

KOMMISSIONENS BESLUT
av den 26 maj 2003
om godkännande av en diagnostikhandbok för afrikansk svinpest

[delgivet med nr K(2003) 1696]

(Text av betydelse för EES)

(2003/422/EG)

EUROPEISKA GEMENSKAPERNA KOMMISSION HAR FATTAT
DETTA BESLUT

med beaktande av Fördraget om upprättandet av Europeiska gemenskapen,

med beaktande av rådets direktiv 2002/60/EG av den 27 juni 2002 om särskilda bestämmelser för bekämpning av afrikansk svinpest och om ändring av direktiv 92/119/EEG beträffande Teschensjuka och afrikansk svinpest⁽¹⁾, särskilt artikel 18.3 i detta, och

av följande skäl:

- (1) Enligt direktiv 2002/60/EG är det nödvändigt att fastställa diagnostiska förfaranden, provtagningsmetoder och kriterier för utvärdering av resultaten från laboratorietester för att bekräfta afrikansk svinpest.
- (2) Enligt det direktivet skall gemenskapens referenslaboratorium för afrikansk svinpest i samråd med kommissionen samordna de metoder som används i medlemsstaterna för att diagnostisera sjukdomen, bland annat genom att organisera återkommande jämförande tester och tillhandahålla standardreagenser inom gemenskapen.
- (3) Afrikansk svinpest-virus anses inte utgöra någon fara för människors hälsa.
- (4) Det har utarbetats laboratorietester för att diagnosen afrikansk svinpest snabbt skall kunna bekräftas.
- (5) De senaste årens erfarenhet av bekämpningen av afrikansk svinpest har bidragit till att man kunnat fastställa vilka provtagningsförfaranden som är mest ändamålsenliga, samt vilka kriterier som bör användas vid tolkningen av resultaten från laboratorietesten för en korrekt diagnostisering av sjukdomen under olika förhållanden.
- (6) Den diagnostikhandbok där dessa förfaranden och kriterier fastställs bör därför godkännas.
- (7) Nationella diagnostiska laboratorier bör bemyndigas att modifiera de godkända laboratorieproverna eller använda andra prov, under förutsättning att de kan visas vara lika känsliga och specifika.
- (8) De åtgärder som föreskrivs i detta beslut är förenliga med yttrandet från Ständiga kommittén för livsmedelskedjan och djurhälsa.

HÄRIGENOM FÖRESKRIVS FÖLJANDE.

Artikel 1

1. Härmed godkänns bilagans diagnostikhandbok för afrikansk svinpest.

2. Medlemsstaterna skall se till att diagnosen afrikansk svinpest ställs enligt de förfaranden, provtagningsmetoder och kriterier för utvärdering av laboratorietester som anges i handboken och på grundval av:

- a) Kliniska tecken på sjukdomen och postmortala organskador.
- b) Påvisande av virus, antigen eller genom i prov från vävnader, organ, blod eller avföring.
- c) Påvisande av specifik antikroppsreaktion i blodprov.

3. Genom undantag från punkt 2 får de nationella diagnoslaboratorier som avses i bilaga IV till direktiv 2002/60/EG modifiera de laboratorietester som anges i den handbok som bifogas detta beslut eller använda sig av andra tester, under förutsättning att det kan visas att testerna har samma känslighet och specificitet.

Om sådana modifierade eller alternativa tester används skall deras känslighet och specificitet utvärderas genom de återkommande jämförande tester som organiseras av gemenskapens referenslaboratorium för afrikansk svinpest.

Artikel 2

Detta beslut skall tillämpas från och med den 1 juli 2003.

Artikel 3

Detta beslut riktar sig till medlemsstaterna.

Utfärdat i Bryssel den 26 maj 2003.

På kommissionens vägnar

David BYRNE

Ledamot av kommissionen

⁽¹⁾ EGT L 192, 20.7.2002, s. 27.

BILAGA

DIAGNOSTIKHANDBOK FÖR AFRIKANSK SVINPEST

Kapitel I

Inledning, syfte och definitioner

1. För att förfarandena för diagnos av afrikansk svinpest skall vara enhetliga skall följande gälla för denna handbok:
 - a) Handboken skall innehålla riktlinjer och minimikrav för diagnostiska förfaranden, provtagningsmetoder och kriterier för utvärdering av resultaten från kliniska undersökningar, postmortem-undersökningar och laboratorietester, vilka skall möjliggöra korrekt diagnostisering av sjukdomen ⁽¹⁾.
 - b) Handboken skall innehålla minimikrav för biosäkerhet och kvalitetsstandarder för de laboratorier som diagnostiserar afrikansk svinpest och för transport av prov.
 - c) Handboken skall ange vilka laboratorietester som skall användas för diagnostisering av afrikansk svinpest och vilka laboratorietekniker som skall användas för den genetiska typningen av isolat av afrikansk svinpest-virus.
2. Handboken riktar sig i första hand till de myndigheter som ansvarar för bekämpningen av afrikansk svinpest. Tyngdpunkten ligger därför på principerna bakom laboratorietesten, tillämpningen av testen, samt utvärdering av resultaten från dessa, snarare än på detaljerad beskrivning av laboratorietekniker.
3. Utöver de definitioner som anges i artikel 2 i direktiv 2002/60/EG skall i denna handbok avses med
 - a) *misstänkt anläggning*: varje anläggning för svinhållning där ett eller flera svin misstänks vara smittade med afrikansk svinpest-viruset eller en kontakthanläggning i enlighet med artikel 2 k i direktiv 2002/60/EG,
 - b) *epidemiologisk underavdelning eller underavdelning*: en angränsande byggnad, plats eller mark där en anläggnings djur hålls på ett sådant sätt att de ofta har direkt eller indirekt kontakt med varandra, men samtidigt är avskilda från övriga djur vid anläggningen,
 - c) *kontaktsvin*: svin som hållits vid en anläggning i direkt kontakt med ett eller flera svin som under de senaste 21 dagarna misstänks ha smittats med afrikansk svinpest-virus.

Kapitel II

Beskrivning av afrikansk svinpest med tyngdpunkt på differentialdiagnos

A. INLEDNING

1. Afrikansk svinpest orsakas av ett höljebärande DNA-virus av släktet *Asfivirus* av *Asfarviridae*-familjen. Virusstammarnas virulens varierar trots att det inte går att identifiera olika serotyper.
2. Det afrikanska svinpestviruset är mycket stabilt i utsöndringar från smittade svin, i slaktkroppar av svin, i färskt griskött och i vissa grisköttsprodukter. Lämpliga desinfektionsmedel måste användas för att se till att det inaktiveras i omgivningen.
3. Vanligtvis sprids infektionen i Europa oronasalt genom direkt eller indirekt kontakt med infekterade svin eller genom virus-förorenat foder. I områden där det finns vektorer ⁽²⁾ spelar emellertid smittspridningen via dessa en stor roll för virusets överlevnad och spridning. Afrikansk svinpest kan också spridas genom indirekt kontakt via smittat materiel och bitande insekter som överför viruset mekaniskt. Sjukdomen kan även överföras via sperma från smittade galtar.
4. Inkubationstiden för det enskilda djuret är mellan 5 och 15 dagar, men i praktiken kan det dröja upp till flera veckor, ibland ännu längre, efter det att viruset infördes innan kliniska symtom kan konstateras på en anläggning, särskilt om det är fråga om mindre virulenta virusstammar.

⁽¹⁾ Vid beslut om hur många prov som skall tas för undersökning på laboratorium skall även de aktuella testernas känslighet beaktas. Antalet djur från vilka proven tas skall vara högre än i denna handbok om det test som skall användas inte är mycket känsligt.

⁽²⁾ Enligt definitionen i artikel 2 r i direktiv 2002/60/EG.

5. Det finns akuta, subakuta och kroniska former av afrikansk svinpest, och skillnaden beror huvudsakligen på hur virulent viruset är.
6. Svin som blir kliniskt återställda efter infektionen har fortfarande viremi i mellan 40 till 60 dagar, och de blir smittbärare. Afrikansk svinpest-virus har isolerats från svin upp till sex månader efter smittillfället.

B. AKUT FORM

1. Det första kliniska tecknet på sjukdomen brukar vara hög feber (över 40 °C), åtföljt av slöhet, aptitlöshet, snabb och ansträngd andning samt slemutsöndringar ur tryne och ögon. Svinen rör sig okoordinerat och tränger sig samman i grupp. Suggor kan kasta vid alla stadier av dräktighet. En del svin kan drabbas av kräkningar och förstoppning, medan andra kan få blodiga diarréer. Svullna områden eller blåmärken blir synliga subkutant, i synnerhet på ben och öron. Svinen kan bli medvetslösa innan döden inträder, vilket sker mellan en och sju dagar efter det att de kliniska symtomen visar sig. Morbiditeten och dödligheten inom en anläggning kan uppgå till 100 %.

Vid obduktion ses omfattande inre blödningar i hela kroppen, blodig vätska i bröst- och bukhåla, förstorad, mörk mjälte, blödande lymfkörtlar som påminner om blodkoagel, i synnerhet de gastrohepatiska och renala lymfknutorna, inre blödningar i form av petekier i njurarna, njurpapillerna och njurbäckenet, hinnorna i buken, mag- och tarmslemhinnor, hjärtat, hjärtsäcken, endokardiet liksom hydrothorax och petekiala blödningar i lungsäcken.

2. Sjukdomsbilden för afrikansk svinpest i dess akuta form liknar både kliniskt och patologisk sjukdomsbilden för klassisk svinpest. Om det finns fläckar från inre blödningar på huden och öronen är de lätta att upptäcka och tyder på att det kan vara fråga om akut afrikansk eller klassisk svinpest. Det är få andra sjukdomar som ger denna typ av skador.

Akut afrikansk svinpest skall även beaktas i de fall då man misstänker rödsjuka, porcine reproduktions- och respirationssyndrom (PRRS), kumarinförgiftning, purpura haemorrhagica, post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS), svindermatit och nefrotiskt syndrom, salmonella- och pasteurellainfektioner eller andra sjukdomstillstånd i tarmar och luftvägar med feber som inte svarar på behandling med antibiotika.

C. SUBAKUTA FORMER

Subakuta former av sjukdomen är vanliga i områden där den är endemisk. Den subakuta infektionen karakteriseras av febertoppar, slöhet och pneumoni. Döden kan inträffa till följd av hjärtinsufficiens. Vid den subakuta formen liknar de synliga organskadorna de som förekommer vid akut infektion, men är lindrigare. Karakteristiska organskador är stora blödningar i lymfknutor, njurar, mjälte och lungor, lungödem och, i en del fall, interstitiell pneumoni.

D. KRONISKA FORMER

Kroniska former av sjukdomen är sällsynta. I kroniska former kan man se bakteriella sekundärinfektioner. Då de kliniska tecknen på kronisk afrikansk svinpest är ganska ospecifika måste det i differentialdiagnosen beaktas att det kan röra sig om andra sjukdomar. Alla djur får inte nödvändigtvis förhöjd kroppstemperatur, men i en smittad anläggning kan feber förekomma hos åtminstone ett par djur.

Bland kliniska symtom på kronisk afrikansk svinpest ses andningsproblem, kastning, artrit, kroniska hudsår eller nekros som inte ser ut som de typiska kliniska symtomen vid afrikansk svinpest. Organskadorna kan vara mycket små eller saknas helt. De histopatologiska fynden karakteriseras av förstorade lymfknutor och förstorad mjälte, lungsäcksinflammation, fibrinös perikardit och infiltrerad pneumoni. Det finns också beskrivningar av fokal kaseös nekros och mineralisering av lungan.

Kapitel III

Riktlinjer för vilka kriterier som skall användas för att bestämma att en anläggning klassificeras som misstänkt för afrikansk svinpest

1. Beslut om att en anläggning är att betrakta som en misstänkt anläggning skall fattas på grundval av följande undersökningsresultat, kriterier och grunder:
 - a) Kliniska och patologiska undersökningsresultat hos svin. De kliniska och patologiska undersökningsresultat som huvudsakligen skall beaktas är följande:
 - Feber med sjukdoms- och dödsfall bland svin i alla åldrar.
 - Feber med inre blödningar, petekier och echymoser, i synnerhet i lymfkörtlar, njurar, mjälte (som blir förstorad och mörk, i synnerhet vid de akuta formerna), urinblåsa och sår på gallblåsan.

- b) Epidemiologiska undersökningsresultat. Följande epidemiologiska undersökningsresultat skall beaktas:
- Då svin har varit i direkt eller indirekt kontakt med en anläggning som har konstaterats vara infekterad med afrikansk svinpest.
 - Då en anläggning levererat svin som sedan visade sig vara smittade med afrikansk svinpest.
 - Då suggor har inseminerats artificiellt med sperma av misstänkt ursprung.
 - Då det har förekommit indirekt eller direkt kontakt med viltlevande svin från en population där afrikansk svinpest förekommer.
 - Då svin hålls utomhus i ett område där viltlevande svin är infekterade med afrikansk svinpest.
 - Då svin har utfordrats med matavfall och det finns misstanke om att matavfallet inte har behandlats på ett sådant sätt att afrikansk svinpest-viruset oskadliggjorts.
 - Då smitta kan ha överförts, exempelvis när personer har kommit in i anläggningen eller transportmedlet från anläggningar som misstänks eller konstaterats vara smittade med afrikansk svinpestvirus.
 - Då vektordjur förekommit inom anläggningens område.
2. I alla händelser skall en anläggning betraktas som misstänkt om man misstänker förekomsten av afrikansk svinpest till följd av kliniska eller patologiska fynd men man genom kliniska och epidemiologiska prov och laboratorieprov inte har kunnat bekräfta den diagnosen eller identifierat någon annan smittkälla eller något agens vid anläggningen.

Kapitel IV

Förfaranden för provtagning och kontroll

A. RIKTLINJER OCH FÖRFARANDEN FÖR KLINISK UNDERSÖKNING OCH PROVTAGNING PÅ SVIN VID MISSTÄNKTA ANLÄGGNINGAR

1. Medlemsstaterna skall se till att det vid misstänkta anläggningar utförs lämpliga kliniska undersökningar, provtagningar och laborietester så att förekomsten av afrikansk svinpest kan bekräftas eller uteslutas i enlighet med de riktlinjer och förfaranden som fastställs i punkterna 2–6 nedan.

Utan hinder av de åtgärder som avses i artikel 4.2 i direktiv 2002/60/EG vid den aktuella anläggningen, skall dessa riktlinjer och förfaranden även vara tillämpliga i samtliga sjukdomsfall då afrikansk svinpest ingår i differentialdiagnosen. Detta skall även avse fall då de kliniska tecknen hos svinen och det epidemiologiska mönstret är sådana att sannolikheten är mycket liten att det rör sig om afrikansk svinpest.

I alla andra fall då ett eller flera svin misstänks vara smittade med afrikansk svinpest-virus skall de åtgärder som avses i artikel 4.2 i direktiv 2002/60/EG vidtas vid den aktuella misstänkta anläggningen.

Om det finns misstanke om afrikansk svinpest hos svin vid ett slakteri eller ombord på ett transportmedel skall riktlinjerna och förfarandena i punkterna 2–6 tillämpas i tillämpliga delar.

2. När en officiell veterinär besöker en misstänkt anläggning för att bekräfta eller utesluta afrikansk svinpest skall följande utföras:

- Kontroll av anläggningens produktions- och hälsostatistik, om dessa uppgifter finns tillgängliga. Inspektion av samtliga underavdelningar på anläggningen för att välja ut vilka svin som skall undersökas kliniskt.

Vid den kliniska undersökningen skall kroppstemperatur mätas och undersökningen skall främst avse följande svin eller grupper av svin:

- Sjuka eller avmagrade svin.
- Svin som nyligen kommit från bekräftat smittade anläggningar eller från andra källor som misstänks vara smittade.
- Svin som hålls vid underavdelningar som besökts av personer utifrån som nyligen varit i nära kontakt med svin som misstänks vara eller är smittade med afrikansk svinpest, eller svin för vilka det konstaterats att de haft en kontakt, innebärande en särskild risk, med andra potentiella smittkällor.
- Svin som redan testats serologiskt för afrikansk svinpest, om resultaten av de testen inte var sådana att afrikansk svinpest kunde uteslutas, samt kontaktsvin.
- Svin som nyligen tillfrisknat från sjukdom.

Om de svin eller grupper av svin som avses ovan inte påträffas vid en inspektion av den misstänkta anläggningen skall de behöriga myndigheterna, med beaktande av den epidemiologiska situationen och utan att det påverkar genomförandet av andra åtgärder vid anläggningen i enlighet med direktiv 2002/60/EG utföra följande:

- Ytterligare undersökningar vid den aktuella anläggningen i enlighet med punkt 3 nedan, eller
- säkerställa att det tas blodprov för laboratorieundersökning från svinen på den aktuella anläggningen. I så fall skall de provtagningsförfaranden som anges i punkt 5 och avsnitt F.2 tjäna som riktlinjer, eller
- anta eller bibehålla de åtgärder som fastställs i artikel 4.2 i direktiv 2002/60/EG i avvaktan på kompletterande undersökningar vid den aktuella anläggningen, eller
- utesluta misstanken om afrikansk svinpest.

3. Om hänvisning görs till denna punkt skall den kliniska undersökningen av svinen vid den aktuella anläggningen göras på slumpmässigt utvalda svin från de underavdelningar för vilka det konstaterats eller misstänks att det föreligger en risk för att afrikansk svinpest virus har införts.

Kroppstemperaturen skall minst mätas på så många svin att det, om feber förekommer, med 95 % konfidensgrad kan påvisas att en prevalens på 10 % har feber vid de aktuella underavdelningarna.

4. Om döda eller döende svin påträffas vid en anläggning skall postmortala undersökningar genomföras, helst på minst fem av svinen, och särskilt på svin som
- visade mycket tydliga tecken på sjukdom innan de dog,
 - hade hög feber,
 - nyligen dött.

Om undersökningarna inte visar på organskador som tyder på afrikansk svinpest men det med tanke på den epidemiologiska situationen krävs ytterligare utredning skall följande undersökningar utföras:

- En klinisk undersökning i enlighet med punkt 3 skall genomföras och blodprover tas i enlighet med punkt 5 vid den avdelning där de döda eller döende svinen hölls.
- Postmortala undersökningar kan utföras på 3–4 kontaktsvin, i synnerhet om de visar kliniska symtom.

Oavsett om det förekommer organskador som tyder på afrikansk svinpest skall prover tas för virologiska test i enlighet med kapitel V.B.1 från organ och vävnader från de svin som undersökts postmortalt. Proven skall helst tas från svin som dött nyligen.

I samband med postmortala undersökningar skall de behöriga myndigheterna säkerställa följande:

- Nödvändiga säkerhets- och hygienåtgärder för att förhindra smittspridning skall vidtas.
- Döende svin skall avlivas på ett humant sätt i enlighet med rådets direktiv 93/119/EEG av den 22 december 1993 om skydd av djur vid tidpunkten för slakt eller avlivning ⁽¹⁾, ändrad genom förordning (EG) nr 806/2003 ⁽²⁾.

5. Om ytterligare kliniska tecken och organskador som tyder på afrikansk svinpest upptäcks vid en anläggning, men de behöriga myndigheterna anser att dessa inte är tillräckliga för att bekräfta ett utbrott av afrikansk svinpest och att det krävs laborietest, skall blodprov för laborietest tas från misstänkta svin och från andra svin vid varje underavdelning där de misstänkta svinen hålls enligt följande förfaranden:

- a) Det skall minst tas så många prov för serologisk testning att det med 95 % konfidensgrad kan påvisas en seroprevalens på 10 % vid den aktuella underavdelningen.
- b) De behöriga myndigheterna skall besluta om hur många prov som skall tas för virologisk testning och skall i samband därmed beakta hur många olika test som kan utföras, laborietestens känslighetsgrad och den epidemiologiska situationen.

⁽¹⁾ EGT L 340, 31.12.1993, s. 21.

⁽²⁾ EGT L 122, 16.5.2003, s. 1.

6. Om det vid undersökningar vid en misstänkt anläggning inte konstateras några kliniska tecken eller organskador som tyder på afrikansk svinpest, men de behöriga myndigheterna anser att det krävs ytterligare laboratorietest för att det skall vara möjligt att utesluta afrikansk svinpest, skall de provtagningsförfaranden som anges i punkt 5 ovan tjäna som riktlinjer.

B. PROVTAGNINGSFÖRFARANDEN VID EN ANLÄGGNING I SAMBAND MED ATT SVIN AVLIVAS EFTER DET ATT SJUKDOMEN BEKRÄFTATS

1. Då svin avlivs till följd av att ett utbrott bekräftas i enlighet med artikel 5.1 a i direktiv 2002/60/EG skall blodprov för serologisk undersökning tas slumpmässigt från de djur som avlivs, så att det blir möjligt att utröna hur afrikansk svinpest-viruset infördes till den smittade anläggningen och hur länge viruset funnits på anläggningen.
2. Det skall minst tas prov från så många svin att det med 95 % konfidensgrad kan påvisas en seroprevalens på 10 % vid den anläggningens samtliga underavdelningar ⁽¹⁾.

Prov skall också tas för virologisk undersökning i enlighet med den behöriga myndighetens föreskrifter, och myndigheten skall beakta vilka olika tester som kan utföras, laboratorietesternas känslighet och den epidemiologiska situationen.

I områden där man tidigare konstaterat förekomsten av vektorer som är bärare av afrikansk svinpest-virus skall det också samlas in mjuka fåstingar för virologisk provtagning enligt den behöriga myndighetens föreskrifter och enligt bilaga III till direktiv 2002/60/EG.

3. Vid ett sekundärt utbrott får den behöriga myndigheten emellertid besluta att bevilja undantag från punkt 1 och 2 och anta andra provtagningsförfaranden, med beaktande av den epidemiologiska information som redan finns tillgänglig om smittkällan och smittvägarna och om den potentiella spridningen av viruset från anläggningen.

C. PROVTAGNINGSFÖRFARANDEN I SAMBAND MED ATT SVIN PÅ EN MISSTÄNKT ANLÄGGNING AVLIVAS I FÖREBYGGANDE SYFTE

1. När svin på en misstänkt anläggning avlivs i förebyggande syfte i enlighet med artikel 4.3 a och artikel 7.2 i direktiv 2002/60/EG skall blodprov tas för serologisk undersökning och för virologisk testning i enlighet med förfarandet i punkt 2, så att afrikansk svinpest kan bekräftas eller uteslutas och ytterligare epidemiologisk information samlas in.
2. Provtagningen skall huvudsakligen avse följande djur:

- Svin som visar symtom eller har postmortal organskador som tyder på afrikansk svinpest, samt kontaktsvin.
- Andra svin som kan ha haft kritisk kontakt med smittade eller misstänkt smittade svin eller svin som misstänks vara smittade med afrikansk svinpest-viruset. Prov skall tas från dessa svin i enlighet med den behöriga myndighetens instruktioner, varvid hänsyn skall tas till den epidemiologiska situationen.

Vidare skall slumpmässiga prov tas från svin från varje underavdelning vid anläggningen ⁽²⁾. Det skall minst tas så många prov för serologisk testning att det med 95 % konfidensgrad kan påvisas en seroprevalens på 10 % vid den aktuella underavdelningen.

De behöriga myndigheterna skall besluta om vilka prov som skall tas för virologisk testning och skall i samband därmed beakta vilka olika tester som kan utföras, laboratorietesternas känslighet och den epidemiologiska situationen.

⁽¹⁾ Om det undantag som föreskrivs i artikel 6.1 i direktiv 2002/60/EG tillämpas skall provtagningen omfatta de underavdelningar vid anläggningen där svin har avlivats, utan att det påverkar de ytterligare undersökningar och provtagningar som skall utföras på återstående svin i anläggningen i enlighet med de behöriga myndigheternas föreskrifter.

⁽²⁾ Om de behöriga myndigheterna har begränsat avlivningarna till den del av anläggningen där de svin hölls som misstänks eller konstaterats vara smittade med afrikansk svinpest-virus enligt artikel 4.3 a i direktiv 2002/60/EG skall provtagningen omfatta de underavdelningar vid anläggningen där dessa åtgärder vidtagits utan att det påverkar de ytterligare undersökningar och provtagningar som skall utföras på återstående svin i anläggningen i enlighet med de behöriga myndigheternas föreskrifter.

D. KONTROLL- OCH PROVTAGNINGSFÖRFARANDEN SOM SKALL TILLÄMPAS INNAN TILLSTÅND BEVILJAS FÖR FÖRFLYTTNING AV SVIN FRÅN ANLÄGGNINGAR I SKYDD- ELLER ÖVERVAKNINGSZONER OCH OM SÅDANA SVIN SLAKTAS ELLER AVLIVAS (ARTIKEL 10 OCH 11 I DIREKTIV 2002/60/EG)

1. För den kliniska undersökning som officiell veterinär skall utföra innan tillstånd beviljas för förflyttning av svin från anläggningar i skydds- och övervakningszonerna i enlighet med artikel 10.3 i direktiv 2002/60/EG skall, utan att det påverkar tillämpningen av artikel 11.1 f andra stycket i direktivet, följande gälla:

— Undersökningen skall utföras inom 24 timmar före förflyttningen.

— Undersökningen skall utföras i enlighet med kapitel A.2.

2. Då svin flyttas till en annan anläggning skall det, utöver de undersökningar som skall genomföras enligt punkt 1, göras en klinisk undersökning av svinen på varje underavdelning där de svin som skall flyttas hålls, inbegripet temperaturmätning på en del av svinen.

Kroppstemperaturen skall minst mätas på så många svin att det, om feber förekommer, med 95 % konfidensgrad kan påvisas feberprevalens på 10 % vid de aktuella underavdelningarna.

3. I de fall då svin flyttas till ett slakteri, en bearbetningsanläggning eller till en annan plats för avlivning eller slakt skall det, utöver de undersökningar som skall genomföras enligt punkt 1, göras en klinisk undersökning av svinen på varje underavdelning där de svin som skall flyttas hålls. Om det rör sig om svin som äldre än tre eller fyra månader skall även kroppstemperaturen mätas på ett antal svin.

Kroppstemperaturen skall minst mätas på så många svin att det, om feber förekommer, med 95 % konfidensgrad kan påvisas feberprevalens på 20 % vid de aktuella underavdelningarna.

4. När de svin som avses i punkt 3 slaktas eller avlivs skall blodprov tas för serologisk testning eller blodprov eller prov från organ, exempelvis tonsiller, mjälte eller lymfkörtlar, för virologisk testning från svin vid var och en av de underavdelningar från vilka svin har flyttats.

Det skall minst tas så många prov att det med 95 % konfidensgrad kan påvisas en seroprevalens eller virusprevalens på 10 % vid den aktuella underavdelningen.

De behöriga myndigheterna skall besluta om vilka prov som skall tas och skall i samband därmed beakta vilka olika tester som kan utföras, laboratorietesternas känslighet och den epidemiologiska situationen.

5. Om det i samband med avlivning eller slakt konstateras kliniska tecken eller postmortala organskador som tyder på afrikansk svinpest skall de provtagningsförfaranden som fastställs i avsnitt C tillämpas genom undantag från punkt 4.

6. Det undantag som föreskrivs i artikel 10.5 och artikel 11.4 i direktiv 2002/60/EG kan beviljas om de behöriga myndigheterna ser till att en ordning för intensiv provtagning och testning också tillämpas på de grupper av svin som skall kontrolleras och undersökas enligt 2, 3 och 4 ovan. Inom ramen för denna ordning skall det minst tas så många prov för serologisk testning att det med 95 % konfidensgrad kan påvisas en seroprevalens på 5 % inom den aktuella gruppen svin.

E. KONTROLL OCH PROVTAGNINGSMETODER I SAMBAND MED ÅTERINSÄTTNING AV SVIN PÅ EN ANLÄGGNING

1. Vid återinsättning av svin på en anläggning enligt artikel 13.3 i direktiv 2002/60/EG skall följande provtagningsmetoder användas:

— Blodprov skall tas tidigast 45 dagar efter det att svinen återinsatts.

— Vid återinsättning av kontrollsvin skall blodprov för serologisk testning tas slumpmässigt från ett så stort antal svin att det med 95 % konfidensgrad kan påvisas 10 % seroprevalens i varje underavdelning på anläggningen.

— Vid fullständig återinsättning skall blodprov för serologisk testning tas slumpmässigt från ett så stort antal svin att det med 95 % konfidensgrad kan påvisas 20 % seroprevalens i varje underavdelning på anläggningen.

2. Vid återinsättning av svin på en anläggning enligt artikel 13.4 i direktiv 2002/60/EG skall följande provtagningsmetoder användas:

- Blodprov skall tas tidigast 45 dagar efter det att svinen återinsatts.
- Vid återinsättning av kontrollsvin skall blodprov för serologisk testning tas slumpmässigt från ett så stort antal svin att det med 95 % konfidensgrad kan påvisas 5 % seroprevalens i varje underavdelning på anläggningen.
- Vid fullständig återinsättning skall blodprov för serologisk testning tas slumpmässigt från ett så stort antal svin att det med 95 % konfidensgrad kan påvisas 10 % seroprevalens i varje underavdelning på anläggningen.

Därefter skall det förfarande som fastställs i tredje strecksatsen ovan upprepas tidigast 60 dagar efter fullständig återinsättning.

3. Om svin efter återinsättning av okänd anledning insjuknar eller dör skall den behöriga myndigheten se till att svinen i fråga omedelbart undersöks med avseende på afrikansk svinpest.

Dessa bestämmelser skall gälla tills de transportrestriktioner för svin som avses i artikel 13.3 a och b och artikel 13.4 i direktiv 2002/60/EG har upphävts för anläggningen i fråga.

F. PROVTAGNINGSMETODER PÅ ANLÄGGNINGAR I SKYDDSZONEN INNAN RESTRIKTIONER HÄVS

1. För att de åtgärder som avses i artikel 10 i direktiv 2002/60/EG skall få upphävas i en skyddszon skall det på samtliga anläggningar i zonen

- göras en klinisk undersökning i enlighet med avsnitt A.2 och A.3,
- tas blodprov för serologisk testning enligt punkt 2 nedan.

2. Det skall minst tas så många blodprov att det med 95 % konfidensgrad kan påvisas 10 % seroprevalens hos svin i varje underavdelning på anläggningen.

Det undantag som föreskrivs i artikel 10.5 och artikel 11.4 i direktiv 2002/60/EG får emellertid bara beviljas under förutsättning att den behöriga myndigheten ser till att det antal blodprov som tas i varje underavdelning vid anläggningen är tillräckligt för att med 95 % konfidensgrad påvisa en seroprevalens på 5 %.

G. PROVTAGNINGSMETODER PÅ ANLÄGGNINGAR I ÖVERVAKNINGSZONEN INNAN RESTRIKTIONER HÄVS

1. För att de restriktioner som avses i artikel 11 i direktiv 2002/60/EG skall få hävas i en övervakningszon skall det på samtliga anläggningar i zonen göras en klinisk undersökning i enlighet med avsnitt A.2.

Dessutom skall blodprov för serologisk undersökning tas från svin

- på alla andra anläggningar där den behöriga myndigheten anser att prover bör tas,
- i alla seminstationer.

2. När det tas blodprov för serologisk undersökning på anläggningar i övervakningszonen skall det antal blodprov som tas på dessa anläggningar överensstämma med punkt F.2 första meningen.

Det undantag som föreskrivs i artikel 10.5 och artikel 11.4 i direktiv 2002/60/EG får emellertid bara beviljas under förutsättning att den behöriga myndigheten ser till att det i varje anläggning tas blodprov för serologisk undersökning. Det skall minst tas så många blodprov att det med 95 % konfidensgrad kan påvisas 5 % seroprevalens i varje underavdelning på anläggningen.

H. SEROLOGISK ÖVERVAKNING OCH PROVTAGNINGSMETODER I OMRÅDEN DÄR AFRIKANSK SVINPEST MISSTÄNKTS FÖREKOMMA ELLER HAR BEKRÄFTATS HOS VILTLEVANDE SVIN

1. När det gäller serologisk övervakning av viltlevande svin i områden där afrikansk svinpest misstänks förekomma eller har bekräftats skall storleken på och det geografiska området för den målpopulation som skall undersökas först bestämmas, så att det kan fastställas hur många prover som skall tas. Provstorleken skall fastställas med hänsyn till det uppskattade antalet levande djur och inte med hänsyn till antalet skjutna djur.
2. Om det inte finns uppgifter om populationens täthet och storlek skall det geografiska område inom vilket proverna skall tas avgränsas med hänsyn till den ständiga förekomsten av viltlevande svin och förekomsten av naturliga eller konstgjorda hinder som effektivt hindrar djuren från omfattande och kontinuerliga förflyttningar. Om sådana förhållanden inte råder, eller när det gäller stora områden, bör det avgränsas provtagningsområden på omkring 200 km² där det normalt finns en population på cirka 400–1 000 viltlevande svin.
3. Utan att det påverkar tillämpningen av bestämmelserna i artikel 15.2 c i direktiv 2002/60/EG skall det tas prov från minst så många svin inom det avgränsade provtagningsområdet att det med 95 % konfidensgrad kan påvisas 5 % seroprevalens. Detta innebär att det skall tas prov från minst 56 djur i varje avgränsat område.
4. Insamling av prov för virologisk undersökning från viltlevande svin som skjutits eller hittats döda skall ske enligt kapitel V.B.1.

När virologisk övervakning av skjutna viltlevande svin anses nödvändig skall den först och främst utföras på djur som är yngre än ett år gamla.

5. Alla prover som skickas till laboratoriet skall åtföljas av det formulär som avses i artikel 16.3 h i direktiv 2002/60/EG.

Kapitel V

Allmänna förfaranden och kriterier för insamling och transport av prover

A. ALLMÄNNA FÖRFARANDEN OCH KRITERIER

1. Före provtagning på en misstänkt anläggning skall det ritas en karta över anläggningen och de epidemiologiska underavdelningarna på anläggningen skall identifieras.
2. Varje gång man anser att en ny provtagning av svin kan komma att krävas skall alla svin som provtas märkas på ett enhetligt sätt så att provtagningen lätt kan upprepas.
3. Alla prover skall skickas till laboratoriet tillsammans med relevanta dokument i enlighet med de krav som den behöriga myndigheten har fastställt. Dokumenten skall redogöra för bakgrunden för de svin som provtagits samt kliniska tecken eller postmortala organskador som eventuellt observerats.

När det gäller svin som hålls på anläggningar skall det finnas tydliga uppgifter om de provtagna svinens ålder, klass och ursprungsanläggning. Det rekommenderas att man för varje svin som provtas på anläggningen registrerar var det befinner sig, liksom vilket identifikationsmärke det har.

B. INSAMLING AV PROV FÖR VIROLOGISK UNDERSÖKNING

1. För påvisande av afrikansk svinpest-virus, antigen eller genom från döda eller avlivade svin är det lämpligast att ta prover på vävnad från tonsiller, lymfkörtlar (bukhåla, njurar, underkäke och retrofaryngalt), mjälte, njure och lungor⁽¹⁾. När det gäller slaktroppar som brutits ned genom autolys är ett helt rörben eller bröstbenet det lämpligaste provmaterialet.
2. Blodprov med tillsats av antikoagulans eller utan tillsats skall insamlas från svin som visar tecken på feber eller andra sjukdomssymtom i enlighet med den behöriga myndighetens instruktioner.

⁽¹⁾ Det rekommenderas också att man tar prover från ileum, eftersom de kan vara användbara för att diagnostisera klassisk svinpest.

C. TRANSPORT AV PROV

1. Det rekommenderas att alla prover
 - märks tydligt,
 - transporteras och förvaras i behållare som inte läcker,
 - förvaras i kylskåpstemperatur, om det emellertid förväntas ta mer än 48 timmar innan proverna kommer fram till laboratoriet bör laboratoriet kontaktas för att lämna instruktioner om vilken temperatur som är lämpligast under transporten.
 - levereras till laboratoriet så snabbt som möjligt,
 - förvaras i en förpackning med isklampar eller torris så att de håller sig svala,
 - av vävnader eller organ placeras i separata, tätslutande och korrekt märkta förpackningar. Förpackningarna skall sedan placeras i större ytterförpackningar och packas med ett tillräckligt absorberande material som skyddar innehållet från skada och suger upp eventuell läckande vätska,
 - när så är möjligt direkt transporteras till laboratoriet av en behörig person, så att det garanteras en snabb och tillförlitlig transport.
2. Utsidan av förpackningen skall vara märkt med det mottagande laboratoriets adress och följande meddelande väl synligt:

Djurpatologiskt material. Lättfördärligt. Ömtåligt. Öppnas endast vid ett laboratorium för afrikansk svinpest.
3. Den ansvariga personen vid det mottagande laboratoriet skall i god tid informeras om att proverna anländer.
4. Vid lufttransport av prov till gemenskapens referenslaboratorium för afrikansk svinpest ⁽¹⁾ skall förpackningen vara märkt enligt IATA:s bestämmelser.

Kapitel VI

Principer för och användning av virologiska undersökningar samt utvärdering av resultatet från dessa

A. PÅVISANDE AV VIRUSANTIGEN

1. Direct Immuno Fluorescent Test (DIFT)

Testprincipen är att mikroskopiskt påvisa virusantigen i avstryk eller tunna kryosnitt av organmaterial från svin som misstänks vara smittade med afrikansk svinpest-virus. Intracellulär antigen påvisas med hjälp av FIT ⁽²⁾-konjugerade särskilda antikroppar. Fluorescerande inklusionskroppar eller granuler syns i smittade cellers cytoplasma.

Lämpliga organ är njure, mjälte och olika lymfkörtlar. När det gäller viltlevande svin får även ett utstryksprov av benmärgsceller användas, om några organ inte går att skaffa fram eller har brutits ned genom autolys.

Testet kan utföras på två timmar. Eftersom organprov endast kan fås från döda djur är de endast av begränsad användning vid screening.

Detta test är mycket känsligt för akut afrikansk svinpest. När det gäller subakuta eller kroniska former ger DIFT bara en känslighet på ungefär 40 %, förmodligen beroende på närvaron av antigen-antikroppskomplex som blockerar reaktionen med den svinpestkonjugerade antikroppen. Testresultatets tillförlitlighet kan vara begränsad på grund av tveksam färgning, särskilt då det inte finns så stor erfarenhet av att utföra testet eller om de testade organen har brutits ned genom autolys.

2. ELISA för att påvisa antigen

Virusantigen kan också påvisas med hjälp av ELISA-teknik, men denna rekommenderas bara för de akuta formerna av sjukdomen eftersom känsligheten är låg när det finns antigen-antikroppskomplex. Känsligheten hos antigen ELISA bör vara tillräckligt hög för att ge ett positivt resultat från djur som visar kliniska tecken på akut afrikansk svinpest. I alla händelser rekommenderas detta test endast som besättningsprov och i kombination med andra virologiska tester.

⁽¹⁾ Gemenskapens referenslaboratorium har öppen licens att motta diagnostiskt material och afrikansk svinpest-virus från samtliga medlemsstater. Om provet ursprungligen kommer från ett område utanför Unionen kan en kopia av importtillståndet komma att begäras före transport, och det skall då bifogas i ett kuvert på förpackningens utsida.

⁽²⁾ Fluorescein-isotiocyanat.

B. VIRUSISOLERING OCH -IDENTIFIERING MED HJÄLP AV HEMADSORPTIONSTEST

1. Virusisolering är baserad på inkubering av provmaterial på mottagliga primära cellkulturer från svin, monocytter och makrofager. De lämpligaste proverna för isolering av afrikansk svinpest-virus är helblod och leukocyter som erhållits från prov av ej koagulerat blod eller de organ som anges i avsnitt A.1. Om afrikansk svinpest-virus förekommer i provet reproducerar det sig i cellerna och har en karakteristisk cytopatisk effekt på de infekterade cellerna.
2. Hemadsorptionsmetoden rekommenderas för att identifiera afrikansk svinpest-viruset därför att det är känsligt och exakt. Hemadsorptionstestet grundar sig på afrikansk svinpest-virusets förmåga att reproducera sig i svinmakrofager och leda till hemadsorption i närvaro av erythrocyter från svin. En karakteristisk "rosett" av erythrocyter utvecklas kring de infekterade makrofagerna. Ett litet antal stammar av afrikansk svinpest-virus leder emellertid inte till hemadsorption, men de har cytopatisk verkan. Dessa stammar kan identifieras med hjälp av DIF-test på sediment av cellkulturerna eller med PCR.
3. Virusisolering lämpar sig bäst för undersökning av prover från ett litet antal djur och inte för massövervakning. Virusisolering är arbetskravintensiv och kräver en till tre dagar innan resultaten är klara. Ytterligare två passager i cellkultur kan krävas för att upptäcka en liten mängd virus i provet. Detta kan leda till en undersökningstid på upp till tio dagar innan slutresultatet erhålls. Prover som har brutits ned genom autolys kan vara cytotoxiska för cellkulturen och därmed mindre användbara.
4. Virusisolering och identifiering genom hemadsorptionstestet rekommenderas som referenstest för att bekräfta positiva resultat av ELISA, PCR eller DIFT. De rekommenderas också när afrikansk svinpest-virus redan har bekräftats med andra metoder, i synnerhet vid ett primärutbrott eller ett fall av afrikansk svinpest.

Afrikansk svinpest-virus som isoleras i svinmakrofager kan användas för viruskarakterisering och molekylär epidemiologi.

5. Alla isolat av afrikansk svinpest-virus från alla primärutbrott, primärfall hos viltlevande svin eller fall i slakterier eller transportmedel skall genomgå typning vid ett nationellt referenslaboratorium i medlemsstaten eller vid ett annat laboratorium som medlemsstaten i fråga har godkänt eller vid gemenskapens referenslaboratorium i enlighet med avsnitt E.

Under alla omständigheter skall dessa virusisolat omedelbart skickas till gemenskapens referenslaboratorium så att de kan föras in i virussamlingen.

C. PÅVISANDE AV VIRUSGENOM

1. Polymeras-kedjereaktion (PCR) används för att påvisa virusgenom i prov från blod, serum, vävnader eller organ. Små fragment av virus-DNA förökas med PCR till påvisbara mängder. En stor mängd isolat från alla kända virusgenotyper, inklusive icke-hemadsorberande virus och lågvirulenta isolat, kan påvisas med användning av primers från en välbevarad del av genomet. Eftersom detta test endast påvisar en genomsekvens av viruset kan PCR ge positivt resultat även om infektiöst virus inte upptäcks genom virusisolering (t.ex. i vävnad som brutits ned genom autolys eller prov från svin som håller på att tillfriskna eller som har blivit kliniskt normala).
2. PCR kan användas på ett begränsat antal prov som med omsorg valts ut från misstänkta djur. Det är den rekommenderade metoden för organprov som är cytotoxiska och det är därför inte möjligt att isolera viruset (exempelvis prov från viltlevande svin).
3. Lämpligt provmaterial för diagnostisk PCR är de organ som anges för virusisolering och serum. Homogenat av fästing kan också analyseras med PCR-metoden.
4. PCR-testet kan utföras på en dag. Den kräver lämplig laboratorieutrustning, avskilda utrymmen och rutinerad personal. En fördel är att infektiösa viruspartiklar inte behöver reproduceras i laboratoriet. Metoden är mycket känslig, men det kan lätt uppstå kontaminationer som leder till falskt positiva resultat. Därför är sträng kvalitetskontroll av största vikt.

D. REKOMMENDERADE VIROLOGISKA UNDERSÖKNINGAR OCH UTVÄRDERING AV RESULTATEN

Virologiska undersökningar är av största vikt för att bekräfta afrikansk svinpest.

Virusisolering och hemadsorptionstest skall betraktas som virologiska referenstest och skall vid behov användas som bekräftande test. Användningen rekommenderas särskilt om positiva DIF- eller PCR-resultat inte är förbundna med påvisande av kliniska symtom eller organskador orsakade av sjukdom, och i andra tveksamma fall.

Ett primärutbrott av afrikansk svinpest kan emellertid bekräftas om kliniska symtom eller organskador orsakade av sjukdom har påvisats hos svinen i fråga och minst två separata antigen- genom- eller antikroppstest på prov från svinen har givit positivt resultat.

Ett sekundärutbrott av afrikansk svinpest kan bekräftas om det, utöver det epidemiologiska sambandet med det bekräftade utbrottet eller fallet, har påvisats kliniska tecken eller organskador orsakade av sjukdom hos svinen i fråga och ett test för att påvisa antigen, genom eller antikroppar har givit positivt resultat.

Ett primärfall av afrikansk svinpest hos viltlevande svin kan bekräftas efter virusisolering eller om minst två test för att påvisa antigen, genom eller antikroppar har givit positivt resultat. Ytterligare fall av afrikansk svinpest hos viltlevande svin för vilka ett epidemiologiskt samband har funnits med tidigare bekräftade fall kan bekräftas om ett test för att påvisa antigen, genom eller antikroppar har givit positivt resultat.

E. GENETISK BESTÄMNING AV ISOLAT AV AFRIKANSK SVINPEST-VIRUS

1. Den genetiska bestämningen av isolat av afrikansk svinpest-virus görs genom att man fastställer sekvenser av restriktionsenzymer och nukleotidsekvenser för delar av virusgenomet. Dessa sekvensers överensstämmelse med de som erhållits från tidigare virusisolat kan indikera huruvida sjukdomsutbrott beror på virus med en europeisk eller afrikansk molekyllärstruktur.

Genetisk bestämning av afrikansk svinpest-virus har avgörande betydelse för att förbättra kunskaperna om virusets molekyllära epidemiologi och de genetiska varianterna. Uppgifterna om molekyllärstrukturen gör att nya isolat kan klassificeras och ger uppgifter om varifrån de kan tänkas härstamma.

2. Om molekyllärbestämning av virus inte kan utföras i ett nationellt laboratorium eller i ett annat laboratorium som har godkänts för diagnos av afrikansk svinpest på kort tid skall originalprovet eller virusisolatet snarast möjligt skickas till gemenskapens referenslaboratorium för molekyllär bestämning.

De uppgifter om restriktionsenzymer och sekvensering av isolat av afrikansk svinpest-virus som de laboratorier som godkänts för att ställa diagnosen afrikansk svinpest har tillgång till skall skickas till gemenskapens referenslaboratorium så att de kan matas in i referenslaboratoriets databas.

Uppgifterna i denna databas skall vara tillgängliga för alla nationella referenslaboratorier i medlemsstaterna. Om avsikten är att uppgifterna skall publiceras i vetenskapliga tidskrifter skall gemenskapens referenslaboratorium emellertid på begäran från det berörda laboratoriet garantera att de behandlas konfidentiellt tills de publiceras.

Kapitel VII

Principer för och användning av serologiska test samt utvärdering av resultatet från dessa

A. GRUNDPRINCIPER OCH DIAGNOSTISKT VÄRDE

1. Ett specifikt test för påvisande av antikroppar mot afrikansk svinpest rekommenderas för subakuta och kroniska former, liksom för storskaliga undersökningar och i program för bekämpning av afrikansk svinpest, och detta av flera skäl:
 - i) Antikropparna produceras snabbt i smittade svin. De kan vanligen påvisas i serum redan sju till tio dagar efter smittillfället.
 - ii) Det finns inga vacciner mot afrikansk svinpest. Det innebär att specifika antikroppar bara förekommer efter smitta med viruset.
 - iii) Antikropparna kan påvisas under lång tid. Hos svin som har blivit återställda efter sjukdomen kan stora mängder antikroppar påvisas under många månader efteråt, hos en del svin under hela deras livstid.

Antikroppar mot afrikansk svinpest som kommer från moderdjuret kan emellertid påvisas hos smågrisar under de första tio levnadsveckorna. Halveringstiden för antikroppar från moderdjuret hos smågrisar är cirka tre veckor. Om antikroppar mot afrikansk svinpest konstateras hos smågrisar som är äldre än tre månader är det mycket osannolikt att de kommer från moderdjuret.

2. Påvisande av antikroppar mot afrikansk svinpest-virus i serum- eller plasmaprover från inlämnade organ utförs för att stödja diagnosen afrikansk svinpest på misstänkta anläggningar, för att vid bekräftade utbrott beräkna när smittan har införts och för att kontrollera och övervaka utbrottet.

Lokaliseringen av seropositiva svin på anläggningen kan ge värdefull information om var och hur afrikansk svinpest-virus fördes in till anläggningen.

Det bör emellertid utföras en korrekt utvärdering av resultaten av de serologiska testerna med hänsyn till samtliga kliniska, virologiska och epidemiologiska resultat av den undersökning som skall göras enligt artikel 8 i direktiv 2002/60/EG om afrikansk svinpest misstänks eller bekräftas.

B. REKOMMENDERADE SEROLOGISKA TEST

1. ELISA, indirekt immunofluoresceringstest (IIFT) och immunoblot är de främsta metoderna för att serologiskt bekräfta afrikansk svinpest.

Kvaliteten på och effektiviteten av den serologiska diagnos som ställs vid de nationella laboratorierna skall regelbundet kontrolleras som ett led i de jämförande test som gemenskapens referenslaboratorium med jämna mellanrum genomför mellan olika laboratorier.

2. ELISA-testet är det mest pålitliga och användbara testet vid omfattande serologiska studier. Det grundar sig på att antikroppar mot afrikansk svinpest påvisas genom tillsats av A-protein konjugerat med ett enzym som framkallar en synlig färgreaktion när det reagerar med rätt substrat.
3. De nationella laboratorierna skall regelbundet utföra kvalitetskontroll av känslighet och specificitet i varje batch ELISA-test med hjälp av den panel av referensserum som tillhandahålls av gemenskapens referenslaboratorium. Denna panel skall omfatta

- serum från svin i tidigt stadium av afrikansk svinpest-virusinfektion (mindre än 17 dagar efter infektion),
- serum från svin som tillfrisknat (mer än 17 dagar efter infektion).

De ELISA-test som skall användas för serologisk diagnos av afrikansk svinpest måste känna igen alla referensserum från svin som tillfrisknat. Alla resultat som erhålls med referensserum skall kunna upprepas. Det rekommenderas att också samtliga positiva serum från den tidiga fasen påvisas. De resultat som erhålls med referensserum från svin i tidigt infektionsstadium ger en indikation på ELISA-testets känslighet.

4. IIFT är en snabb metod med hög känslighet och specificitet för att påvisa antikroppar mot afrikansk svinpest från serum eller vävnadsprov. Det baserar sig på att det påvisar antikroppar som är bundna till ett enkelt lager MS-celler som smittats med ett anpassat afrikansk svinpest-virus. Antikropps-antigenreaktionen fastställs med hjälp av ett märkt fluorescerande A-protein. Positiva prov visar särskild fluorescens nära de infekterade cellernas kärna.

DIFT och IIFT som används tillsammans för att undersöka organ, blod och exudat från djur som visat symtom på afrikansk svinpest kan också leda till att man snabbt och med en hög grad tillförlitlighet kan bekräfta förekomsten av sjukdomen.

5. Immunoblot är en mycket specifik och känslig metod som utgår från remsor av nitrocellulosa som innehåller virusenzymer/proteiner som antigen. Den specifika antikropp-antigenreaktionen påvisas genom tillsats av ett A-proteinperoxidaskonjugat och ett lämpligt substrat. Det är väldigt användbart för att testa serum som inte givit något säkert resultat med ELISA-testet.

Kapitel VIII

Minimikrav på säkerhet vid laboratorier för afrikansk svinpest

1. De minimikrav som fastställs i tabell 1 skall uppfyllas vid alla laboratorier där afrikansk svinpest-virus skall förökas genom odling i cellkulturer. Postmortala undersökningar, hantering av vävnad för DIFT eller PCR och serologi med användning av inaktiverad antigen får dock utföras med lägre inneslutningsnivå under förutsättning att de minimikrav som fastställs i tabell 1 uppfylls, grundläggande hygien och postoperativ desinfektion med säker destruktion av djur- kroppar, vävnad och serum kan garanteras.

2. De krav som fastställs i tabell 2 skall uppfyllas på alla laboratorier där djur injiceras med afrikansk svinpest-virus.
3. Alla lager av afrikansk svinpest-virus skall förvaras säkert, antingen i djupfryst eller frystorkad form. Alla enskilda ampuller skall vara tydligt märkta och det skall föras utförliga register över viruslagren samt över datum för och resultat av kvalitetskontroller. Register skall också föras över tillförsel av virus till lagret, med utförliga uppgifter om källa, och om virus som lämnats till andra laboratorier.
4. Det rekommenderas att den enhet för biosäkerhet som sysslar med afrikansk svinpest också bör ha utrymmen där man inte hanterar viruset. Dessa andra utrymmen skall kunna användas för att bereda glas och media, underhålla och bereda icke-infekterade cellkulturer, hantera serum och för serologisk testning (utan användning av levande afrikansk svinpest-virus) samt för administrativt stöd.

Tabell 1

Principer för biologisk inneslutning som är lämplig för diagnoslaboratorier

	Minimikrav	Ytterligare krav
Allmän arbetsmiljö	Normalt lufttryck. Särskilda rum som endast används för specifika rutiner.	Normalt lufttryck. HEPA-filtrering av frånluft. Särskilda rum som endast används vid diagnostisering av klassisk eller afrikansk svinpest. Allt avfall som kan vara infekterat skall behandlas för att inaktivera afrikansk svinpest-virus (kemiskt eller med värme).
Laboratorieklädsel	Särskilda skyddskläder som endast används i arbetsområdet för afrikansk svinpest-virus. Engångshandskar för all hantering av smittat material. Skyddskläderna steriliseras innan de avlägsnas från området eller tvättas i hög temperatur inom området.	Fullständigt klädombyte vid ankomst. Särskilda laboratoriekläder som endast används i arbetsområdet för afrikansk svinpest-virus. Engångshandskar för all hantering av smittat material. Skyddskläderna steriliseras innan de avlägsnas från området eller tvättas i hög temperatur inom området.
Kontroll av personal	Endast utbildad, namngiven personal har tillträde till arbetsområdet. Händerna tvättas och desinficeras innan området lämnas. Personal får inte besöka anläggningar med svin förrän 48 timmar efter det att de lämnade arbetsområdet.	Endast utbildad, namngiven personal har tillträde till arbetsområdet. Händerna tvättas och desinficeras innan området lämnas. Personal får inte besöka anläggningar med svin förrän 48 timmar efter det att de lämnade arbetsområdet.
Utrustning	Biologisk säkerhetsbänk (klass I eller II) för all hantering av levande virus. Bänken bör ha dubbel HEPA-filtrering av frånluft. All utrustning som behövs för laboratoriearbetet skall finnas tillgänglig inom det avsedda laboratorieområdet.	

Tabell 2

Krav för biosäkerhet i utrymmen med försöksdjur

	Krav
Allmän arbetsmiljö	Kontrollerad undertrycksventilation. HEPA-filtrering av frånluft. Utrustning för fullständig rökning/desinfektion vid försökets slut. Allt fast eller flytande avfall skall behandlas för att inaktivera afrikansk svinpest-virus (kemiskt eller med värme).

	Krav
Laboratorieklädsel	Fullständigt klädombyte vid ankomst. Skyddskläderna steriliseras innan de avlägsnas från området eller tvättas i hög temperatur inom området.
Kontroll av personal	Endast utbildad, namngiven personal har tillträde till arbetsområdet. Personalen lämnar kvar kläderna före duschen. Personalen duschar hela kroppen innan de lämnar området. Personal får inte besöka anläggningar med svin förrän 48 timmar efter det att de lämnade arbetsområdet.
Utrustning	All utrustning som behövs för djurförsök skall finnas inom arbetsområdet. Allt material steriliseras när det avlägsnas från arbetsområdet eller, när det gäller djurprover, förpackas i två behållare som inte läcker, en inner- och en ytterbehållare, och desinficeras på utsidan innan det transporteras till laboratoriet för afrikansk svinpest.
Djur	Alla djur skall slaktas innan de avlägsnas från arbetsområdet, postmortala undersökningar skall göras inom biosäkerhetsområdet och slaktkropparna skall brännas när undersökningen är avslutad.