Betriebs beeinträchtigen.

Eine Infektion der Sau vor dem 90. Trächtigkeitstag kann zu Würfen persistent virämischer Ferkel führen, die zum Zeitpunkt der Geburt klinisch normal erscheinen können und mehrere Monate überleben. Nach der Geburt können diese Ferkel kümern; gelegentlich kommt es zu kongenitalem Tremor. Dieser Krankheitsverlauf ist als „spät einsetzende“ (late onset) Klassische Schweinepest bekannt. Diese Ferkel können eine entscheidende Rolle für die Verbreitung der Erkrankung und die Aufrechterhaltung einer Viruspersistenz in der Population haben, da sie bis zum Tod konstant Virus ausscheiden.

2. Der Nachweis der Klassischen Schweinepest kann sich vor allem in Zuchtbeständen als schwierig erweisen, in denen die Seuche möglicherweise sehr mild verläuft und daher mit vielen anderen pathologischen Zuständen verwechselt werden kann. ► **C1** Fruchtbarkeitsstörungen und Aborte können sowohl durch Klassische Schweinepest als auch durch Parvovirus-Infektionen, PRRS, Leptospirose und Aujeszky-Krankheit hervorgerufen werden. ◀ KSP-bedingtes Abortmaterial lässt sich von abortierten Föten infolge anderer Krankheiten pathologisch nicht unterscheiden.

Bei Verdacht auf Infektion des Reproduktionstraktes muss sofort auf Klassische Schweinepest untersucht werden, wenn der betroffene Betrieb (z. B. aufgrund seines Standorts in einem Gebiet mit Schweinepestvorkommen in der Schwarzwildpopulation) seuchengefährdet ist. Die Untersuchung auf Schweinepest muss jedoch in jedem Fall erfolgen, wenn gängige Infektionen des Reproduktionstraktes ausgeschlossen wurden.

▼B

KAPITEL III

Leitlinien für die Festlegung der Hauptkriterien für die Erkennung KSP-verdächtiger Betriebe

Die Entscheidung über die Ausweisung eines Betriebs als KSP-verdächtig wird auf der Grundlage folgender Feststellungen, Kriterien und Argumente getroffen:

- a) klinische Symptome und pathologische Veränderungen bei Schweinen, wobei im Wesentlichen folgende Befunde berücksichtigt werden:
- Fieber, einhergehend mit erhöhter Morbidität und Mortalität,
 - Fieber, einhergehend mit hämorrhagischem Syndrom,
 - Fieber, einhergehend mit neurologischen Symptomen,
 - Fieber mit unbekannter Ursache, wobei sich der Gesundheitszustand nach antibiotischer Behandlung nicht gebessert hat,
 - Aborte und zunehmende Fruchtbarkeitsstörungen in den letzten drei Monaten,
 - kongenitaler Tremor bei Ferkeln,
 - chronisch kranke Tiere,
 - Jungtiere mit Wachstumsstörungen (Kümmern),
 - petechiale und ecchymatöse Blutungen, vor allem in Lymphknoten, Nieren, Milz, Harnblase und am Kehlkopf,
 - Infarkt oder Hämatome, vor allem in der Milz,
 - Diphtheroide Ulcera („button ulcera“), vor allem nahe der Ileozäkalklappe;
- b) epidemiologische Befunde, wobei im Wesentlichen die Fälle berücksichtigt werden, in denen
- Schweine direkt oder indirekt mit einem Schweinehaltungsbetrieb in Berührung gekommen sind, der nachweislich KSPV-infiziert war,
 - ein Betrieb Schweine geliefert hat, die sich anschließend als KSPV-infiziert herausgestellt haben,
 - Sauen mit Sperma KSP-verdächtiger Eber künstlich besamt wurden,
 - Schweine direkt oder indirekt mit Wildschweinen einer KSP-infizierten Population in Berührung gekommen sind,
 - Schweine in einer Region im Freien gehalten werden, in der die Schwarzwildpopulation mit KSPV infiziert ist,
 - Schweine mit Küchenabfällen gefüttert wurden und der Verdacht besteht, dass diese Abfälle keiner KSPV-abtötenden Behandlung unterzogen wurden,
 - Schweine möglicherweise durch Personen, Fahrzeuge mit Betriebszugang usw. gefährdet wurden;
- c) serologische Befunde, wobei im Wesentlichen folgende Befunde berücksichtigt werden:
- serologische Reaktionen infolge einer latenten KSPV-Infektion oder Impfung ⁽¹⁾,
 - Kreuzreaktionen zwischen KSPV- und anderen Pestivirus-Antikörpern ⁽²⁾,
 - Einzelreagenten ⁽³⁾.

⁽¹⁾ Soweit Schweine mit einem konventionellen Impfstoff gegen Klassische Schweinepest geimpft wurden, können sie allein aufgrund dieser Impfung oder aufgrund einer latenten Infektion geimpfter Tiere seropositiv reagieren.

⁽²⁾ Unter bestimmten Umständen können bis zu 10 % der Schweine eines Bestands Antikörper gegen die Bovine Virusdiarrhöe (BVD) und Border Disease (BD) hervorrufenden Wiederkäuer-Pestiviren ausbilden, z. B. wenn Schweine direkt mit BVDV- oder BDV-infizierten Rindern oder Schafen oder mit Material in Berührung gekommen sind, das mit Wiederkäuer-Pestiviren infiziert ist.

⁽³⁾ Alle gängigen serologischen KSP-Tests ergeben regelmäßig einige wenige falsch-positive Befunde, entweder, weil der Test zu unspezifisch ist oder weil das Serum von Einzelreagenten stammt.



KAPITEL IV

*Verfahrensvorschriften für Kontrollen und Stichprobenuntersuchungen***A. Leitlinien und Verfahrensvorschriften für die klinische Untersuchung und Beprobung von Schweinen in seuchenverdächtigen Betrieben**

1. Die Mitgliedstaaten tragen dafür Sorge, dass in seuchenverdächtigen Betrieben nach den Leitlinien und Verfahrensvorschriften gemäß Nummern 2 bis 7 geeignete klinische Untersuchungen, Stichproben und Laboruntersuchungen durchgeführt werden, um den Verdacht auf Klassische Schweinepest zu bestätigen oder zu entkräften.

Unbeschadet der Durchführung der Maßnahmen gemäß Artikel 4 Absatz 2 der Richtlinie 2001/89/EG in dem betreffenden Betrieb gelten diese Leitlinien und Verfahrensvorschriften auch in Seuchenfällen, in denen im Rahmen der Differentialdiagnose auch auf Klassische Schweinepest getestet wird. Dies gilt auch, wenn die festgestellten klinischen Symptome und der Seuchenverlauf nur mit sehr geringer Wahrscheinlichkeit auf Klassische Schweinepest schließen lassen.

In allen anderen Fällen, in denen ein oder mehrere Schweine KSP-verdächtig sind, werden in dem betreffenden Betrieb die Maßnahmen gemäß Artikel 4 Absatz 2 der Richtlinie 2001/89/EG durchgeführt.

Die Leitlinien und Verfahrensvorschriften gemäß Nummern 2 bis 7 gelten analog, wenn bei Schweinen im Schlachthof und in einem Transportmittel KSP-Verdacht aufkommt.

2. Führt ein amtlicher Tierarzt zur Bestätigung oder Entkräftigung eines KSP-Verdachts eine Betriebsbesichtigung durch, so kontrolliert er

- alle Produktionsbücher und tiergesundheitlichen Aufzeichnungen des Betriebs, soweit vorhanden;
- jede Untereinheit des Betriebs, um die der klinischen Untersuchung zu unterziehenden Schweine auszusondern.

Die klinische Untersuchung umfasst in jedem Fall die Messung der Körpertemperatur und betrifft in erster Linie folgende Tiere oder Tiergruppen:

- kranke oder Schweine mit Anorexie;
- kürzlich von einer Krankheit genesene Schweine;
- Schweine, die kürzlich aus bestätigten Seuchenbetrieben oder anderen Verdachtsquellen bezogen wurden;
- Schweine in Untereinheiten, zu denen kürzlich betriebsfremde Personen Zugang hatten, die in letzter Zeit mit KSP-verdächtigen oder KSP-infizierten Schweinen in Berührung gekommen sind oder bei denen sich andere Kontakte herausgestellt haben, die hinsichtlich der KSP ein besonderes Übertragungsrisiko darstellen;
- bereits im Rahmen einer Stichprobe serologisch auf KSP untersuchte Schweine, soweit KSP aufgrund der Untersuchungsbefunde nicht ausgeschlossen werden kann, sowie Kontaktschweine.

Wurden im Rahmen der Besichtigung des seuchenverdächtigen Betriebs keine Tiere oder Tiergruppen im Sinne des vorstehenden Unterabsatzes identifiziert, so trägt die zuständige Behörde unbeschadet anderer Maßnahmen, die gemäß Artikel 4 Absatz 2 der Richtlinie 2001/89/EG möglicherweise in dem betreffenden Betrieb durchgeführt werden, und unter Berücksichtigung der Seuchenlage, dafür Sorge, dass

- in dem betreffenden Betrieb gemäß Nummer 3 weitere Untersuchungen durchgeführt werden, oder
- von den Schweinen des betreffenden Betriebs Blutproben für Laboruntersuchungen entnommen werden, wobei als Leitlinien die Verfahrensvorschriften für Stichprobenuntersuchungen gemäß Nummer 5 und Abschnitt F Nummer 2 zu beachten sind, oder

▼B

— in Erwartung weiterer Untersuchungen in dem betreffenden Betrieb die Maßnahmen gemäß Artikel 4 Absatz 2 der Richtlinie 2001/89/EG durch- oder fortgeführt werden, oder

— der Verdacht auf Klassische Schweinepest endgültig ausgeschlossen wird.

3. Wird auf diesen Absatz Bezug genommen, so ist die klinische Untersuchung in dem betreffenden Betrieb an Schweinen durchzuführen, die nach dem Zufallsprinzip aus den Untereinheiten ausgewählt wurden, bei denen nachweislich die Gefahr der Einschleppung des KSP-Virus besteht oder vermutet wird.

Dabei sind mindestens so viele Schweine zu untersuchen, dass mit einer Nachweissicherheit von 95 % eine Fieberprävalenz von 10 % festgestellt werden kann,

außer im Falle von

— Zuchtsauen, bei denen mindestens so viele Sauen zu untersuchen sind, dass mit einer Nachweissicherheit von 95 % eine Fieberprävalenz von 5 % festgestellt werden kann;

— Besamungsstationen, bei denen ausnahmslos alle Eber untersucht werden müssen.

4. Werden in einem seuchenverdächtigen Betrieb tote oder moribunde Schweine festgestellt, so müssen mindestens fünf Schweine einer pathologischen Untersuchung unterzogen werden, insbesondere solche, die

— eindeutige Krankheitsanzeichen zeigen oder vor ihrem Tod gezeigt haben,

— hohes Fieber haben,

— kürzlich verendet sind.

Werden bei diesen Untersuchungen keine KSP-typischen Läsionen festgestellt, werden aufgrund der Seuchenlage jedoch weitere Untersuchungen für erforderlich gehalten, so

— müssen in der Untereinheit, in der die toten oder moribunden Tiere gehalten wurden, eine klinische Untersuchung gemäß Nummer 3 sowie Blutuntersuchungen gemäß Nummer 5 durchgeführt werden, und

— können 3-4 Kontakttiere pathomorphologisch untersucht werden.

Ungeachtet des Vorhandenseins oder Nichtvorhandenseins von auf KSP hindeutenden Läsionen sind bei der Sektion Organ- oder Gewebeprobe zu entnehmen und gemäß Kapitel V Abschnitt B Nummer 1 virologisch zu untersuchen. Die Proben sind vorzugsweise von kürzlich verendeten Tieren zu entnehmen.

Im Falle der pathomorphologischen Untersuchung muss die zuständige Behörde sicherstellen, dass

— alle erforderlichen Maßnahmen und Hygienevorkehrungen getroffen werden, um eine Verschleppung des Erregers zu verhüten, und

— moribunde Tiere im Sinne der Richtlinie 93/119/EWG des Rates tierartgerecht (oder schmerzfrei) getötet werden.

5. Werden in einem seuchenverdächtigen Betrieb weitere auf KSP hindeutende klinische Symptome oder Läsionen festgestellt, ist die zuständige Behörde jedoch der Auffassung, dass diese Befunde zur Bestätigung eines KSP-Ausbruchs nicht ausreichen und eine Laboruntersuchung daher erforderlich ist, so sind von den seuchenverdächtigen und den anderen Schweinen jeder Untereinheit, in der seuchenverdächtige Schweine gehalten werden, gemäß den nachstehenden Verfahrensvorschriften Blutproben für Laboruntersuchungen zu entnehmen.

Für die serologischen Untersuchungen sind mindestens so viele Proben zu entnehmen, dass in jeder der betroffenen Untereinheiten mit einer Nachweissicherheit von 95 % eine Seroprävalenz von 10 % festgestellt werden kann,

▼B

außer im Falle von

- Zuchtsauen, bei denen mindestens so viele Sauen zu untersuchen sind, dass mit einer Nachweissicherheit von 95 % eine Seroprävalenz von 5 % festgestellt werden kann ⁽¹⁾;
- Besamungsstationen, bei denen von ausnahmslos allen Ebern Blutproben zu ziehen sind.

Die Anzahl der Proben, die für virologische Untersuchungen zu entnehmen sind, wird von der zuständigen Behörde vorgegeben und trägt den anzuwendenden Methoden, ihrer Sensitivität und der Seuchenlage Rechnung.

6. Ergibt sich ein Zusammenhang zwischen dem KSP-Verdacht in dem betreffenden Betrieb und den Ergebnissen vorheriger serologischer Untersuchungen, so werden zusätzlich zu den Blutproben, die von den Schweinen gemäß Nummer 2 Unterabsatz 2 fünfter Gedankenstrich zu entnehmen sind, folgende Maßnahmen durchgeführt:
 - a) Handelt es sich bei den seropositiven Schweinen um trächtige Sauen, so sind einige dieser Tiere, jedoch möglichst nicht weniger als drei, schmerzlos zu töten und pathomorphologisch zu untersuchen. Vor dem Töten sind für weitere serologische Untersuchungen Blutproben zu ziehen. Zur Feststellung einer etwaigen intrauterinen Infektion werden die Föten gemäß Kapitel VI auf KSP-Virus, KSPV-Antigen oder KSPV-Genom untersucht;
 - b) handelt es sich bei den seropositiven Schweinen um ferkelführende Sauen, so sind von allen Ferkeln Blutproben zu ziehen und gemäß Kapitel VI auf KSP-Virus, KSPV-Antigen oder KSPV-Genom zu untersuchen. Von den Sauen sind für weitere serologische Untersuchungen ebenfalls Blutproben zu ziehen.
7. Werden im Zuge der Untersuchungen, die in dem seuchenverdächtigen Betrieb durchgeführt werden, weder klinische Symptome noch Läsionen festgestellt, die auf KSP schließen lassen, hält die zuständige Behörde zur Entkräftung des KSP-Verdachts jedoch weitere Laboruntersuchungen für erforderlich, so werden als Leitlinien die Verfahrensvorschriften für Stichprobenuntersuchungen gemäß Nummer 5 herangezogen.

B. Verfahrensvorschriften für Stichprobenuntersuchungen in einem Betrieb für den Fall, dass Schweine aufgrund der Seuchenbestätigung getötet werden müssen

1. Um den Weg der Einschleppung des KSP-Virus in einen Betrieb und die Dauer seit seiner Einschleppung ermitteln zu können, sind zum Zeitpunkt der Tötung der Schweine nach Bestätigung des Ausbruchs gemäß Artikel 5 Absatz 1 Buchstabe a) der Richtlinie 2001/89/EG von den betreffenden Tieren nach dem Zufallsprinzip Blutproben zu entnehmen und serologisch zu untersuchen.
2. Dabei sind mindestens so viele Proben zu entnehmen, dass in jeder der betreffenden Untereinheiten des Betriebs mit einer Nachweissicherheit von 95 % eine Seroprävalenz von 10 % festgestellt werden kann ⁽²⁾.

Die Anzahl der Proben, die für virologische Untersuchungen zu entnehmen sind, wird von der zuständigen Behörde vorgegeben und trägt den anzuwendenden Methoden, ihrer Sensitivität und der Seuchenlage Rechnung.

3. Im Falle von Sekundärausbrüchen kann die zuständige Behörde jedoch beschließen, von den Bestimmungen der Nummern 1 und 2 abzuweichen und „ad hoc“-Verfahrensvorschriften für Stichprobenuntersuchungen festzulegen, die den für den Primärherd bereits vorliegenden epidemiologischen Daten, dem Weg der Viruseinschleppung in den Betrieb und der potenziellen Weiterverschleppung des Virus aus dem Betrieb Rechnung tragen.

⁽¹⁾ In bestimmten Fällen, z. B. wenn ein Schweinehaltungsbetrieb mit einer begrenzten Anzahl Jungtiere KSP-verdächtig ist, kann der Anteil infizierter Sauen sehr gering sein. In diesen Fällen müssen von einer größeren Anzahl Sauen Proben entnommen werden.

⁽²⁾ Wurde jedoch von der Ausnahmeregelung gemäß Artikel 6 Absatz 1 der Richtlinie 2001/89/EG Gebrauch gemacht, so betrifft die Stichprobenuntersuchung (unbeschadet aller weiteren Untersuchungen und Stichprobenuntersuchungen der restlichen Schweine des Betriebs, die nach den Vorgaben der zuständigen Behörde durchgeführt werden sollen) auf jeden Fall die Untereinheiten, in denen Schweine getötet wurden.

▼B**C. Verfahrensvorschriften für Stichprobenuntersuchungen für den Fall, dass Schweine in einem seuchenverdächtigen Betrieb präventiv getötet werden müssen**

1. Um den Verdacht auf Klassische Schweinepest bestätigen oder entkräften zu können und um zusätzliche epidemiologische Informationen einzuholen, sind zum Zeitpunkt der präventiven Tötung der Schweine in einem seuchenverdächtigen Betrieb gemäß Artikel 4 Absatz 3 Buchstabe a) oder Artikel 7 Absatz 2 der Richtlinie 2001/89/EG und nach den Verfahrensvorschriften gemäß Nummer 2 von den betreffenden Tieren Blutproben für serologische Untersuchungen sowie Blut- und Tonsillenproben für virologische Untersuchungen zu entnehmen.

2. Die Stichprobenuntersuchung betrifft in erster Linie

- Schweine mit KSP-typischen Symptomen oder Sektionsbefunden sowie Kontaktschweine;
- andere Schweine, die möglicherweise mit KSPV-infizierten oder KSP-verdächtigen Schweinen in Berührung gekommen sind, oder bei denen der Verdacht besteht, dass sie kontaminiert sind.

Die Stichprobenuntersuchung erfolgt nach den Vorgaben der zuständigen Behörde, die der Seuchenlage Rechnung trägt. In diesem Falle werden als Leitlinien die Vorschriften für Stichprobenuntersuchungen gemäß den Unterabsätzen 2, 3 und 4 dieser Nummer herangezogen.

Darüber hinaus müssen die aus jeder einzelnen Untereinheit des Betriebs abgehenden Schweine nach dem Zufallsprinzip beprobt werden⁽¹⁾. Dabei sind für die serologische Untersuchung mindestens so viele Proben zu entnehmen, dass in jeder der betreffenden Untereinheiten mit einer Nachweissicherheit von 95 % eine Seroprävalenz von 10 % festgestellt werden kann,

außer im Falle von

- Zuchtsauen, bei denen mindestens so viele Sauen zu untersuchen sind, dass mit einer Nachweissicherheit von 95 % eine Seroprävalenz von 5 % festgestellt werden kann⁽²⁾;
- Besamungsstationen, bei denen ausnahmslos von allen Ebern Blutproben zu entnehmen sind.

Die Anzahl der Proben, die für virologische Untersuchungen zu entnehmen sind, wird von der zuständigen Behörde vorgegeben und trägt den anzuwendenden Methoden, ihrer Sensitivität und der Seuchenlage Rechnung.

D. Verfahrensvorschriften für Kontrollen und Stichprobenuntersuchungen als Vorbedingung für die Genehmigung der Verbringung von Schweinen aus Betrieben in Schutz- oder Überwachungszonen und für den Fall der Schlachtung oder Tötung dieser Tiere

1. Unbeschadet der Bestimmungen gemäß Artikel 11 Absatz 1 Buchstabe f) zweiter Unterabsatz der Richtlinie 2001/89/EG sind die klinischen Untersuchungen, die von einem amtlichen Tierarzt durchzuführen sind, bevor die Verbringung von Schweinen aus Betrieben in Schutz- oder Überwachungszonen gemäß Artikel 10 Absatz 3 der genannten Richtlinie genehmigt werden kann,

- innerhalb von 24 Stunden vor der Verbringung der Tiere vorzunehmen;
- gemäß den Bestimmungen von Abschnitt A Nummer 2 vorzunehmen.

⁽¹⁾ Wurde die Präventivtötung von der zuständigen Behörde jedoch gemäß Artikel 4 Absatz 3 Buchstabe a) der Richtlinie 2001/89/EG auf den Betriebsteil beschränkt, in dem die Schweine, bei denen Verdacht auf Infektion oder Kontamination mit dem KSP-Virus besteht, gehalten werden, so betrifft die Stichprobenuntersuchung auf jeden Fall die Untereinheiten des Betriebs, in dem diese Maßnahme angewendet wurde, und zwar unbeschadet aller weiteren Untersuchungen und Stichprobenuntersuchungen der restlichen Schweine des Betriebs, die nach Anweisung der zuständigen Behörde durchgeführt werden.

⁽²⁾ In bestimmten Fällen, z. B. wenn ein Schweinehaltungsbetrieb mit einer begrenzten Anzahl Jungtiere KSP-verdächtig ist, kann der Anteil infizierter Sauen sehr gering sein. In diesen Fällen sind von einer größeren Anzahl Sauen Proben zu entnehmen.

▼B

2. Soweit Schweine in einen anderen Betrieb verbracht werden sollen, sind zusätzlich zu den Untersuchungen gemäß Nummer 1 alle Schweine in den Untereinheiten des Betriebs klinisch zu untersuchen, in denen die zu verbringenden Schweine gehalten werden. Im Falle von über 3-4 Monate alten Schweinen umfasst diese Untersuchung bei einer bestimmten Anzahl Tiere auch die Messung der Körpertemperatur.

Es sind mindestens so viele Schweine zu untersuchen, dass in diesen Untereinheiten mit einer Nachweissicherheit von 95 % eine Fieberprävalenz von 10 % festgestellt werden kann,

außer im Falle von

— Zuchtsauen, bei denen mindestens so viele Sauen zu untersuchen sind, dass in der Untereinheit, in der die zu verbringenden Sauen gehalten werden, mit einer Nachweissicherheit von 95 % eine Fieberprävalenz von 5 % festgestellt werden kann;

— Ebern, bei denen alle zu verbringenden Tiere zu untersuchen sind.

3. Soweit Schweine zu einem Schlachthof, einem Verarbeitungsbetrieb oder an andere Orte verbracht werden sollen, um dort geschlachtet oder getötet zu werden, sind zusätzlich zu den Untersuchungen gemäß Nummer 1 alle Schweine in den Untereinheiten, in denen die zu verbringenden Schweine gehalten werden, auch klinisch zu untersuchen. Im Falle von über 3-4 Monate alten Schweinen umfasst diese Untersuchung bei einer bestimmten Anzahl Schweine auch die Messung der Körpertemperatur.

Es sind mindestens so viele Schweine zu untersuchen, dass in der betreffenden Untereinheit mit einer Nachweissicherheit von 95 % eine Fieberprävalenz von 20 % festgestellt werden kann.

Im Falle von Zuchtsauen oder Ebern müssen jedoch mindestens so viele Schweine untersucht werden, dass in der Untereinheit, in der die zu verbringenden Schweine gehalten werden, mit einer Nachweissicherheit von 95 % eine Fieberprävalenz von 5 % festgestellt werden kann.

4. Soweit Schweine gemäß Nummer 3 geschlachtet oder getötet werden, sind von Schweinen aus jeder Untereinheit, aus der Schweine verbracht wurden, Blutproben für serologische Untersuchungen oder Blut- oder Tonsillenproben für virologische Untersuchungen zu entnehmen.

Dabei sind mindestens so viele Schweine zu untersuchen, dass in jeder Untereinheit mit einer Nachweissicherheit von 95 % eine Seroprävalenz von 10 % festgestellt werden kann.

Im Falle von Zuchtsauen oder Ebern müssen jedoch mindestens so viele Schweine untersucht werden, dass in der Untereinheit, in der die Tiere gehalten wurden, mit einer Nachweissicherheit von 95 % eine Seroprävalenz von 5 % festgestellt werden kann.

Die Anzahl der Proben, die für virologische Untersuchungen zu entnehmen sind, wird von der zuständigen Behörde vorgegeben und trägt den anzuwendenden Methoden, ihrer Sensitivität und der Seuchenlage Rechnung.

5. Werden jedoch im Zuge der Schlachtung oder Tötung der Tiere klinische Symptome oder pathologische Läsionen festgestellt, die auf Klassische Schweinepest schließen lassen, so gelten abweichend von Nummer 4 die Verfahrensvorschriften für Stichprobenuntersuchungen gemäß Abschnitt C.

E. Verfahrensvorschriften für Kontrollen und Stichprobenuntersuchungen bei Wiederbelegung von Betrieben

1. Bei der Wiedereinstellung von Schweinen in einen Betrieb gemäß Artikel 13 Absatz 2 Buchstabe a) oder Absatz 2 Buchstabe b) oder Artikel 19 Absatz 8 Unterabsatz 2 Buchstabe b) der Richtlinie 2001/89/EG sind folgende Stichprobenuntersuchungen durchzuführen:

— Bei Wiederbelegung mit Sentinel-Schweinen sind für die serologische Untersuchung nach dem Zufallsprinzip so viele Blutproben zu entnehmen, dass in jeder Untereinheit des Betriebs mit einer Nachweissicherheit von 95 % eine Seroprävalenz von 10 % festgestellt werden kann;

▼B

- bei vollständiger Wiederbelegung sind für die serologische Untersuchung nach dem Zufallsprinzip so viele Blutproben zu entnehmen, dass in jeder Untereinheit des Betriebs mit einer Nachweissicherheit von 95 % eine Seroprävalenz von 20 % festgestellt werden kann.

Bei Zuchtsauen oder Ebern müssen jedoch so viele Proben entnommen werden, dass mit einer Nachweissicherheit von 95 % eine Seroprävalenz von 10 % festgestellt werden kann.

2. Nach der Wiederbelegung trägt die zuständige Behörde dafür Sorge, dass für den Fall, dass Schweine in diesem Betrieb aus unbekanntem Gründen erkranken oder verenden, diese Tiere unverzüglich auf klassische Schweinepest untersucht werden. Diese Bestimmungen gelten bis zur Aufhebung der für den betreffenden Betrieb geltenden Beschränkungen gemäß Artikel 13 Absatz 2 Buchstabe a) Unterabsatz 2 und Artikel 19 Absatz 8 Unterabsatz 2 Buchstabe b) zweiter Satz der Richtlinie 2001/89/EG.

F. Verfahrensvorschriften für Stichprobenuntersuchungen in Betrieben in der Schutzzone als Vorbedingung für die Aufhebung von Beschränkungen

1. Damit die Maßnahmen gemäß Artikel 10 der Richtlinie 2001/89/EG in einer Schutzzone aufgehoben werden können, sind in allen Betrieben in dieser Zone

- klinische Untersuchungen nach den Verfahrensvorschriften in Abschnitt A Nummern 2 und 3 durchzuführen;
- Blutproben für serologische Untersuchungen gemäß Nummer 2 zu entnehmen.

2. Dabei sind mindestens so viele Blutproben zu entnehmen, dass in jeder Untereinheit des Betriebs mit einer Nachweissicherheit von 95 % eine Seroprävalenz von 10 % festgestellt werden kann,

außer im Falle von

- Zuchtsauen, bei denen mindestens so viele Proben zu entnehmen sind, dass mit einer Nachweissicherheit von 95 % eine Seroprävalenz von 5 % festgestellt werden kann;
- Besamungsstationen, in denen ausnahmslos von allen Ebern Blutproben zu entnehmen sind.

G. Verfahrensvorschriften für Stichprobenuntersuchungen in Betrieben in der Überwachungszone als Vorbedingung für die Aufhebung von Beschränkungen

1. Damit die Maßnahmen gemäß Artikel 11 der Richtlinie 2001/89/EG in einer Schutzzone aufgehoben werden können, sind in allen Betrieben in dieser Zone nach dem Verfahren des Abschnitts A Nummer 2 klinische Untersuchungen durchzuführen.

Darüber hinaus sind für serologische Untersuchungen Blutproben zu entnehmen

- in allen Betrieben, in denen keine Schweine im Alter von zwei bis acht Monaten gehalten werden;
- wenn die zuständige Behörde befürchtet, dass die klassische Schweinepest unbemerkt in Zuchtsauenbeständen eingeschleppt wurde;
- in allen anderen Betrieben, in denen die zuständige Behörde Stichprobenuntersuchungen für erforderlich hält;
- in allen Besamungsstationen.

2. Die Zahl der Blutproben, die in Betrieben in der Überwachungszone für serologische Untersuchungen entnommen werden, entspricht den Vorgaben gemäß Abschnitt F Nummer 2. Befürchtet die zuständige Behörde jedoch, dass die klassische Schweinepest unbemerkt bei Zuchtsauen vorkommt, so müssen nur die Untereinheiten, in denen diese Tiere gehalten werden, beprobt werden.

▼B**H. Verfahrensvorschriften für die serologische Überwachung und Stichproben-Untersuchungen in Gebieten, in denen Klassische Schweinepest in Wildschweinbeständen vermutet wird oder bestätigt wurde**

1. Zur serologischen Überwachung von Wildschweinen in Gebieten, in denen die Klassische Schweinepest bestätigt wurde oder vermutet wird, sollten zunächst Größe und geographisches Gebiet der zu untersuchenden Zielpopulation bestimmt werden, damit die Zahl der zu entnehmenden Proben festgelegt werden kann. Der Stichprobenumfang richtet sich nicht nach der Anzahl erlegter Tiere, sondern vielmehr nach der geschätzten Anzahl lebender Tiere.
2. Liegen keine Angaben über Größe und Dichte der Wildschweinpopulation vor, so muss das geographische Gebiet festgelegt werden, in dem die Stichprobenuntersuchung durchgeführt werden soll, wobei als Anhaltspunkt die kontinuierliche Präsenz von Wildschweinen sowie das Vorhandensein natürlicher oder künstlicher Hindernisse heranzuziehen sind, die groß genug sein sollten, um umfangreiche und kontinuierliche Tierwanderungen zu verhindern. Sind derartige Abgrenzungen nicht gegeben oder handelt es sich um große Gebiete, so empfiehlt es sich, Stichprobengebiete im Umfang von maximal 200 km² festzulegen, bei denen mit einer lebenden Wildschweinpopulation von 400-1 000 Tieren gerechnet werden kann.
3. Unbeschadet der Bestimmungen des Artikels 15 Absatz 2 Buchstabe c) der Richtlinie 2001/89/EG müssen innerhalb des Stichprobengebiets mindestens so viele Schweine untersucht werden, dass mit einer Nachweissicherheit von 95 % eine Seroprävalenz von 5 % festgestellt werden kann. Entsprechend sind in jedem festgelegten Gebiet mindestens 59 Tiere der Stichprobenuntersuchung zu unterziehen.

Darüber hinaus sollte sichergestellt werden, dass

- in Gebieten, in denen der Jagddruck höher ist und in denen regelmäßig oder im Interesse der Seuchenbekämpfung selektiv gejagt wird, ungefähr 50 % der zu untersuchenden Tiere in die Altersklasse 3-12 Monate, 35 % in die Altersklasse 1-2 Jahre und 15 % in die Altersklasse der über zwei Jahre alten Tiere fallen;
 - in Gebieten, in denen der Jagddruck sehr niedrig bzw. inexistent ist, für jede der drei Altersklassen mindestens 32 Tiere untersucht werden;
 - die Beprobung innerhalb kurzer Zeit, d. h. möglichst innerhalb eines Monats, durchgeführt wird;
 - das Alter der untersuchten Tiere nach dem Zahndurchbruch bestimmt wird.
4. Die Entnahme von Proben für die virologische Untersuchung von Wildschweinen, die erlegt oder verendet aufgefunden wurden, ist gemäß Kapitel V Abschnitt B Nummer 1 durchzuführen.

Wird die virologische Überwachung erlegter Wildschweine für erforderlich gehalten, so sollte sie in erster Linie bei Tieren im Alter von 3-12 Monaten erfolgen.
 5. Allen Proben, die zum Labor weitergeleitet werden, muss der Fragebogen gemäß Artikel 16 Absatz 3 Buchstabe l) der Richtlinie 2001/89/EG beiliegen.

KAPITEL V**Allgemeine Verfahrensvorschriften und Kriterien für die Entnahme und Beförderung von Proben****A. Allgemeine Verfahrensvorschriften und Kriterien**

1. Bevor mit der Probennahme in einem seuchenverdächtigen Betrieb begonnen wird, ist ein Grundriss des Betriebs anzufertigen, auf dem die epidemiologischen Untereinheiten eingezeichnet sind.
2. Wenn zu erwarten ist, dass eine Zweitbeprobung notwendig werden könnte, sind die betreffenden Schweine unverwechselbar in einer Weise zu kennzeichnen, dass sie leicht erneut beprobt werden können.

▼B

3. Unbeschadet der Bestimmungen des Kapitels IV Abschnitt A Nummer 5 Buchstabe b) dürfen weniger als acht Wochen alte Ferkel nicht serologisch getestet werden.
4. Allen Proben müssen bei der Beförderung zum Labor die von der zuständigen Behörde vorgegebenen Formulare beiliegen, die Angaben zur Krankheitsgeschichte der beprobten Schweine sowie über die klinischen Symptome bzw. Sektionsbefunde enthalten.

Werden die Schweine in Betrieben gehalten, so sind genaue Angaben über Alter, Kategorie und Herkunftsbetrieb der beprobten Tiere zu machen. Es wird empfohlen, den Standort jedes beprobten Schweins, zusammen mit seinem Einzelkennzeichen zu erfassen.

B. Entnahme von Proben für virologische Untersuchungen

1. Zum Nachweis des KSP-Virus, KSPV-Antigens oder KSPV-Genoms bei toten oder schmerzlos getöteten Schweinen sind Proben von Tonsillen, Milz und Niere am besten geeignet. Ferner wird empfohlen, zwei Proben von anderen Lymphgeweben (z. B. Ln. retropharyngeum, Ln. parotideum, Ln. mandibulare oder Ln. mesentericum) sowie Ileumproben zu entnehmen. Im Falle autolytischer Tierkörper sind ein Röhrenknochen oder das Sternum das geeignetste Probenmaterial.
2. Blutproben sowohl mit als auch ohne Antikoagulanzzusatz sind nach Anweisung der zuständigen Behörde in jedem Falle von Schweinen zu entnehmen, die Anzeichen von Fieber oder sonstige Krankheitsanzeichen zeigen.
3. Virologische Untersuchungen werden im Falle kranker Tiere empfohlen. Ihr Wert ist in der Regel begrenzt, wenn sie zur Überwachung von Tieren ohne klinische Krankheitsanzeichen angewandt werden. Besteht das Ziel einer umfangreichen Stichprobenuntersuchung jedoch darin, den KSP-Erreger schon in der Inkubationszeit nachzuweisen, so sind Tonsillen das geeignetste Probenmaterial.

C. Beförderung der Proben

1. Es wird empfohlen, sämtliches Probenmaterial
 - in auslaufsicheren Behältnissen zu transportieren und zu lagern;
 - nicht einzufrieren, sondern bei Kühlschranktemperatur zu kühlen;
 - dem Labor so schnell wie möglich anzuliefern;
 - in einem Paket zu befördern, in dem zur Kühlung des Probenmaterials anstelle von Trockeneis Kühlelemente verwendet werden;
 - im Falle von Gewebe- oder Organproben: separat in verschlossenen ordnungsgemäß etikettierten Kunststoffbeuteln zu befördern, die wiederum in größere, feste Behältnisse gepackt werden, die zum Schutz vor Beschädigung und zum Aufsaugen etwa ausfließenden Beutelinhalts mit ausreichend saugfähigem Material ausgekleidet sind;
 - im Interesse des sicheren und schnellen Transports soweit möglich von Fachleuten auf direktem Wege zum Labor befördern zu lassen.
2. Das Äußere der Verpackung muss mit der Anschrift des Empfängerlabors und deutlich sichtbar mit folgendem Vermerk gekennzeichnet sein: „Pathologisches Tiermaterial. Verderblich. Zerbrechlich. Darf nur im KSP-Diagnoselabor geöffnet werden“.
3. Das Empfängerlabor ist im Voraus über den Zeitpunkt und die Art der Probensendung zu informieren.
4. Werden Proben aus anderen Mitgliedstaaten als Deutschland oder aus Drittländern auf dem Luftweg zum Gemeinschaftlichen Referenzlabor für Klassische Schweinepest⁽¹⁾ befördert, so ist die Verpackung entsprechend den IATA-Vorschriften zu kennzeichnen.

⁽¹⁾ Das Gemeinschaftliche Referenzlabor ist unbefristet befugt, diagnostisches Probenmaterial und KSPV-Isolate entgegen zu nehmen. Vor der Beförderung der Proben zu diesem Labor kann eine Kopie der Einfuhrgenehmigung verlangt werden, die die Probensendung in diesem Falle in einem an der Außenseite der Verpackung befestigten Umschlag begleitet.



KAPITEL VI

Prinzipien und Verfahrensvorschriften für virologische Untersuchungen und die Auswertung der Testergebnisse

A. Nachweis von Virusantigenen

1. Fluoreszenzantikörpertest (FAT)

Testprinzip ist der Nachweis von Virusantigenen in dünnen Kryostatschnitten von Organproben KSP-verdächtiger Schweine. Das intrazelluläre Antigen wird mit Hilfe eines FITC-konjugierten Antikörpers nachgewiesen. Positivbefunde sollten durch wiederholtes Anfärben mit einem spezifischen monoklonalen Antikörper bestätigt werden.

Als Organproben eignen sich Tonsillen, Nieren, Milz, diverse Lymphknoten und Ileum. Bei Wildschweinen kann auch ein Knochenmarkabstrich verwendet werden, falls Organmaterial nicht erhältlich oder autolytisch ist.

Der Test lässt sich innerhalb eines Tages durchführen. Da Organproben nur von toten Tieren entnommen werden können, ist der Test für Screeningzwecke nur begrenzt geeignet. Die Zuverlässigkeit der Testergebnisse kann durch unklare Immunreaktionen beeinträchtigt werden, insbesondere, wenn die Erfahrung des Untersuchers noch begrenzt ist oder das Ausgangsmaterial autolytisch war.

2. ELISA zum Antigennachweis

Virusantigen lässt sich anhand verschiedener ELISA-Testmethoden nachweisen. Der Antigen-ELISA sollte so empfindlich sein, dass bei Tieren mit klinischen KSP-Symptomen ein Positivbefund gewährleistet ist.

Für den Antigen-ELISA werden Proben von Tieren mit klinischen Symptomen oder pathologischen Veränderungen empfohlen. Der Test ist zur Untersuchung einzelner Tiere ungeeignet. Als Probenmaterial kommen Leukozyten, Serum, nicht koaguliertes Blut sowie Organsuspensionen gemäß Nummer 1 in Frage, die von KSP-verdächtigen Schweinen entnommen wurden ⁽¹⁾.

Der ELISA lässt sich innerhalb eines Tages und mit Laborautomaten durchführen. Sein Hauptvorteil besteht darin, dass innerhalb kurzer Zeit große Mengen Proben getestet werden können. Es empfiehlt sich, einen Antigen-ELISA anzuwenden, der mit Referenzmaterial zufrieden stellende Ergebnisse erbringt. Allerdings sind alle derzeit im Handel erhältliche Testkits weniger empfindlich als die Virusisolierung in der Zellkultur, und ihre Empfindlichkeit ist wesentlich höher bei Ferkelblutproben als bei Blutproben adulter Schweine.

B. Virusisolierung

1. Zur Virusisolierung wird Probenmaterial auf empfänglichen Zellkulturen porcinen Ursprungs inkubiert. Wenn KSP-Virus in der Probe vorhanden ist, kann die Replikation durch Immunfärbung der infizierten Zellen mit konjugierten Antikörpern nachgewiesen werden. Zur Abgrenzung gegenüber anderen Pestiviren sind KSP-spezifische Antikörper erforderlich.
2. Bevorzugtes Probenmaterial für die KSPV-Isolierung sind Leukozyten, Plasma oder Vollblut, die aus nicht geronnenem Blut oder den Organen gemäß Abschnitt A Nummer 1 gewonnen werden.
3. Die Virusisolierung ist am besten zur Untersuchung von Proben kleiner Tiergruppen und weniger zur Überwachung großer Bestände geeignet. Die Virusisolierung ist arbeitsintensiv und zeitaufwendig (Ergebnisse liegen frühestens nach drei Tagen vor). Zwei weitere Zellkulturpassagen können erforderlich sein, um eine kleine Virusmenge in der Probe nachweisen zu können. Bis ein Endergebnis vorliegt, können durchaus 10 Tage vergehen. Autolytische Proben können einen zytotoxischen Effekt auf die Zellkultur haben und den Test entsprechend beeinträchtigen.

⁽¹⁾ Es sind diverse ELISA-Testkits zum KSPV-Antigennachweis im Handel erhältlich, die mit verschiedenen Arten von Probenmaterial durchgeführt werden können.

▼B

4. Es wird empfohlen, die Virusisolierung auch durchzuführen, wenn die Klassische Schweinepest zuvor schon mit anderen Methoden bestätigt worden ist. Sie ist als Referenzmethode zur Bestätigung von Positivbefunden früherer Antigen-ELISA-, PCR- oder FAT-Tests bzw. indirekter Peroxidase-Immunreaktion obligatorisch.

Auf diesem Wege erhaltene KSPV-Isolate sind nützlich für die Viruscharakterisierung einschließlich genetischer Analyse und Molekularepidemiologie.

5. Alle KSPV-Isolate aus Primärausbrüchen, Primärfällen in der Wildschweinpopulation, Vorkommen im Schlachthof oder in Transportmitteln müssen von einem nationalen Referenzlabor in den Mitgliedstaaten oder von einem anderen in dem betreffenden Mitgliedstaat zugelassenen Labor oder vom Gemeinschaftlichen Referenzlabor gemäß Abschnitt E einer genetischen Typisierung unterzogen werden.

In jedem Falle sind diese Virusisolate für die Virussammlung unverzüglich an das Gemeinschaftliche Referenzlabor weiterzuleiten.

C. Nachweis von Virusgenom

1. Die Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) dient dem Nachweis von Virusgenom in Blut-, Gewebe- oder Organproben. Kleine Fragmente viraler RNA werden in DNA-Fragmente transkribiert, die sich durch die PCR zu nachweisbaren Mengen amplifizieren. Da sich mit diesen Tests nur eine Genomsequenz des Virus nachweisen lässt, kann die PCR auch einen Positivbefund ergeben, wenn kein lebensfähiger Infektionserreger mehr vorhanden ist (z. B. in autolytischen Geweben oder Proben von konvaleszenten Schweinen).
2. Die PCR eignet sich zur Untersuchung kleiner Mengen sorgfältig ausgesuchter Proben von verdächtigen Schweinen oder abortierten Früchten. Zum Virusnachweis in Probenmaterial von Wildschweinen könnte sie die Vorzugsmethode sein, wenn das Material autolytisch ist und die Virusisolierung wegen Zytotoxizität nicht mehr möglich ist.
3. Für die diagnostische PCR kommen dieselben Organe in Frage wie für die Virusisolierung sowie ungeronnenes Blut.
4. Die PCR lässt sich innerhalb von 48 Stunden durchführen. Sie setzt eine geeignete Laborausrüstung, spezielle Räumlichkeiten und erfahrenes Labpersonal voraus. Ein Vorteil dieser Methode liegt darin, dass infektiöse Viruspartikel nicht im Labor repliziert werden müssen. Der Test ist hochempfindlich, allerdings kann es leicht zu Kontaminationen kommen, die zu falsch-positiven Ergebnissen führen. Strenge Qualitätskontrollen sind daher unerlässlich. Einige Methoden sind eher pestivirus- als KSP-spezifisch und machen weitere Bestätigungstests, wie beispielsweise die Sequenzierung des PCR-Produkts, erforderlich.

D. Auswertung der Ergebnisse virologischer Untersuchungen

1. Virologische Untersuchungen sind zur Bestätigung einer KSP-Infektion unerlässlich.

Die Virusisolierung gilt als Referenzmethode und ist erforderlichenfalls als Bestätigungstest anzuwenden. Sie wird besonders im Falle positiver FAT-, ELISA- oder PCR-Befunde, die nicht mit klinischen Symptomen oder Läsionen assoziiert sind, sowie in anderen Zweifelsfällen empfohlen.

Ein primärer KSP-Herd kann jedoch bestätigt werden, wenn bei den betreffenden Schweinen klinische Symptome oder Läsionen nachgewiesen wurden und für mindestens zwei unabhängige Antigen- oder Genomtests ein Positivbefund vorliegt.

Sekundärausbrüche können bestätigt werden, wenn bei den betreffenden Tieren zusätzlich zu einem epidemiologischen Zusammenhang mit einem bestätigten Seuchenherd oder Seuchenfall klinische Symptome oder Läsionen nachgewiesen wurden und für einen Antigen- oder Genomtest ein Positivbefund vorliegt.

▼B

Ein Primärherd in der Wildschweinpopulation kann nach der Virusisolierung bestätigt werden oder wenn für mindestens zwei Antigen- oder Genomtests ein Positivbefund vorliegt. Weitere KSP-Fälle bei Wildschweinen, bei denen ein epidemiologischer Zusammenhang mit zuvor bestätigten Fällen nachgewiesen wurde, können bestätigt werden, wenn für einen Antigen- oder Genomtest ein Positivbefund vorliegt.

2. Ein Positivbefund im Antigen- oder Genomtest setzt voraus, dass der betreffende Test mit KSPV-spezifischen Antikörpern oder spezifischen Primern durchgeführt wurde. War der angewandte Test nicht KSPV-, sondern lediglich Pestivirus-spezifisch, so muss er mit KSPV-spezifischen Reagenzien wiederholt werden.

E. Genetische Analyse von KSPV-Isolaten

1. Zur genetischen Typisierung von KSPV-Isolaten wird die Nukleotidsequenz von Teilen des Virusgenoms, d. h. von spezifischen Teilen der 5' nicht-kodierenden Region und/oder des E2-Glykoproteingens, bestimmt. Die Ähnlichkeit dieser Sequenzen mit dem Sequenzergebnissen früherer Virusisolate kann einen Anhaltspunkt dafür liefern, ob Seuchenausbrüche durch neue oder bereits bekannte Stämme hervorgerufen wurden. Hypothesen zu den Übertragungswegen, die im Rahmen der epidemiologischen Ermittlungen aufgestellt wurden, lassen sich auf diese Weise untermauern oder entkräften.

Die genetische Typisierung von KSPV-Isolaten ist für die Ermittlung der Infektionsquelle von großer Bedeutung. Eine enge Verwandtschaft zwischen Viren aus verschiedenen Seuchenausbrüchen ist jedoch kein absoluter Beweis für einen direkten epidemiologischen Zusammenhang.

2. Kann die Virustypisierung nicht kurzfristig in einem Nationalen Labor oder einem anderen für die KSP-Diagnose zugelassenen Labor durchgeführt werden, so sind die Originalprobe oder das Virusisolat zur Typisierung so schnell wie möglich an das Gemeinschaftliche Referenzlabor weiterzuleiten.

Die Sequenzdaten der genetischen Typisierung von KSPV-Isolaten, die den zur KSP-Diagnose zugelassenen Laboratorien vorliegen, sind an das Gemeinschaftliche Referenzlabor weiterzuleiten, damit diese Informationen in die von diesem Labor geführte Datenbank aufgenommen werden können.

Die Angaben in dieser Datenbank müssen allen Nationalen Referenzlaboratorien in den Mitgliedstaaten zugänglich sein. Was die Veröffentlichung dieser Daten in der Fachliteratur anbelangt, so gewährleistet das Gemeinschaftliche Referenzlabor auf Verlangen der betreffenden Laboratorien jedoch die Vertraulichkeit der Angaben bis zur Veröffentlichung.

KAPITEL VII***Prinzipien und Verfahrensvorschriften für serologische Untersuchungen und Auswertung der Testergebnisse*****A. Grundprinzipien und diagnostischer Wert**

1. Bei KSPV-infizierten Schweinen sind Antikörper in der Regel zwei bis drei Wochen post infectionem in Serumproben nachweisbar. Bei rekonvaleszenten Schweinen lassen sich schützende neutralisierende Antikörper noch mehrere Jahre nach der Infektion oder sogar lebenslang nachweisen. Antikörper werden sporadisch auch bei moribunden Tieren in der Endphase der Erkrankung festgestellt. Bei einigen chronisch KSP-kranken Schweinen sind Antikörper möglicherweise für einige Tage am Ende des ersten Monats post infectionem nachweisbar.

In utero-infizierte Schweine können gegen das homologe KSP-Virus immuntolerant sein und bilden entsprechend keine spezifischen Antikörper aus. Antikörper maternalen Ursprungs lassen sich jedoch in den ersten Lebenstagen nachweisen. Die Halbwertszeit maternaler Antikörper in nicht-virämischen, gesunden Ferkeln beträgt ungefähr zwei Wochen. KSPV-Antikörper in über 3 Monate alten Ferkeln sind höchst unwahrscheinlich maternalen Ursprungs.

▼B

2. Der Nachweis von KSPV-Antikörpern in Serum- oder Plasmaproben dient der Untermauerung der KSP-Diagnose in seuchenverdächtigen Betrieben, der Bestimmung der Infektionsdauer bei bestätigten Ausbrüchen sowie der Seuchenüberwachung. Bei erst seit kurzem bestehenden Infektionen sind serologische Nachweisverfahren jedoch nur von begrenztem Wert.

Eine geringe Anzahl seropositiver Schweine mit niedrigem Neutralisationstiter deutet auf eine junge Infektion hin (die erst seit zwei bis vier Wochen besteht). Viele Tiere mit hohem Neutralisationstiter legen den Schluss nahe, dass das Virus schon vor über einem Monat oder noch früher in den Betrieb eingeschleppt wurde. Der Standort seropositiver Schweine im Haltungsbetrieb kann ein wichtiger Anhaltspunkt für den Einschleppungsweg sein.

Die Befunde der serologischen Untersuchungen müssen jedoch sorgfältig ausgewertet werden, wobei allen Ergebnissen der klinischen, virologischen und epidemiologischen Untersuchungen, die gemäß Artikel 8 der Richtlinie 2001/89/EG in Verdachtsfällen oder bei bestätigten Ausbrüchen der Klassischen Schweinepest durchgeführt werden, Rechnung zu tragen ist.

B. Empfohlene serologische Untersuchungen

1. Der Virusneutralisationstest (VNT) und der ELISA sind die bevorzugten Testmethoden für die Serodiagnose der Klassischen Schweinepest.

Qualität und Effizienz der von den Nationalen Laboratorien angewandten serologischen Diagnosemethoden müssen im Rahmen der laborübergreifenden Vergleichstests, die das Gemeinschaftliche Referenzlabor periodisch durchführt, regelmäßig kontrolliert werden.

2. Der VNT dient der Bestimmung der virusneutralisierenden Aktivität der Serumantikörper, ausgedrückt als neutralisierender 50 % Endpunkt.

Eine konstante Menge KSP-Virus wird bei 37 °C mit verdünntem Serum inkubiert. Für Screeningzwecke werden die Seren zunächst 1:10 verdünnt. Ist eine vollständige Titration erforderlich, können beginnend mit 1:2 oder 1:5 doppelte Serumverdünnungen angesetzt werden. Jede Verdünnung wird mit der entsprechenden Menge einer Virussuspension vermischt, die 100 infektiöse Einheiten enthält (KID 50).

Nach dem Inkubieren werden Zellkulturen der Mischung zugegeben, für 3 bis 5 Tage inkubiert und anschließend fixiert; eine etwaige Virusreplikation in den Zellen wird anhand einer Immunfärbung nachgewiesen. Es können entweder der NPLA- (neutralisation peroxidase-linked antibody) oder der NIF-Test (neutralisation-immunofluorescence) angewendet werden.

Die Ergebnisse des VNT werden ausgedrückt als Kehrwert der ersten Serumverdünnung, bei der die Hälfte der Zellkulturen (50 % Endpunkt) keine Virusreplikation zeigt (keine spezifische Anfärbung). Ein Titer zwischen zwei Verdünnungsstufen wird geschätzt. Die Endverdünnung basiert auf der tatsächlichen Verdünnung des Serums während der Neutralisationsreaktion, d. h. nach Zugabe des Virus, aber vor Zugabe der Zellsuspension.

3. Der VNT ist die empfindlichste und zuverlässigste Methode zum Nachweis von KSPV-Antikörpern und wird daher für die serologische Untersuchung sowohl einzelner Tiere als auch ganzer Bestände empfohlen. Mit diesem Test können jedoch auch kreuzneutralisierende Antikörper festgestellt werden, die bei Infektionen mit ruminanten Pestiviren auftreten können.

Der VNT zum Nachweis von BVDV- und BDV-Antikörpern folgt denselben Prinzipien und wird zur Differentialdiagnose der Klassischen Schweinepest angewandt.

4. Pestivirus-Stämme, die in Neutralisationstests verwendet werden sollen, müssen der Empfehlung des Gemeinschaftlichen Referenzlabors entsprechen.

▼ B

5. Es wurden verschiedene ELISA-Methoden entwickelt, die spezifische monoklonale Antikörper verwenden: der kompetitive oder Blocking-ELISA und der nichtkompetitive ELISA.

Beim kompetitiven oder Blocking-ELISA werden in der Regel monoklonale Antikörper verwendet. Enthält die Serumprobe KSPV-Antikörper, so wird die Bindung eines ausgewählten peroxidase-konjugierten monoklonalen Antikörpers an das Virusantigen gehemmt, was zu einem weniger starken Signal führt.

Beim nichtkompetitiven ELISA wird die Antikörper-Antigen-Bindung mit Hilfe von peroxidase-konjugierten Anti-Schwein-Antikörpern direkt gemessen.

6. Die Nationalen Laboratorien müssen die Empfindlichkeit und Spezifität jeder ELISA-Charge regelmäßig einer Qualitätskontrolle unterziehen, wobei folgende vom Gemeinschaftlichen Referenzlabor bereitgestellte Standardseren zu verwenden sind:

- Seren von Schweinen im frühen KSP-Stadium (binnen 21 Tagen post infektionem);
- Seren von rekonvaleszenten Schweinen (nach 21 Tagen post infektionem);
- Seren von mit Wiederkäuer-Pestiviren infizierten Schweinen.

ELISA-Methoden, die zur serologischen Diagnose der Klassischen Schweinepest angewendet werden, müssen alle Referenzseren von rekonvaleszenten Schweinen erkennen. Alle mit den Referenzseren erhaltenen Ergebnisse müssen wiederholbar sein. Ferner sollten sie alle positiven Seren aus dem frühen Infektionsstadium nachweisen können, und nur ein Minimum von Kreuzreaktionen mit Seren von mit Wiederkäuer-Pestiviren infizierten Schweinen aufweisen.

Die mit den Referenzseren von Schweinen im frühen Infektionsstadium erhaltenen Ergebnisse geben einen Anhaltspunkt über die Empfindlichkeit der ELISA-Methode.

7. Der ELISA gilt als weniger empfindlich als der VNT und sollte daher nur zum Screening auf Herdenbasis eingesetzt werden. Er erfordert jedoch weniger spezielle Ausrüstungen und kann dank automatisierter Systeme sehr viel schneller durchgeführt werden als der VNT.

Der ELISA muss gewährleisten, dass alle KSP-Infektionen im Rekonvaleszenzstadium erkannt werden, und es sollte möglichst nicht zu Interferenzen durch kreuzreagierende Antikörper gegen Wiederkäuer-Pestiviren kommen.

C. Auslegung serologischer Testergebnisse und Differentialdiagnose zur Abgrenzung von Wiederkäuer-Pestivirus-Infektionen (BVD und BD)

1. Unbeschadet der Bestimmungen des Artikels 4 Absatz 3 Buchstabe a) oder Artikel 7 Absatz 2 der Richtlinie 2001/89/EG finden bei Nachweis eines KSPV-Neutralisationstiter von gleich oder höher als 10 ND₅₀ in Serumproben von einem oder mehreren Schweinen oder bei einem positiven ELISA-Befund in Serumproben einer Gruppe von Schweinen in dem betreffenden Betrieb unverzüglich oder weiterhin die Maßnahmen gemäß Artikel 4 Absatz 2 der Richtlinie 2001/89/EG Anwendung.

Die Proben, die in diesem Betrieb bereits entnommen wurden, sind durch VNT (vergleichende Endpunkt-Titrationen der neutralisierenden Antikörper gegen das KSP-Virus und gegen Wiederkäuer-Pestiviren) erneut zu testen.

2. Zeigen die vergleichenden Tests Antikörper gegen Wiederkäuer-Pestiviren und keine oder eindeutig weniger (weniger als das Dreifache) Antikörper gegen das KSP-Virus, so gilt der KSP-Verdacht als entkräftet, es sei denn, es existieren andere Gründe, die dafür sprechen, Maßnahmen gemäß Artikel 4 Absatz 2 der Richtlinie 2001/89/EG in dem betreffenden Betrieb fortzusetzen.

▼B

3. Zeigen die vergleichenden Tests bei mehr als einem Schwein einen Virusneutralisationstiter von gleich oder höher als 10 ND₅₀ und ist dieser Titer gleich oder höher als die Titer gegen andere Pestiviren, so gewährleistet die zuständige Behörde, dass die Klassische Schweinepest bestätigt wird, vorausgesetzt, in dem betreffenden Betrieb liegen entsprechende epidemiologische Befunde vor.
4. Unbeschadet der Bestimmungen des Artikels 4 Absatz 3 der Richtlinie 2001/89/EG trägt die zuständige Behörde, wenn die epidemiologische Untersuchung keinen Seuchenbefund ergab oder wenn die Ergebnisse der früheren Tests unschlüssig sind, dafür Sorge, dass in dem betreffenden Betrieb
 - die Maßnahmen gemäß Artikel 4 Absatz 2 der Richtlinie 2001/89/EG weiterhin Anwendung finden;
 - gemäß Kapitel IV so schnell wie möglich weitere Untersuchungen durchgeführt werden, um den KSP-Verdacht zu bestätigen oder zu entkräften.
5. Kann der KSP-Verdacht mit weiteren Untersuchungen und Tests gemäß Nummer 4 jedoch nicht entkräftet werden, so werden frühestens zwei Wochen nach den letzten Untersuchungen in dem betreffenden Betrieb weitere Blutproben für serologische Untersuchungen entnommen.

Im Rahmen dieser weiteren Untersuchungen werden die bereits untersuchten Schweine, d. h. deren zuvor entnommene Proben, erneut einer vergleichenden serologischen Untersuchung unterzogen, um eine etwaige Serokonversion in Bezug auf Klassische Schweinepest oder Wiederkäufer-Pestiviren festzustellen.

Lässt sich die Klassische Schweinepest aufgrund dieser Untersuchungen und Tests nicht bestätigen, so können die Maßnahmen gemäß Artikel 4 der Richtlinie 2001/89/EG aufgehoben werden.

▼M1

KAPITEL VIII

*Unterscheidungstest im Falle von Notimpfung***A. Grundsätze**

1. Ein zur Unterscheidung geeigneter serologischer ELISA-Test („Unterscheidungstest“) ist verfügbar, um erfolgreich zu unterscheiden zwischen Schweinen, die mit Marker-Impfstoffen geimpft worden sind, die nur Antikörper gegen das E2-Glykoprotein der klassischen Schweinepest induzieren, und Schweinen, die mit Wildstämmen des KSP-Virus infiziert worden sind. Dieser Test ist eine Methode zum Nachweis von Antikörpern gegen die Glykoprotein-E^{ms} des KSP-Virus. Er gründet sich auf das Prinzip, dass nicht infizierte, mit Marker-Impfstoffen geimpfte Tiere nur Antikörper gegen das E2-Glykoprotein des KSP-Virus erzeugen, während mit dem Feldvirus infizierte Tiere auch auf andere Virus-Antigene reagieren und Antikörper dagegen erzeugen.

Dieser Unterscheidungstest ist empfindlich und spezifisch⁽¹⁾. Schweine, die mit anderen Pestiviren als dem KSP-Virus, wie dem BVD-Virus und dem BD-Virus infiziert worden sind, werden jedoch auch eine positive Reaktion auf E^{ms} zeigen. Außerdem ist die Empfindlichkeit des Tests nicht vollkommen, da einige mit Marker-Impfstoffen geimpfte und anschließend infizierte Tiere möglicherweise keine positive Reaktion auf E^{ms} zeigen.

Den derzeit verfügbaren Daten zufolge kann der Unterscheidungstest zur Untersuchung von Serumproben von Wildschweinen nicht verlässlich eingesetzt werden.

⁽¹⁾ Nach einer Studie des gemeinschaftlichen Referenzlaboratoriums für klassische Schweinepest und der nationalen KSP-Laboratorien beträgt die Empfindlichkeit des Unterscheidungstests rund 94 % und die Spezifität rund 98 %.

▼ M1

- Der Unterscheidungstest ist eine Flüssigphasen-Blocking enzymabhängige Immunprüfung. Die zu untersuchenden Proben werden auf Mikrotiter-Platten inkubiert, die mit monoklonalen Anti-E^{ms}-Antikörpern zusammen mit einer genau festgesetzten Menge E^{ms}-Antigen beschichtet sind. Jeder für E^{ms} spezifische Antikörper verbindet sich mit der genau festgesetzten Menge E^{ms}-Antigen in der Lösung und es bildet sich ein Antigen/Antikörper-Komplex, der nicht mit den Anti-E^{ms}-Antikörpern auf der Mikrotiter-Platte reagiert. Nach Waschen der Platten zum Entfernen des nicht gebundenen Materials wird ein mit Peroxidase gekennzeichnetes Anti-E^{ms}-Konjugat hinzugefügt, das sich mit dem E^{ms}-Antigen verbindet, das mit dem Antikörper, mit dem die Oberfläche der Mikrotiter-Platte beschichtet ist, in einen Komplex eingebunden ist. Das nicht gebundene Konjugat wird durch Waschen entfernt und es wird ein Chromogen enthaltendes Substrat hinzugefügt. Die Tiefe der sich entwickelnden Farbe steht im umgekehrten Verhältnis zur Menge der in der Probe vorhandenen E^{ms}-spezifischen Antikörper. Enthält die Probe keine Antikörper (negative Probe), so kann sich ein Großteil der zugesetzten genau festgesetzten Menge E^{ms}-Antigen mit den Anti-E^{ms}-Antikörpern auf der Oberfläche der Platte verbinden und es wird eine starke Farbreaktion beobachtet.

Ein Ergebnis wird erzielt, indem die optische Dichte (OD) in Mulden, die Testproben enthalten, mit derjenigen von Mulden verglichen wird, die die Negativ- und Positivkontrollen enthalten.

B. Leitlinien für den Einsatz des Unterscheidungstests im Rahmen der Notimpfung mit einem Marker-Impfstoff in Schweinehaltungsbetrieben gemäß Artikel 19 der Richtlinie 2001/89/EG

Der Unterscheidungstest gestattet es festzustellen, ob das KSP-Virus in einer mit einem Marker-Impfstoff geimpften Schweinepopulation zirkuliert. Aus den verfügbaren Daten geht hervor, dass er zu diesem Zweck bei Schweinebeständen erfolgreich eingesetzt werden kann, jedoch nicht verlässlich ausschließen kann, dass einzelne Schweine mit dem KSP-Virus infiziert sind. Insbesondere könnte die Spezifität des Unterscheidungstests nicht ausreichen, um im Falle der Impfung von ausgewachsenen Schweinen verlässlich zu unterscheiden zwischen mit einem Marker-Impfstoff geimpften Schweinen und infizierten Schweinen. Im Falle zweifelhafter Ergebnisse müssen die betreffenden Schweine jedoch gemäß der Richtlinie 93/119/EG auf humane Weise geschlachtet oder getötet werden und müssen ihre Organe auf den KSP-Virus untersucht werden. Zu diesem Zweck sind der Virusisolationstest und der PCR-Test am besten geeignet.

Diesen Aspekten muss bei der Ausarbeitung einer Strategie für die Impfung mit Marker-Impfstoffen und der Auslegung der Ergebnisse einer Erhebung über den KSP-Virus bei der so geimpften Population in vollem Maße Rechnung getragen werden.

Das Verfahren zur Probenahme und Untersuchung der geimpften Schweinepopulation, bevor die Einschränkungen aufgehoben werden, die gemäß Artikel 19 der Richtlinie 2001/89/EG in dem Impfgebiet Anwendung finden, sollte abhängen vom Alter der geimpften Schweine, der Kategorie der Schweine (Mast-/Schlacht- oder Zuchtschweine) und dem gewünschten Schutzniveau hinsichtlich des Nichtzirkulierens des Virus in der Population.

Die Einzelheiten des Probenahme- und Untersuchungsverfahrens sind daher in dem Notimpfplan festzulegen, der der Kommission gemäß Artikel 19 Absatz 3 der Richtlinie 2001/89/EG vorzulegen ist.

▼ B

KAPITEL IX

Mindestsicherheitsvorschriften für KSP-Laboratorien

- Laboratorien, die — selbst in kleinen Mengen — mit KSPV zwecks Virusisolierung und VNT arbeiten, müssen die in Tabelle 1 festgelegten Mindestanforderungen erfüllen. Pathomorphologische Untersuchungen, Gewebeaufbereitungen für den FAT und serologische Untersuchungen, bei denen inaktiviertes Antigen verwendet wird, können jedoch auf einer niedrigeren Sicherheitsstufe durchgeführt werden, sofern Basishygiene und Schlussdesinfektion sowie die sichere Entsorgung von Geweben und Seren gewährleistet sind.

▼ B

2. Die zusätzlichen Anforderungen gemäß Tabelle 1 gelten für Laboratorien, in denen Verfahren angewandt werden, die eine extensive Virusvermehrung voraussetzen.
3. Die Anforderungen gemäß Tabelle 2 gelten für Laboratorien, in denen Tierversuche mit KSP-Viren durchgeführt werden.
4. In jedem Falle sind alle KSP-Virusvorräte entweder in tiefgefrorener oder gefriergetrockneter Form an einem sicheren Ort aufzubewahren. Es wird empfohlen, Gefrier- und Kühlschränke nicht für andere Viren als KSP-Viren oder andere Materialien zu verwenden, die für die KSP-Diagnose nicht relevant sind. Alle Einzelampullen sind deutlich zu etikettieren, und über die Virusvorräte ist umfassend Buch zu führen, insbesondere mit Angaben über die Daten und Ergebnisse von Qualitätskontrollen ebenso wie über neu eingelagerte Virusstämme (Angabe der Bezugsquelle) und über Viren, die an andere Laboratorien abgegeben wurden.
5. Es wird empfohlen, die nach dem Prinzip der biologischen Sicherheit angelegten Laborräume für die Manipulation von KSP-Viren durch Arbeitsbereiche zu ergänzen, in denen nicht mit KSP-Viren gearbeitet wird. Diese sollten für die Vorbereitung von Gefäßen und Medien, die Unterhaltung und Aufbereitung nicht infizierter Zellkulturen, die Bearbeitung von Seren und serologische Untersuchungen, bei denen keine lebenden KSP-Viren verwendet werden, sowie für administrative Arbeiten genutzt werden.

Tabelle 1

Prinzipien der biologischen Sicherheit für Diagnoselaboratorien

	Zusätzliche Anforderungen	Mindestanforderungen
Allgemeines Arbeitsumfeld	Normaler Luftdruck, doppelte HEPA-Filtrierung der Abluft. Räume, die ausschließlich der KSP-Diagnose gewidmet sind.	Normaler Luftdruck. Räume, die ausschließlich bestimmten Verfahren gewidmet sind.
Laborkleidung	Vollständiger Kleidungswechsel bei Betreten des Labors. Laborkleidung darf nur im KSPV-Bereich getragen werden. Wegwerfhandschuhe für alle Arbeiten mit infiziertem Material. Kleidung ist beim Verlassen des Arbeitsbereichs zu sterilisieren oder innerhalb des Arbeitsbereichs zu waschen.	Spezielle Überkleidung, die nur im KSPV-Bereich getragen wird. Wegwerfhandschuhe für alle Arbeiten mit infiziertem Material. Überkleidung ist beim Verlassen des Arbeitsbereichs zu sterilisieren oder innerhalb des Arbeitsbereichs zu waschen.
Personalkontrolle	Betreten des Arbeitsbereichs nur durch namentlich ausgewiesenes Fachpersonal. Obligatorisches Waschen und Desinfizieren der Hände vor Verlassen des Arbeitsbereichs. Personal darf in den 48 Stunden nach dem Verlassen des Arbeitsbereichs nicht mit Schweinen in Berührung kommen.	Betreten des Arbeitsbereichs nur durch namentlich ausgewiesenes Fachpersonal. Obligatorisches Waschen und Desinfizieren der Hände vor Verlassen des Arbeitsbereichs. Personal darf in den 48 Stunden nach dem Verlassen des Arbeitsbereichs nicht mit Schweinen in Berührung kommen.
Ausrüstung	Sicherheitswerkbank (Klasse I oder II) für alle Arbeiten mit KSP-Virus. Ausstattung der Werkbank mit doppeltem HEPA-Filter zur Abluftfiltrierung Alle für die Laborarbeit benötigten Ausrüstungen müssen im Arbeitsbereich vorhanden sein.	



Tabelle 2

Bio-Sicherheitsanforderungen für Versuchsräume

	Anforderungen
Allgemeines Arbeitsumfeld	Automatischer kontrollierter Unterdruck. Doppelter HEPA-Filter zur Abluftfiltrierung. Vorrichtung zur vollständigen Begasung/Desinfektion nach abgeschlossenem Experiment. Abwässerbehandlung zur Abtötung von KSP-Viren (Hitze- oder chemische Behandlung).
Laborkleidung	Vollständiger Kleidungswechsel beim Betreten des Bereiches. Wegwerfhandschuhe für alle Arbeiten. Sterilisierung der Kleidung vor Verlassen des Arbeitsbereichs oder Waschen innerhalb des Arbeitsbereichs.
Personalkontrolle	Betreten des Arbeitsbereichs nur durch namentlich ausgewiesenes Fachpersonal. Ganzkörperduschen beim Verlassen des Arbeitsbereichs. Personal darf in den 48 Stunden nach dem Verlassen des Arbeitsbereichs nicht mit Schweinen in Berührung kommen.
Ausrüstungen	Alle für die Laborarbeit benötigten Ausrüstungen müssen im Arbeitsbereich vorhanden sein. Alle Materialien sind beim Verlassen des Arbeitsbereichs zu sterilisieren oder, im Fall von Proben, doppelt umhüllt in lecksicheren Behältnissen zu befördern, deren Außenflächen vor dem Transport zum KSP-Labor desinfiziert wurden.
Tiere	Alle Tiere sind vor Verlassen des Arbeitsbereichs zu töten, Sektionen sind innerhalb des Biosicherheitsbereichs durchzuführen, und die Tierkörper sind nach abgeschlossener Untersuchung unschädlich zu beseitigen.