

Este documento constitui um instrumento de documentação e não vincula as instituições

► B

DECISÃO DA COMISSÃO

de 1 de Fevereiro de 2002

que aprova um Manual Diagnóstico que estabelece procedimentos diagnósticos, métodos de amostragem e critérios de avaliação dos testes laboratoriais de confirmação da peste suína clássica

[notificada com o número C(2002) 381]

(Texto relevante para efeitos do EEE)

(2002/106/CE)

(JO L 39 de 9.2.2002, p. 71)

Alterada por:

	Jornal Oficial		
	n.º	página	data
► <u>M1</u> Decisão 2003/859/CE da Comissão de 5 de Dezembro de 2003	L 324	55	11.12.2003

**DECISÃO DA COMISSÃO****de 1 de Fevereiro de 2002****que aprova um Manual Diagnóstico que estabelece procedimentos diagnósticos, métodos de amostragem e critérios de avaliação dos testes laboratoriais de confirmação da peste suína clássica***[notificada com o número C(2002) 381]***(Texto relevante para efeitos do EEE)**

(2002/106/CE)

A COMISSÃO DAS COMUNIDADES EUROPEIAS,

Tendo em conta o Tratado que institui a Comunidade Europeia,

Tendo em conta a Directiva 2001/89/CE do Conselho, de 23 de Outubro de 2001, relativa a medidas comunitárias de luta contra a peste suína clássica ⁽¹⁾, e, nomeadamente, o n.º 3 do seu artigo 17.º e o n.º 1 do seu artigo 29.º,

Considerando o seguinte:

- (1) É necessário estabelecer a nível comunitário procedimentos diagnósticos, métodos de amostragem e critérios de avaliação dos resultados dos testes laboratoriais de confirmação da peste suína clássica.
- (2) O anexo IV da Directiva 2001/89/CE estabelece as competências e atribuições do Laboratório Comunitário de Referência para a peste suína clássica, a fim de que este coordene, em consulta com a Comissão, os métodos utilizados nos Estados-Membros para o diagnóstico desta doença. Tais competências e atribuições incluem a organização periódica de testes comparativos e o fornecimento dos reagentes de referência a nível comunitário.
- (3) O vírus da peste suína clássica não é considerado um risco para a saúde humana.
- (4) Foram recentemente desenvolvidos testes laboratoriais para assegurar o diagnóstico rápido da peste suína clássica.
- (5) A experiência adquirida nos últimos anos no controlo da peste suína clássica conduziu à identificação dos métodos de amostragem e dos critérios de avaliação dos resultados dos testes laboratoriais mais adequados para o diagnóstico correcto desta doença em vários tipos de situações.
- (6) As medidas previstas na presente decisão estão em conformidade com o parecer do Comité Veterinário Permanente,

ADOPTOU A PRESENTE DECISÃO:

Artigo 1.º

1. Os Estados-Membros assegurarão que a confirmação da peste suína clássica assente:

- a) Na detecção de sinais clínicos e de lesões *post mortem* da doença;
- b) Na detecção de vírus, antigénio ou genoma nas amostras de tecidos, órgãos, sangue ou excreções de suínos;
- c) Na demonstração de uma resposta de anticorpo específico em amostras de sangue,

em conformidade com os procedimentos, métodos de amostragem e critérios de avaliação dos resultados dos testes laboratoriais estabelecidos no manual constante do anexo à presente decisão.

⁽¹⁾ JO L 316 de 1.12.2001, p. 5.

▼B

2. Contudo, os laboratórios de diagnóstico nacionais referidos no ponto 1 do anexo III da Directiva 2001/89/CE podem utilizar alterações dos testes laboratoriais referidos no manual anexo à presente decisão, ou utilizar testes diferentes, desde que possa ser demonstrado que apresentem sensibilidade e especificidade iguais.

A sensibilidade e especificidade destes testes alterados ou diferentes devem ser avaliadas no âmbito de testes comparativos periódicos organizados pelo Laboratório Comunitário de Referência da peste suína clássica.

Artigo 2.º

São revogados os anexos I e IV da Directiva 80/217/CEE do Conselho, de 22 de Janeiro de 1980, que estabelece medidas comunitárias de luta contra a peste suína clássica ⁽¹⁾, com a última redacção que lhe foi dada pelo Acto de Adesão da Áustria, Finlândia e Suécia.

Artigo 3.º

A presente decisão é aplicável a partir de 1 de Novembro de 2002.

Artigo 4.º

Os Estados-Membros são os destinatários da presente decisão.

⁽¹⁾ JO L 47 de 21.2.1980, p. 11.



ANEXO

MANUAL DE DIAGNÓSTICO DA PESTE SUÍNA CLÁSSICA

CAPÍTULO I

Introdução, objectivos e definições

1. Por forma a assegurar métodos uniformes de diagnóstico da peste suína clássica, o presente manual:
 - a) Estabelece directrizes e requisitos mínimos em relação aos métodos de diagnóstico e amostragem e aos critérios de avaliação dos resultados dos exames clínicos e *post mortem* e dos testes laboratoriais utilizados para o diagnóstico correcto da peste suína clássica ⁽¹⁾.
 - b) Estabelece requisitos mínimos de biossegurança e normas de qualidade que devem ser observados pelos laboratórios de diagnóstico da peste suína clássica e no transporte das amostras;
 - c) Estabelece os testes laboratoriais que devem ser utilizados no diagnóstico da peste suína clássica e as técnicas laboratoriais empregues na tipagem genética dos isolados de vírus da peste suína clássica.
2. O presente manual destina-se sobretudo às autoridades responsáveis pelo controlo da peste suína clássica. Neste contexto, confere-se especial destaque aos princípios e aplicações dos testes laboratoriais e à avaliação dos respectivos resultados, e não a técnicas laboratoriais específicas.
3. Para efeitos do disposto no presente manual, para além das definições referidas no artigo 2.º da Directiva 2001/89/CE, aplicam-se as definições que se seguem:
 - a) «exploração suspeita» é qualquer exploração suínica que contém um ou mais suínos suspeitos de estar infectados com o vírus da peste suína clássica, ou uma exploração de contacto, tal como definida na alínea v) do artigo 2.º da Directiva 2001/89/CE;
 - b) «animal reactivo» é qualquer suíno com um resultado positivo nos testes serológicos de peste suína clássica que não apresente uma história de contacto com o vírus da peste suína clássica e relativamente ao qual não haja dados indicativos de propagação da infecção para suínos em contacto ⁽²⁾.
 - c) «subunidade epidemiológica» ou «subunidade» é qualquer edifício, local ou terreno vizinho em que são mantidos grupos de suínos em contacto directo ou indirecto frequente entre si, que, entretanto, são mantidos separados de outros suínos da mesma exploração;
 - d) «suínos em contacto» são suínos que viveram numa exploração em contacto directo com um ou mais suínos suspeitos de estarem infectados com o vírus da peste suína clássica no decurso dos 21 dias precedentes.

CAPÍTULO II

Descrição da peste suína clássica, com especial ênfase no diagnóstico diferencial

A. Introdução

1. A peste suína clássica é causada por um vírus de ARN encapsulado pertencente ao género *Pestivirus* da família dos *Flaviviridae*. Este vírus está relacionado com os pestivírus dos ruminantes que causam a diarreia vírica dos bovinos (BVDV) e a «border disease» (BDV). Esta relação tem fortes consequências a nível diagnóstico, na medida em que ocorrem reacções cruzadas e pode conduzir a resultados falsos positivos nos testes laboratoriais.
2. O vírus da peste suína clássica é relativamente estável nas excreções húmidas de suínos infectados, nas carcaças de suínos, na carne de suíno

⁽¹⁾ A decisão sobre o número de amostras a recolher para os testes laboratoriais deve igualmente atender à sensibilidade de tais testes. O número de animais objecto de amostragem deve ser superior ao indicado no presente manual caso a sensibilidade do teste utilizado não seja muito elevada.

⁽²⁾ Os animais reactivos podem ter títulos de anticorpos de neutralização do vírus ligeiramente positivos (a situação mais frequente) a fortemente positivos. Após a colheita de uma nova amostra, os animais reactivos podem apresentar um título constante ou em diminuição. Em termos gerais, só poucos suínos de uma exploração apresentam falsos resultados positivos.

▼B

fresca e outros produtos à base de carne de suíno. É prontamente inactivado por detergentes, solventes lípidos, proteases e desinfectantes comuns.

3. A principal via natural de infecção é a oro-nasal, por contacto directo ou indirecto com suínos infectados ou através do fornecimento de alimentos para animais contaminados pelo vírus. Nas áreas com elevada densidade de suínos, a propagação do vírus ocorre facilmente entre explorações suícolas vizinhas. Também pode verificar-se a transmissão da doença através do sémen de varrascos infectados.
4. Nos animais individuais, o período de incubação é de cerca de uma semana a dez dias, embora, a nível das explorações, em condições reais, os sintomas clínicos possam apenas tornar-se evidentes duas a quatro semanas após a introdução do vírus, ou até mesmo posteriormente, se se tratar apenas de suínos reprodutores ou de estirpes de vírus pouco virulentas.
5. Os sinais clínicos de peste suína clássica são muito variáveis e podem ser confundidos com os de muitas outras doenças. A gravidade dos sintomas depende sobretudo da idade do animal e da virulência do vírus. Por via de regra, os animais jovens são mais fortemente afectados do que os animais menos jovens. Nos suínos reprodutores menos jovens, a infecção é frequentemente suave ou até mesmo subclínica.
6. A peste suína clássica apresenta as formas aguda, crónica e pré-natal.

B. Forma aguda

1. Os leitões desmamados e os suínos de engorda tendem a apresentar a forma aguda da peste suína clássica. Os sinais iniciais são anorexia, letargia, febre, conjuntivite, linfadenopatia, sinais respiratórios e obstipação seguida de diarreia.

As hemorragias cutâneas características ocorrem geralmente nos ouvidos, na cauda, no abdómen e na parte medial dos membros a partir das segundas a terceira semanas após a infecção e persistem até à morte. Observam-se frequentemente sinais neurológicos, como a claudicação dos membros traseiros, a descoordenação dos movimentos e as convulsões.

Um dado constante é a febre. Esta é geralmente superior a 40 °C, embora nos suínos adultos possa não exceder 39,5 °C.

2. O vírus da peste suína clássica causa leucopenia e imunossupressão graves, que frequentemente conduzem a infecções secundárias entéricas ou respiratórias. Os sinais destas infecções secundárias podem mascarar ou sobrepor-se aos sinais mais típicos da peste suína clássica, podendo induzir em erro quer o explorador agrícola quer o veterinário.

A morte ocorre geralmente dentro do prazo de um mês. É também possível a recuperação, associada à produção de anticorpos, sobretudo nos animais adultos reprodutores que não apresentam sinais clínicos graves. Os anticorpos contra o vírus da peste suína clássica são detectáveis duas a três semanas após a infecção.

3. As anomalias anatomopatológicas observáveis no exame *post mortem* ocorrem sobretudo nos gânglios linfáticos e nos rins. Os gânglios apresentam-se tumefactos, edematosos e hemorrágicos. As hemorragias renais apresentam dimensões variáveis, desde as petéquias, dificilmente visualizáveis, até às equimoses. Hemorragias análogas podem igualmente ser observadas na bexiga, laringe, epiglote e coração ou encontrar-se disseminadas nas serosas do abdómen e tórax. Existe frequentemente uma encefalite não purulenta. Podem igualmente verificar-se lesões devidas a infecções secundárias, as quais podem induzir o veterinário em erro. Os enfartes do baço são considerados patognomónicos, embora apenas sejam observados infrequentemente.
4. Em termos gerais, a forma aguda da peste suína africana conduz a uma situação clínica e patológica muito idêntica à da peste suína clássica. Quando existem, as hemorragias cutâneas e auriculares são muito facilmente detectáveis e sugerem a existência de peste suína africana ou clássica aguda. Poucas outras doenças causam lesões análogas.

A forma aguda da peste suína clássica deve ser considerada em caso de suspeita de erisipela, síndrome reprodutivo e respiratório dos suínos, intoxicação por cumarina, púrpura hemorrágica, síndrome de caquexia multissistémica pós-desmame, síndrome de dermatite e nefropatia dos suínos, infecções por *Salmonella* ou *Pasteurella* ou de outros síndromes entéricos ou respiratórios que não respondam ao tratamento com antibióticos.

▼B

5. O vírus da peste suína clássica é eliminado na saliva, na urina e nas fezes desde o início dos sinais clínicos até à morte. O vírus da peste suína clássica também pode ser eliminado no sêmen.

C. Forma crónica

1. A forma crónica da infecção ocorre nos casos em que os suínos não são capazes de desenvolver uma resposta imunológica eficaz contra o vírus da peste suína clássica. Os sinais iniciais de infecção crónica são idênticos aos da infecção aguda. Mais tarde, ocorrem sinais predominantemente inespecíficos, como febre intermitente, enterite crónica e emaciação. Não há hemorragias cutâneas características.

Estes suínos podem apresentar sinais clínicos da doença no período de dois a três meses que precede a sua morte. O vírus da peste suína clássica é constantemente eliminado desde o início dos sinais clínicos até à morte. Nas amostras de soro podem ser transitoriamente detectados anticorpos.

2. As alterações patológicas são menos típicas, podendo, designadamente, não ser observadas hemorragias nos órgãos e nas serosas. Nos animais com diarreia crónica, são comuns as lesões no íleo, na válvula íleo-cecal e no recto.
3. Uma vez que os sinais clínicos de peste suína clássica crónica são bastante inespecíficos, o diagnóstico diferencial deve abranger muitas outras doenças. A febre não está necessariamente presente em todos os animais, muito embora nas explorações afectadas a febre possa ser detectada em pelo menos alguns suínos.

D. Forma pré-natal e forma de início retardado da doença

1. O vírus da peste suína clássica é capaz de atravessar a placenta dos animais grávidos e de infectar o feto, embora nas porcas a doença seja frequentemente subclínica.

As consequências da infecção transplacentária do feto dependem em larga medida da idade de gestação e da virulência do vírus. A infecção durante a parte inicial da gravidez pode conduzir a abortos e nados-mortos, à mumificação e a malformações. Tudo isso implica uma redução da taxa de fertilidade na exploração.

A infecção de porcas com até 90 dias de gravidez pode conduzir ao nascimento de leitões com viremia persistente, os quais podem apresentar-se clinicamente normais ao nascer e podem sobreviver vários meses. Após o nascimento, podem manifestar atraso do crescimento, emaciação, e, por vezes, tremor congénito. Esta forma de infecção é designada «peste suína clássica de início retardado». Estes leitões podem desempenhar um papel crucial na propagação da doença e na persistência do vírus numa população, visto que estão constantemente a eliminar vírus até à sua morte.

2. A detecção da peste suína clássica pode ser especialmente difícil nas explorações de suínos reprodutores, dado que a infecção pode ser muito suave e confundida com muitas outras situações patológicas. Quer o vírus da peste suína clássica quer a infecção por parvovírus, o PPRS, a leptospirose e a doença de Aujeszky podem causar diminuição da fertilidade e abortamento. O material abortado devido à peste suína clássica não pode ser distinguido anatomopatologicamente do devido a outros agentes de doença.

Em caso de suspeita de doença infecciosa do tracto reprodutivo, há que investigar imediatamente a peste suína clássica se a exploração em questão puder ser considerada em risco (por exemplo, devido à localização da exploração numa área em que a peste suína clássica ocorre em suínos selvagens), e, em todo o caso, logo que tenham sido excluídas todas as doenças infecciosas mais comuns do tracto reprodutivo.

CAPÍTULO III***Directrizes sobre os principais critérios a ponderar com vista ao reconhecimento de uma exploração como sendo uma exploração suspeita de peste suína clássica***

A decisão de reconhecer uma exploração como sendo uma exploração suspeita basear-se-á nos seguintes dados, critérios e justificações:

- a) Dados clínicos e anatomopatológicos obtidos nos suínos. Os principais dados clínicos e anatomopatológicos a ponderar são os seguintes:
 - febre com aumento da morbidade e da mortalidade,
 - febre com síndrome hemorrágica,

▼B

- febre com sintomas neurológicos,
 - febre de origem desconhecida em que o tratamento com antibióticos não conduziu à melhoria do estado de saúde,
 - abortamento e problemas de fertilidade em maior número nos três meses precedentes,
 - tremor congénito dos leitões,
 - animais com doença crónica,
 - animais jovens com atraso do crescimento,
 - petéquias e equimoses, especialmente nos gânglios linfáticos, rins, baço, bexiga e laringe,
 - enfartos ou hematomas, especialmente no baço,
 - úlceras em botão no cólon, designadamente perto da junção íleo-cecal, nos casos crónicos;
- b) Dados epidemiológicos. Os principais dados epidemiológicos a ponderar são os seguintes:
- apurar se os suínos estiveram em contacto directo ou indirecto com uma exploração suínicola comprovadamente afectada pela peste suína clássica,
 - apurar se uma exploração forneceu suínos que subsequentemente se comprovou estarem infectados com a peste suína clássica,
 - apurar se as porcas foram artificialmente inseminadas com sémen proveniente de uma fonte suspeita,
 - apurar se houve contacto directo ou indirecto com suínos selvagens de uma população com peste suína clássica,
 - apurar se os suínos são mantidos ao ar livre numa região em que os suínos selvagens estão infectados pelo vírus da peste suína clássica,
 - apurar se os suínos foram alimentados com lavaduras e se se suspeita de que tais lavaduras não foram tratadas por forma a inactivar o vírus da peste suína clássica,
 - apurar se pode ter ocorrido exposição (por exemplo, devido às pessoas que entram na exploração ou aos transportes);
- c) Dados relacionados com os resultados dos testes serológicos. Os principais dados laboratoriais a ponderar são os seguintes:
- reacção serológica causada por infecção inaparente com o vírus da peste suína clássica ou por vacinação ⁽¹⁾,
 - reacção cruzada entre os anticorpos contra o vírus da peste suína clássica e os contra outros pestivírus ⁽²⁾,
 - detecção de animais reactivos ⁽³⁾.

CAPÍTULO IV

*Métodos de verificação e amostragem***A. Directrizes e procedimentos relativos ao exame clínico e à amostragem em suínos de explorações suspeitas**

1. Os Estados-Membros assegurarão a execução nas explorações suspeitas dos exames clínicos, da amostragem e dos exames laboratoriais adequados para a confirmação ou exclusão da peste suína clássica, em conformidade com as directrizes e procedimentos estabelecidos nos pontos 2 a 7 *infra*.

Independentemente da adopção na exploração em questão das medidas referidas no n.º 2 do artigo 4.º da Directiva 2001/89/CE, tais directrizes e procedimentos aplicar-se-ão igualmente em casos de doença sempre que a peste suína clássica seja considerada no âmbito do diagnóstico diferencial. É o que sucede mesmo quando os sinais clínicos e a situação epidemiológica da doença observada em suínos sugerem uma probabilidade muito reduzida de ocorrência de peste suína clássica.

- ⁽¹⁾ Se os suínos tiverem sido vacinados contra a peste suína clássica com uma vacina convencional, podem encontrar-se seropositivos apenas devido à vacina ou em consequência de uma infecção inaparente dos animais vacinados.
- ⁽²⁾ Em certas circunstâncias, até 10 % dos suínos de uma dada exploração podem apresentar anticorpos contra pestivírus de ruminantes que causam a diarreia vírica bovina e a «border disease». Tal facto pode verificar-se quando os suínos se encontram em contacto directo com bovinos ou ovinos infectados pelo vírus da BVD ou da BD, ou quando os suínos estão em contacto com materiais contaminados por pestivírus de ruminantes.
- ⁽³⁾ Em todos os actuais testes serológicos da peste suína clássica, uma pequena percentagem dos soros apresenta resultados falsamente positivos, quer devido à falta de especificidade do sistema de teste quer devido aos soros dos animais reactivos.

▼B

Em todos os outros casos, sempre que se suspeite da infecção pelo vírus da peste suína clássica de um ou mais suínos, serão adoptadas na exploração suspeita em questão as medidas referidas no n.º 2 do artigo 4.º da Directiva 2001/89/CE.

Em caso de suspeita de peste suína clássica em suínos presentes num matadouro ou meio de transporte, aplicar-se-ão, *mutatis mutandis*, as directrizes e procedimentos estabelecidos nos pontos 2 a 7 *infra*.

2. Quando um veterinário oficial visita uma exploração suspeita para confirmar ou excluir peste suína clássica:
 - deve proceder-se à verificação dos registos de produção e de saúde da exploração, caso os haja,
 - deve efectuar-se uma inspecção de todas as subunidades da exploração, a fim de seleccionar os suínos que vão ser sujeitos a exame clínico.

O exame clínico deve incluir a medição da temperatura corporal e deve abranger sobretudo os seguintes suínos ou grupos de suínos:

- suínos doentes ou anoréxicos,
- suínos que recuperaram recentemente de uma situação de doença,
- suínos recentemente introduzidos provenientes de focos confirmados ou de outras fontes suspeitas,
- suínos mantidos em subunidades recentemente visitadas por pessoas externas que estiveram em contacto estreito recente com suínos suspeitos ou infectados pela peste suína clássica ou em relação aos quais tenham sido identificados contactos de alto risco que constituam uma fonte potencial do vírus da peste suína clássica,
- suínos que foram já objecto de amostragem e de testes serológicos da peste suína clássica, caso os resultados de tais testes não permitam excluir peste suína clássica, e suínos em contacto.

Se a inspecção de uma exploração suspeita não revelar a existência dos suínos ou grupos de suínos acima referidos, a autoridade competente, sem prejuízo de outras medidas que podem ser aplicadas na exploração em questão em conformidade com o disposto na Directiva 2001/89/CE e tendo em conta a situação epidemiológica, deve:

- proceder a novos exames na exploração em questão, em conformidade com o disposto no ponto 3 *infra*; ou
- assegurar que sejam obtidas amostras de sangue dos suínos da exploração em questão para testes laboratoriais. Nesse caso, devem ser utilizados como forma de orientação os métodos de amostragem estabelecidos nos pontos 5 e F.2, ou
- adoptar ou manter as medidas estabelecidas no n.º 2 do artigo 4.º da Directiva 2001/89/CE, enquanto se aguardam novas investigações da exploração em questão, ou
- excluir a suspeita de peste suína clássica.

3. Sempre que se remeta para o presente ponto, o exame clínico na exploração em questão deve efectuar-se em suínos seleccionados aleatoriamente nas subunidades em que tenha sido identificado ou suspeito um risco de introdução do vírus da peste suína clássica.

O número mínimo de suínos a examinar deve permitir a detecção de febre nestas subunidades, com um nível de confiança de 95 %, caso a sua prevalência seja de 10 %.

No entanto, no que respeita:

- às porcas reprodutoras, o número mínimo de porcas a examinar deve permitir a detecção de febre, com um nível de confiança de 95 %, caso a sua prevalência seja de 5 %,
- aos centros de colheita de sêmen, todos os varrascos devem ser examinados.

4. Se forem detectados suínos mortos ou moribundos numa exploração suspeita, devem ser efectuados exames *post mortem*, preferivelmente em pelo menos cinco destes suínos, e, designadamente, em suínos:
 - que, antes da sua morte, manifestaram, ou manifestam, sinais muito evidentes de doença,
 - com febre elevada,
 - mortos recentemente.

▼B

Se estes exames não tiverem demonstrado lesões sugestivas de peste suína clássica, muito embora, dada a situação epidemiológica, sejam consideradas necessárias novas investigações:

- deve proceder-se a um exame clínico, tal como estabelecido no ponto 3, e à recolha de amostras de sangue, tal como estabelecido no ponto 5, na subunidade em que os suínos mortos ou moribundos eram mantidos, e
- devem efectuar-se exames *post mortem* em três ou quatro suínos em contacto.

Independentemente da existência ou não de lesões sugestivas de peste suína clássica, devem ser obtidas amostras de órgãos e tecidos de suínos sujeitos a exames *post mortem* para testes virológicos, em conformidade com o disposto no ponto B.1 do capítulo V. Estas amostras devem preferivelmente ser colhidas em suínos recentemente mortos.

Caso sejam efectuados exames *post mortem*, a autoridade competente deve assegurar que:

- sejam tomadas as precauções e medidas de higiene necessárias para evitar a propagação da doença, e
- que os suínos moribundos sejam abatidos de forma humana, em conformidade com o disposto na Directiva 93/119/CEE do Conselho.

5. Se numa exploração suspeita forem detectados mais sinais clínicos ou lesões sugestivos de peste suína clássica e a autoridade competente considerar que estes dados são insuficientes para confirmar um surto de peste suína clássica, não sendo, portanto, necessários, testes laboratoriais, devem ser obtidas amostras de sangue para testes laboratoriais dos suínos suspeitos e de outros suínos em todas as subunidades em que os suínos suspeitos sejam mantidos, em conformidade com os procedimentos adiante estabelecidos.

O número mínimo de amostras a colher para os testes serológicos deve permitir a detecção de uma seroprevalência de 10 % com um nível de confiança de 95 % na subunidade em questão.

No entanto, no que respeita:

- às porcas reprodutoras, o número mínimo de porcas em são colhidas amostras deve permitir a detecção de uma seroprevalência de 5 % com um nível de confiança de 95 %⁽¹⁾,
- aos centros de colheita de sémen, devem ser colhidas amostras de sangue em todos os varrascos.

O número de amostras a obter com vista aos testes virológicos deve estar em conformidade com as instruções da autoridade competente, que deve atender ao leque de testes disponíveis, à sensibilidade dos testes laboratoriais que serão utilizados e à situação epidemiológica.

6. Se a suspeita de peste suína clássica na exploração em questão estiver relacionada com os resultados de testes serológicos já efectuados, para além da colheita de amostras de sangue nos suínos referidos no ponto 2, quinto travessão do segundo parágrafo, devem ser utilizados os seguintes procedimentos:
- a) Se os suínos seropositivos forem porcas prenhes, algumas delas, preferivelmente pelo menos três, devem ser abatidas e sujeitas a um exame *post mortem*. Antes do abate, deve ser colhida uma amostra de sangue com vista a novos testes serológicos. Os fetos serão sujeitos a uma pesquisa do vírus da peste suína clássica, ou do antígeno ou do genoma desse mesmo vírus, em conformidade com o disposto no capítulo VI, a fim de detectar infecção intra-uterina;
 - b) Se os suínos seropositivos forem porcas com leitões amamentados, devem ser colhidas amostras de sangue de todos os leitões, que devem ser sujeitas a uma pesquisa do vírus da peste suína clássica, ou do antígeno ou do genoma desse mesmo vírus, tal como referido no capítulo VI. Devem ser igualmente obtidas amostras de sangue das porcas, com vista a novos testes serológicos.
7. Se, após a execução do exame numa exploração suspeita, não forem detectados sinais clínicos nem lesões sugestivos de peste suína clássica, muito embora a autoridade competente considere necessária a execução de novos testes laboratoriais para excluir a peste suína clássica, utilizar-

⁽¹⁾ Em certos casos, como nas situações em que se suspeita de peste suína clássica numa exploração com um número limitado de suínos jovens, a percentagem de porcas infectadas pode ser muito reduzida. Nestes casos, a amostragem deve incidir sobre um número mais elevado de porcas.

▼B

se-ão a título de orientação os métodos de amostragem referidos no ponto 5.

B. Métodos de amostragem nas explorações caso sejam abatidos suínos após a confirmação da doença

1. Para que possa ser determinado o modo de introdução do vírus da peste suína clássica na exploração infectada, bem como o período de tempo após a sua introdução, caso os suínos de uma exploração sejam abatidos após a confirmação de um surto em conformidade com o n.º 1, alínea a), do artigo 5.º da Directiva 2001/89/CE, aquando do abate dos suínos devem ser obtidas aleatoriamente amostras de sangue para testes serológicos.
2. O número mínimo de suínos em que devem ser colhidas amostras deve permitir a detecção de uma seroprevalência de 10 % com um nível de confiança de 95 % nos suínos de cada uma das subunidades da exploração ⁽¹⁾.

Podem também ser colhidas amostras para testes virológicos, em conformidade com as instruções da autoridade competente, que deve atender ao leque de testes disponíveis, à sensibilidade dos testes laboratoriais que serão utilizados e à situação epidemiológica.

3. No entanto, no que respeita aos surtos secundários, a autoridade competente pode decidir derrogar em relação ao estabelecido nos pontos 1 e 2 *supra* e estabelecer métodos de amostragem *ad hoc*, tomando em consideração os dados epidemiológicos já disponíveis sobre a fonte e a via de introdução do vírus na exploração, bem como a probabilidade de propagação da doença a partir da exploração.

C. Métodos de amostragem caso os suínos sejam abatidos a título de medida preventiva numa exploração suspeita

1. Para que a peste suína clássica possa ser confirmada ou excluída e sejam obtidos dados epidemiológicos adicionais, caso os suínos sejam abatidos a título de medida preventiva numa exploração suspeita em conformidade com o disposto no n.º 3, alínea a), do artigo 4.º ou no n.º 2 do artigo 7.º da Directiva 2001/89/CE, devem ser colhidas amostras de sangue para testes serológicos, bem como amostras de sangue ou amígdalas para testes virológicos, em conformidade com o procedimento estabelecido no ponto 2.

2. A amostragem deve abranger sobretudo:

- suínos com sinais ou lesões *post mortem* sugestivos de peste suína clássica, bem como os suínos em contacto com eles,
- outros suínos que possam ter tido contacto perigoso com suínos infectados ou suspeitos, ou que se suspeite terem sido contaminados com o vírus da peste suína clássica.

As amostras provenientes destes suínos devem ser obtidas em conformidade com as instruções da autoridade competente, que deve atender à situação epidemiológica. Nesse caso, os métodos de amostragem estabelecidos nos segundo, terceiro e quarto parágrafos devem ser utilizados como forma de orientação.

Além disso, os suínos provenientes de cada uma das subunidades da exploração devem ser objecto de uma recolha de amostras aleatória ⁽²⁾. Nesse caso, o número mínimo de amostras a colher para os testes serológicos deve permitir a detecção de uma seroprevalência de 10 % com um nível de confiança de 95 % na subunidade em questão.

⁽¹⁾ No entanto, caso seja aplicada a derrogação prevista no n.º 1 do artigo 6.º da Directiva 2001/89/CE, a amostragem deve abranger as subunidades da exploração em que os suínos foram abatidos, sem prejuízo da execução de exames e amostragens adicionais nos restantes suínos da exploração, que se processarão em conformidade com as instruções da autoridade competente.

⁽²⁾ No entanto, se a autoridade competente tiver limitado a aplicação do abate preventivo apenas à parte da exploração em que foram mantidos os suínos suspeitos de estarem infectados ou contaminados pelo vírus da peste suína clássica, em conformidade com o disposto no n.º 3, alínea a), do artigo 4.º da Directiva 2001/89/CE, a amostragem deve abranger as subunidades da exploração em que esta medida foi aplicada, sem prejuízo da execução de exames e da obtenção de amostras adicionais nos restantes suínos da exploração, que se processarão em conformidade com as instruções da autoridade competente.

▼B

No entanto, no que respeita:

- às porcas reprodutoras, o número mínimo de porcas em que são colhidas amostras deve permitir a detecção de uma seroprevalência de 5 % com um nível de confiança de 95 % ⁽¹⁾,
- aos centros de colheita de sémen, devem ser colhidas amostras de sangue em todos os varrascos.

O tipo de amostras a obter com vista aos testes virológicos e o teste a utilizar devem estar em conformidade com as instruções da autoridade competente, que deve atender ao leque de testes disponíveis, à sensibilidade desses testes e à situação epidemiológica.

D. Métodos de verificação e amostragem antes de ser dada a autorização de transferência de suínos provenientes de explorações situadas em zonas de protecção ou vigilância, caso estes suínos sejam abatidos ou objecto de occisão

1. Sem prejuízo do disposto no n.º 1, segundo parágrafo da alínea f), do artigo 11.º da Directiva 2001/89/CE, para que possa ser concedida autorização de transferência de suínos provenientes de explorações situadas em zonas de protecção ou vigilância em conformidade com o disposto no n.º 3 do artigo 10.º da referida directiva, o exame clínico efectuado por um veterinário oficial deve:

- ser executado no período de 24 horas que precede a transferência dos suínos,
- ser feito em conformidade com o procedimento previsto no ponto A.2.

2. No que respeita aos suínos transferidos para outras explorações, para além das investigações a efectuar em conformidade com o disposto no ponto 1 *supra*, deve proceder-se ao exame clínico de suínos de cada subunidade da exploração em que são mantidos os suínos que devem ser transferidos. No que respeita aos suínos com mais de três a quatro meses de idade, este exame deve abranger a medição da temperatura de uma certa percentagem dos mesmos.

O número mínimo de suínos a examinar deve permitir a detecção de febre nestas subunidades, com um nível de confiança de 95 %, caso a sua prevalência seja de 10 %.

No entanto, no que respeita:

- às porcas reprodutoras, o número mínimo de porcas a examinar deve permitir a detecção de febre, com um nível de confiança de 95 % na subunidade aonde são mantidas as porcas que vão ser transferidas, caso a sua prevalência seja de 5 %.
- aos varrascos, devem ser examinados todos os animais que vão ser transferidos.

3. No que respeita aos suínos transferidos para um matadouro, para uma instalação de transformação ou para outros locais a fim de aí serem abatidos ou objecto de occisão, para além das investigações a efectuar em conformidade com o disposto no ponto 1 *supra*, deve proceder-se ao exame clínico de suínos de todas as subunidades em que são mantidos os suínos que devem ser transferidos. No que respeita aos suínos com mais de três a quatro meses de idade, este exame deve abranger a medição da temperatura de uma certa percentagem dos mesmos.

O número mínimo de suínos a examinar deve permitir a detecção de febre nestas subunidades, com um nível de confiança de 95 %, caso a sua prevalência seja de 20 %.

No entanto, no que respeita às porcas reprodutoras e aos varrascos, o número mínimo de suínos a examinar deve permitir a detecção de febre, com um nível de confiança de 95 % na subunidade aonde são mantidos os suínos que vão ser transferidos, caso a sua prevalência seja de 5 %.

4. Se os suínos referidos no ponto 3 forem abatidos ou objecto de occisão, em todas as subunidades da exploração de que os suínos foram transferidos devem ser colhidas amostras de sangue para testes serológicos, ou amostras de sangue e amígdalas para testes virológicos.

O número mínimo de amostras a examinar deve permitir a detecção de uma seroprevalência de 10 % com um nível de confiança de 95 %.

⁽¹⁾ Em certos casos, como quando haja a suspeita de peste suína clássica numa exploração com um número limitado de suínos jovens, a percentagem de porcas infectadas pode ser muito reduzida. Nesses casos, devem ser colhidas amostras num número mais elevado de porcas.

▼B

No entanto, no que respeita às porcas reprodutoras e aos varrascos, o número mínimo de suínos em que devem ser colhidas amostras deve permitir a detecção de uma seroprevalência ou de uma prevalência de vírus de 5 %, com um nível de confiança de 95 % na subunidade aonde são mantidos esses suínos.

O tipo de amostras a obter e o teste a utilizar devem estar em conformidade com as instruções da autoridade competente, que deve atender ao leque de testes disponíveis, à sensibilidade desses testes e à situação epidemiológica.

5. No entanto, em derrogação do disposto no ponto 4 *supra*, se forem detectados sinais clínicos ou lesões *post mortem* sugestivos de peste suína clássica quando os suínos forem abatidos ou objecto de occisão, serão aplicáveis as disposições relativas à amostragem estabelecidas no ponto C.

E. Métodos de verificação e amostragem numa exploração no âmbito do repovoamento

1. Se numa exploração forem reintroduzidos suínos em conformidade com o disposto no n.º 2, alíneas a) ou b), do artigo 13.º ou no n.º 8, segundo parágrafo da alínea b), do artigo 19.º da Directiva 2001/89/CE, devem ser utilizados os seguintes métodos de amostragem:

- no que respeita à reintrodução de suínos testemunha, devem ser colhidas aleatoriamente num certo número de suínos amostras de sangue para testes serológicos que permitam a detecção de uma seroprevalência de 10 % com um nível de confiança de 95 % em cada uma das subunidades da exploração,
- no que respeita ao repovoamento total, devem ser colhidas aleatoriamente num certo número de suínos amostras de sangue para testes serológicos que permitam a detecção de uma seroprevalência de 20 % com um nível de confiança de 95 % em cada uma das subunidades da exploração.

No entanto, no que respeita às porcas reprodutoras e aos varrascos, o número de amostras a obter deve permitir detectar uma seroprevalência de 10 % com um nível de confiança de 95 %.

2. Após a reintrodução dos suínos, a autoridade competente deve assegurar que, em caso de doença ou morte dos suínos de uma exploração por motivos desconhecidos, os suínos em questão sejam imediatamente testados em relação à peste suína clássica. As presentes disposições aplicar-se-ão até que as restrições referidas no n.º 2, segundo parágrafo da alínea a), do artigo 13.º e no n.º 8, segundo parágrafo da alínea b), do artigo 19.º da Directiva 2001/89/CE sejam levantadas na exploração em questão.

F. Métodos de amostragem em explorações situadas na zona de protecção, antes do levantamento das restrições

1. Para que as medidas referidas no artigo 10.º da Directiva 2001/89/CE possam ser levantadas numa zona de protecção, é necessário que em todas as explorações da zona:

- seja efectuado um exame clínico em conformidade com os procedimentos estabelecidos nos pontos A.2 e A.3,
- sejam colhidas amostras de sangue para testes serológicos, tal como estabelecido no ponto 2 *infra*.

2. O número mínimo de amostras de sangue a colher deve permitir a detecção de uma seroprevalência de 10 % com um nível de confiança de 95 % nos suínos de cada uma das subunidades da exploração.

No entanto, no que respeita:

- às porcas reprodutoras, o número mínimo de amostras a colher deve permitir a detecção de uma seroprevalência de 5 % com um nível de confiança de 95 %,
- aos centros de colheita de sêmen, devem ser colhidas amostras de sangue em todos os varrascos.

G. Métodos de amostragem em explorações situadas na zona de vigilância, antes do levantamento das restrições

1. Para que numa zona de vigilância possam ser levantadas as restrições referidas no artigo 11.º da Directiva 2001/89/CE, deve efectuar-se um exame clínico em todas as explorações da zona, em conformidade com os procedimentos estabelecidos no ponto A.2.

▼B

Além disso, devem ser colhidas amostras de sangue de suínos para testes serológicos:

- em todas as explorações em que não sejam mantidos suínos com idades compreendidas entre dois e oito meses,
- sempre que a autoridade competente considere que a peste suína clássica pode ter-se propagado silenciosamente às porcas reprodutoras,
- em qualquer outra exploração em que a autoridade competente considere necessária uma amostragem,
- em todos os centros de colheita de sêmen.

2. Sempre que se proceda à amostragem de sangue com vista a testes serológicos em explorações situadas na zona de vigilância, o número de amostras de sangue a obter nessas explorações deve estar em conformidade com o disposto no ponto F.2. No entanto, se a autoridade competente considerar que a peste suína clássica pode ter sido propagada silenciosamente às porcas reprodutoras, a amostragem apenas poderá efectuar-se nas subunidades em que estes animais são mantidos.

H. Métodos de monitorização e amostragem serológica em áreas em que haja suspeita ou confirmação de peste suína clássica em suínos selvagens

1. No que respeita à monitorização serológica de suínos selvagens em áreas em que haja suspeita ou confirmação de peste suína clássica, a dimensão e a área geográfica da população-alvo em que há que obter amostras deve ser previamente definida, para se determinar o número de amostras que devem ser colhidas. A dimensão da amostra deve ser estabelecida em função do número estimado de animais vivos e não em função do número de animais abatidos.
2. Se não existirem dados sobre a densidade e a dimensão da população, a área geográfica em que se deve proceder à amostragem deve ser definida tendo em conta a possível existência permanente de suínos selvagens e de barreiras naturais ou artificiais que permitam evitar grandes movimentos contínuos de animais. Se tais circunstâncias se não verificarem, ou se se tratar de grandes zonas, recomenda-se a criação de áreas de amostragem com uma superfície inferior a 200 km², em que possam viver habitualmente 400 a 1 000 suínos selvagens.
3. Sem prejuízo do disposto no n.º 2, alínea c), do artigo 15.º da Directiva 2001/89/CE, o número mínimo de suínos em que devem ser colhidas amostras dentro da área de amostragem definida deve permitir a detecção de uma seroprevalência de 5 % com um nível de confiança de 95 %. Para este efeito, devem ser colhidas amostras em pelo menos 59 animais em cada área definida.

Recomenda-se igualmente que:

- nas áreas em que a pressão de caça é maior e regular, ou em que se proceda à caça selectiva como medida de controlo da doença, cerca de 50 % dos animais em que são colhidas amostras provenha da classe etária dos três meses ao um ano de idade, 35 % da dos um aos dois anos de idade e 15 % à dos com mais de dois anos de idade,
- nas áreas em que a pressão de caça é muito reduzida ou nula, sejam obtidas amostras em 32 animais de cada uma dessas classes etárias,
- a amostragem seja efectuada rapidamente, preferivelmente num período não superior a um mês,
- a idade dos animais em que são colhidas amostras seja determinada com base na eclosão dentária.

4. A recolha de amostras para testes virológicos em suínos selvagens abatidos ou encontrados mortos deve efectuar-se em conformidade com o disposto no ponto B.1 do capítulo V.

Se for considerada necessária, a monitorização virológica dos suínos selvagens abatidos deve ter por objecto sobretudo os animais com três meses a um ano de idade.

5. Todas as amostras que devem ser enviadas para o laboratório devem ser acompanhadas do questionário referido no n.º 3, alínea l), do artigo 16.º da Directiva 2001/89/CE.

▼B

CAPÍTULO V

Procedimentos e critérios gerais aplicáveis à colheita e transporte de amostras**A. Procedimentos e critérios gerais**

1. Antes de se proceder à amostragem numa exploração suspeita, deve ser elaborado um mapa da exploração e há que identificar as suas subunidades epidemiológicas.
2. Sempre que se considere necessária a repetição da amostragem nos suínos, todos os suínos por ela abrangidos devem dispor de uma marcação específica, por forma a facilitar tal repetição.
3. Sem prejuízo do disposto no ponto A.5.b do capítulo IV, as amostras para testes serológicos não devem ser colhidas em leitões com idade inferior a oito semanas.
4. Todas as amostras devem ser enviadas para o laboratório acompanhadas dos formulários adequados, em conformidade com os requisitos estabelecidos pela autoridade competente. Estes formulários devem incluir pormenores sobre a história dos suínos sujeitos à amostragem, bem como a indicação dos sinais clínicos e das lesões *post mortem* observados.

No que respeita aos suínos mantidos em explorações, deve ser apresentada informação clara sobre a idade, categoria e exploração de origem dos suínos sujeitos à amostragem. Recomenda-se o registo do local da exploração em que se encontra cada suíno sujeito a amostragem, bem como da marca de identificação única.

B. Recolha de amostras para testes virológicos

1. Para a detecção do vírus, do antígeno ou do genoma da peste suína clássica em suínos mortos ou abatidos, as amostras mais adequadas são as provenientes dos tecidos das amígdalas, do baço ou do rim. Recomenda-se igualmente a recolha de duas amostras de outros tecidos linfóides, como os gânglios retrofaríngeos, parotídeos, mandibulares ou mesentéricos, e de uma amostra do íleo. Se se tratar de carcaças autolizadas, é preferível uma amostra de um osso inteiro ou do esterno.
2. Devem ser colhidas, em conformidade com as instruções da autoridade competente, amostras de sangue coagulado ou não coagulado de suínos que apresentem febre ou outros sinais de doença.
3. Recomenda-se a execução de testes virológicos nos animais doentes. Estes testes são geralmente pouco úteis caso sejam utilizados para monitorizar animais que não apresentem sinais clínicos. No entanto, se o objectivo da amostragem em larga escala for a detecção do vírus da peste suína clássica na altura em que os suínos se encontrem em período de incubação, as amostras mais adequadas são as que provêm das amígdalas.

C. Transporte das amostras

1. Recomenda-se que todas as amostras:
 - sejam transportadas e armazenadas em contentores estanques,
 - não sejam congeladas e sejam antes refrigeradas,
 - sejam enviadas ao laboratório o mais rapidamente possível,
 - sejam mantidas frias numa embalagem com gelo, e não em gelo triturado,
 - de tecidos ou órgãos sejam colocadas num saco de plástico selado e adequadamente rotuladas. Devem então ser colocadas em contentores externos maiores e resistentes e almofadadas com material absorvente que permita evitar a sua deterioração e absorva líquidos derramados,
 - se possível, sejam transportadas directamente para o laboratório por pessoal competente, por forma a assegurar o seu transporte rápido e adequado.
2. A parte externa da embalagem deve ter aposto o endereço do laboratório receptor e conter a seguinte menção bem visível: «Material anatomopatológico animal; Perecível; Frágil; Não abrir fora de um laboratório dedicado à peste suína clássica».

▼B

3. O laboratório que recebe as amostras deve ser informado antecipadamente sobre a data e hora e o modo de chegada das amostras.
4. No que respeita ao transporte aéreo de amostras para o Laboratório Comunitário de Referência da peste suína clássica⁽¹⁾ a partir de Estados-Membros que não a Alemanha ou de países terceiros, a embalagem deve estar rotulada de acordo com a regulamentação da IATA.

CAPÍTULO VI

*Princípios e aplicação dos testes virológicos e avaliação dos respectivos resultados***A. Detecção do antigénio vírico**1. *Teste de anticorpos fluorescentes (FAT)*

O princípio do teste é a detecção do antigénio vírico em criossecções delgadas de material orgânico proveniente de suínos suspeitos de estarem infectados pelo vírus da peste suína clássica. O antigénio intracelular é detectado através da utilização de anticorpo conjugado com FITC. Os resultados positivos devem ser confirmados através da repetição da coloração com um anticorpo monoclonal específico.

As amígdalas, o rim, o baço, vários gânglios linfáticos e o íleo são exemplo de órgãos adequados. No que respeita aos suínos selvagens, pode igualmente utilizar-se um esfregaço da medula óssea, se esses órgãos se não encontrarem disponíveis ou tiverem sido autolisados.

O teste pode ser executado num dia. Dado que as amostras de órgãos apenas podem ser obtidas em animais mortos, a sua utilização para efeitos de despistagem tem valor limitado. A confiança no resultado do teste pode ser limitada por uma coloração incerta, sobretudo se não tiver sido adquirida experiência considerável na execução do teste ou se os órgãos testados estiverem autolisados.

2. *Teste ELISA para a detecção de antigénio*

O antigénio vírico é detectado através da utilização de várias técnicas ELISA. A sensibilidade do teste ELISA para a detecção de antigénio deve ser suficientemente elevada para que se obtenha um resultado positivo com animais que apresentem sinais clínicos de peste suína clássica.

Recomenda-se a utilização de testes ELISA para a detecção de antigénio em amostras de animais com sinais clínicos ou manifestações anatomopatológicas da doença. Estes testes não são adequados para o exame de animais individuais. São exemplo de amostras adequadas os leucócitos, o soro, o sangue não coagulado e as suspensões dos órgãos referidos no ponto 1 provenientes de suínos suspeitos de estarem infectados com o vírus da peste suína clássica⁽²⁾.

O teste ELISA pode ser realizado num só dia e pode ser efectuado com equipamento automatizado. A sua vantagem mais importante é a de que, num curto espaço de tempo, pode ser processado um elevado número de amostras. Recomenda-se a utilização de testes ELISA para a detecção de antigénio que dêem resultados satisfatórios no material de referência. No entanto, actualmente, todos os testes ELISA comercializados são menos sensíveis do que o isolamento do vírus numa cultura de células e a sua sensibilidade é significativamente melhor em amostras de sangue de leitões do que em amostras de sangue de suínos adultos.

B. Isolamento do vírus

1. O isolamento do vírus baseia-se na incubação de material da amostra em culturas de células sensíveis de origem porcina. Se existir na amostra, o vírus da peste suína clássica replica-se nessas células até se alcançarem quantidades detectáveis por imunocoloração das células infectadas com anticorpos conjugados. São necessários anticorpos específicos da peste suína clássica para o diagnóstico diferencial com outros pestivírus.

⁽¹⁾ O Laboratório Comunitário de Referência tem uma autorização ilimitada para receber amostras para fins diagnósticos e isolados do vírus da peste suína clássica. Antes do transporte, pode ser solicitada a este laboratório uma cópia da autorização de importação, a qual pode ser incluída num envelope e colada à parte externa da embalagem.

⁽²⁾ Encontram-se disponíveis comercialmente vários testes ELISA para a detecção do antigénio da peste suína clássica, os quais são validados com vários tipos de amostras.

▼B

2. Os materiais mais adequados para o isolamento do vírus da peste suína clássica são os leucócitos, o plasma ou o sangue total obtido a partir de amostras de sangue não coagulado ou dos órgãos referidos no ponto A.1.
3. O isolamento de vírus é melhor adequado para a investigação de amostras de um número reduzido de animais, mais do que para a vigilância em larga escala. O processo de isolamento do vírus é trabalhoso e requer pelo menos três dias para que se obtenham resultados. Podem ser necessárias duas outras passagens em culturas de células para que seja detectada uma pequena quantidade de vírus na amostra. Tal facto implica que podem ser necessários até 10 dias para que se obtenha o resultado final. As amostras autolisadas podem ter efeito citotóxico na cultura de células, e, por conseguinte, limitar a sua utilização.
4. Recomenda-se igualmente o isolamento do vírus caso haja confirmação prévia de peste suína clássica através de outros métodos. O isolamento deve ser utilizado como teste de referência para a confirmação de resultados positivos após a execução de testes ELISA para a detecção de antígeno, PCR, FAT ou de coloração indirecta por peroxidase.

Os isolados de vírus da peste suína clássica obtidos desta forma são úteis para a caracterização do vírus, designadamente para a sua tipagem genética e para epidemiologia molecular.

5. Todos os isolados de vírus da peste suína clássica provenientes de todos os focos primários, casos primários em suínos selvagens ou casos detectados em matadouros ou meios de transporte devem ser objecto de tipagem genética num laboratório nacional de referência de um dos Estados-Membros, ou em qualquer outro laboratório autorizado pelo Estado-Membro em questão ou pelo Laboratório Comunitário de Referência, em conformidade com o disposto no ponto E.

Tais isolados de vírus devem ser sempre prontamente enviados para o Laboratório Comunitário de Referência para recolha do vírus.

C. Detecção do genoma vírico

1. A reacção da polimerase em cadeia (PCR) é utilizada para a detecção do genoma vírico em amostras de sangue, tecidos ou órgãos. Pequenos fragmentos de ARN vírico são transcritos para fragmentos de ADN, os quais são amplificados pela PCR até se alcançarem quantidades detectáveis. Dado que este teste apenas detecta uma sequência genómica do vírus, a PCR pode ser positiva até mesmo em situações em que não esteja presente nenhum vírus infeccioso (por exemplo, em tecidos autolisados ou em amostras de suínos convalescentes).
2. A PCR pode ser utilizada num pequeno número de amostras cuidadosamente seleccionadas de animais suspeitos ou de material proveniente de fetos abortados. Nas carcaças de varrascos selvagens, poderia ser o método de primeira escolha, caso o material estivesse autolisado e o isolamento do vírus já não fosse possível devido à citotoxicidade.
3. O material de amostragem adequado para a PCR diagnóstica são os órgãos descritos em relação ao isolamento de vírus ou ao sangue não coagulado.
4. A PCR pode ser executada em 48 horas. Requer equipamento laboratorial adequado, instalações separadas e pessoal habilitado. Uma das suas vantagens é o facto de as partículas víricas infecciosas não necessitarem de ser replicadas no laboratório. Este método é altamente sensível, embora muito sujeito a contaminação, a qual pode conduzir a falsos resultados positivos. Por conseguinte, são essenciais procedimentos rigorosos de controlo da qualidade. Alguns métodos são específicos dos pestivírus, e não da peste suína clássica, pelo que requerem testes confirmatórios adicionais, como a sequenciação do produto da PCR.

D. Avaliação dos resultados dos testes virológicos

1. Os testes virológicos são essenciais para a confirmação da peste suína clássica.

O isolamento do vírus deve ser considerado o teste virológico de referência e deve ser utilizado como teste confirmatório sempre que necessário. A sua utilização é particularmente recomendada em caso de resultados positivos dos testes FAT, ELISA ou PCR não associados à existência de sinais clínicos ou de lesões da doença, bem como em qualquer outro caso de dúvida.

No entanto, um foco primário de peste suína clássica pode ser confirmado se forem detectados sinais clínicos ou lesões da doença nos suínos em

▼B

questão e se pelo menos dois testes de detecção do antígeno ou do genoma apresentarem resultados positivos.

Um foco secundário de peste suína clássica pode ser confirmado se, para além da relação epidemiológica com um foco ou caso confirmado, forem detectados sinais clínicos ou lesões da doença nos suínos em questão e se um teste de detecção do antígeno ou do genoma apresentar resultados positivos.

Os casos primários de peste suína clássica em suínos selvagens podem ser confirmados através do isolamento do vírus ou de resultados positivos em pelo menos dois testes de detecção do antígeno ou do genoma. Um resultado positivo num teste de detecção do antígeno ou do genoma pode confirmar novos casos de peste suína clássica em suínos selvagens que tenham uma relação epidemiológica com casos anteriormente confirmados.

- Um resultado positivo em relação à peste suína clássica num teste de detecção do antígeno ou do genoma requer que o teste em questão seja efectuado utilizando-se anticorpos ou iniciadores específicos do vírus da peste suína clássica. Se não for específico da peste suína clássica e for apenas específico dos pestivírus, o teste utilizado deve ser repetido utilizando-se reagentes específicos da peste suína clássica.

E. Tipagem genética dos isolados da peste suína clássica

- A tipagem genética dos isolados de vírus da peste suína clássica faz-se através da determinação da sequência de nucleótidos de partes do genoma vírico, designadamente de partes específicas da região codificadora 5' e/ou do gene da glicoproteína E2. A similaridade destas sequências com as já obtidas em isolados de vírus pode indicar se os focos da doença são causados por estirpes novas ou já conhecidas. Podem assim ser confirmadas ou refutadas hipóteses sobre vias de transmissão formuladas com base na traçabilidade epidemiológica.

A tipagem genética dos isolados de vírus da peste suína clássica é muito importante para a determinação da origem da doença. No entanto, a relação estreita entre os vírus obtidos em focos diferentes não constitui uma prova definitiva de uma relação epidemiológica directa.

- Se a tipagem de vírus não puder efectuar-se rapidamente num laboratório nacional ou em qualquer outro laboratório autorizado a diagnosticar a peste suína clássica, a amostra original ou o isolado de vírus devem ser enviados para o Laboratório Comunitário de Referência, a fim de que sejam tipados o mais rapidamente possível.

Os dados relativos à tipagem e à sequenciação dos isolados de vírus da peste suína clássica de que dispõem os laboratórios autorizados a diagnosticar a peste suína clássica devem ser enviados ao Laboratório Comunitário de Referência, para que essa informação seja introduzida na base de dados mantida por este laboratório.

A informação constante da base de dados deve encontrar-se à disposição de todos os Laboratórios Nacionais de Referência dos Estados-Membros. No entanto, para efeitos de publicação em revistas científicas, caso tal seja solicitado pelo laboratório em questão, o Laboratório Comunitário de Referência deve assegurar a confidencialidade de tais dados até que estes se encontrem publicados.

CAPÍTULO VII

Princípios e aplicação dos testes serológicos e avaliação dos respectivos resultados

A. Princípios básicos e valor diagnóstico

- Nos suínos infectados pela peste suína clássica, os anticorpos são geralmente detectáveis em amostras de soro a partir das duas a três semanas após a infecção. Nos suínos que recuperaram da doença, podem ser detectados durante bastantes anos, ou até mesmo até ao resto da vida, anticorpos de neutralização protectores. Os anticorpos são também detectados esporadicamente na fase terminal dos animais com doença mortal. Nalguns suínos com a forma crónica da peste suína clássica, podem ser detectados anticorpos durante alguns dias, na parte final do primeiro mês após a infecção.

Os suínos infectados *in utero* podem ser imunotolerantes em relação ao vírus da peste suína clássica homólogo, não produzindo assim anticorpos específicos. No entanto, durante os primeiros dias de vida, podem ser detectados anticorpos de origem materna. A semivida dos anticorpos

▼B

maternos nos leitões saudáveis não virémicos é de cerca de duas semanas. Caso estejam presentes em leitões com mais de três meses de idade, é muito improvável que os anticorpos da peste suína clássica sejam de origem materna.

2. A detecção de anticorpos contra o vírus da peste suína clássica em amostras de soro ou plasma ajuda ao estabelecimento do diagnóstico de peste suína clássica em explorações suspeitas, ao estabelecimento da duração da infecção num foco confirmado e à monitorização e vigilância. No entanto, os testes serológicos têm pouco valor na detecção de peste suína clássica em caso de infecção recente numa exploração.

A existência de alguns suínos seropositivos com um título de neutralização baixo pode ser indicativa de infecção recente (duas a quatro semanas). A presença de muitos suínos com um elevado título de neutralização sugere que o vírus foi introduzido na exploração há já pelo menos um mês. A localização dos suínos seropositivos na exploração pode fornecer dados valiosos sobre o modo como o vírus da peste suína clássica penetrou na exploração.

No entanto, deve proceder-se à avaliação rigorosa dos resultados dos testes serológicos, tendo em conta todos os dados clínicos, virológicos e epidemiológicos, no âmbito do inquérito efectuado em caso de suspeita ou confirmação de peste suína clássica, em conformidade com o disposto no artigo 8.º da Directiva 2001/89/CE.

B. Testes serológicos recomendados

1. Os testes de neutralização do vírus (VNT) e ELISA são os testes de primeira escolha no diagnóstico serológico da peste suína clássica.

A qualidade e eficácia do diagnóstico serológico efectuado pelos laboratórios nacionais deve ser periodicamente verificada no âmbito do teste comparativo entre laboratórios organizado regularmente pelo Laboratório Comunitário de Referência.

2. O VNT baseia-se na determinação da actividade de neutralização do vírus dos anticorpos presentes numa amostra sérica, expressa em termos do parâmetro de neutralização a 50 %.

Uma quantidade constante de vírus da peste suína clássica é incubada a 37 °C com soro diluído. Para efeitos de despistagem, os soros são inicialmente diluídos a 1/10. Se for necessária uma titulação completa, podem preparar-se diluições duplas do soro, começando-se com uma diluição de 1/2 ou 1/5. Mistura-se cada diluição com igual volume de uma suspensão vírica com 100 doses infecciosas (TCID 50).

Após a incubação, a mistura é inoculada em culturas de células, as quais são incubadas durante 3 a 5 dias. Após este período de incubação, as culturas são fixadas e um sistema de marcação imunológica detecta qualquer eventual replicação vírica nas células infectadas. Deve utilizar-se o ensaio de anticorpo de neutralização ligado à peroxidase (NPLA) ou de neutralização-imunofluorescência (NIF).

Os resultados do VNT são expressos em termos do inverso da diluição sérica inicial em que metade das culturas de células inoculadas (parâmetro dos 50 %) não apresenta replicação vírica (inexistência de marcação específica). É estimado um ponto situado entre os dois níveis de diluição. O sistema de diluição final baseia-se na diluição real do soro durante a reacção de neutralização, ou seja, após a adição de vírus, e antes da adição da suspensão celular.

3. O VNT é o teste mais sensível e fidedigno para a detecção de anticorpos contra o vírus da peste suína clássica. Por conseguinte, recomenda-se quer para o exame serológico de um animal individual quer para o de um efectivo. No entanto, este teste pode detectar anticorpos de neutralização cruzados específicos das infecções de suínos com pestivírus de ruminantes.

Na utilização do VNT para a detecção de anticorpos contra o vírus da BVD e da BD, seguem-se os mesmos princípios já referidos, sendo este exame utilizado para o diagnóstico diferencial de peste suína clássica.

4. As estirpes de pestivírus a utilizar nos testes de neutralização devem estar em conformidade com as recomendações do Laboratório Comunitário de Referência.

▼B

5. Foram desenvolvidas várias técnicas ELISA com anticorpos monoclonais específicos, as quais são de dois tipos: testes ELISA competitivos ou bloqueadores e testes ELISA não competitivos.

Os testes ELISA competitivos ou bloqueadores assentam geralmente em anticorpos monoclonais. Se a amostra sérica contiver anticorpos contra o vírus clássico, é inibida a ligação de um anticorpo monoclonal específico conjugado com peroxidase a um antígeno vírico, o que conduz a uma redução do sinal.

Nos testes ELISA não competitivos, a ligação dos anticorpos séricos ao antígeno é directamente medida através da utilização de anticorpos anti-suíno conjugados com peroxidase.

6. Os laboratórios nacionais devem proceder periodicamente ao controlo de qualidade da sensibilidade e especificidade de cada lote de ELISA através do recurso ao painel de soros de referência fornecido pelo Laboratório Comunitário de Referência. Este painel incluirá:

- soro de suínos na fase precoce da infecção por vírus da peste suína clássica (menos de 21 dias após a infecção),
- soro de suínos convalescentes (mais de 21 dias após a infecção),
- soro de suínos infectados por pestivírus de ruminantes.

Os testes ELISA que devem ser utilizados no diagnóstico serológico da peste suína clássica devem poder reconhecer todos os soros de referência dos suínos convalescentes. Todos os resultados obtidos com os soros de referência devem ser reproduzíveis. Recomenda-se igualmente que detectem todos os soros positivos da fase inicial e que apresentem um mínimo de reacções cruzadas com o soro de suínos infectados com pestivírus de ruminantes.

Os resultados obtidos com os soros de referência de suínos na fase inicial da infecção dão uma indicação da sensibilidade do teste ELISA.

7. A sensibilidade do teste ELISA é considerada inferior à do teste VNT e recomenda-se que aquele apenas seja utilizado como teste de despistagem de efectivos. No entanto, os testes ELISA requerem instalações menos especializadas e podem ser executados mais rapidamente do que o teste VNT, graças à existência de sistemas automatizados.

Os testes ELISA devem assegurar a identificação de todas as infecções com o vírus da peste suína clássica na fase de convalescença, e, tanto quanto possível, não devem sofrer interferências de anticorpos cruzados contra os pestivírus de ruminantes.

C. Interpretação dos resultados serológicos e diagnóstico diferencial com infecções devidas a pestivírus de ruminantes (BVDV e BDV)

1. Sem prejuízo do disposto no n.º 3, alínea a), do artigo 4.º e no n.º 2 do artigo 7.º da Directiva 2001/89/CE, caso seja detectado um título de neutralização do vírus da peste suína clássica maior ou igual a 10 ND₅₀ em amostras de soro colhidas em um ou mais suínos, ou um resultado positivo no teste ELISA em amostras de soro de um grupo de suínos, devem ser imediatamente aplicadas, ou devem continuar a ser aplicadas na exploração em questão, as medidas referidas no n.º 2 do artigo 4.º da Directiva 2001/89/CE.

As amostras já colhidas nessa exploração devem ser sujeitas a um teste VNT, através da titulação comparativa de anticorpos de neutralização contra o vírus da peste suína clássica e contra pestivírus de ruminantes.

2. Se os testes comparativos demonstrarem a existência de anticorpos contra pestivírus de ruminantes e a ausência, ou títulos claramente reduzidos (inferiores a três vezes) de anticorpo contra o vírus da peste suína clássica, há que excluir a suspeita de peste suína clássica, a menos que existam outros motivos que justifiquem a prossecução da aplicação das medidas referidas no n.º 2 do artigo 4.º da Directiva 2001/89/CE na exploração em questão.
3. Se os testes comparativos revelarem em mais do que um suíno um título de neutralização do vírus maior ou igual a 10 ND₅₀ e se este título for maior ou igual aos títulos de outros pestivírus, a autoridade competente deve assegurar a confirmação da peste suína clássica, desde que se disponha de dados epidemiológicos sugestivos da doença na exploração em questão.

▼B

4. Sem prejuízo do disposto no n.º 3 do artigo 4.º da Directiva 2001/89/CE, se não houver dados epidemiológicos sugestivos da doença, ou se os resultados dos testes anteriores forem inconclusivos, a autoridade competente assegurará que, na exploração em questão:
- as medidas referidas no n.º 2 do artigo 4.º da Decisão 2001/89/CE continuem a ser aplicadas,
 - se proceda o mais rapidamente possível a novos exames com vista à confirmação ou exclusão da peste suína clássica, em conformidade com o disposto no capítulo IV.
5. No entanto, se as verificações e testes adicionais referidos no ponto 4 não permitirem a exclusão da peste suína clássica, proceder-se-á a uma nova colheita de amostras de sangue na exploração, pelo menos duas semanas após as verificações anteriores.

Esta nova amostragem deve abranger os suínos a quem foram já colhidas amostras e que foram já testados, para que se possam efectuar testes serológicos comparativos em relação às amostras anteriormente colhidas, por forma a detectar uma eventual seroconversão no que respeita ao vírus da peste suína clássica ou aos pestivírus dos ruminantes.

Se estas verificações e testes adicionais não permitirem a confirmação da peste suína clássica, poderão ser levantadas as medidas referidas no artigo 4.º da Directiva 2001/89/CE.

▼M1

CAPÍTULO VIII

Testes discriminativos em caso de vacinação de emergência

A. Princípios de base

1. Está disponível um teste serológico discriminativo ELISA («teste discriminativo») para distinguir eficazmente os suínos vacinados com vacinas marcadas — que induzem anticorpos apenas contra a glicoproteína E2 do vírus da peste suína clássica — dos suínos infectados com o tipo selvagem do vírus da peste suína clássica. O teste foi concebido para detectar anticorpos da glicoproteína E^{ms} do vírus da peste suína clássica. Baseia-se no princípio de que os animais não infectados que sejam vacinados com vacinas marcadas apenas produzem anticorpos contra a glicoproteína E2 do vírus da peste suína clássica, ao passo que os animais infectados com o vírus selvagem reagem e produzem anticorpos também contra outros antígenos do vírus.

Este teste discriminativo é sensível e específico ⁽¹⁾. Todavia, os suínos infectados com *Pestivirus* diferentes do vírus da peste suína clássica, como os vírus BVD e BD, também acusarão reacção positiva na pesquisa de anticorpos da glicoproteína E^{ms}. Além disso, a sensibilidade do teste não é a ideal, dado que alguns animais vacinados com vacinas marcadas e posteriormente infectados podem não acusar reacção positiva na pesquisa de anticorpos da glicoproteína E^{ms}.

Os dados actualmente disponíveis sugerem que o teste discriminativo não pode ser utilizado de forma fiável para testar amostras serológicas de suínos selvagens.

2. O teste discriminativo é um ensaio de imunoabsorção enzimática de bloqueio em fase líquida. As amostras a testar são incubadas em placas multialveolares pré-revestidas com anticorpos monoclonais anti-E^{ms}, juntamente com uma quantidade definida de antígeno E^{ms}. Os anticorpos específicos da glicoproteína E^{ms} ligam-se à quantidade definida de antígeno E^{ms} na solução, formando um complexo antígeno/anticorpo que não reage com os anticorpos anti-E^{ms} da placa multialveolar. Após lavar os alvéolos para retirar os não-ligados, junta-se um conjugado peroxidase anti-E^{ms}, que se liga ao antígeno E^{ms} complexado com os anticorpos do revestimento superficial da placa. O conjugado não ligado é removido por lavagem e adiciona-se um substrato cromogénico. A intensidade da coloração desenvolvida é inversamente proporcional à quantidade de anticorpos específicos da glicoproteína E^{ms} presente na amostra. Se a amostra não contiver anticorpos (amostra negativa), muita da quantidade definida de antígeno E^{ms} que foi adicionada pode ligar-se aos anticorpos anti-E^{ms} na superfície da placa, observando-se uma forte reacção cromática.

⁽¹⁾ Em conformidade com os resultados de um estudo efectuado pelo laboratório de referência da Comunidade para a peste suína clássica e pelos laboratórios nacionais dos Estados-Membros para a peste suína clássica, a sensibilidade do teste discriminativo é cerca de 94 % e a especificidade cerca de 98 %.

▼M1

Obtém-se o resultado comparando a densidade óptica dos alvéolos que contêm as amostras de ensaio com a densidade óptica dos alvéolos negativos e positivos de controlo.

B. Directrizes para a utilização do teste discriminativo no contexto de uma vacinação de emergência com uma vacina marcada em explorações suínolas ao abrigo do artigo 19.º da Directiva 2001/89/CE

O teste discriminativo foi concebido para verificar a presença ou ausência de circulação do vírus da peste suína clássica numa população de suínos vacinada com uma vacina marcada. Os dados disponíveis sugerem que o teste pode ser utilizado com êxito para esse efeito em efectivos suínos, mas não pode excluir de forma fiável que suínos individuais estejam infectados com o vírus da peste suína clássica. Em especial, a especificidade do teste discriminativo pode não ser suficiente para distinguir, de forma fiável, os suínos vacinados com uma vacina marcada dos suínos infectados, no caso de vacinação de suínos adultos. Se os resultados suscitarem dúvidas, os suínos em questão deverão ser abatidos ou mortos (occisão) sem sofrimento, nos termos da Directiva 93/119/CE, pesquisando-se depois o vírus da peste suína clássica nos seus órgãos. O isolamento do vírus e o teste PCR são os procedimentos mais adequados para esse efeito.

Estes aspectos terão de ser devidamente tidos em conta na definição da estratégia de vacinação de emergência com uma vacina marcada e na interpretação ulterior dos resultados da pesquisa do vírus da peste suína clássica na população assim vacinada.

O procedimento de amostragem e as pesquisas a efectuar na população de suínos vacinada antes do levantamento das restrições a aplicar na área de vacinação em conformidade com o artigo 19.º da Directiva 2001/89/CE dependerão da idade dos suínos vacinados, da categoria de suínos (engorda/abate, reprodução) e do nível desejado de segurança, no que diz respeito à ausência de circulação de vírus na população.

Assim sendo, o plano de vacinação de emergência a apresentar à Comissão por força do n.º 3 do artigo 19.º da Directiva 2001/89/CE deve pormenorizar o procedimento de amostragem e as pesquisas que serão efectuadas.

▼B

CAPÍTULO IX

Requisitos mínimos de segurança no que respeita aos laboratórios da peste suína clássica

1. Os requisitos mínimos estabelecidos no quadro 1 devem ser observados por todos os laboratórios que manuseiem o vírus da peste suína clássica, até mesmo em quantidades reduzidas, tal como requerido pelos testes de isolamento e neutralização do vírus. No entanto, os exames *post mortem* e o processamento de tecidos com vista ao teste FAT e à serologia com antigénio inactivado podem ser efectuados com um grau de contenção menos importante, que envolve medidas básicas de higiene e desinfeção subsequente, com eliminação segura dos tecidos e soros.
2. Os requisitos adicionais constantes do quadro 1 devem ser observados por todos os laboratórios envolvidos em procedimentos que envolvam uma forte multiplicação do vírus.
3. Os requisitos constantes do quadro 2 devem ser observados por todos os laboratórios em que se proceda a experiências veterinárias com o vírus da peste suína clássica.
4. Em todo o caso, todas as existências do vírus da peste suína clássica devem ser mantidas em armazenamento seguro, ultracongeladas ou liofilizadas. Recomenda-se que os congeladores e os frigoríficos apenas sejam utilizados para o vírus da peste suína clássica ou para outros materiais não relacionados com o diagnóstico da peste suína clássica. Todas as ampolas individuais devem ser claramente rotuladas e devem ser mantidos registos pormenorizados das existências de vírus, bem como das datas e resultados das verificações de controlo da qualidade. Devem igualmente ser mantidos registos dos vírus adicionados às existências, com indicação da fonte, e dos vírus enviados para outros laboratórios.

▼B

5. Recomenda-se que a unidade biossegura destinada ao trabalho com o vírus da peste suína clássica seja apoiada por áreas em que o vírus da peste suína clássica não seja manuseado no que respeita à preparação de material de vidro e de meios, à manutenção e preparação de culturas de células não infectadas, ao processamento de soros e aos testes serológicos (excepto no que respeita aos métodos que utilizem o vírus vivo da peste suína clássica) e à prestação de apoio administrativo e de secretariado.

Quadro 1

Princípios de contenção biológica adequados para os laboratórios de diagnóstico

	Requisitos adicionais	Requisitos mínimos
Ambiente geral	Pressão atmosférica normal Filtração HEPA dupla do ar extraído Salas específicas, utilizadas exclusivamente para procedimentos de diagnóstico da peste suína clássica	Pressão atmosférica normal Salas dedicadas apenas a procedimentos bem definidos
Vestuário de laboratório	Muda completa de roupa à entrada Vestuário de laboratório utilizado apenas na unidade do vírus da peste suína clássica Luvas descartáveis para todas as manipulações de materiais infectados Vestuário esterilizado antes de ser removido da unidade, ou lavado dentro da unidade	Vestuário externo específico utilizado apenas na unidade do vírus da peste suína clássica Luvas descartáveis para todas as manipulações de materiais infectados Vestuário esterilizado antes de ser removido da unidade, ou lavado dentro da unidade
Controlo do pessoal	Entrada na unidade apenas autorizada a pessoal formado designado Lavagem e desinfeção das mãos à saída da unidade Pessoal não autorizado a aproximar-se de suínos dentro do prazo de 48 horas após a saída da unidade	Entrada na unidade apenas autorizada a pessoal formado designado Lavagem e desinfeção das mãos à saída da unidade Pessoal não autorizado a aproximar-se de suínos dentro do prazo de 48 horas após a saída da unidade
Equipamento	Câmara de segurança biológica (classe I ou II) utilizada para todas as manipulações de vírus vivo. A câmara deve dispor de filtração HEPA dupla do ar extraído. Na sala laboratorial dedicada, deve encontrar-se disponível todo o equipamento necessário para procedimentos laboratoriais.	

Quadro 2

Requisitos de biossegurança das salas de animais experimentais

	Requisitos
Ambiente geral	Ventilação controlada por pressão negativa. Filtração HEPA dupla do ar extraído. Meios para fumigação/desinfeção completa no final da experiência. Todos os efluentes tratados por forma a inactivar o vírus da peste suína clássica (calor ou agentes químicos).

▼B

	Requisitos
Vestuário de laboratório	Muda completa de roupa à entrada. Luvas descartáveis para todas as manipulações. Vestuário esterilizado antes de ser removido da unidade, ou lavado dentro da unidade.
Controlo do pessoal	Entrada na unidade apenas autorizada a pessoal formado designado. Banho de chuveiro completo à saída da unidade. Pessoal não autorizado a aproximar-se de suínos dentro do prazo de 48 horas após a saída da unidade.
Equipamento	Deve encontrar-se disponível na unidade todo o equipamento necessário para procedimentos com animais. Todos os materiais devem ser esterilizados à saída da unidade, ou, caso se trate de amostras provenientes de animais, devem ser inseridos num contentor estanque com um duplo invólucro cuja superfície seja desinfectada com vista ao transporte para o laboratório da peste suína clássica.
Animais	Todos os animais devem ser abatidos antes de saírem da unidade; os exames <i>post mortem</i> devem ser efectuados na área biossegura e as carcaças devem ser incineradas após o fim dos exames.