

32000D0428

L 167/22

DZIENNIK URZĘDOWY WSPÓLNOT EUROPEJSKICH

7.7.2000

DECYZJA KOMISJI**z dnia 4 lipca 2000 r.****ustanawiająca procedury diagnostyczne, metody pobierania próbek i kryteria oceny wyników badań laboratoryjnych w celu potwierdzenia i diagnostyki różnicowej choroby pęcherzykowej świń***(notyfikowana jako dokument nr C(2000) 1805)***(Tekst mający znaczenie dla EOG)**

(2000/428/WE)

KOMISJA WSPÓLNOT EUROPEJSKICH,

uwzględniając Traktat ustanawiający Wspólnotę Europejską,

uwzględniając dyrektywę Rady 92/119/EWG z dnia 17 grudnia 1992 r. wprowadzającą ogólne wspólnotowe środki zwalczania niektórych chorób zwierząt i szczególne środki odnoszące się do choroby pęcherzykowej świń⁽¹⁾, ostatnio zmienioną Aktem Przystąpienia Austrii, Finlandii i Szwecji, w szczególności pkt 3 jej załącznika II,

a także mając na uwadze co następuje:

(1) Konieczne jest ustanowienie na poziomie wspólnotowym procedur diagnostycznych, metod pobierania próbek i kryteriów oceny wyników badań laboratoryjnych w celu potwierdzenia choroby pęcherzykowej świń i natychmiastowego różnicowania od pryszczycy, w celu zapewnienia usprawnienia kontroli obu chorób.

(2) Załącznik III do dyrektywy Rady 92/119/EWG ustanawia funkcje i obowiązki wspólnotowego laboratorium referencyjnego dla choroby pęcherzykowej świń w celu koordynacji, w porozumieniu z Komisją, metod stosowanych w Państwach Członkowskich w przypadku diagnozowania tej choroby; omawiane funkcje i obowiązki obejmują także, na poziomie wspólnotowym, organizację okresowych badań porównawczych i dostarczanie odczynników wzorcowych.

(3) Ostatnio ulepszone zostały badania laboratoryjne zapewniające szybkie diagnozowanie choroby pęcherzykowej świń i różnicowanie jej od pryszczycy.

(4) Wyniki najbardziej aktualnych badań porównawczych przeprowadzonych na poziomie wspólnotowym sugerują w szczególności, iż powstały niezawodne badania wykrywające antygen lub genom wirusa choroby pęcherzykowej świń oraz że badania te mogą z powodzeniem uzupełniać badanie na izolację wirusa w ramach wirusologicznej diagnostyki choroby pęcherzykowej świń.

(5) Zdobyte doświadczenie w kontroli choroby pęcherzykowej świń w ostatnich latach dało w wyniku określenie najbardziej odpowiednich procedur pobierania próbek oraz najważniejszych kryteriów oceny wyników badań laboratoryjnych w celu prawidłowej diagnostyki choroby pęcherzykowej świń w różnych sytuacjach.

(6) Wzięto pod uwagę opinie i zalecenia w sprawie choroby pęcherzykowej świń wydane przez Komitet Naukowy ds. Zdrowia Zwierząt i ich Dobrostanu.

(7) Środki przewidziane w niniejszej decyzji są zgodne z opinią Stałego Komitetu Weterynaryjnego,

PRZYJMUJE NINIEJSZĄ DECYZJĘ:

Artykuł 1

1. Państwa Członkowskie zapewniają, iż potwierdzenie przypadku choroby pęcherzykowej świń i diagnostyki różnicowej z pryszczycą następuje w oparciu o:

a) wykrycie objawów klinicznych choroby;

⁽¹⁾ Dz.U. L 62 z 15.3.1993, str. 69.

b) wykrycie obecności wirusa, antygeny lub genomu w próbkach tkanek nabłonka, płynu z pęcherzy lub kału;

c) wykazanie specyficznych przeciwciał w próbkach surowicy, zgodnie z procedurami, metodami pobierania próbek i kryteriami oceny wyników badań laboratoryjnych ustanowionymi w instrukcji załączonej do niniejszej decyzji.

2. Jednakże krajowe laboratoria diagnostyczne określone w pkt 5 załącznika II do dyrektywy 92/119/EWG mogą dokonywać modyfikacji w badaniach laboratoryjnych określonych w instrukcji załączonej do niniejszej decyzji lub stosować inne badania, o ile zostanie wykazana ich równorzędna czułość i swoistość.

Czułość i swoistość omawianych zmodyfikowanych lub odmiennych badań musi być oceniona w ramach okresowych badań porównawczych organizowanych przez wspólnotowe laboratorium referencyjne dla choroby pęcherzykowej świń.

Artykuł 2

Niniejszą decyzję stosuje się od 1 października 2000 r.

Artykuł 3

Niniejsza decyzja skierowana jest do Państw Członkowskich.

Sporządzono w Brukseli, dnia 4 lipca 2000 r.

W imieniu Komisji

David BYRNE

Członek Komisji

ZAŁĄCZNIK

INSTRUKCJA W ZAKRESIE PROCEDUR DIAGNOSTYCZNYCH, METOD POBIERANIA PRÓBEK I KRYTERIÓW OCENY WYNIKÓW BADAŃ LABORATORYJNYCH W CELU POTWIERDZENIA I DIAGNOSTYKI RÓŻNICOWEJ CHOROBY PĘCHERZYKOWEJ ŚWIŃ

ROZDZIAŁ I

Wprowadzenie, cele i definicje

1. Niniejsza instrukcja:
 - a) ustala wytyczne i wymogi minimalne w odniesieniu do procedur diagnostycznych, metod pobierania próbek i kryteriów oceny wyników badań laboratoryjnych w zakresie prawidłowej diagnostyki choroby pęcherzykowej świń. Jednakże szczególny nacisk kładzie się również na diagnostykę różnicową z pryszczycą;
 - b) łączy w jedną całość przepisy zawarte w załączniku II do dyrektywy 92/119/EWG, w szczególności pkt 4, 7 i 8 wymienionego załącznika;
 - c) jest skierowana przede wszystkim do organów odpowiedzialnych za kontrolę choroby pęcherzykowej świń. Dlatego też kładzie się nacisk na zasady i stosowanie badań laboratoryjnych oraz ocenę ich wyników, a nie na szczegółowe techniki laboratoryjne.
2. Do celów niniejszej instrukcji stosuje się następujące definicje:
 - a) „świnia seropozytywna” jest to każda świnia, w surowicy której stwierdza się miano przeciwciał równe lub większe niż w surowicy referencyjnej 4 dla choroby pęcherzykowej świń, określonej w rozdziale X, w odczynie neutralizacji wirusa stosowanym przez laboratorium krajowe;
 - b) „pojedynczy reagent” jest to pojedyncza seropozytywna świnia w gospodarstwie, która daje wynik pozytywny w badaniach serologicznych w kierunku choroby pęcherzykowej świń, lecz która nie miała kontaktu z wirusem choroby pęcherzykowej świń i w stosunku do której nie ma dowodów, iż od tej świni zakażenie mogło się przenieść na świnię kontaktowe. Stwierdza się, iż świnia seropozytywna jest pojedynczym reagentem, jeżeli spełnione są warunki określone w rozdziale VIII część C;
 - c) „świnie kontaktowe” są to świnię, które mają bezpośredni kontakt lub w ciągu ostatnich 28 dni miały bezpośredni kontakt z jedną lub więcej seropozytywnymi świniami lub z jedną lub więcej świniami podejrzanymi o zakażenie wirusem choroby pęcherzykowej świń. Świnie kontaktowe mogą lub mogły znajdować się w tej samej zagrodzie lub w zagrodzie przyległej, jeżeli istnieje możliwość bezpośredniego kontaktu świń między zagrodami.

ROZDZIAŁ II

Wytyczne w zakresie kontroli świń wykazujących objawy kliniczne choroby pęcherzykowej świń

1. W razie podejrzenia występowania w jakimkolwiek gospodarstwie wirusa choroby pęcherzykowej świń, Państwa Członkowskie zapewniają poddanie badaniom przez urzędowego lekarza weterynarii statystycznie istotnej liczby świń, w możliwie najkrótszym terminie, w celu wykrycia objawów klinicznych choroby określonych w rozdziale IX.
2. W razie wystąpienia u świń objawów klinicznych sugerujących chorobę pęcherzykową świń lub pryszczycę, Państwa Członkowskie zapewniają przeprowadzenie, w możliwie najkrótszym terminie, diagnostyki różnicowej poprzez odpowiednie pobranie próbek i badania laboratoryjne, zgodnie z przepisami określonymi w rozdziale IV, VII i VIII niniejszej instrukcji.

ROZDZIAŁ III

Ogólne procedury pobierania i przewozu próbek

1. Każda osoba wchodząca do gospodarstwa, w którym zachodzi podejrzenie występowania choroby pęcherzykowej świń, lub je opuszczająca, musi przestrzegać surowych zasad higieny niezbędnych w celu zmniejszenia ryzyka zakażenia lub rozprzestrzenienia się wirusa.
2. Wszystkie świnię, od których pobrano próbki muszą zostać jednoznacznie oznakowane w taki sposób, aby możliwe było ich zidentyfikowanie w celu ewentualnego ponownego pobrania próbek. Zaleca się, aby określenie w gospodarstwie miejsca znajdowania się każdej świni, od której pobrano próbkę było rejestrowane razem z jednoznacznym znakiem identyfikacyjnym zwierzęcia, w szczególności jeżeli próbki były pobierane od świni podejrzewanej o chorobę.
3. Próbki muszą zostać wysłane do laboratorium, łącznie z właściwymi formularzami, zawierającymi szczegółowe dane dotyczące historii świni, od której pobrano próbki oraz stwierdzonych objawów klinicznych, jeżeli istnieją.
4. Z uwagi na fakt, iż zmiany pęcherzykowe u świń mogą oznaczać pryszczycę, konieczne jest przyjęcie specjalnych środków ostrożności w celu bezpiecznego zapakowania podejrzaných próbek. Jednakże omawiane środki ostrożności muszą służyć przede wszystkim do tego, aby zapobiec stłuczeniu pojemników lub wyciekowi z pojemników i zapobiec powstaniu ryzyka skażenia, jak również są one konieczne w celu zapewnienia, że próbki zostaną dostarczone w zadawalającym stanie. Jeżeli wewnątrz opakowania umieszczony jest mokry lód, należy zapobiec uchodzeniu wody. Nie wolno otwierać pojemników z próbkami podejrzanymi o obecność wirusa choroby pęcherzykowej świń od chwili opuszczenia zakażonego terenu aż do chwili ich przywiezienia do laboratorium.

5. Próbkę podejrzaną o obecność wirusa choroby pęcherzykowej świń muszą być poddane badaniu jedynie w laboratorium, które zostało upoważnione do zajmowania się wirusem pryszczycy w celach diagnostycznych, zgodnie z ustawodawstwem wspólnotowym w zakresie kontroli pryszczycy, o ile pryszczycza nie została poprzednio wykluczona.
6. Wszystkie próbki mogą być przewożone w temperaturze 4 °C, jeżeli przewidywany czas przewozu do odbierającego laboratorium wynosi mniej niż 48 godzin, w przeciwnym razie muszą być utrzymywane w temperaturze nie wyższej niż -20 °C.
7. W przypadku próbek kierowanych do wspólnotowego laboratorium referencyjnego, wysyłanych z Państw Członkowskich innych niż Zjednoczone Królestwo, jedynym dozwolonym sposobem przewozu jest fracht lotniczy do lotnisk Londyn (Heathrow) lub Londyn (Gatwick). Przed wysyłką, laboratorium musi zostać poinformowane, faksem ((4-1483) 23 26 21) lub pocztą elektroniczną o danych szczegółowych dotyczących numeru lotu, terminie, przewidywanym czasie przylotu oraz numerze lotniczego listu przewozowego, tak aby przesyłka mogła zostać zlokalizowana po przylocie. Przesyłka musi być zaadresowana do:

Institute for Animal Health, Pirbright Laboratory
Community Reference Laboratory for Swine Vesicular Disease
Ash Road, Pirbright, Woking
Surrey GU24 0NF
United Kingdom, UK

Ponadto na naklejce musi się znaleźć następująca informacja: „Materiał patologiczny pochodzenia zwierzęcego, bez wartości handlowej. Zawartość łatwo psująca się. Ostrożnie. Do odbioru na lotnisku przez adresata. Nie otwierać poza laboratorium.”

Legalny odbiór przesyłki z lotniska dokonywany jest przez personel wspólnotowego laboratorium referencyjnego na podstawie specjalnego ogólnego zezwolenia na przywóz, wystawionego w tym celu przez Ministerstwo Rolnictwa, Żywności i Rybołówstwa Zjednoczonego Królestwa. Jest to stałe porozumienie, nie jest wymagane oddzielne pozwolenie na każdorazowy przywóz. Wwożenie do Zjednoczonego Królestwa podejrzanego materiału w bagażu podręcznym przez nieupoważniony personel nie jest dozwolone. Nie wolno korzystać w tym celu z firm kurierskich.

8. Przewóz próbek do krajowych laboratoriów musi odbywać się zgodnie z dyspozycjami określonymi przez właściwy organ Państw Członkowskich.

ROZDZIAŁ IV

Procedury pobierania próbek w gospodarstwie posiadającym świnię z klinicznym podejrzeniem o chorobę

1. Jeżeli w jakimkolwiek gospodarstwie podejrzewa się występowanie wirusa choroby pęcherzykowej świń w związku z zaobserwowaniem objawów klinicznych, muszą zostać pobrane odpowiednie próbki od reprezentatywnych grup świń wykazujących te objawy, w celu potwierdzenia i diagnostyki różnicowej z pryszczycą.
2. W omawianych gospodarstwach preferowanymi próbkami do celów diagnostycznych są: nabłonek oraz płyn pęcherzykowy z nienaruszonych lub świeżo pękniętych pęcherzy, pobrane od świń wykazujących typowe objawy kliniczne choroby, w których może zostać wykryta obecność wirusa choroby pęcherzykowej świń, jego antygenów lub genomu. Zaleca się pobranie próbek od pięciu lub sześciu omawianych świń.
3. Nawet w przypadku gdy świeża tkanka nabłonka i płyn pęcherzykowy zostały pobrane w wystarczającej ilości (1 g lub więcej), muszą zostać również pobrane następujące próbki:
 - a) próbki krwi od świń podejrzanych o chorobę i świń kontaktowych, przeznaczone do badania serologicznego; oraz
 - b) próbki kału od świń podejrzanych o chorobę oraz z podłogi ich zagrody, jak również zagrody przyległej, przeznaczone do badania wirusologicznego.
4. Próbki muszą być pobierane i przewożone zgodnie z następującymi procedurami:
 - a) w przypadku próbek pobieranych z nabłonka i płynu pęcherzykowego:
 - jeżeli to możliwe, musi zostać pobrane przynajmniej 1 g tkanki nabłonka pochodzącej z nieuszkodzonego lub świeżo pękniętego pęcherza. Zaleca się, aby przed pobieraniem próbek świnię zostały poddane działaniu środków uspokajających zarówno w celu uniknięcia urazów personelu, jak i w celu ochrony dobrostanu świń,
 - jeżeli przewozu do krajowego laboratorium dokonuje się w trybie natychmiastowym (do trzech godzin), próbki nabłonka mogą być przewożone suche i utrzymywane w stanie schłodzonym. Jednakże w przypadku gdy przewidywany czas może przekroczyć trzy godziny, próbki muszą zostać umieszczone w niewielkiej ilości podłoża transportowego składającego się z równych części glicerolu i 0,04 M roztworu buforowego fosforanu lub innego równoważnego roztworu buforowego (hepes), tak aby pH utrzymywało się w optymalnym przedziale dla przetrwania wirusa pryszczycy (pH 7,2–7,6). Podłoże transportowe musi zawierać antybiotyki w celu zapewnienia dodatkowej aktywności przeciwdrobnoustrojowej. Właściwe antybiotyki i ich stężenia podane są poniżej:
 - i) penicylina 1000 IU
 - ii) siarczan neomycyny 100 IU
 - iii) siarczan polimiksyny B 50 IU
 - iv) mykostatyna 100 IU
 - jeżeli może zostać pobrany płyn pęcherzykowy z nieuszkodzonego pęcherza, to płyn ten musi być przechowywany w stanie nierozcieńczonym, w oddzielnym pojemniku;

- b) w przypadku próbek krwi:
- próbki krwi mogą zostać pobrane do badań serologicznych lub wirusologicznych. Jednakże są one pobierane w celu wykrycia przeciwciał w zasadzie jedynie od świń podejrzanych o wyleczenie się z infekcji klinicznej lub bezobjawowej, ponieważ próbki nablönka, płynu pęcherzykowego i kału pobierane od świń wykazujących kliniczne objawy choroby są bardziej odpowiednie do celów wykrywania wirusa niż próbki krwi. Zaleca się, aby próbki krwi pełnej były pobierane przy użyciu probówek jałowych bez antykoagulantu, a probówki jałowe były przewożone bez otwierania.
- c) w przypadku próbek kału:
- próbki kału pobrane z podłogi pomieszczeń, co do których istnieje podejrzenie, że mogły znajdować się lub znajdowały się w nich świny zakażone wirusem choroby pęcherzykowej świń lub wymazy kału i próbki kału pobrane od żywych świń podejrzanych o chorobę, muszą być umieszczone w mocnych, szczelnych pojemnikach.

Zewnętrzna powierzchnia pojemników z próbkami zawierającymi podejrzany materiał musi być odkażona przed przewozem do laboratorium. Odpowiednimi środkami odkażającymi są:

- wodorotlenek sodu (rozcieńczenie 1:100),
- formalina (rozcieńczenie 1:9 roztworu formaliny zawierające minimum 34 % formaldehydu), oraz
- podchloryn sodu (2 % chloru czynnego).

Powyższe środki odkażające muszą być stosowane z rozwagą.

ROZDZIAŁ V

Procedury pobierania próbek w ramach nadzoru serologicznego w zakresie choroby pęcherzykowej świń

1. W przypadku prowadzenia nadzoru serologicznego w poniższych celach:
 - a) dla nadzoru w gospodarstwach, w odniesieniu do których brak jest dowodu lub podejrzenia, że choroba mogłaby występować;
 - b) dla nadzoru w rzeźni, na targowisku, w punkcie skupu lub w podobnym miejscu w ramach rutynowego pobierania próbek do badań serologicznych;
 - c) jako niedyskryminujący nadzór nad świniami otrzymanymi z innych Państw Członkowskich, w gospodarstwie je sprowadzającym,

próbki krwi do badań serologicznych muszą być pobierane od świń albo zgodnie z przepisami ustanowionymi w zakresie monitorowania lub programów czy planów zwalczania, zatwierdzonymi w ramach decyzji 90/424/EWG⁽¹⁾, lub dyrektywy 90/425/EWG⁽²⁾, albo, w przypadku braku takich przepisów, zgodnie z procedurami ustanowionymi przez właściwy organ Państw Członkowskich.

2. W przypadku prowadzenia nadzoru serologicznego w poniższych celach:
 - a) dla nadzorowania gospodarstw usytuowanych w obrębie stref ochronnych i stref nadzorowanych, które zostały ustanowione po potwierdzeniu ogniska choroby, zgodnie z pkt 7 i 8 załącznika II do dyrektywy 92/119/EWG; lub
 - b) dla nadzorowania gospodarstw określonych w art. 9 dyrektywy 92/119/EWG,

próbki krwi do badań serologicznych muszą być pobierane od świń zgodnie z poniższym schematem:

- w przypadku gospodarstw hodowlanych, procedura pobierania próbek losowych musi być prowadzona w taki sposób, aby wykryć 5-procentowe występowanie serokonwersji przy 95-procentowym poziomie ufności;
- w przypadku gospodarstw, w których znajdują się jedynie świny przeznaczone do tuczu, procedura pobierania próbek musi zapewnić, że całkowita liczba pobranych próbek jest przynajmniej równa liczbie wymaganej do wykrycia 5-procentowego występowania przy 95-procentowym poziomie ufności. W każdym razie próbki muszą być pobrane z możliwie wielu losowo wybranych zagrod;
- w przypadku gospodarstw o charakterze mieszanym, hodowlanych i prowadzących tucz, od każdej grupy świń zajmującej oddzielne pomieszczenia muszą zostać pobrane próbki w taki sposób, aby wykryć 5-procentowe występowanie serokonwersji przy 95-procentowym poziomie ufności.

ROZDZIAŁ VI

Dalsze działania i procedury powtórnego pobierania próbek w przypadku stwierdzenia występowania świń seropozytywnych

1. W przypadku wykrycia w gospodarstwie pojedynczej świni seropozytywnej, w wyniku prowadzenia nadzoru określonego w rozdziale V pkt 1 lit. a) lub rozdział V pkt 2, właściwy organ zapewnia, że:
 - a) jeżeli dotychczas nie były stosowane, stosuje się w danym gospodarstwie środki określone w art. 4 dyrektywy 92/119/EWG;
 - b) w danym gospodarstwie przeprowadza się kontrole zgodnie z przepisami określonymi w rozdziale II pkt 1;

⁽¹⁾ Dz.U. L 224 z 18.8.1990, str. 19

⁽²⁾ Dz.U. L 224 z 18.8.1990, str. 29.

- c) próbki krwi do badań serologicznych pobiera się od:
- świni podejrzewanej o chorobę,
 - świń kontaktowych zajmujących tę samą zagrodę lub zagrody przyległe, w których są świny podejrzewane o chorobę; od świń tych muszą zostać pobrane próbki w celu wykrycia 50-procentowego występowania serokonwersji przy 95-procentowym poziomie ufnosci, w danej zagrodzie.
2. Jednakże właściwy organ może podjąć decyzję o zniesieniu środków określonych w pkt 1 lit. a), jeżeli:
- a) wynik dochodzenia epidemiologicznego przeprowadzonego zgodnie z art. 8 dyrektywy 92/119/EWG wskazuje, że choroba pęcherzykowa świń nie została wprowadzona do gospodarstwa;
 - b) nie stwierdzono żadnych objawów klinicznych choroby pęcherzykowej świń w danym gospodarstwie; oraz
 - c) gospodarstwo nie jest położone w strefie nadzorowanej lub ochronnej, które zostały utworzone po potwierdzeniu ogniska choroby, lub nie podlega żadnym innym ograniczeniom stosowanym w odniesieniu do potwierzonego ogniska choroby,
- oraz pod warunkiem że:
- żadna świnia nie została przemieszczona z gospodarstwa w celu wprowadzenia do obrotu wewnątrzspółnotowego, i
 - świny z omawianego gospodarstwa są przemieszczane wyłącznie do rzeźni w celu natychmiastowego uboju lub do innego gospodarstwa, z którego żadna świnia nie jest przemieszczana w celu wprowadzenia do obrotu wewnątrzspółnotowego,
- dopóki wyniki dalszych kontroli i badań serologicznych nie wskazują, że choroba pęcherzykowa świń może zostać ostatecznie wykluczona.
3. Jeżeli kontrole i badania serologiczne przeprowadzone zgodnie z pkt 1 lit. b) i c):
- a) dają wynik negatywny lub tylko poprzednio seropozytywne świny zostały potwierdzone jako seropozytywne (pojedynczy reagent), choroba pęcherzykowa świń może zostać wykluczona. Środki, określone w pkt 1 lit. a) zostają zniesione, chyba że gospodarstwo jest położone w obrębie strefy ochronnej lub nadzorowanej, które zostały utworzone wokół ogniska choroby, gdzie środki zwalczania choroby muszą pozostać w mocy zgodnie z pkt 7 lub 8 załącznika II do dyrektywy 92/119/EWG;
 - b) wskazują, że w danym gospodarstwie występuje więcej niż jedna świnia seropozytywna, musi zostać albo potwierdzona obecność choroby pęcherzykowej świń albo, jeżeli nie są spełnione warunki zawarte w pkt 4 załącznika II do dyrektywy 92/119/EWG w zakresie potwierdzenia obecności tej choroby, muszą zostać pobrane dalsze próbki z danego gospodarstwa zgodnie z procedurą pobierania próbek określoną w pkt 4.
4. W przypadku gdy w danym gospodarstwie zostaje wykryta więcej niż jedna seropozytywna świnia na podstawie pobranych próbek i wykonanych badań określonych w rozdziale V pkt 1 lit. a), pkt 1 lit. c) lub pkt 2, lecz nie są spełnione warunki ustanowione w pkt 4 załącznika II do dyrektywy 92/119/EWG umożliwiające potwierdzenie choroby pęcherzykowej świń, właściwy organ musi zapewnić, że:
- a) przepisy określone w art. 4 dyrektywy 92/119/EWG są zastosowane lub nadal są stosowane;
 - b) kontrolę w gospodarstwie przeprowadza się zgodnie z przepisami określonymi w rozdziale II pkt 1;
 - c) próbki krwi do badania serologicznego pobiera się nadal od świń seropozytywnych i świń kontaktowych zgodnie z pkt 1 lit. c);
 - d) próbki krwi do badania serologicznego pobiera się od świń z pozostałych zabudowań gospodarstwa zgodnie z procedurą określoną w rozdziale V pkt 2;
 - e) pobiera się wystarczającą liczbę próbek kału do badań wirusologicznych od:
 - świń seropozytywnych,
 - z podłogi zagrody, w której znajdują się świny seropozytywne i zagród przyległych,
 - losowo wybranych zagród z pozostałych zabudowań na terenie gospodarstwa.

Próbki kału pobrane zgodnie z tiret pierwszym i drugim powyżej muszą zostać zbadane możliwie jak najszybciej. W przypadku gdy próbki te dają wynik negatywny, lecz wyniki badań serologicznych sugerują, że wirus choroby pęcherzykowej świń mógłby się rozprzestrzenić na pozostałe budynki, muszą zostać również zbadane próbki kału pobrane zgodnie z tiret trzecim powyżej.

Jeżeli w drodze omawianych kolejnych kontroli oraz badań zostaje stwierdzone, iż warunki ustanowione w pkt 4 załącznika II do dyrektywy 92/119/EWG nie są spełnione w kierunku potwierdzenia obecności wirusa choroby pęcherzykowej świń, świny seropozytywne zostaną zabite lub poddane ubojowi zgodnie z przepisami określonymi w pkt 4 lit. d) załącznika II do dyrektywy 92/119/EWG. Jednakże w przypadku gdy zostały wykryte dalsze przypadki świń seropozytywnych, oprócz stwierdzonych poprzednio podczas wcześniejszego pobierania próbek, przepisy i procedury ustanowione w lit. a), b), c), d) i e) stosuje się nadal według zasady *mutatis mutandis*.

5. Bez uszczerbku dla środków określonych w art. 9 dyrektywy 92/119/EWG, w przypadku stwierdzenia jednej lub więcej świń seropozytywnych, zgodnie z czynnościami nadzoru określonymi w rozdziale V pkt 1 lit. b) lub rozdziale V pkt 1 lit. c), właściwy organ zapewnia, że:
- a) w przypadku gdy to konieczne i możliwe do wykonania, przeprowadza się odpowiednie dalsze kontrole, włączając w to pobieranie próbek, w celu potwierdzenia lub wykluczenia choroby pęcherzykowej świń w miejscu, w którym takie świnię wykryto, z uwzględnieniem sytuacji lokalnej;
 - b) środki określone w art. 4 dyrektywy 92/119/EWG stosuje się w gospodarstwie, z którego dane świnię pochodzą;
 - c) w gospodarstwie, z którego dane świnię pochodzą przeprowadza się kontrole, zgodnie z przepisami określonymi w rozdziale II pkt 1; oraz
 - d) od świń w gospodarstwie, z którego pochodzą świnię seropozytywne pobiera się próbki krwi do badania serologicznego, zgodnie z przepisami określonymi w rozdziale V pkt 2.
6. Jednakże właściwy organ może podjąć decyzję o zniesieniu środków określonych w pkt 5 lit. b), jeżeli:
- a) dochodzenie epidemiologiczne przeprowadzone zgodnie z art. 4 i 8 dyrektywy Rady 92/119/EWG sugeruje, iż choroba pęcherzykowa świń nie została wprowadzona do gospodarstwa;
 - b) nie stwierdzono żadnych objawów klinicznych choroby pęcherzykowej świń w gospodarstwie;
 - c) gospodarstwo nie jest położone w strefie nadzorowanej lub ochronnej, które zostały utworzone po potwierdzeniu ogniska choroby, lub nie podlega żadnym innym ograniczeniom stosowanym w odniesieniu do potwierdzonego ogniska choroby,
- oraz pod warunkiem że:
- żadna świnię nie jest przemieszczana z gospodarstwa w celu wprowadzenia do obrotu wewnątrzspółnotowego, oraz
 - świnię są przemieszczane z gospodarstwa jedynie do rzeźni w celu natychmiastowego uboju, lub do innego gospodarstwa, z którego żadna świnię nie jest przemieszczana w celu wprowadzenia do obrotu wewnątrzspółnotowego,

dopóki wyniki dalszych kontroli i badań serologicznych przeprowadzonych w miejscu gdzie świnię seropozytywne zostały wykryte oraz w gospodarstwie ich pochodzenia nie wskazują, iż choroba pęcherzykowa świń może zostać całkowicie wykluczona.

ROZDZIAŁ VII

Zasady i stosowanie badań wirusologicznych oraz ocena ich wyników

A. Wykrywanie antygeny wirusa

1. Pośredni odczyn ELISA metodą kanapkową zastąpił odczyn wiązania dopełniacza, jako metoda z wyboru w celu wykrycia antygenów wirusa choroby pęcherzykowej świń. Badanie to jest takie samo jak badanie używane w diagnostyce pryszczycy. Badania w kierunku tych dwóch chorób muszą być przeprowadzane w tym samym czasie, dopóki nie zostanie wykluczona pryszczycy. W szczególności zaleca się to w przypadku próbek pobranych z nabłonka lub płynu z pęcherzykowatych zmian patologicznych, gdzie mogą występować w wysokim mianie zarówno wirusy pryszczycy jak i choroby pęcherzykowej świń, u ostro zakażonych świń i wykryte w ciągu kilku godzin⁽¹⁾.

Podwójne rzędy na wielodołkowych płytkach ELISA pokryte są surowicą królika przeciwko wirusowi choroby pęcherzykowej świń i przeciw każdemu z siedmiu serotypów wirusa pryszczycy. Są to surowice wychwytyjące. Zawiesiny badanych próbek dodaje się do każdego z rzędów. Również włącza się właściwe próbki kontrolne. Dodaje się homologicznej surowicy świnki morskiej do odpowiednich rzędów, po czym w następnym etapie dodaje się surowicy królika przeciwko surowicy świnki morskiej, sprzężonej z enzymem takim jak peroksydaza chrzanowa. Pomiędzy poszczególnymi etapami prowadzone jest wzmożone odpłukiwanie w celu usunięcia niezwiązanych odczynników. Odczyn pozytywny otrzymuje się, w przypadku gdy wystąpi zmiana zabarwienia po dodaniu chromogenu i substratu. W przypadku silnych odczynów pozytywnych będzie to widoczne dla oka nieuzbrojonego, lecz wyniki mogą być także odczytane za pomocą spektrofotometru, w którym to przypadku odczyt absorbancji 0,1 oznacza odczyn pozytywny.

2. Alternatywne metody ELISA z zastosowaniem przeciwciał monoklonalnych, używających wybranych przeciwciał monoklonalnych jako przeciwciała wiążącego i przeciwciał monoklonalnych sprzężonych z peroksydazą jako przeciwciałem wykrywającym, mogą być stosowane do wykrywania antygeny choroby pęcherzykowej świń i dla potrzeb diagnostyki różnicowej z pryszczycą, w próbkach nabłonka, płynu z pęcherzy lub zakażonej hodowli tkankowej.
3. Odczyn ELISA z zastosowaniem przeciwciał monoklonalnych może być wykorzystywany w badaniach nad antygenową zmiennością szczepów wirusa choroby pęcherzykowej świń. Antygeny wirusa namnożone w hodowlach tkankowych są wychwytywane przez hyperimmunologiczną surowicę królika skierowaną przeciwko chorobie pęcherzykowej świń, przyłączoną do fazy stałej. Odpowiednie panele przeciwciał monoklonalnych wówczas reagują i porównuje się wiązanie przeciwciał monoklonalnych w szczepach dzikich z przeciwciałami monoklonalnymi szczepów rodzicielskich. Podobne wiązanie wskazuje na obecność epitopów podzielonych pomiędzy szczepy rodzicielskie i szczepy dzikie.

⁽¹⁾ Wyniki pozytywne odczynu ELISA są powiązane z obecnością przynajmniej 10^5 TCID₅₀ (dawki zakaźne dla hodowli tkankowej — tissue culture infectious doses) wirusa w próbce.

B. Izolacja i namnażanie wirusa

1. Rutynowo, oczyszczona zawiesina próbek pochodzących z nabłonka, płynu z pęcherzy lub kału, podejrzanych o występowanie wirusa choroby pęcherzykowej świń musi być naniesiona eżą na wrażliwą hodowlę komórkową. Jeżeli ilość i jakość próbek płynu z pęcherzykowatych zmian patologicznych, dostarczona do badania jest niewystarczająca do natychmiastowego zbadania odczynu ELISA, wówczas konieczne jest namnożenie wirusa w hodowli tkankowej w celu zwiększenia ilości antygeny wirusa.
2. W celu izolacji i namnożenia wirusa, oczyszczoną zawiesinę nabłonkową nanosi się eżą na jednowarstwową hodowlę komórek linii IB-RS-2. Należy użyć dwóch rozcieńczeń zawiesiny, jednego wysokiego (1/500) i drugiego niskiego (1/10), w celu uniknięcia zakłócenia wzrostu wirusa przez interferon, którego uwolnienie przeszkadza wzrostowi wirusa choroby pęcherzykowej świń. W przypadku izolacji wirusa, do podłoża utrzymującego dodaje się jedynie antybiotyki. W przypadku diagnostyki różnicowej z wirusem pryszczycy, muszą zostać także zakażone pierwotne komórki tarczycy bydła, lub komórki nerki oseska chomika (BHK-21).
3. Jeżeli wystąpi efekt cytopatyczny, ciecz supernatantu musi zostać zebrana z hodowli pozytywnych i użyta do odczynu ELISA w celu identyfikacji wirusa. Hodowle negatywne muszą zostać naniesione eżą na świeże hodowle tkankowe w ciągu 48 lub 72 godzin, a przed upływem 72 godzin ten ślepy pasaż musi zostać zbadany. W razie braku efektu cytopatycznego po kolejnym ślepym pasażu, próbkę uznaje się za wolną od obecności żywego wirusa.
4. Zawiesiny próbek pobranych z kału mogą zostać poddane procesom opisanym w pkt 1. Z uwagi na to, iż z reguły w kale występuje mniej wirusa niż w nabłonku, istotne jest, aby w razie braku efektu cytopatycznego w pierwszych dwóch pasażach, włączyć trzeci pasaż ślepy.
5. Jednoczesne zakażenie linii komórek świńskich i jednego z wyżej wymienionych systemów hodowli tkankowych (preferowane są pierwotne komórki tarczycy bydła) jest użytecznym wyznacznikiem tego, czy dana próbka pobrana z pęcherzy zawiera wirus choroby pęcherzykowej świń lub wirus pryszczycy, ponieważ wirus choroby pęcherzykowej namnaża się jedynie w komórkach pochodzenia świńskiego. Jednakże izolaty wirusa pryszczycy o długiej historii przenoszenia między świnią mogą się także lepiej namnażać się w systemie hodowli komórek świńskich.

C. Reakcja polimeryzacji łańcuchowej (ang. PCR) w celu wykrywania genomu

1. Metody rozpoznawania kwasu nukleinowego mogą być stosowane w celu wykrywania genomu wirusa choroby pęcherzykowej świń w materiale klinicznym przy zastosowaniu PCR i w celu ustalenia powiązań między izolatami wirusa choroby pęcherzykowej świń, poprzez oznaczenie sekwencji nukleotydów części genomu. Stosowane techniki wykorzystujące PCR rozwinęły się w kierunku zwiększenia czułości diagnostyki. Została opisana niewielka różnica w procedurach odwrotnej transkryptazy-PCR przy zastosowaniu primerów odpowiadających wysoce chronionym regionom w genach 1C i 1D.
2. Technika PCR jest szybka (wyniki są z reguły dostępne w ciągu 24 godzin), wykrywa wszystkie genotypy wirusa choroby pęcherzykowej świń i jest także wystarczająco czuła w celu wykorzystania do próbek pobranych od przypadków klinicznie podejrzanych.
3. W przypadku gdy podejrzewana jest infekcja bezobjawowa lub gdy próbki zostały pobrane po ustąpieniu objawów klinicznych, lub gdy obróbka próbek kałowych, wzbogacone techniki RT-PCR, jak zagnieżdżona (nested) RT-PCR, immuno-PCR, ELISA-PCR i bardziej złożone metody uzyskiwania RNA, tworzą system wykrywania co najmniej tak czuły lecz zdecydowanie dużo szybszy niż wielokrotne pasażowanie na hodowli tkanek.
4. Poprzez sekwencjonowanie około 200 nukleotydów w genie 1D, który koduje główne białko strukturalne VP1, możliwe jest pogrupowanie szczepów wirusa choroby pęcherzykowej świń zgodnie z homologią ich sekwencji oraz epidemiologiczne powiązanie szczepów wywołujących chorobę w różnych regionach lub w różnym czasie.

D. Ocena wyników badań wirusologicznych

Wykrywanie antygenów lub genomu wirusa choroby pęcherzykowej świń za pomocą odczynu ELISA i PCR ma taką samą wartość diagnostyczną jak izolacja wirusa.

Jednakże izolacja wirusa musi być traktowana jako badanie referencyjne i musi być stosowana jako badanie potwierdzające, gdy to konieczne, w szczególności jeżeli wynik pozytywny ELISA lub PCR nie jest związany z:

- a) wykryciem klinicznych objawów choroby,
- b) wykryciem świń seropozytywnych, lub
- c) bezpośrednim powiązaniem epidemiologicznym z potwierdzonym ogniskiem choroby.

ROZDZIAŁ VIII

Zasady i stosowanie badań serologicznych oraz ocena ich wyników**A. Odczyn neutralizacji wirusa (VN)**

1. Ilościowy mikrottest neutralizacji VN do wykrywania przeciwciał przeciwko wirusowi choroby pęcherzykowej świń wykonuje się z użyciem komórek linii IB-RS-2 lub równoważnego systemu komórkowego, w płaskodennych mikropłytkach do hodowli tkanek.
2. Wirus jest namnażany w jednowarstwowych hodowlach komórek linii IB-RS-2 i jest przechowywany albo w temperaturze $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, po dodaniu 50 % glicerolu albo w temperaturze $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ bez dodatku glicerolu. Surowice poddawane są inaktywacji w temperaturze $56\text{ }^{\circ}\text{C}$ na 30 minut przed przeprowadzeniem badania.

B. Odczyn ELISA

1. Odczyn ELISA do wykrywania przeciwciał jest odczynem kompetycyjnym ELISA z użyciem przeciwciał monoklonalnych. Jeżeli próbka surowicy zawiera przeciwciała przeciwko wirusowi choroby pęcherzykowej świń, wiązanie wybranego monoklonalnego przeciwciała sprzężonego z peroksydazą, skierowanego przeciwko antygenowi wirusa, jest zahamowane.

W tym odczynie ELISA antygen wirusa choroby pęcherzykowej świń jest wychwytywany przez fazę stałą z zastosowaniem przeciwciał monoklonalnych; następnie próbki surowicy są inkubowane we właściwym rozcieńczeniu, po czym dodawane jest monoklonalne przeciwciało sprzężone z peroksydazą. Następnie zahamowanie wiązania przeciwciał monoklonalnych jest mierzone za pomocą substratu i chromogenu.

2. Odczyn ELISA metodą wychwytywania pośredniego, z zastosowaniem przeciwciał monoklonalnych o specyficznych izotypach, w celu wykrycia IgG lub IgM specyficznych dla wirusa choroby pęcherzykowej świń, jest pomocny w ocenie czasu zakażenia świni lub na terenie zakażonego gospodarstwa.

W odczynie ELISA opartym na izotypach specyficznych antygen wirusa jest wychwytywany przez fazę stałą z zastosowaniem przeciwciała wyłapującego antygeny. Jeżeli próbka surowicy zawiera przeciwciała wirusa choroby pęcherzykowej świń, są one wykrywane przy użyciu anty-swińskiej IgG lub anty-swińskiej IgM przeciwciała monoklonalnego sprzężonego z peroksydazą. Następnie wiązanie to jest mierzone za pomocą substratu i chromogenu.

Odczyn ELISA oparty na izotypach specyficznych może także pomóc w odróżnieniu pojedynczych reagentów od rzeczywiście seropozytywnych świń, tak jak to określono w części C.

C. Stosowanie badań serologicznych i ocena wyników

1. Odczyn VN i odczyn ELISA są rekomendowanymi odczynami serologicznymi. W rozdziale X są wymienione surowice dostępne we wspólnotowym laboratorium referencyjnym, w celu prowadzenia we Wspólnocie znormalizowanych badań serologicznych.

Odczyn VN musi być traktowany jako badanie referencyjne, lecz jego wadą jest fakt, iż zabiera 2–3 dni i wymaga wyposażenia do przygotowania hodowli tkankowych.

Odczyn ELISA jest dużo szybszy i może być łatwiej znormalizowany. Przeciwciało monoklonalne używane w odczynie ELISA jest najbardziej niezawodnym przeciwciałem ELISA przeciwko chorobie pęcherzykowej świń, opisanym dotychczas. Jest zalecany jako badanie przesiewowe w przypadku dużej liczby prób.

Jednakże odczyn VN musi być stosowany jako badanie potwierdzające, w szczególności po pierwszym wykryciu próbek pozytywnych w dowolnym gospodarstwie. Można nie brać pod uwagę świń dających pozytywny odczyn ELISA, lecz negatywny odczyn VN.

2. Można podejrzewać obecność pojedynczego reagenta ⁽¹⁾, w przypadku gdy wykryje się pojedynczą świnię seropozytywną i gdy są spełnione następujące warunki:
 - a) nie wystąpiły objawy kliniczne na terenie gospodarstwa;
 - b) brak jest powiązanej historii postaci klinicznej choroby w gospodarstwie;
 - c) brak jest informacji odnośnie do kontaktów z jakimkolwiek znanym ogniskiem choroby.
3. Świnia jest potwierdzonym pojedynczym reagentem, w przypadku gdy:
 - a) kolejne badania nie wykazują innej świni seropozytywnej;
 - b) próbki pobrane od świń kontaktowych po pierwszym wykryciu pojedynczego reagenta nie wykazują serokonwersji;
 - c) miano przeciwciała w powtórzonych próbkach pozostaje niezmiennie lub zmniejsza się.

⁽¹⁾ Niewielka liczba pojedynczych reagentów może zostać wykryta jakimkolwiek obecnie stosowanym testem serologicznym w kierunku choroby pęcherzykowej świń. Czynniki odpowiedzialne za pojawienie się pojedynczych reagentów są nieznane. Serologiczna odpowiedź krzyżowa z wirusem choroby pęcherzykowej świń mogłaby powstać na skutek zakażenia innym, dotychczas niezidentyfikowanym, pikornawirusem lub też może wynikać z obecności innych niespecyficznych czynników w surowicy.

4. Jednakże w celu potwierdzenia wystąpienia pojedynczego reagenta muszą być uwzględnione dodatkowe kryteria i zasady:
- pojedyncze reagenty występują przeważnie w przybliżeniu w ilości 1 na 1000 świń;
 - surowice pochodzące od pojedynczych reagentów z reguły mają następujące parametry:
 - niskie miano przeciwciał w odczynie VN,
 - graniczne wartości dodatnie w kompetycyjnym odczynie ELISA z użyciem przeciwciał monoklonalnych,
 - występowanie wyłącznie IgM i brak IgG w opartym na izotypach specyficznych odczynie ELISA w kierunku choroby pęcherzykowej świń⁽¹⁾.

ROZDZIAŁ IX

Objawy kliniczne i cechy choroby pęcherzykowej świń

Choroba pęcherzykowa świń jest zakaźną chorobą świń wywołaną przez enterowirus z rodziny picornaviridae i może mieć przebieg bezobjawowy, łagodny lub ostry w zależności od wywołującego szczepu wirusa, drogi zakażenia i dawki zakaźnej oraz warunków hodowli, w jakich świnię są trzymane. Ponadto czynniki stresowe, takie jak transport, mieszanie z innymi świniami i temperatury ekstremalne, mogą czynić zwierzęta podatnymi na rozwój objawów klinicznych.

Choroba charakteryzuje się umiarkowaną gorączką i pęcherzami na obwódce koronki, piętках, rzadziej na ryju, wargach, języku i sutkach. Zachorowalność może osiągać 100 %, lecz śmiertelność jest niewielka lub nie ma jej wcale.

Zakażenie może rozwinąć się w postaci ukrytej lub łagodnej, charakteryzującej się przejściowym pogorszeniem się ogólnego wyglądu świń, lecz prowadzącej do pojawienia się we krwi przeciwciał skierowanych przeciwko wirusowi w ciągu kilku dni⁽²⁾.

Z powodu bezobjawowego lub łagodnego charakteru choroby, często po raz pierwszy podejrzenie o jej występowanie pojawia się po otrzymaniu wyników badań serologicznych w ramach programów zapobiegania chorobom, lub związanych z wystawianiem świadectwa wywozowego. Ostatnie ogniska choroby pęcherzykowej świń we Wspólnocie charakteryzowały się mniej ostrymi objawami klinicznymi lub ich brakiem, a diagnoza często była uzależniona od badań serologicznych.

Jednakże kliniczne objawy choroby pęcherzykowej świń są nie do odróżnienia od objawów pryszczycy. Każde zmiany pęcherzykowe muszą być początkowo traktowane jako podejrzenie pryszczycy i możliwie jak najszybciej musi być uzyskana diagnoza różnicowa.

Okres inkubacji choroby pęcherzykowej świń w przypadku pojedynczych świń wynosi z reguły od dwóch do siedmiu dni, po których może pojawić się gorączka do 41 °C, lecz objawy kliniczne mogą stać się widoczne w gospodarstwie po dłuższym okresie. Dochodzi wówczas do pojawienia się pęcherzy na obwódce koronki, typowo na styku z piętками. Pęcherze te mogą pojawić się na całym obwodzie koronki, powodując trwanie racic. Dużo rzadziej pęcherze mogą pojawić się także na ryju, szczególnie na jego powierzchni grzbietowej, na wargach, języku, sutkach, a także płytkie uszkodzenia mogą być widoczne na kolanach. Zakażone świnię mogą kuleć i nie jeść przez kilka dni.

Młodsze świnię przechodzą chorobę dużo ciężiej, mimo że śmiertelność z powodu choroby pęcherzykowej świń występuje bardzo rzadko, w odróżnieniu od przebiegu pryszczycy u młodych zwierząt.

Odnotowano objawy nerwowe, lecz są one rzadko spotykane. Poronienie nie jest typowym objawem choroby pęcherzykowej świń. Niewydolność serca spowodowana wielogniskowym zapaleniem mięśnia sercowego może być objawem pryszczycy i zapalenia mózgu i mięśnia sercowego (encefalomyocarditis), szczególnie u młodych prosiąt, lecz nie występuje w przebiegu choroby pęcherzykowej świń.

Wyzdrowienie jest z reguły całkowite w ciągu dwóch do trzech tygodni, a jedynym dowodem na przebycie zakażenia jest ciemna, pozioma linia na racycy, gdzie czasowo został przerwany wzrost tkanki.

Zakażone świnię mogą wydalac wirus przez nos i ryj oraz w kale do 48 godzin przed wystąpieniem objawów klinicznych. Najwięcej wirusa jest wytwarzane w ciągu pierwszych siedmiu dni po zakażeniu, a wydalanie wirusa z nosa i z ryja z reguły kończy się w ciągu dwóch tygodni. Wirus może być izolowany z kału do 20 dni po zakażeniu, chociaż odnotowano obecność wirusa w kale nawet do trzech miesięcy. Wirus może przetrwać znaczny okres w martwej tkance związanej z przebytymi pęcherzami oraz w kale.

(1) Sama specyficzna IgG lub zarówno IgG jak i IgM są z reguły wykrywane w próbkach surowicy pochodzącej od świń zakażonych wirusem choroby pęcherzykowej świń, podczas gdy surowice pochodzące od pojedynczych reagentów zawierają z reguły tylko IgM. Specyficzna IgG nie będzie wykrywana w próbkach surowicy pochodzącej od świń zakażonych wirusem choroby pęcherzykowej świń, w ciągu pierwszych 10 do 14 dni, mimo, że specyficzna IgG powinna zostać wykryta w drugiej próbce krwi. Świeżo zakażone świnię są jednak nie do odróżnienia od pojedynczych reagentów przed zmianą ich odpowiedzi immunologicznej poprzez przejście z wytwarzania IgM do wytwarzania IgG. Patrz także rozdział IX oraz przypis 7.

(2) Specyficzna IgM może zostać z reguły wykryta we krwi w ciągu dwóch do trzech dni od zakażenia i zniknąć po około 30–50 dniach. Specyficzna IgG może zostać z reguły wykryta we krwi w ciągu 10–14 dni od zakażenia i pozostawać przez kilka lat. Izotyp immunoglobuliny (Ig) może zostać oznaczony przy pomocy odczynu ELISA, opisanego w rozdziale VIII część B pkt 2.

ROZDZIAŁ X

Surowice referencyjne dla choroby pęcherzykowej świń

Surowica referencyjna	Pochodzenie	Uwagi ⁽¹⁾
1	Surowica normalna świni (NPS — <i>normal pig serum</i>)	Ujemna surowica kontrolna
2	Surowica pobrana 21 dni po zakażeniu (dpi — <i>days post infection</i>) od świni zakażonej wirusem choroby pęcherzykowej świń, szczep UKG 27/72 (czysty)	Silna dodatnia surowica kontrolna
3	Rozcieńczenie 1:10 w NPS surowicy pobranej pięć dni od świni zakażonej wirusem choroby pęcherzykowej świń, szczep Włochy 8/94	Nisko dodatnia surowica pochodząca od świni wkrótce po zakażeniu ostatnim wspólnotowym izolatem wirusa choroby pęcherzykowej świń. Surowica została rozcieńczona, aby dać niski dodatni wynik w odczynie ELISA i VNT.
4	Rozcieńczenie 1:40 surowicy pobranej 21 dni od świni zakażonej wirusem choroby pęcherzykowej świń, szczep UKG 27/72	Nisko dodatnia surowica określająca najniższy poziom przeciwciał, jaki krajowe laboratoria referencyjne w UE powinny zgodnie podawać jako wynik dodatni za pomocą odczynu ELISA i neutralizacji wirusa. Surowica równoważna w stosunku do surowicy RS 01-04-94 ⁽²⁾
5	Surowica pobrana czwartego dnia od świni zakażonej wirusem choroby pęcherzykowej świń, szczep UKG 27/72 (czysty)	Nisko dodatnia surowica pochodząca od świni wkrótce po zakażeniu.
6	Surowica pobrana piątego dnia od świni zakażonej wirusem choroby pęcherzykowej świń, szczep UKG 27/72 (czysty)	Nisko dodatnia surowica pochodząca od świni wkrótce po zakażeniu.

⁽¹⁾ Uwagi te odnoszą się do badań pojedynczych świń. W przypadku nadzoru serologicznego należy wziąć pod uwagę czułość stosowanego odczynu.

⁽²⁾ Tj. surowica o mianie wystarczająco wyższym niż miano surowicy, która powinna zawsze dawać wynik dodatni za pomocą odczynu ELISA i VN w powtarzającym się badaniu.