

ENTSCHEIDUNG DER KOMMISSION

vom 26. Mai 2003

zur Genehmigung eines Diagnosehandbuchs für die Afrikanische Schweinepest

(Bekannt gegeben unter Aktenzeichen K(2003) 1696)

(Text von Bedeutung für den EWR)

(2003/422/EG)

DIE KOMMISSION DER EUROPÄISCHEN GEMEINSCHAFTEN —

gestützt auf den Vertrag zur Gründung der Europäischen Gemeinschaft,

gestützt auf die Richtlinie 2002/60/EG des Rates vom 27. Juni 2002 zur Festlegung von besonderen Vorschriften für die Bekämpfung der Afrikanischen Schweinepest sowie zur Änderung der Richtlinie 92/119/EWG hinsichtlich der Teschener Krankheit und der Afrikanischen Schweinepest⁽¹⁾, insbesondere auf Artikel 18 Absatz 3,

in Erwägung nachstehender Gründe:

- (1) Gemäß der Richtlinie 2002/60/EG müssen einheitliche Diagnosemethoden, Beprobungsverfahren und Kriterien für die Auswertung der Ergebnisse von Laboruntersuchungen festgelegt werden, die zur Bestätigung der Afrikanischen Schweinepest durchgeführt werden.
- (2) Gemäß der genannten Richtlinie hat das Gemeinschaftliche Referenzlabor für Afrikanische Schweinepest im Benehmen mit der Kommission die in den Mitgliedstaaten angewandten Methoden zur Diagnose der Seuche zu koordinieren, u.a. durch regelmäßige Durchführung von Vergleichstests und durch Bereitstellung von Standardreagenzien auf Gemeinschaftsebene.
- (3) Das ASP-Virus gilt als für den Menschen nicht gesundheitsgefährdend.
- (4) Es sind Labortests entwickelt worden, die eine schnelle Bestätigung der Afrikanischen Schweinepest ermöglichen.
- (5) Aufgrund der Erfahrungen, die in den vergangenen Jahren bei der Bekämpfung der Afrikanischen Schweinepest gesammelt wurden, konnten Verfahrensvorschriften für Stichprobenuntersuchungen und Kriterien für die Auswertung von Laborbefunden festgelegt werden, die in unterschiedlichen Situationen eine sichere Diagnose gewährleisten.
- (6) Es empfiehlt sich daher, das Handbuch zur Festlegung dieser Verfahren und Kriterien zu genehmigen.
- (7) Die nationalen Diagnoselaboratorien sollten ermächtigt werden, die genehmigten Labortests zu ändern oder andere Tests anzuwenden, wenn eine gleichwertige oder höhere Empfindlichkeit und Spezifität nachgewiesen werden kann.

- (8) Die in dieser Entscheidung vorgesehenen Maßnahmen entsprechen der Stellungnahme des Ständigen Ausschusses für die Lebensmittelkette und Tiergesundheit —

HAT FOLGENDE ENTSCHEIDUNG ERLASSEN:

Artikel 1

- (1) Das im Anhang festgelegte Diagnosehandbuch für die Afrikanische Schweinepest wird genehmigt.
- (2) Die Mitgliedstaaten tragen dafür Sorge, dass die Bestätigung der Afrikanischen Schweinepest nach den im Handbuch festgelegten Diagnosemethoden, Verfahrensvorschriften für Stichprobenuntersuchungen und Kriterien für die Auswertung von Laborbefunden sowie nach folgenden Kriterien erfolgt:
 - a) Feststellung klinischer Krankheitssymptome und Sektionsbefunde;
 - b) Nachweis von Virus, Antigen oder Virusgenom in Gewebe-, Organ- oder Blutproben oder Sekreten von Schweinen;
 - c) Nachweis einer spezifischen Antikörperreaktion in Blutproben.
- (3) Abweichend von Absatz 2 dürfen die nationalen Diagnoselaboratorien gemäß Anhang IV der Richtlinie 2002/60/EG die im Handbuch festgelegten Laboruntersuchungen ändern oder andere Testmethoden anwenden, sofern dieselbe Empfindlichkeit oder Spezifität gewährleistet ist.

Werden geänderte oder andere Tests angewandt, so muss ihre Empfindlichkeit und Spezifität im Rahmen regelmäßiger Vergleichstests geprüft werden, die das Gemeinschaftliche Referenzlabor für Afrikanische Schweinepest durchführt.

Artikel 2

Diese Entscheidung gilt ab 1. Juli 2003.

Artikel 3

Diese Entscheidung ist an alle Mitgliedstaaten gerichtet.

Brüssel, den 26. Mai 2003

Für die Kommission

David BYRNE

Mitglied der Kommission

⁽¹⁾ ABl. L 192 vom 20.7.2002, S. 27.

ANHANG

HANDBUCH ZUR DIAGNOSE DER AFRIKANISCHEN SCHWEINEPEST

Kapitel I

Einleitung, Ziele und Definitionen

1. Um sicherzustellen, dass die Afrikanische Schweinepest (ASP) nach einheitlichen Methoden diagnostiziert wird, enthält dieses Handbuch
 - a) Leitlinien und Mindestanforderungen für Diagnosemethoden und Probenahmeverfahren, Kriterien für die Auswertung der Ergebnisse klinischer und postmortaler Untersuchungen sowie Laboruntersuchungen für eine ordnungsgemäße ASP-Diagnose⁽¹⁾;
 - b) Mindestanforderungen an die biologische Sicherheit sowie Qualitätsnormen für ASP-Diagnoselaboratorien und den Transport von Proben;
 - c) Anleitungen für Laboruntersuchungen zur ASP-Diagnose und Labortechniken für die genetische Typisierung von ASPV-Isolaten.
2. Dieses Handbuch richtet sich im Wesentlichen an die für die Bekämpfung der Afrikanischen 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 2002/60/EG folgende Definitionen:
 - a) „seuchenverdächtiger Betrieb“: Schweinehaltungsbetrieb mit einem oder mehreren ASP-verdächtigen Schweinen oder Kontaktbetrieb im Sinne des Artikels 2 Buchstabe k) der Richtlinie 2002/60/EG;
 - b) „epidemiologische Untereinheit“ oder „Untereinheit“: Gebäude, Ort oder angrenzendes Gelände, 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;
 - c) „Kontaktschweine“: Schweine eines Betriebs, die in den letzten 21 Tagen direkten Kontakt zu einem oder mehreren ASPV-verdächtigen Schweinen hatten.

Kapitel II

Beschreibung der ASP und Differenzialdiagnose

A. EINLEITUNG

1. Erreger der Afrikanischen Schweinepest ist ein behülltes DNA-Virus, das der Gattung Asfvirus der Familie Asfarviridae angehört. Die ASP-Virusstämme sind unterschiedlich virulent, doch es lassen sich keine unterschiedlichen Serotypen identifizieren.
2. Das ASP-Virus ist in den Exkreten infizierter Schweine, in Schlachtkörpern, frischem Schweinefleisch und in bestimmten Fleischerzeugnissen sehr stabil. Für eine sichere Abtötung des Virus müssen geeignete Desinfektionsmittel verwendet werden.
3. Der wichtigste natürliche Übertragungsweg für Schweine in Europa ist oro-nasal durch direkten oder indirekten Kontakt mit infizierten Schweinen oder durch Aufnahme kontaminierter Futtermittel. In Gebieten, in denen Vektoren⁽²⁾ vorkommen, spielen diese jedoch bei der Persistenz und Verschleppung des Virus eine bedeutende Rolle. Die ASP kann sich auch durch indirekten Kontakt mit kontaminiertem Material oder durch Stiche von Insekten, die das ASP-Virus weitertragen, ausbreiten. Die Seuche kann auch über das Sperma infizierter Eber übertragen werden.
4. Die Inkubationszeit beträgt beim Einzeltier in der Regel 5-15 Tage; unter Feldbedingungen ist es jedoch möglich, dass sich in einem Betrieb klinische Symptome erst einige Wochen nach der Viruseinschleppung oder noch später manifestieren, wenn es sich um schwachvirulente Virusstämme handelt.

⁽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 genommen werden als in diesem Handbuch vorgesehen.

⁽²⁾ Gemäß der Definition in Artikel 2 Buchstabe r) der Richtlinie 2002/60/EG.

5. Es gibt akute, subakute und chronische Verlaufsformen der ASP, die sich hauptsächlich durch die Virusvirulenz unterscheiden.
6. Schweine, die klinisch genesen, bleiben nach der Infektion noch 40 bis 60 Tage virämisch und werden Virusträger. Das ASP-Virus ist auch bis zu sechs Monate nach der Infektion noch von Trägerschweinen isoliert worden.

B. AKUTE VERLAUFSFORM

1. Das Auftreten von hohem Fieber (über 40 °C) ist in der Regel das erste klinische Anzeichen der Krankheit, die mit allgemeiner Schwäche, Inappetenz, Atembeschwerden sowie Ausfluss aus Nase und Augen einhergeht. Die Schweine bewegen sich unkoordiniert und drängen sich dicht aneinander. Sauen können in jeder Phase der Trächtigkeit verwerfen. Bei einigen Schweinen kommt es zu Erbrechen und Konstipation, bei anderen zu blutiger Diarrhöe. Vor allem an den Extremitäten und Ohren zeigen sich subkutane Blutstauungen oder Blutungen. Vor dem Tod, der ein bis sieben Tage nach Erscheinen der klinischen Symptome eintritt, kann das Tier ins Koma fallen. Die Morbiditäts- und Mortalitätsrate in einem Betrieb kann bis zu 100 % betragen.

Postmortale Befunde zeigen ein typisches hämorrhagisches Syndrom mit generalisierter Blutstauung, blutige Flüssigkeit in Brust- und Bauchhöhle, eine vergrößerte, dunkle Milz, hämorrhagische Lymphknoten, die Blutgerinnseln ähneln, insbesondere bei Nieren- sowie Magen- und Leberlymphknoten, Petechien in den Nieren, in Nierenrinde, Markpyramiden und Nierenbecken, Serosa, Magen- und Darmschleimhaut sowie Herz (Epikard und Endokard), Hydrothorax und Petechien der Pleura.

2. Die akute Verlaufsform der klassischen Schweinepest führt in der Regel zu einem klinischen und pathologischen Bild, das dem der afrikanischen Schweinepest sehr ähnlich ist. Blutungen an Haut und Ohren sind leicht zu erkennen und lenken den Verdacht auf akute klassische oder afrikanische Schweinepest. Nur wenige andere Krankheiten verursachen ähnliche Läsionen.

Die akute afrikanische Schweinepest muss auch in Betracht gezogen werden bei Verdacht auf Erysipel, Porcines Reproductives und Respiratorisches Syndrom (PRRS), Kumarinvergiftung, Purpura haemorrhagica, PMW-Syndrom, PDNS-Syndrom, Salmonellen- oder Pasteurelleninfektionen oder andere Darm- oder Atemwegssyndrome mit Fieber, die nicht auf Antibiotikatherapie reagieren.

C. SUBAKUTE VERLAUFSFORMEN

Subakute Formen der Seuche treten häufiger in endemischen Gebieten auf. Die subakute Infektion ist gekennzeichnet von wellenförmigem Fieber, allgemeiner Schwäche und Pneumonie. Todesursache kann Herzversagen sein. Die Läsionen bei subakuten Verlaufsformen ähneln denen der akuten Form, sind jedoch weniger stark ausgeprägt. Typische Läsionen sind große Blutungen in Lymphknoten und Nieren, Milz- und Lungenstauung und Lungenödem, in einigen Fällen auch interstitielle Pneumonie.

D. CHRONISCHE VERLAUFSFORMEN

Chronische Verlaufsformen der Krankheit sind selten. Bei chronischen Formen können sekundäre Bakterieninfektionen beobachtet werden. Da die klinischen Symptome der chronischen ASP eher unspezifisch sind, muss sie differenzialdiagnostisch von vielen anderen Krankheiten abgegrenzt werden. Eine erhöhte Körpertemperatur muss nicht unbedingt bei allen Tieren auftreten, aber in einem infizierten Betrieb wird es doch zumindest einige Schweine mit Fieber geben.

Zu den klinischen Symptomen der chronischen ASP gehören Atembeschwerden, Aborte, Arthritis, chronische Hautulzerationen oder -nekrosen, die nicht das typische klinische Bild von ASPV-Infektionen aufweisen. Inapparente Formen oder Fälle mit minimalen Läsionen sind möglich. Histopathologische Befunde zeigen vergrößerte Lymphknoten und Milz, Pleuritis und fibrinöse Perikarditis und Pneumonitis mit Infiltration. Fokale käsige Nekrose und Mineralisierung der Lunge sind ebenfalls beschrieben worden.

Kapitel III

Leitlinien für die Festlegung der Hauptkriterien für die Ausweisung ASP-verdächtiger Betriebe

1. Für die Entscheidung über die Ausweisung eines Betriebs als ASP-verdächtig sind folgende Feststellungen, Kriterien und Gründe maßgeblich:
 - a) klinische Symptome und pathologische Veränderungen bei Schweinen, wobei im Wesentlichen folgende Befunde berücksichtigt werden:
 - Fieber mit Morbidität und Mortalität bei Schweinen aller Altersgruppen;
 - Fieber mit hämorrhagischem Syndrom; Petechien und Ekchymosen, vor allem in Lymphknoten, Nieren, Milz (die insbesondere bei den akuten Formen vergrößert und dunkel ist) und Harnblase sowie Ulzerationen der Gallenblase;

- 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 ASPV-infiziert war;
 - ein Betrieb Schweine geliefert hat, die sich anschließend als ASPV-infiziert herausgestellt haben;
 - Sauen mit Sperma ASP-verdächtiger Eber künstlich besamt wurden;
 - Schweine direkt oder indirekt mit Schwarzwild einer ASP-infizierten Population in Berührung gekommen sind;
 - Schweine in einer Region im Freien gehalten werden, in der die Schwarzwildpopulation mit ASPV infiziert ist;
 - Schweine mit Küchenabfällen gefüttert wurden und der Verdacht besteht, dass diese Abfälle keiner Behandlung zur Abtötung des ASP-Virus unterzogen wurden;
 - es möglicherweise durch Personen mit Betriebszugang, Transporte von infektionsverdächtigen oder ASPV-infizierten Betrieben zu einer Exposition gekommen sein könnte;
 - in dem Gebiet, in dem der Betrieb liegt, Vektoren vorkommen.
2. Ein Betrieb muss auf jeden Fall als seuchenverdächtig gelten, wenn im Betrieb wegen klinischer oder pathologischer Befunde ein Verdacht auf Klassische Schweinepest aufgekommen ist, die klinischen und epidemiologischen Untersuchungen sowie die Labortests aber keine Bestätigung dieser Seuche oder Hinweise auf andere Krankheitsursachen oder -erreger in dem betreffenden Gebiet ergeben haben.

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 den Nummern 2 bis 6 geeignete klinische Untersuchungen, Stichproben- und Laboruntersuchungen durchgeführt werden, um den Verdacht auf ASP zu bestätigen oder zu entkräften.

Diese Leitlinien und Verfahrensvorschriften gelten unabhängig davon, ob in dem betreffenden Betrieb die Maßnahmen gemäß Artikel 4 Absatz 2 der Richtlinie 2002/60/EG durchgeführt werden, auch in Seuchenfällen, in denen im Rahmen der Differenzialdiagnose auf ASP getestet wird. Dies gilt auch, wenn die bei den Schweinen beobachteten klinischen Symptome und der Seuchenverlauf nur mit sehr geringer Wahrscheinlichkeit auf ASP schließen lassen.

In allen anderen Fällen, in denen ein oder mehrere Schweine ASP-verdächtig sind, werden in dem betreffenden Betrieb die Maßnahmen gemäß Artikel 4 Absatz 2 der Richtlinie 2002/60/EG durchgeführt.

Bei Verdacht auf ASP bei Schweinen in einem Schlachthof oder in einem Transportmittel gelten sinngemäß die Leitlinien und Verfahrensvorschriften gemäß den Nummern 2 bis 6.

2. Zur Bestätigung oder Entkräftung eines ASP-Verdachts kontrolliert ein amtlicher Tierarzt
- alle Produktionsbücher und tiergesundheitlichen Aufzeichnungen des Betriebs, soweit vorhanden, sowie jede Untereinheit des Betriebs, um Schweine auszusondern, die klinisch untersucht werden müssen.

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

- kranke oder anorexische 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 ASP-verdächtigen oder ASP-infizierten Schweinen in Berührung gekommen sind oder bei denen sich andere Kontakte herausgestellt haben, die hinsichtlich der ASP ein besonderes Übertragungsrisiko darstellen;
- bereits im Rahmen einer Stichprobe serologisch auf ASP untersuchte Schweine, sofern die ASP aufgrund der Untersuchungsbefunde nicht ausgeschlossen werden kann, sowie Kontaktschweine;
- kürzlich von einer Krankheit genesene Schweine.

Wurden bei 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 der Richtlinie 2002/60/EG möglicherweise in dem betreffenden Betrieb durchgeführt werden können, und unter Berücksichtigung der Seuchenlage dafür Sorge, dass

- in dem betreffenden Betrieb weitere Untersuchungen gemäß Nummer 3 durchgeführt werden, oder
 - von den Schweinen des betreffenden Betriebs Blutproben für Laboruntersuchungen genommen werden, wobei als Leitlinien die Verfahrensvorschriften für Probenahmen gemäß Nummer 5 und Abschnitt F Nummer 2 zu beachten sind, oder
 - bis zur Durchführung weiterer Untersuchungen in dem betreffenden Betrieb die Maßnahmen gemäß Artikel 4 Absatz 2 der Richtlinie 2002/60/EG zu treffen oder beizubehalten sind, oder
 - der Verdacht auf ASP endgültig entkräftet 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 ein Risiko der Einschleppung des ASP-Virus festgestellt wurde oder vermutet wird.

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

4. Werden in einem seuchenverdächtigen Betrieb tote oder moribunde Schweine festgestellt, so müssen mindestens fünf dieser Schweine einer postmortalen Untersuchung unterzogen werden, insbesondere solche, die
- vor dem Verenden sehr deutliche Krankheitssymptome zeigten;
 - hohes Fieber hatten;
 - kürzlich verendet sind.

Werden bei diesen Untersuchungen keine ASP-typischen Läsionen festgestellt, sind jedoch aufgrund der Seuchenlage weitere Untersuchungen erforderlich, 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 Kontaktschweine postmortal untersucht werden, insbesondere wenn diese Tiere klinische Symptome aufweisen.

Unabhängig davon, ob ASP-typische Läsionen festgestellt wurden oder nicht, sind von den postmortal untersuchten Schweinen Organ- und Gewebeproben zu nehmen und gemäß Kapitel V Abschnitt B Nummer 1 virologisch zu untersuchen. Diese Proben sind vorzugsweise von kürzlich verendeten Tieren zu entnehmen.

Bei der Durchführung postmortaler Untersuchungen muss die zuständige Behörde sicherstellen, dass

- alle erforderlichen Vorsichts- und Hygienemaßnahmen getroffen werden, um einer Verschleppung des Erregers vorzubeugen, und
 - moribunde Tiere gemäß der Richtlinie 93/119/EWG des Rates vom 22. Dezember 1993 über den Schutz von Tieren zum Zeitpunkt der Schlachtung oder Tötung ⁽¹⁾, geändert durch die Verordnung (EG) Nr. 806/2003 ⁽²⁾ auf humane Weise getötet werden.
5. Werden in einem seuchenverdächtigen Betrieb weitere auf ASP hindeutende klinische Symptome oder Läsionen festgestellt, ist die zuständige Behörde jedoch der Auffassung, dass diese Befunde zur Bestätigung eines ASP-Ausbruchs nicht ausreichen und daher Laboruntersuchungen erforderlich sind, so müssen von den seuchenverdächtigen und den anderen Schweinen jeder Untereinheit, in der seuchenverdächtige Schweine gehalten werden, gemäß den folgenden Verfahrensvorschriften Blutproben für Laboruntersuchungen entnommen werden:
- a) 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) die Zahl der Proben für die virologischen Untersuchungen wird unter Berücksichtigung der durchzuführenden Tests, der Empfindlichkeit der Laboruntersuchungen sowie der Seuchenlage von der zuständigen Behörde festgelegt.

⁽¹⁾ ABl. L 340 vom 31.12.1993, S. 21.

⁽²⁾ ABl. L 122 vom 16.5.2003, S. 1.

6. Werden bei den Untersuchungen in dem seuchenverdächtigen Betrieb keine klinischen Symptome oder Läsionen festgestellt, die auf ASP hindeuten, hält die zuständige Behörde zur Entkräftung des ASP-Verdachts jedoch weitere Laboruntersuchungen für erforderlich, so werden als Leitlinien die Probenahmeverfahren gemäß Nummer 5 herangezogen.

B. VERFAHRENSVORSCHRIFTEN FÜR STICHPROBENUNTERSUCHUNGEN IN EINEM BETRIEB FÜR DEN FALL, DASS SCHWEINE WEGEN SEUCHENBESTÄTIGUNG GETÖTET WERDEN

1. Um den Übertragungsweg des ASP-Virus in einen Betrieb und die seit der Einschleppung vergangene Zeit bestimmen zu können, sind zum Zeitpunkt der Tötung der Schweine wegen Seuchenbestätigung gemäß Artikel 5 Absatz 1 Buchstabe a) der Richtlinie 2002/60/EG von den betreffenden Tieren nach dem Zufallsprinzip Blutproben zu entnehmen und serologisch zu untersuchen.
2. Dabei sind mindestens so viele Tiere zu beproben, dass in jeder der betreffenden Untereinheiten des Betriebs mit einer Nachweissicherheit von 95 % eine Seroprävalenz von 10 % festgestellt werden kann ⁽¹⁾.

Die Proben für die virologischen Untersuchungen müssen ebenfalls nach den Anweisungen der zuständigen Behörde unter Berücksichtigung der durchzuführenden Tests, der Empfindlichkeit der Laboruntersuchungen sowie der Seuchenlage entnommen werden.

In den Gebieten, in denen zuvor mit ASP-Virus infizierte Vektoren nachgewiesen wurden, müssen auf Anweisung der zuständigen Behörde und gemäß Anhang III der Richtlinie 2002/60/EG auch ausreichende Sammlungen von Lederzecken für virologische Untersuchungen angelegt werden.

3. Im Fall von Sekundärausbrüchen kann die zuständige Behörde jedoch beschließen, von den Bestimmungen der Nummern 1 und 2 abzuweichen und unter Berücksichtigung der für den Primärherd bereits vorliegenden epidemiologischen Daten, des Übertragungswegs und der potenziellen Virusverschleppung andere Probenahmeverfahren festzulegen.

C. PROBENAHMEVERFAHREN FÜR SEUCHENVERDÄCHTIGE BETRIEBE, IN DENEN SCHWEINE PRÄVENTIV GETÖTET WERDEN

1. Um den Verdacht auf ASP bestätigen oder widerlegen zu können und zusätzliche epidemiologische Informationen einzuholen, sind zum Zeitpunkt der Tötung der Schweine in einem seuchenverdächtigen Betrieb gemäß Artikel 4 Absatz 3 Buchstabe a) oder Artikel 7 Absatz 2 der Richtlinie 2002/60/EG und nach den Verfahrensvorschriften gemäß Nummer 2 von den betreffenden Tieren Blutproben für serologische und virologische Untersuchungen zu entnehmen.

2. Proben sind in erster Linie zu nehmen von

- Schweinen mit ASP-typischen Symptomen oder Sektionsbefunden sowie von ihren Kontaktschweinen;
- anderen Schweinen, die möglicherweise mit ASPV-infizierten oder ASP-verdächtigen Schweinen in Berührung gekommen sind, oder bei denen ASPV-Verdacht besteht. Die Proben von diesen Schweinen sind nach den Anweisungen der zuständigen Behörde unter Berücksichtigung der Seuchenlage zu entnehmen.

Darüber hinaus müssen die aus jeder einzelnen Untereinheit des Betriebs abgehenden Schweine nach dem Zufallsprinzip beprobt werden ⁽²⁾. Dabei sind für die serologischen Untersuchungen mindestens so viele Proben zu entnehmen, dass in jeder der betreffenden Untereinheiten mit einer Nachweissicherheit von 95 % eine Seroprävalenz von 10 % festgestellt werden kann.

Die Proben für die virologischen Untersuchungen sind nach den Anweisungen der zuständigen Behörde unter Berücksichtigung der durchzuführenden Tests, deren Empfindlichkeit sowie der Seuchenlage entnommen werden.

⁽¹⁾ Wurde jedoch von der Ausnahmeregelung gemäß Artikel 6 Absatz 1 der Richtlinie 2002/60/EG Gebrauch gemacht, so betrifft die Probenahme (unbeschadet aller weiteren Untersuchungen und Beprobungen der restlichen Schweine des Betriebs, die auf Anweisung der zuständigen Behörde durchgeführt werden sollen) auf jeden Fall die Untereinheiten, in denen Schweine getötet wurden.

⁽²⁾ Wurde die Präventivtötung von der zuständigen Behörde jedoch gemäß Artikel 4 Absatz 3 Buchstabe a) der Richtlinie 2002/60/EG auf den Betriebsteil beschränkt, in dem die Schweine, bei denen Verdacht auf Infektion oder Kontamination mit dem ASP-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.

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 (ARTIKEL 10 UND 11 DER RICHTLINIE 2002/60/EG)

1. Unbeschadet der Bestimmungen von Artikel 11 Absatz 1 Buchstabe f) Unterabsatz 2 der Richtlinie 2002/60/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.

2. Soweit Schweine in einen anderen Betrieb verbracht werden sollen, ist zusätzlich zu den Untersuchungen gemäß Nummer 1 in allen Untereinheiten des Betriebs, in denen die zu verbringenden Schweine gehalten werden, eine klinische Untersuchung, einschließlich Messung der Körpertemperatur bei einem Teil der Tiere, durchzuführen.

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

3. Soweit Schweine zu einem Schlachthof, einem Verarbeitungsbetrieb oder an andere Orte verbracht werden sollen, um dort geschlachtet oder getötet zu werden, ist zusätzlich zu den Untersuchungen gemäß Nummer 1 in allen Untereinheiten, in denen die zu verbringenden Schweine gehalten werden, eine klinische Untersuchung durchzuführen. Im Fall von über 3-4 Monate alten Schweinen umfasst diese Untersuchung bei einem Teil der Schweine auch die Messung der Körpertemperatur.

Es sind mindestens so viele Schweine zu untersuchen, dass in den betreffenden Untereinheiten mit einer Nachweissicherheit von 95 % eine Fieberprävalenz von 20 % 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 Organproben von Tonsillen, Milz oder Lymphknoten 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.

Die Proben sind nach den Anweisungen der zuständigen Behörde unter Berücksichtigung der durchzuführenden Tests, ihrer Empfindlichkeit sowie der Seuchenlage entnommen wurden.

5. Werden jedoch im Zuge der Schlachtung oder Tötung der Tiere ASP-typische klinische Symptome oder Sektionsbefunde festgestellt, so gelten abweichend von Nummer 4 die Verfahrensvorschriften für Stichprobenuntersuchungen gemäß Abschnitt C.

6. Die in Artikel 10 Absatz 5 und Artikel 11 Absatz 4 der Richtlinie 2002/60/EG vorgesehenen Abweichungen dürfen nur gewährt werden, wenn die zuständigen Behörden sicherstellen, dass auch auf die gemäß den Absätzen 2, 3 und 4 zu untersuchenden und zu beprobenden Gruppen von Schweinen ein intensives Probenahme- und Testprogramm angewandt wird. Im Rahmen dieses Programms sind mindestens so viele Blutproben zu nehmen, dass in den betreffenden Gruppen von Schweinen mit einer Nachweissicherheit von 95 % eine Seroprävalenz von 5 % festgestellt werden kann.

E. VERFAHRENSVORSCHRIFTEN FÜR KONTROLLEN UND STICHPROBENUNTERSUCHUNGEN BEI WIEDERBELEGUNG VON BETRIEBEN

1. Bei der Wiedereinstellung von Schweinen in einen Betrieb gemäß Artikel 13 Absatz 3 der Richtlinie 2002/60/EG sind folgende Stichprobenuntersuchungen durchzuführen:

- frühestens 45 Tage nach Wiedereinstellung der Schweine sind Blutproben zu entnehmen;
- 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;
- 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.

2. Bei der Wiedereinstellung von Schweinen in einen Betrieb gemäß Artikel 13 Absatz 4 der Richtlinie 2002/60/EG sind folgende Stichprobenuntersuchungen durchzuführen:

- frühestens 45 Tage nach Wiedereinstellung der Schweine sind Blutproben zu entnehmen;
- 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 5 % festgestellt werden kann;
- 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 10 % festgestellt werden kann.

Das Verfahren nach dem dritten Gedankenstrich muss frühestens 60 Tage nach der vollständigen Wiederbelegung wiederholt werden.

3. Nach jeder Wiederbelegung trägt die zuständige Behörde dafür Sorge, dass Schweine, die in diesem Betrieb aus unbekanntem Gründen erkranken oder verenden, unverzüglich auf ASP untersucht werden.

Diese Bestimmungen gelten in dem betreffenden Betrieb bis zur Aufhebung der Beschränkungen gemäß Artikel 13 Absatz 3 Buchstaben a) und b) sowie Artikel 13 Absatz 4 der Richtlinie 2002/60/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 2002/60/EG in einer Schutzzone aufgehoben werden können, sind in allen Betrieben in dieser Zone

- klinische Untersuchungen nach den Vorschriften 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.

Die in Artikel 10 Absatz 5 und Artikel 11 Absatz 4 der Richtlinie 2002/60/EG vorgesehenen Abweichungen dürfen jedoch nur gewährt werden, wenn die zuständige Behörde sicherstellt, dass so viele Blutproben genommen werden, dass in jeder Untereinheit des Betriebs mit einer Nachweissicherheit von 95 % eine Seroprävalenz von 5 % festgestellt werden kann.

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 2002/60/EG in einer Überwachungszone 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 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 erster Satz.

Die in Artikel 10 Absatz 5 und Artikel 11 Absatz 4 der Richtlinie 2002/60/EG vorgesehenen Abweichungen dürfen jedoch nur gewährt werden, wenn die zuständige Behörde sicherstellt, dass in jedem Betrieb in der Überwachungszone Blutproben zur serologischen Untersuchung genommen werden. Es sind mindestens so viele Blutproben zu entnehmen, dass in jeder Untereinheit des Betriebs mit einer Nachweissicherheit von 95 % eine Seroprävalenz von 5 % festgestellt werden kann.

H. VERFAHRENSVORSCHRIFTEN FÜR DIE SEROLOGISCHE ÜBERWACHUNG UND STICHPROBENUNTERSUCHUNGEN IN GEBIETEN, IN DENEN ASP IN WILDSCHWEINBESTÄNDEN VERMUTET WIRD ODER BESTÄTIGT WURDE

1. Zur serologischen Überwachung von Wildschweinen in Gebieten, in denen die ASP bestätigt wurde oder vermutet wird, sollten zunächst Größe und geografisches Gebiet der zu untersuchenden Zielpopulation bestimmt werden, damit die Zahl der zu entnehmenden Proben festgelegt werden kann. Der Stichprobenumfang richtet sich nicht nach der Zahl erlegter Tiere, sondern vielmehr nach der geschätzten Zahl lebender Tiere.
2. Liegen keine Angaben über Größe und Dichte der Wildschweinpopulation vor, so muss das geografische 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 von etwa 200 km² festzulegen, bei denen in der Regel mit einer Wildschweinpopulation von 400 bis 1 000 Tieren gerechnet werden kann.
3. Unbeschadet der Bestimmungen des Artikels 15 Absatz 2 Buchstabe c) der Richtlinie 2002/60/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 56 Tiere der Stichprobenuntersuchung zu unterziehen.
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 unter 1 Jahr alten Tieren erfolgen.

5. Allen Proben, die zum Labor weitergeleitet werden, muss der Fragebogen gemäß Artikel 16 Absatz 3 Buchstabe h) der Richtlinie 2002/60/EG beiliegen.

Kapitel V

Allgemeine Verfahrensvorschriften und Kriterien für Entnahme und Versand von Proben

A. ALLGEMEINE VERFAHRENSVORSCHRIFTEN UND KRITERIEN

1. Bevor mit der Probennahme in einem seuchenverdächtigen Betrieb begonnen wird, ist ein Grundriss des Betriebs anzufertigen, in dem die epidemiologischen Untereinheiten einzutragen sind.
2. Wenn zu erwarten ist, dass eine Zweitbeprobung notwendig werden könnte, sind die beprobten Schweine auf eindeutige Weise so zu kennzeichnen, dass sie leicht erneut beprobt werden können.
3. Allen Proben müssen beim Versand 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 ASP-Virus, Antigens oder Genoms bei toten oder schmerzlos getöteten Schweinen sind Proben von Tonsillen, Lymphknoten (gastro-hepaticum, renalis, submandibulares und retropharyngeales), Milz-, Nieren- und Lungengewebe am besten geeignet⁽¹⁾. Im Fall autolytischer Tierkörper sind ein langer Röhrenknochen oder das Sternum das geeignetste Probenmaterial.
2. Von Schweinen mit Fieber oder anderen Krankheitssymptomen sind gemäß den Anweisungen der zuständigen Behörde Proben von antikoaguliertem und/oder geronnenem Blut zu entnehmen.

⁽¹⁾ Es wird empfohlen, auch Ileumproben zu entnehmen, da sie für die Diagnose der klassischen Schweinepest von Nutzen sein können.

C. VERSAND VON PROBEN

1. Es wird empfohlen, sämtliches Probenmaterial
 - ordnungsgemäß zu kennzeichnen;
 - in auslaufsicheren Behältnissen zu versenden und zu lagern;
 - bei Kühlschranktemperatur zu kühlen. Wird jedoch davon ausgegangen, dass der Versand der Proben zum Labor länger als 48 Stunden dauert, so sollten beim Labor Anweisungen für die am besten geeigneten Temperaturbedingungen während des Transports eingeholt werden;
 - dem Labor so schnell wie möglich anzuliefern;
 - zur Kühlung in einem Paket mit Kühlelementen oder Trockeneis zu versenden;
 - im Fall von Gewebe- oder Organproben: separat in verschlossenen ordnungsgemäß etikettierten Kunststoffbehältnissen zu befördern, die wiederum in größere Behältnisse gepackt werden, die zum Schutz vor Beschädigung und zum Aufsaugen etwa ausfließenden Inhalts 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. Die Außenseite der Verpackung muss mit der Anschrift des Empfängerlabors und deutlich sichtbar mit folgendem Vermerk gekennzeichnet sein:

„Pathologisches Tiermaterial. Verderblich. Zerbrechlich. Darf nur im ASP-Diagnoselabor geöffnet werden.“
3. Die zuständige Person im Empfängerlabor ist rechtzeitig über das Eintreffen der Probensendung zu informieren.
4. Werden Proben auf dem Luftweg zum Gemeinschaftlichen Referenzlabor für ASP⁽¹⁾ befördert, so ist die Verpackung entsprechend den IATA-Vorschriften zu kennzeichnen.

*Kapitel VI***Prinzipien und Verfahrensvorschriften für virologische Untersuchungen und Auswertung der Testergebnisse**

A. NACHWEIS VON VIRUSANTIGEN

1. Direkter Immunfluoreszenztest (DIFT)

Testprinzip ist der mikroskopische Nachweis von Virusantigenen an Tupfpräparaten oder dünnen Kryostatschnitten von Organproben ASPV-verdächtiger Schweine. Intrazelluläre Antigene werden mithilfe FITC⁽²⁾-konjugierter spezifischer Antikörper nachgewiesen. Im Cytoplasma infizierter Zellen erscheinen dabei fluoreszierende Einschlusskörper oder Granula.

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

Der Test lässt sich innerhalb von zwei Stunden durchführen. Da die Organproben nur von toten Tieren entnommen werden können, ist der Test für Screeningzwecke nur begrenzt geeignet.

Der DIFT ist ein sehr empfindlicher Test für Fälle akuter ASP. Bei subakuten oder chronischen Verlaufsformen hat dieser Test — wahrscheinlich wegen der Antigen-Antikörper-Komplexe, die die Reaktion mit dem ASPV-konjugierten Antikörper blockieren — allerdings nur eine Empfindlichkeit von etwa 40 %. Die Zuverlässigkeit der Testergebnisse kann durch unklare Farbreaktionen beeinträchtigt werden, insbesondere, wenn die Erfahrung des Untersuchers noch begrenzt ist oder das Ausgangsmaterial autolytisch war.

2. ELISA zum Antigennachweis

Virusantigen lässt sich auch mithilfe von ELISA-Testmethoden nachweisen. Diese Verfahren werden jedoch nur für akute Formen der Krankheit empfohlen, da sie nicht sehr empfindlich sind, wenn Antigen-Antikörper-Komplexe vorliegen. Der Antigen-ELISA-Test sollte so empfindlich sein, dass bei Tieren mit klinischen Symptomen für akute ASP ein Positivbefund gewährleistet ist. Es wird empfohlen, diesen Test auf jeden Fall nur als „Herden“-Test und in Verbindung mit anderen virologischen Untersuchungen anzuwenden.

⁽¹⁾ Das Gemeinschaftliche Referenzlabor hat eine offene Lizenz für die Einsendung von Diagnoseproben und ASP-Virusisolaten aus allen Mitgliedstaaten. Bei Proben aus Drittländern kann von dem betreffenden Labor vor dem Transport eine Kopie der Einfuhrgenehmigung verlangt werden, die der Sendung in einem an der Außenseite der Verpackung angebrachten Umschlag beizufügen ist.

⁽²⁾ Fluorescein-Isothiocyanat.

B. VIRUSISOLIERUNG UND VIRUSIDENTIFIZIERUNG DURCH HÄMADSORPTIONSTEST (HADT)

1. Zur Virusisolierung werden empfängliche Zellkulturen von Schweinen (Monozyten und Makrophagen) mit Probenmaterial beimpft. Bevorzugtes Probenmaterial für die ASPV-Isolierung sind Vollblut und Leukozyten, die aus nicht geronnenen Blutproben oder den in Abschnitt A Nummer 1 genannten Organen gewonnen werden. Wenn die Probe ASP-Virus enthält, wird es sich in den Zellen replizieren und in den infizierten Zellen einen charakteristischen zytopathischen Effekt auslösen.
2. Der Hämadsorptionstest wird wegen seiner hohen Empfindlichkeit und Spezifität für die Identifizierung von ASPV-Isolaten empfohlen. Der Test basiert auf der Fähigkeit des ASP-Virus, sich in Schweine-Makrophagen zu replizieren und in Gegenwart von Schweine-Erythrozyten Hämadsorption zu verursachen. Um die infizierten Makrophagen bildet sich eine charakteristische Erythrozyten-„Rosette“. Eine kleine Zahl von ASPV-Feldstämmen induziert möglicherweise keine Hämadsorption, verursacht aber einen zytopathischen Effekt. Diese Stämme können mithilfe des DIFT an den Zellkultursedimenten oder durch PCR identifiziert werden.
3. Die Virusisolierung ist am besten zur Untersuchung von Proben kleiner Tiergruppen und weniger zur Überwachung großer Bestände geeignet. Die Virusisolierung ist arbeitsintensiv; die Ergebnisse liegen nach ein bis drei Tagen vor. Zwei weitere Zellkulturpassagen können erforderlich sein, um eine kleine Virusmenge in der Probe nachweisen zu können. Bis ein endgültiges Ergebnis vorliegt, können so durchaus bis zu zehn Tage vergehen. Autolytische Proben können zytotoxisch auf die Zellkultur wirken und den Test entsprechend beeinträchtigen.
4. Die Virusisolierung und -identifizierung durch HADT wird als Referenztest zur Bestätigung positiver Ergebnisse von ELISA, PCR oder DIFT empfohlen. Sie sollten auch durchgeführt werden, wenn ASP insbesondere im Fall eines Primärausbruchs bereits durch andere Methoden bestätigt wurde.

In Schweinemakrophagen isolierte ASP-Viren können für die Viruscharakterisierung und Molekularepidemiologie verwendet werden.

5. Alle ASPV-Isolate von sämtlichen 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 genetisch charakterisiert werden.

Im jedem Fall sind diese Virusisolate für die Virussammlung unverzüglich an das Gemeinschaftliche Referenzlabor einzusenden.

C. NACHWEIS VON VIRUSGENOM

1. Die Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) dient dem Nachweis von Virusgenom in Blut-, Serum-, Gewebe- und Organproben. Dabei werden kleine Fragmente viraler DNA zu nachweisbaren Mengen amplifiziert. Mithilfe von Primern aus stark konservierten Regionen des Genoms kann eine breite Palette von Isolaten aller bekannten Virusgenotypen, einschließlich nicht hämadsorbierender Viren und schwachvirulenter Isolate, nachgewiesen werden. Da sich mit diesem Test nur eine Genomsequenz des Virus nachweisen lässt, kann die PCR auch einen Positivbefund ergeben, wenn bei der Virusisolierung kein infektiöses Virus nachgewiesen wurde (z. B. in autolytischem Gewebe oder in Proben von rekonvaleszenten oder von genesenen und klinisch unauffälligen Schweinen).
2. Die PCR eignet sich zur Untersuchung einer begrenzten Zahl sorgfältig ausgewählter Proben von verdächtigen Schweinen. Die Methode empfiehlt sich insbesondere bei zytotoxischen Proben, bei denen eine Virusisolierung nicht möglich ist (z. B. Proben von Wildschweinen).
3. Für die PCR kommen dieselben Organproben in Frage wie bei der Virusisolierung sowie Serum. Zeckenhomogenat kann ebenfalls durch PCR analysiert werden.
4. Die PCR lässt sich innerhalb eines Arbeitstages durchführen. Sie setzt eine geeignete Laborausstattung, spezielle Räumlichkeiten und erfahrenes Laborpersonal voraus. Ein Vorteil dieser Methode liegt darin, dass infektiöse Viren 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.

D. EMPFOHLENE VIROLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN UND AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Virologische Untersuchungen sind zur Bestätigung einer ASP-Infektion unerlässlich.

Virusisolation und Hämadsorptionstest gelten als Referenzmethoden und sich erforderlichenfalls als Bestätigungstests anzuwenden. Sie werden besonders im Fall positiver DIFT- oder PCR-Befunde, die nicht mit klinischen Symptomen oder Läsionen assoziiert sind, sowie in anderen Zweifelsfällen empfohlen.

Ein primärer ASP-Herd kann jedoch bestätigt werden, wenn bei den betreffenden Schweinen klinische Symptome oder Läsionen nachgewiesen wurden und Proben von demselben verdächtigen Schwein bei mindestens zwei unterschiedlichen Antigen-, Genom-, oder Antikörpernachweistests einen Positivbefund ergeben haben.

Ein Sekundärausbruch der ASP kann 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 ein Antigen-, Genom- oder Antikörpernachweistest einen Positivbefund ergeben hat.

Ein ASP-Primärherd in der Schwarzwildpopulation kann durch Virusisolierung bestätigt werden oder wenn bei mindestens zwei Antigen-, Genom- oder Antikörpernachweistests ein Positivbefund vorliegt. Weitere ASP-Fälle bei Wildschweinen, bei denen ein epidemiologischer Zusammenhang mit zuvor bestätigten Fällen nachgewiesen wurde, können bestätigt werden, wenn ein Antigen-, Genom- oder Antikörpernachweistest einen Positivbefund ergibt.

E. GENETISCHE CHARAKTERISIERUNG VON ASP-VIRUSISOLATEN

1. Zur genetischen Charakterisierung von ASPV-Isolaten werden Restriktionsenzymmuster und Nukleotidsequenz von Teilen des Virusgenoms bestimmt. Die Ähnlichkeit dieser Muster oder Sequenzen mit denen früherer Virusisolate kann einen Anhaltspunkt dafür liefern, ob Seuchenausbrüche durch Viren europäischer oder afrikanischer Molekülmodelle hervorgerufen werden.

Die genetische Charakterisierung von ASPV-Isolaten ist von großer Bedeutung für ein besseres Verstehen der molekularen Epidemiologie der ASP und der genetischen Variation von Viren. Die molekularen Angaben erlauben die Klassifizierung neuer Isolate und geben Aufschluss über ihren möglichen Ursprung.

2. Kann die molekulare Charakterisierung nicht kurzfristig in einem nationalen Labor oder einem anderen für die ASP-Diagnose zugelassenen Labor durchgeführt werden, so sind die Originalprobe oder das Virusisolat so schnell wie möglich zur molekularen Charakterisierung an das Gemeinschaftliche Referenzlabor weiterzuleiten.

Die Daten aus der Restriktionsenzymanalyse und der Sequenzierung von ASPV-Isolaten, die den zur ASP-Diagnose zugelassenen Laboratorien vorliegen, sind an das Gemeinschaftliche Referenzlabor weiterzuleiten, damit sie in die von diesem Labor geführte Datenbank aufgenommen werden können.

Die Angaben in dieser Datenbank müssen allen nationalen Referenzlaboratorien in den Mitgliedstaaten zugänglich sein. Im Hinblick auf die Veröffentlichung dieser Daten in der Fachpresse 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 Ergebnisse

A. GRUNDPRINZIPIEN UND DIAGNOSTISCHER WERT

1. Bei subakuten und chronischen Verlaufsformen sowie für großangelegte Testreihen und ASP-Tilgungsprogramme wird aus folgenden Gründen der Nachweis ASPV-spezifischer Antikörper empfohlen:
 - i) Infizierte Schweine bilden rasch Antikörper. Bei diesen Schweinen lassen sich Antikörper in der Regel 7-10 Tage nach der Infektion in Serumproben nachweisen;
 - ii) es gibt keine Impfstoffe gegen ASP. ASPV-spezifische Antikörper werden also nur durch eine ASPV-Infektion induziert und
 - iii) die Antikörperreaktion hält lange an. Bei rekonvaleszenten Schweinen lassen sich noch viele Monate nach der Erkrankung, bei einigen Schweinen sogar lebenslang, hohe Werte spezifischer Antikörper nachweisen.

Während der ersten zehn Lebenswochen können bei Ferkeln maternale ASPV-spezifische Antikörper nachgewiesen werden, die eine Halbwertszeit von etwa drei Wochen haben. ASPV-Antikörper in über drei Monate alten Ferkeln sind wahrscheinlich nicht maternalen Ursprungs.

2. Der Nachweis von ASPV-Antikörpern in Serum oder Plasmaexsudat von eingereichten Organen dient der Untermauerung der ASP-Diagnose in seuchenverdächtigen Betrieben, der Abschätzung des Infektionszeitpunkts bei bestätigten Ausbrüchen sowie der Seuchenüberwachung.

Der Standort seropositiver Schweine im Betrieb kann ein wichtiger Anhaltungspunkt dafür sein, wie und wo das ASP-Virus in den Betrieb eingeschleppt wurde.

Die Befunde der serologischen Untersuchungen müssen jedoch sorgfältig ausgewertet werden, wobei allen klinischen, virologischen und epidemiologischen Untersuchungen, die gemäß Artikel 8 der Richtlinie 2002/60/EG in Verdachtsfällen oder bei bestätigten Ausbrüchen der ASP durchgeführt werden, Rechnung zu tragen ist.

B. EMPFOHLENE SEROLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN

1. Die Methoden der Wahl für die serologische Bestätigung der ASP sind der ELISA-Test, der indirekte Immunfluoreszenztest (IIFT) und der Immunblotting-Test (IB).

Qualität und Effizienz der von den nationalen Laboratorien durchgeführten serologischen Diagnosen müssen im Rahmen der laborübergreifenden Vergleichstests, die das gemeinschaftliche Referenzlabor periodisch vornimmt, regelmäßig kontrolliert werden.

2. Der ELISA-Test ist die zuverlässigste und nützlichste Methode für großangelegte serologische Studien. Er basiert auf dem Nachweis der an die Virusproteine gebundenen ASPV-Antikörper. Sie werden durch Zugabe von enzymmarkiertem Protein A an eine feste Phase gebunden. Die Reaktion mit einem geeigneten Substrat ergibt eine sichtbare Farbreaktion.
3. Die nationalen Laboratorien müssen die Empfindlichkeit und Spezifität jeder Charge von ELISA-Reagenzien regelmäßig einer Qualitätskontrolle unterziehen, wobei folgende vom gemeinschaftlichen Referenzlabor bereitgestellte Referenzseren zu verwenden sind:
 - Seren von Schweinen im frühen Stadium einer ASPV-Infektion (weniger als 17 Tage post infectionem);
 - Seren von rekonvaleszenten Schweinen (mehr als 17 Tage post infectionem).

ELISA-Methoden, die zur serologischen Diagnose der ASP angewendet werden, müssen alle Referenzseren von den rekonvaleszenten Schweinen nachweisen. Alle mit den Referenzseren erzielten Ergebnisse müssen reproduzierbar sein. Es wird empfohlen, dass auch alle positiven Seren der frühen Phase nachgewiesen werden. Die mit den Referenzseren von Schweinen im frühen Infektionsstadium erhaltenen Ergebnisse geben einen Anhaltspunkt für die Empfindlichkeit der ELISA-Methode.

4. Der IIFT ist ein schnelles Verfahren mit hoher Empfindlichkeit und Spezifität für den Nachweis von ASPV-Antikörpern in Seren oder Gewebeexsudaten. Er basiert auf dem Nachweis von ASPV-Antikörpern, die sich an einen Monolayer von mit einem angepassten ASP-Virus infizierten MS-Zellen binden. Die Antigen-Antikörper-Reaktion wird durch ein fluoreszenzmarkiertes Protein nachgewiesen. Positive Proben weisen spezifische Fluoreszenz in der Nähe des Kerns der infizierten Zellen auf.

Die kombinierte Anwendung von DIFT und IIFT zur Untersuchung von Organ-, Blut- und Exsudatproben von Tieren mit klinischen Symptomen für ASP ermöglicht eine schnelle und zuverlässige Bestätigung der Seuche.

5. Der IB-Test ist eine hochspezifische und empfindliche Technik und basiert auf der Verwendung von Nitrocellulose-Streifen, die Virusproteine als Antigen enthalten. Die spezifische Antigen-Antikörper-Reaktion wird durch Zugabe eines Protein-A-Peroxidase-Konjugats und eines geeigneten Substrats nachgewiesen. Die Methode eignet sich besonders zur Untersuchung von Seren, bei denen der ELISA-Test kein schlüssiges Ergebnis erbracht hat.

Kapitel VIII

Mindestsicherheitsanforderungen für ASP-Laboratorien

1. Laboratorien, in denen ASP-Virus durch Replikation in Zellkulturen amplifiziert wird, müssen die in Tabelle 1 festgelegten Anforderungen erfüllen. Postmortale Untersuchungen, Gewebeaufbereitungen für DIFT oder PCR und für serologische Untersuchungen, bei denen inaktiviertes Antigen verwendet wird, dürfen jedoch auf einer niedrigeren Sicherheitsstufe durchgeführt werden, sofern die Mindestanforderungen gemäß Tabelle 1 und grundlegende Hygieneregeln eingehalten werden sowie eine Schlussdesinfektion mit sicherer Entsorgung von Tierkörpern, Geweben und Seren gewährleistet ist.

2. Laboratorien, in denen Tiere mit ASP-Virus beimpft werden, müssen die in Tabelle 2 festgelegten Anforderungen erfüllen.
3. ASP-Virusvorräte sind in gefrorener oder gefriergetrockneter Form an einem sicheren Ort aufzubewahren. 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 sowie über neu eingelagerte Virusstämme (Angabe der Bezugsquelle) und über Viren, die an andere Laboratorien abgegeben wurden.
4. Es wird empfohlen, die Biosicherheitsbereiche für die Arbeit mit ASP-Viren durch Arbeitsbereiche zu ergänzen, in denen nicht mit ASP-Viren gearbeitet wird. Diese Bereiche 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 ASP-Viren verwendet werden, sowie für Verwaltungs- und Büroarbeiten genutzt werden.

Tabelle 1

Prinzipien der biologischen Sicherheit für Diagnoselaboratorien

	Mindestanforderungen	Zusätzliche Anforderungen
Allgemeines Arbeitsumfeld	Normaler Luftdruck Räume, die ausschließlich bestimmten Verfahren gewidmet sind	Normaler Luftdruck, einfache HEPA-Filtrierung der Abluft Räume, die ausschließlich für die Diagnose von KSP oder ASP benutzt werden Potenziell kontaminierte Abwässer sind zu behandeln (Hitze oder chemische Verfahren), um ASP-Virus abzutöten
Laborkleidung	Spezielle Überkleidung, die nur im ASPV-Bereich getragen wird Wegwerfhandschuhe für alle Arbeiten mit infiziertem Material Überkleidung ist beim Verlassen des Arbeitsbereichs zu sterilisieren oder innerhalb des Arbeitsbereichs auf hoher Temperatur zu waschen	Vollständiger Kleidungswechsel bei Betreten des Labors. Laborkleidung darf nur im ASPV-Bereich getragen werden Wegwerfhandschuhe für alle Arbeiten mit infiziertem Material Kleidung ist beim Verlassen des Arbeitsbereichs zu sterilisieren oder innerhalb des Arbeitsbereichs auf hoher Temperatur zu waschen
Personalkontrolle	Betreten des Arbeitsbereichs nur durch namentlich ausgewiesenes Fachpersonal Obligatorisches Waschen und Desinfizieren der Hände vor Verlassen des Arbeitsbereichs Personal darf 48 Stunden nach dem Verlassen des Arbeitsbereichs keine Betriebe besuchen, in denen Schweine gehalten werden	Betreten des Arbeitsbereichs nur durch namentlich ausgewiesenes Fachpersonal Obligatorisches Waschen und Desinfizieren der Hände vor Verlassen des Arbeitsbereichs Personal darf 48 Stunden nach dem Verlassen des Arbeitsbereichs keine Betriebe besuchen, in denen Schweine gehalten werden
Ausrüstung	Sicherheitswerkbank (Klasse I oder II) für alle Arbeiten mit Lebendvirus. Ausstattung der Werkbank mit doppeltem HEPA-Filter zur Abluftfiltrierung Alle für die Laborarbeit benötigten Ausrüstungen müssen im Arbeitsbereich vorhanden sein	

Tabelle 2

Biosicherheitsanforderungen für Versuchsterräume

	Anforderungen
Allgemeines Arbeitsumfeld	Automatischer kontrollierter Unterdruck Einfache HEPA-Filtrierung der Abluft Vorrichtung zur vollständigen Dekontamination oder Begasung nach abgeschlossenem Experiment Behandlung aller festen und flüssigen Abfälle/Abwässer zur Abtötung von ASP-Viren (Hitzebehandlung/Verbrennung oder chemische Behandlung)

	Anforderungen
Laborkleidung	Vollständiger Kleidungswechsel beim Betreten des Bereichs Sterilisierung der Kleidung vor Verlassen des Arbeitsbereichs oder innerhalb des Arbeitsbereichs bei hoher Temperatur waschen
Personalkontrolle	Betreten des Arbeitsbereichs nur durch namentlich ausgewiesenes Fachpersonal Vor dem Duschen Kleidung im Arbeitsbereich lassen. Ganzkörperduschen beim Verlassen des Arbeitsbereichs Personal darf 48 Stunden nach dem Verlassen des Arbeitsbereichs keine Betriebe besuchen, in denen Schweine gehalten werden
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 ASP-Labor desinfiziert wurden
Tiere	Alle Tiere sind vor dem Verlassen des Arbeitsbereichs zu töten, Sektionen sind innerhalb des Biosicherheitsbereichs durchzuführen, und die Tierkörper sind nach abgeschlossener Untersuchung unschädlich zu beseitigen