

20141163638

АГЕНЦИЈА ЗА ХРАНА И ВЕТЕРИНАРСТВО

Врз основа на член 49 став (4) од Законот за ветеринарно здравство („Службен весник на Република Македонија“ бр. 113/07, 24/11, 136/11 и 123/12), директорот на Агенцијата за храна и ветеринарство донесе

П РА В И Л Н И К ЗА ИЗМЕНУВАЊЕ И ДОПОЛНУВАЊЕ НА ПРАВИЛНИКОТ ЗА МЕРКИ ЗА СУЗБИВАЊЕ И ИСКОРЕНУВАЊЕ НА КЛАСИЧНА ЧУМА КАЈ СВИЊИТЕ(*)

Член 1

Во Правилникот за мерки за сузбивање и искоренување на класична чума кај свињите („Службен весник на Република Македонија“ бр. 59/12), во членот 2 став (2) по точката 16) се додаваат четири нови точки 17, 18, 19 и 20 кои гласат:

„17) „сомнително одгледувалиште“ е секое одгледувалиште во кое се чуваат една или повеќе свињи за кои постои сомнеж дека се заразени од вирусот на класична чума кај свињите, или одгледувалиште во кое свињите биле во контакт согласно член 2 од овој правилник;

18) „лажно позитивна“ е секоја свиња која е серопозитивна на серолошкиот тест за откривање на класична чума кај свињите, но која никогаш не била во контакт со вирусот на болеста ниту е заразена од други свињи кои биле во контакт со неа;

19) „епидемиолошка подединица“ или „подединица“ е објект, место или земјиште во непосредна близина, каде што групи на свињи кои припаѓаат на едно одгледувалиште се често во директен или индиректен контакт едни со други, но кои се чуваат одвоено од другите свињи на истото одгледувалиште и

20) „свињи во контакт“ се свињи кои, во текот на предходните 21 ден, биле во непосреден контакт со една или повеќе свињи за кои се сомнева дека се заразени од вирусот на класична чума кај свињите.“

Член 2

Во членот 17 во ставот (1) точката на крајот на реченицата се брише и се додаваат зборовите „даден во Прилог 6 кој е составен дел на овој правилник“.

По ставот (3) се додаваат два нови става (4) и (5) кои гласат:

„(4) За дијагностичко испитување на класична чума кај свињите Националната референтна лабораторија користи лабораториски тестови дадени во дијагностичкиот прирачник за класична чума кај свињите од Прилог 6 на овој правилник или може да користи различни тестови, доколку чувствителноста и специфичноста на тестовите е еквивалентна со тестовите дадени во дијагностичкиот прирачник за класична чума кај свињите од Прилог 6 на овој правилник.

(5) Чувствителноста и специфичноста на тестовите од став (4) на овој член се оценува преку периодични компаративни тестови организирани од страна на референтната лабораторија за класична чума кај свињите во ЕУ.“

Ставот (4) станува став (6).

(*)Со овој правилник се врши усогласување со Одлуката на Комисијата од 1 февруари 2002 година за одобрување на дијагностички прирачник за утврдување на дијагностички постапки, методи за земање на примероци и критериуми за оценка на лабораториските тестови за потврдување на класичната свинска чума (2002/106/E3) со Celex бр. 32002D0106.

Член 3

По членот 17 се додава нов член 17-а, кој гласи:

„Член 17-а

(1) Потврдата на присуство на класична чума кај свињите се прави врз основа на:

- 1) утврдување на клинички знаци и постмортални промени на класична чума кај свињите;
- 2) утврдување на антиген или геном на вирусот во примероци од ткива, органи, крв или екскрети од свињи и
- 3) реакција на специфични антитела на примероци од крв.

(2) Потврдата на присуство на класична чума кај свињите се врши во согласност со постапките и методите за земање на примероци и критериумите за оценка на резултатите од лабораториските тестови дадени во дијагностичкиот прирачник за класична чума кај свињите од Прилог 6 на овој правилник.“

Член 4

Овој правилник влегува во сила наредниот ден од денот на објавувањето во „Службен весник на Република Македонија“.

Бр. 07-4297/5
9 јули 2014 година
Скопје

Агенција за храна и
ветеринарство
Директор,
Дејан Рунтевски, с.р.

ДИЈАГНОСТИЧКИ ПРИРАЧНИК ЗА КЛАСИЧНА ЧУМА КАЈ СВИЊИТЕ

I Глава: Општи карактеристики, цели и поими

1. Со цел да се обезбеди еднаквост на дијагностичките постапки на класична чума кај свињите, со овој прирачник се утврдуваат:
 - а) насоки и минимални барања во однос на дијагностичките постапки, методите за земање на примероци и критериумите за оценка на резултатите од клиничките прегледи, прегледите кои се прават постмортем и лабораториските тестови со цел правилно дијагностицирање на класична чума кај свињите (бројот на примероци за лабораториско тестирање ќе се одреди, во зависност од чувствителноста на тестовите. Ако чувствителноста на тестот не е многу висока, ќе се користи број на животни поголем од оној во прирачникот);
 - б) минимални барања во однос на транспортот на примероците, биосигурноста и стандардите за квалитет кои треба да ги исполнат дијагностичките лаборатории на класична чума кај свињите;
 - в) лабораториските тестови кои се вршат за дијагностицирање на класична чума кај свињите и лабораториски техники кои треба да се користат за генетската типизација на изолати на вирусот на класична чума кај свињите.
2. Овој прирачник е наменет за контрола и надзор на класична чума кај свињите, ги нагласува принципите и примената на тестовите, дава насока за толкување на резултати и не содржи детални описи на лабораториските техники.

II Глава: Опис на класична чума кај свињите со диференцијална дијагноза

A. Етиологија

1. Болеста Класична чума кај свињите е предизвикана од обвинет РНК вирус, кој припаѓа на родот Pestivirus од семејството Flaviviridae. Овој вирус е во врска со Pestivirus на преживари, одговорен е за говедската вирусна дијафеа (BVDV) и гранична болест (BDV), и има сериозни дијагностички последици, бидејќи се добиваат вкрстени реакции кои можат да доведат до лажно позитивни резултати од лабораториските тестови.
2. Вирусот на класична чума кај свињите е релативно стабилен во екскрети од инфицирани свињи, во трупови на свињи, во свежо свинско месо и во некои производи од свинско месо. Тој се инактивира лесно со детергенти, липиди растворувачи, протеази и обични дезинфективни средства.
3. Инфекцијата се пренесува по ороназален пат, преку директен или индиректен контакт со заразени свињи или преку јадење на контаминирана храна за животни. Во области со висока густина на свињи, вирусот се шири лесно од едно на друго одгледувалиште. Болеста може да се пренесе и преку семе од заразени нерези.
4. Периодот на инкубација кај животните индивидуално варира од една недела до десет дена. Во зависност од условите на држење на животните клиничките симптоми можат да се појават и станат видливи во одгледувалиштето од две до четири недели по внесувањето на вирусот на одгледувалиштето или дури и подолго особено во случај кај возрасни свињи или во случај на инфекција предизвикана од слабо-вирулентен сој на вирусот.
5. Класична чума кај свињите манифестира променливи клинички знаци и може да се замени со многу други болести. Изразеноста на симптомите зависи главно од возраста на животното и од вирулентноста на вирусот. Младите животни имаат поинтензивно изразени клинички симптоми. Кај постарите свињи инфекцијата е често со слабо изразени симптоми или субклиничка слика.
6. Класична чума кај свињите може да се развива во акутна, хронична и пренатална форма .

B. Акутна форма

1. Акутната форма на класична чума кај свињите најчесто се развива кај прасињата одбиени од цицање и товните свињи. Првите симптоми се анорексија, летаргија, треска, коњуктивитис, оток на лимфни јазли, респираторни симптоми и констипација проследена со дијафеа.

Типични хеморагии на кожата се забележуваат на увото, опашката, абдоменот и внатрешната страна на нозете за време на втората и третата недела по

инфекцијата па се до угинување на животното. Невролошките симптоми се манифестираат со нестабилно одење на задните нозе, некоординирани движења и конвулзии.

Константно присутен клинички симптом е треска повисока од 40 °C, која кај возрасните свињи не надминува 39,5 °C.

2. Вирусот на класична чума кај свињите предизвикува леукопенија и имunosупресија, што често доведува до секундарни инфекции од интестинален или респираторен тип. Симптомите на секундарните инфекции можат да ги сокријат или изменат повеќето типични знаци на класична чума кај свињите .

Угинување на животното обично настапува во рок од еден месец. Кај возрасните приплодни животни кои не манифестираат тешки клинички знаци можно е оздравување најчесто како резултат на создавање на антитела. Антителата на класична чума кај свињите се забележливи од втората до третата недела по инфекцијата.

3. Патолошките промени на постморталниот преглед се наоѓаат најчесто во лимфните јазли и во бубрезите. Лимфните јазли се отечени, едематозни и хеморагични. Хеморагиите на бубрезите варираат, по големина, од едвај видливи петехии до ехимози. Слични хеморагии можат да се забележат во мочниот меур, гркланот, епиглотисот и срцето, а понекогаш може да ги зафати серозните мембрани на абдоменот и градниот кош. Често е присутен негноен енцефалитис. Можат да бидат присутни исто така и лезии кои се резултат на секундарни инфекции. Инфарктите во слезинката се сметаат за патогномонични лезии за класична чума кај свињите но се доста ретки.
4. Акутната форма на африканската чума кај свињите обично доведува до клиничка и патолошка слика многу слична со онаа на класична чума кај свињите. Кога се присутни хеморагиите на кожата и ушите, истите се лесно видливи и доведуваат до сомневање за присуството на класична чума кај свињите или акутната африканска чума кај свињите.

Други болести кои имаат сличен тек со акутниот облик на класична чума кај свињите се:

- Еризипел- Црвен ветер,
- репродуктивен и респираторен синдром кај свињите,
- труење со кумарин,
- хеморагична пурпура,
- мултисистемски синдром кој се јавува после одбивање од доење,
- синдром на дерматит кај свињите и нефропатија,
- инфекција со салмонела или пастерела, или
- кој било друг ентеритичен или респираторен синдром придружен со треска, кој не реагира на антибиотска терапија.

5. Вирусот на класична чума кај свињите се излачува преку плунката, урината и

изметот, од моментот на појавата на клиничките знаци па се до угинување на животното. Вирусот се пренесува и со семе од нерези.

В. Хронична форма

1. Хронична форма на инфекцијата се јавува кога свињите не се во можност да развијат ефикасен имунолошки одговор против вирусот на класична чума кај свињите. Почетните симптоми на хроничната инфекција се слични на оние на акутната инфекција. Подоцна преовладуваат нетипичните симптоми, како наизменична треска, хроничен ентеритис и кахексија. Типичните хеморагии на кожата се отсутни.

Свињите кои се заразени може да покажат клинички знаци на болеста два или три месеци пред угинување на животното. Вирусот постојано се излучува, од моментот на појавата на клиничките знаци па се до угинување на животното. Антителата може повремено да се пронајдат во примероци од серум.

2. Патолошките промени се помалку типични, а хеморагиите во органите и сериозни мембрани се отсутни. Кај животните со хронична дијареа, вообичаени се некротични лезии на илеум, илео-цекалната валвула и ректумот.
3. Диференцијалната дијагноза треба да биде поставена во однос на многу други болести бидејќи клиничките знаци на хроничната форма на класична чума кај свињите се нетипични. Зголемената телесна температура не е секогаш присутна кај секое животно, но во едно заразено одгледувалиште се забележува треска барем кај неколку свињи.

Г. Пренатална форма на болеста

1. Вирусот на класична чума кај свињите кај гравидни свињи се пренесува преку плацентата и може да се зарази фетусите, а кај маторицата болеста често е на субклиничко ниво.

Исходот од трансплацентарната инфекција на фетусите во голема мера зависи од стадиумот на гравидност и вирулентноста на патогениот предизвикувач. Инфекцијата во текот на раната гравидност може да резултира со абортуси и мртвородени, мумификација и малформации на плодот. Сето ова води до намалување на стапката на плодност во одгледувалиштето.

Во случај на инфекција кај маторицата пред деведесеттиот ден од гравидноста, се раѓаат прасињата во состојба на постојана виремија кои се клинички нормални по раѓањето и можат да преживеат неколку месеци. По раѓањето ваквите прасиња се карактеризираат со недоволен раст, зголемена смртност и повремено конгенитален тремор. Овој тек на болеста може да се опише како „доцен почеток на класична чума кај свињите“. Вака инфицираните прасиња придонесуваат за ширењето на болеста и

постојаноста на вирусот во одгледувалиштето. Вирусот од овие прасиња се лачи се до угинување на животните.

2. Оваа форма на класична чума кај свињите тешко може да се открие во одгледувалиштето бидејќи болеста има мирен тек и може да се замени со друга патолошка состојба. Абортуси и намалена плодност освен при класична чума кај свињите може да биде предизвикана, и при:

- инфекција со парвовирус,
- репродуктивен и респираторен синдром кај свињи (ПРРС),
- лептоспироза и
- Аујецку.

Во однос на патолошките промени абортусите предизвикани од класична чума кај свињите не се разликуваат од абортусите предизвикани од други патогени предизвикувачи.

Во случај на сомневање на инфективна болест на репродуктивниот тракт, треба веднаш да се испита на присуство на вирусот на класична чума кај свињите, особено на одгледувалишта за кои се смета дека се „изложени на ризик“ (односно одгледувалишта се сместени во областите во кои класична чума кај свињите се појавува во популацијата на диви свињи) и во секој случај кога се исклучуваат повеќе заеднички инфективни болести на репродуктивниот тракт.

III Глава

Критериуми за прогласување на едно одгледувалиште како сомнително на класична чума кај свињите

Едно одгледувалиште може да се смета за „сомнително одгледувалиште“ врз основа на:

а) клинички и патолошки промени кај свињите:

- треска со зголемување на морбидитетот и морталитетот,
- треска со хеморагичен синдром,
- треска со невролошки симптоми,
- треска од непознато потекло без промена во здравствениот статус по третман со антибиотици,
- абортуси и зголемени проблеми со концепција во период од три месеци,
- конгенитален тремор кај прасињата,
- хронично угинување на животни,
- млади животни кои заостануваат во растот (помали од нормално),
- петехијални и ехимозни хеморагии, особено во лимфните јазли, во бубрезите, во слезинката, во мочниот меур и во епиглотисот,
- инфаркти или хематоми, особено во слезината,
- бутони улкуси во дебелото црево кај хроничните случаи, особено во илеоцекалниот спој.

б) епидемиолошки податоци:

- директни или индиректни контакти со одгледувалиште за кое е утврдено дека е заразено со класична чума кај свињите,
- набавка на свињи за кои подоцна е утврдено дека се заразени со класична чума кај свињите,
- вештачко осеменување на маторици со семе од сомнително потекло,
- директни или индиректни контакти со диви свињи кои припаѓаат на популација каде е утврдена класична чума кај свињите,
- свињи кои се чуваат на отворено во област каде се присутни диви свињи заразени со класична чума кај свињите,
- свињи кои се хранат со отпадоци од храна необработена на начин за да го неутрализира вирусот на класична чума кај свињите,
- потенцијална изложеност на контаминација преку лица што влегуваат на одгледувалиштата, превозници итн.

в) резултати од серолошките тестови:

- серолошка реакција предизвикана од незабележана инфекција со вирус на класична чума кај свињите или со вакцинација (ако свињите биле вакцинирани против класична чума кај свињите со конвенционалната вакцина, тие може да бидат серопозитивни едноставно поради вакцинацијата, или поради латентна инфекција кај вакцинираните животни),
- вкрстена реакција меѓу антитела на класична чума кај свињите и други

вируси на чума (под одредени услови, до 10 % од свињите во стадото може да имаат антитела против вируси од чуми на преживари одговорни за говедската вирусна дијареа и „border disease“. Ова се случува, на пример, кога свињите се во директен контакт со говеда или овци инфицирани со BVDV или BDV, или со материјали кои се загадени со вируси од чуми на преживари),

откривање на лажно позитивни свињи (во сите серолошки тестови кои се користат за класична чума кај свињите, од мал дел на серуми се добиваат лажно позитивни резултати, или поради недостаток на специфичноста на тестот, или затоа што серумите потекнуваат од изолирани реагенси).

IV Глава

Клинички преглед и земање примероци

A. Клинички преглед и земање примероци на свињи од сомнително одгледувалиште

1. Во сите случаи на сомнеж на присуство на класичната чума кај свињите на одгледувалиште покрај мерките наведени во член 4(2) од овој правилник, официјалниот ветеринар треба да изврши клинички прегледи, земање примероци и лабораториски испитувања на сомнителните одгледувалишта за да го потврди или исклучи присуството на класична чума кај свињите, во согласност со насоките и постапките дадени во точките 2 до 7 од овој дел.

Насоките и постапките дадени во точките 2 до 7 од овој дел треба да се применуваат во сите случаи кога класична чума кај свињите се вклучува во диференцијална дијагностика и кога клиничките знаци на болеста кај свињите и епидемиолошката состојба на болеста укажуваат на мала веројатност за појава на класична чума кај свињите.

Во сите случаи на сомнеж на присуство на класичната чума кај една или повеќе свињи на одгледувалиште се применуваат мерките наведени во член 4 став (2) од овој правилник.

Насоките и постапките наведени во точки 2 до 7 од Дел А од ова глава треба да се применуваат, *mutatis mutandis*, ако постои сомневање за присуство на класична чума кај свињите во кланица или во транспортно средство.

2. При испитување на сомнителното одгледувалиште со цел да се потврди или исклучи присуството на класична чума кај свињите, официјалниот ветеринар, треба да изврши:

- контрола на записите, во однос на производството и санитарната состојба на одгледувалиштето,
- инспекција на секој објект на одгледувалиштето и избор на свињи за клинички преглед.

- 2.1 Клиничкиот преглед опфаќа мерење на телесната температура на следните категории на свињи:

- болни или анорексични свињи,
- свињи излекувани,
- свињи донесени од одгледувалиште каде е потврдена болеста класична чума кај свињите или од друго сомнително одгледувалиште,
- свињи кои се чуваат во поединици кои биле посетени од надворешни посетители кои претходно имале близок контакт со сомнителни или инфицирани свињи со класична чума кај свињите или свињи за кои се идентификувани други особено ризични контакти со потенцијален извор на вирусот од класична чума кај свињите.
- свињи од кои се земени примероци и серолошки се тестирани на

класична чума кај свињите, а резултатите не се доволни да се исклучи присуството на болеста, и свињи во контакт.

2.2 Ако со контролата спроведена на сомнителното одгледувалиште официјалниот ветеринар не открие присуството на свињи или групи на свињи со карактеристиките наведени во точка 2.1 од овој дел, официјалниот ветеринар, покрај другите мерки кои се применуваат на одгледувалиштето во согласност со овој правилник и во зависност од епидемиолошката состојба, треба да нареди:

- дополнителни испитувања на одгледувалиштето во согласност со точка 3 дел А од оваа глава, или
- земање примероци на крв за лабораториски анализи во согласност со точка 5 од овој дел и точка 2 од дел Г, или
- мерки согласно член 4 став (2) од овој правилник, додека не пристигнат резултатите од дополнителни испитувања на соодветното одгледувалиште или
- исклучување на присуството на сомнеж на класична чума кај свињите.

3. Клиничкиот преглед на сомнителното одгледувалиште се врши врз животни по случаен избор во објектите за кои постои сомневање или се идентификувани како објекти со ризик од внесување на вирусот на класична чума кај свињите.

Минималниот број на свињи кои треба да се испитуваат во овие објекти треба да биде доволен да овозможи идентификација со 95% сигурност доколку преваленцијата е 10% во овие поединици.

Во случај на:

- маторици, минималниот број на свињи кои треба да се испитаат треба да овозможи идентификација со 95 % сигурност доколку преваленцијата на болеста е 5 %
- центар за собирање на семето, сите нерези треба да бидат испитани.

4. Ако на едно сомнителното одгледувалиште се пронајдат мртви свињи или свињи со прогноза за латентен исход, се врши постмортален преглед, на најмалку пет од овие животни особено на оние кои:

- пред угинување на животното покажувале клинички знаци на болеста,
- имале висока температура,
- се угинати во последните неколку дена.

Ако со постморталниот преглед не се констатираат промени кои укажуваат на присуство на класична чума кај свињите, за потребите на епидемиолошката истрага треба да се спроведат дополнителни испитувања:

- клинички преглед во согласност со точка 3, дел А од оваа глава и земање примероци од крв во согласност со точка 5, дел А од оваа глава, во поединицата на објектот во кој се наоѓаат угинатите свињи или свињите со прогноза за латентен исход и
- постмортален преглед треба да се изврши на три или четири свињи во

контакт.

Независно од присуството или отсуството на постмортални промени кои укажуваат на класична чума кај свињите, примероци од органите или ткивата од свињи се земаат за вирусолошки тестови во согласност со Глава IV, точка 1 од дел Б. Овие примероци треба да бидат земени од скоро угинати свињи.

Официјалниот ветеринар, при извршувањето на постморталниот преглед треба да провери дали:

- се преземни сите неопходни хигиенски мерки и мерки на претпазливост за да се спречи ширењето на било која болест и
- животните со прогноза за латентен исход се убиваат хумано, во согласност со Законот за благосостојба на животнитеⁱ.

5. Во случај кога на сомнително одгледувалиште се откријат клинички знаци или лезии кои дополнително укажуваат на класична чума кај свињите, но официјалниот ветеринар смета дека овие не се доволни за да се потврди појавата на класична чума кај свињите, треба да се земат примероци од крв за лабораториски испитувања од сомнителните свињи или од други животни во секоја поединица на објектот каде се наоѓаат сомнителни свињи, во согласност со следната постапка.

Минималниот број на примероци кои треба да се земат за серолошки испитувања во секоја поединица на објектот треба да биде доволен за да овозможи идентификација со сигурност од 95% доколку преваленцата е 10 %.

Во случај на:

- маторици, минималниот број на свињи кои треба да се испитаат треба да овозможи идентификација со 95 % сигурност доколку преваленцата на болеста е 5 % (во некои случаи, на пример ако се сомнева за присуството на класична чума кај свињите на една фарма со ограничен број на прасиња, пропорцијата на инфицирани свињи може да биде минимална. Во вакви случаи треба да се земат примероци од поголем број на маторици),
- центар за собирање на семето, сите нерези треба да бидат испитани.

Бројот на примероци кои треба да се земат за вирусолошки тестови треба да биде во согласност со упатствата од официјалниот ветеринар, во зависност од видот на тестовите кои треба да се извршат, осетливоста на лабораториските тестови и епидемиолошката состојба.

6. Во случај кога сомнежот на класична чума кај свињите на одгледувалиште е врз основа на резултатите од претходни серолошки тестови, покрај примероците од крв земени од свињи во согласност со дел А точка 2.1, петта алинеја од оваа глава, се применува и следнаво:

а) ако серопозитивните свињи се gravidни маторици, некои од нив, по можност не помалку од три, треба да бидат еутанизирани и постмортално прегледани.

Пред убивањето треба да се земе примерок од крв за дополнителни серолошки тестови. Фетусите треба да се тестираат на вирусот на класична чума кај свињите, на антигенот од вирусот или неговиот геном во согласност со глава VI, со цел откривање на можна интраутерина инфекција;

б) ако серопозитивните свињи се маторици кои ги дојат младите прасиња, треба да се земат примероци од крв од сите прасиња и да се испитаат на вирусот на класична чума кај свињите, на антигенот од вирусот или неговиот геном во согласност со глава VI. Се земаат примероци од крв и од маториците за дополнителни серолошки тестови.

7. Ако по извршената контрола на сомнителното одгледувалиште, не бидат откриени клинички знаци или лезии кои укажуваат на класична чума кај свињите, а официјалниот ветеринар смета дека се потребни дополнителните лабораториски тестови за исклучување на класична чума кај свињите, треба да земе примероци како што е наведено во дел А точка 5 од оваа глава.

Б. Земање примероци на одгледувалишта во случај на колење/убивање на свињи по потврда на болеста

1. Кога на одгледувалиштето се врши убивање/колењето на свињите по потврдување на класична чума кај свињите во согласност со член 5 став (1)(а) од овој правилник, од свињите, по случаен избор од моментот на колењето/убивањето, се земаат примероци од крв за серолошки тестови, за да се утврди начинот и времето на внесување на вирусот на одгледувалиштето.

2. Минималниот број на свињи од кои треба да се земат примероци во секоја поединица на објект треба да биде доволен за да овозможи идентификација со 95% сигурност доколку преваленцата е 10 % (доколку се применува отстапувањето наведено во член 6 став (1) од овој правилник, земањето примероци треба да се изврши во под-единиците на фармата каде биле убиени свињите, без оглед на дополнителните тестови и земањето мостри што треба да се изврши врз останатите свињи на фармата, во согласност со упатствата на надлежниот орган).

Бројот на примероци кои треба да се земат за вирусолошки тестови треба да биде во согласност со упатствата од официјалниот ветеринар, во зависност од видот на тестовите кои треба да се извршат, осетливоста на лабораториските тестови и епидемиолошката состојба.

3. Во случај на појава на секундарни жаришта, официјалниот ветеринар може да одлучи да отстапи од точките 1 и 2, дел Б наведени погоре во оваа глава и да воспостави ад хок постапка за земање примероци, земајќи ги предвид веќе достапните епидемиолошките податоци за потеклото и начинот на внесување на вирусот на одгледувалиштето и потенцијалното ширење на болеста на одгледувалиштето.

В. Постапка за земање примероци во случај на колење/убивање на свињи како

превентивна мерка на сомнително одгледувалиште

1. Кога на сомнително одгледувалиште се врши колење/убивање на свињи како превентивна мерка, во согласност со член 4 став (3) точка (а) или член 7 став (2) од овој правилник, треба да се земат примероци од крв за серолошки тестови и примероци од крв или тонзили за вирусолошки тестови, во согласност со постапката наведена во точка 2, дел В од оваа глава за да се потврди или исклучи присуството на класична чума кај свињите или да се добијат дополнителни епидемиолошки информации.

2. Примероци се земаат од :

- свињите кои имаат постмортални промени или промени кои укажуваат на класична чума кај свињите и свињите во контакт,
- други свињи кои можеби имале ризични контакти со заразени или сомнителни животни или за кои постои сомневање дека се заразени со вирусот на класична чума кај свињите.

Од овие свињи треба да бидат земени примероци во согласност со упатствата на официјалниот ветеринар, имајќи ја во предвид епидемиолошката состојба и во согласност со постапки за земање примероци опишани во следната постапка:

Треба да се изврши земање примероци по случаен избор од свињи од секоја поединица на објектот на одгледувалиштето (доколку превентивното убивање биде ограничено на само еден дел од фармата каде се наоѓаат свињите за кои се сомнева дека се инфицирани или заразени со вирусот на класична чума кај свињите, во согласност со член 4, став (4) од овој правилник, земањето примероци исто така ќе се ограничи на соодветната под-единица до таа мера, без оглед на дополнителните тестови и земањето примероци што треба да се изврши на останатите свињи на фармата, во согласност со упатствата на надлежниот орган). Минималниот број на примероци кои треба да се земат за серолошки испитувања во секоја поединица на објектот треба да биде доволен за да овозможи идентификација со 95% сигурност доколку преваленцата е 10%.

Во случај на:

- маторици, минималниот број на свињи кои треба да се испитаат треба да овозможи идентификација со 95 % сигурност доколку преваленцата е 5% (во случаи на сомнеж за присуството на класична чума кај свињите на една фарма со ограничен број на прасиња, пропорцијата на инфицирани свињи може да биде минимална. Во вакви случаи треба да се земат примероци од поголем број на маторици),
- центар за собирање на семе, примероци треба да бидат земени од сите нерези

Видот на примероци кои треба да се земат за вирусолошки тестови треба да биде во согласност со упатствата од официјалниот ветеринар, во зависност од видот на тестовите кои треба да се направат, осетливоста на лабораториските

тестови и епидемиолошката состојба.

Г. Постапки за контрола и земање примероци пред одобрување на движење на свињи од одгледувалишта сместени во заштитната зона и зоната под надзор и во случај на колење на овие свињи

1. Покрај одредбите од член 11 точка(1) став 7 и во согласност со член 10 став(3) од овој правилник, движењето на свињи од одгледувалишта сместени во заштитната зона и зоната под надзор, може да биде одобрено само по клинички преглед од официјален ветеринар извршен:

- во период од 24 часа пред преносот на свињите, и
- во согласност со одредбите наведени во точка.2, дел А од оваа глава.

2. Ако свињите треба да бидат пренесени од едно на друго одгледувалиште, покрај испитувањата наведени во точка 1 од овој дел, треба да се изврши клинички преглед на свињите во секоја поединица од објектот каде се наоѓаат животните кои треба да се пренесат. Во случај на свињи постари од три или четири месеци возраст, испитувањето треба да вклучува и мерење на температурата на одреден број на свињи.

Минималниот број на свињи кои треба да се испитуваат во поединиците од овие објекти треба да биде доволен да овозможи идентификација со 95% сигурност доколку преваленцата е 10%.

Во случај на:

- маторици, минималниот број на свињи кои треба да се испитаат треба да овозможи идентификација со 95 % сигурност доколку преваленцата на болеста е 5 %, во поединиците каде се држат маториците кои треба да се пренесуваат
- нерези, треба да бидат испитани сите животни наменети за пренос.

3. Во случај на превоз на свињите во кланица, во објект за преработка или на друго место каде треба да бидат убиени или заклани, покрај испитувањата наведени во точка 1 од овој дел, треба да се изврши клинички преглед на свињите од секоја поединица на објектот каде се наоѓаат животните кои треба да се пренесат. Во случај на свињи постари од три или четири месеци возраст, испитувањето треба да вклучува и мерење на температурата на одреден број на свињи.

Минималниот број на свињи кои треба да се испитуваат во овие поединици на објектот треба да биде доволен да овозможи идентификација со 95% сигурност доколку преваленцата е 20%.

Во случај на маторици или нерези, минималниот број на свињи кои треба да се испитуваат во поединиците на објектите во кои се наоѓаат животните кои треба да се пренесат треба да овозможи идентификација со 95% сигурност доколку преваленцата е 5%.

4. Кога свињите од точка 3 од овој дел се колат или убиваат треба да бидат земени примероци од крв за серолошки тестови и примероци од крв или тонзили за вирусолошки тестови од свињи од поединиците на објектите во кои се наоѓаат животните кои треба да се пренесат.

Минималниот број на примероци кои треба да се земат од секоја поединица треба да биде доволен да овозможи идентификација со 95% сигурност доколку преваленцијата е 10 %

Во случај на маторици или нерези, минималниот број на свињи кои треба да се испитаат во поединиците во кои се наоѓаат животните кои треба да се пренесат треба да овозможи идентификација со 95% сигурност доколку преваленцата е 5%

Видот на примероци кои треба да се земат и тестовите кои треба да се направат треба да бидат во согласност со упатствата на официјалниот ветеринар, во зависност од видот на кои тестовите кои може да се извршат, осетливоста на лабораториските тестови и епидемиолошката состојба.

5. По исклучок на точка 4 на овој дел ако во текот или по колењето или убивањето кај животните се откријат клинички знаци или постмортални промени кои укажуваат на класична чума кај свињите, се применуваат начините на земање примероци наведени во дел В од оваа глава.

Д. Постапки за контрола и земање примероци во однос на повторно населување на нови животни на одгледувалиштата

1. При повторно населување на свињи на одгледувалиштата во согласност со член 13 став (2) точка 1) или точка 2) или член 19 став(9), точка 2) од овој правилник, се земаат примероци:

- во случај на повторно населување на возрасни свињи, примероци од крв за серолошки тестови се земаат по случаен избор од одреден број свињи доволен да овозможи идентификација со 95% сигурност доколку преваленцата е 10% во секоја поединица на одгледувалиштето,
- во случај на целосно повторно населување, треба да бидат земени по случаен избор примероци од крв за серолошки тестови од одреден број свињи доволен да овозможи идентификација со 95% сигурност доколку преваленцата е 20% во секоја поединица на одгледувалиштето,

Кај маторици или нерези, бројот на примероци кои треба да се земат треба да овозможи идентификација со 95% сигурност доколку преваленцата е 10%.

2. По повторното населување на одгледувалиштето, во секој случај на болест или на смрт на свињите од одгледувалиштето од непознати причини, официјалниот ветеринар треба веднаш да спроведе тестирање на класична чума кај свињите. Овие одредби се применуваат до целосното укинување на ограничувањата предвидени со член 13 став (2) точка 1) и со член 19 став (9), точка 2) од овој правилник.

Ѓ. Постапка за земање примероци на одгледувалишта кои се наоѓаат во заштитна зона пред укинувањето на мерките

1. За да мерките од член 10 од овој правилник, престанат да важат во една заштитна зона, во сите одгледувалишта во зоната треба да:
 - се изврши клинички преглед во согласност со дел А, точки 2 и 3 од оваа глава,
 - бидат земени примероци од крв за серолошки тестови во согласност со она што е предвидено во точка 2 од овој дел.
2. Минималниот број на примероци од крв кои треба да се земат во секоја поединица од објектот треба да биде доволен за да овозможи идентификација со 95% сигурност доколку преваленцата е 10%.

Во случај на:

- маторици, минималниот број на примероци кои се земаат треба да овозможи идентификација со 95% сигурност доколку преваленцата е 5%.
- центар за собирање на семето, примероци треба да бидат земени од сите нерези .

Е. Постапка за земање примероци на одгледувалишта кои се наоѓаат во зоната под надзор пред укинувањето на ограничувањата/мерките

1. За да мерките кои се применуваат во заштитната зона согласно член 11 од овој правилник, престанат да важат во сите одгледувалишта од зоната треба да се изврши клинички преглед во согласност со дел А, точка 2.

Дополнително, треба да бидат земени примероци од крв за серолошко испитување од свињи:

- во сите одгледувалишта во кои не се одгледуваат свињи на возраст меѓу два или осум месеци,
- секогаш кога официјалниот ветеринар се сомнева дека класична чума кај свињите може да се шири незабележано меѓу маторици,
- во било кое друго одгледувалиште каде официјалниот ветеринар смета дека е потребно земање на примероци,
- во сите собирни центри за семе.

2. Бројот на примероци од крв кои треба да се земат за серолошки тестови во одгледувалишта кои се сместени во зона под надзор, треба да биде во согласност со точка 2, дел Ѓ.. Во случај кога официјалниот ветеринар се сомнева дека класична чума кај свињите може да се шири незабележано меѓу маторици, може да нареди земање на примероци само во поединиците на објектот каде се наоѓаат маториците.

Ж. Серолошки надзор и земање примероци во областите каде постои сомневање или е потврдено присуството на класична чума кај дивите свињи

1. Во случај на серолошки надзор на дивите свињи во области каде е потврдено или постои сомневање за присуство на класична чума кај свињите,

големината и географската област на целната популација од која треба да се земаат примероци треба однапред да се дефинира, за да се утврди бројот на примероци кои треба да бидат земени. Бројот/ количината на примероци треба да биде определена во функција на проценетиот број на живи животни, а не на животни убиени од ловците.

2. Во случај кога нема податоци за густината и големината на популацијата, треба да се дефинира географската област во рамките на која треба да биде извршено земањето на примероци, водејќи сметка за постојаното присуство на дивите свињи и постоењето на природните или вештачките бариери за да се спречат големи и постојани поместувања на животните. Ако вакви услови не се утврдени или ако областа е особено широка, се препорачува ограничување на областа од која се земаат примероци на 200 км², обично населени со популација од околу 400-1 000 диви свињи.
3. Без оглед на одредбите од член 15, став (2), точка 3) од овој правилник, минималниот број на свињи од кои се земаат примероци во определената област треба да биде доволен за откривање на серолошко присуство од 5 % со доверба од 95 %. За таа цел треба да бидат земени примероци од најмалку 59 животни во секоја област за земање на примероци.

Се препорачува:

- во областите каде што ловот е поинтензивен и почест, или каде што се практикува селективен лов како мерка за борба против болестите, околу 50 % од животните од кои се земени примероци да се на возраст меѓу три месеци и една година, 35 % од онаа меѓу една и две години и 15 % да се на возраст над 2 години,
 - во областите каде што ловот е послаб или нема лов, да се земаат примероци од најмалку 32 животни од секоја од трите возрасни групи,
 - земањето примероци да се врши за кратко време, по можност не повеќе од еден месец,
 - возраста на животните да се определува според забите.
4. Собирањето примероци за вирусолошки тестови од дивите свињи убиени или пронајдени мртви треба да биде извршено согласно глава V, дел Б, точка 1.

Кога вирусолошкиот надзор на убиените диви свињи е неопходен, истиот првенствено се врши врз животните на возраст меѓу три месеци и една година.
 5. Сите примероци кои треба да бидат испратени до лабораторијата треба да бидат придружени со пропишан образец.

V Глава

Земање и превоз на примероци

A. Општи постапки и критериуми

1. Пред да се започне со земање на примероци од сомнителното одгледувалиште, треба да се нацрта мапа на одгледувалиштата, означувајќи ги епидемиолошките поделеници.
2. Во случај кога е потребно второ земање на примероци, сите свињи од кои се земаат примероци треба да бидат означени, така да бидат лесно препознаени за второто земање на примероци.
3. По исклучок на Глава IV, дел A. Точка 6. б), не се земаат примероци за серолошки тестови од прасиња помали од осум недели.
4. Сите примероци до лабораторијата се испраќаат придружени со соодветен образец, пропишан од директорот на Агенцијата за храна и ветеринарство. Овој формулар вклучува детали од историјата на свињите од кои се земени примероци, клиничките знаци или постморталните промени.

Во случај на свињи кои се чуваат во одгледувалиште, треба јасно да се наведе возраста, категоријата и одгледувалиштето на потекло на секое животно од кое е земен примерок. Местоположбата на секое животно од кое е земен примерок треба да се означи со соодветна ознака.

B. Земање примероци за вирусолошки тестови

1. За откривање на антигенот или геномот на вирусот на класична чума кај свињите од угинати или еутанизирани животни најсоодветни примероци се ткивата на тонзилите, слезенката и бубрезите. Дополнително треба да се земат по два примерока од другите лимфни ткива: ретрофарингеалните, паротидните, мандибуларни или мезентеријални лимфни јазли, и еден примерок од илеумот.

Во случај на автолиза на трупови, треба да се земе цела долга коска или стернум.

2. Во случај на свињи кои покажуваат знаци на треска или други симптоми на болест, треба да се земат примероци од антикоагулирана или згрушена крв во согласност со упатствата од официјалниот ветеринар.
3. Вирусолошките тестови треба да се применуваат кога има присуство на болни животни. Вирусолошките тестови не се погодни кога се спроведува надзор на животни кои не покажуваат клинички знаци. Во случај кога цел на надзорот е голема популација на животни за откривање на вирусот на класична чума кај свињите кај свињите во фаза на инкубација, најсоодветниот примерок е од

тонзилите.

В. Превоз на примероците

1. Сите земени примероци треба:

- да бидат складирани и превезени во непропустливи контејнери,
- да не се замрзнуваат, и да се чуваат свежи на температура од 4°C,
- да бидат доставени до лабораторијата во најкраток можен рок,
- да бидат чувани во амбалажа на сув мраз наместо мраз,
- во случај на примероци од ткиво или органи, да бидат ставени во посебни пластични кеси, запечатени и соодветно обележани и потоа ставени во поголеми и цврсти контејнери, завиткани со доволна количина на абсорбирачки материјал за да се заштитат од евентуални оштетување и абсорбирање на течноста во случај на истекување.
- да бидат превезени директно до лабораторијата во најкраток временски период од страна на одговорно лице.

2. На надворешноста на амбалажата треба да бидат јасно наведени адресата на лабораторијата примач и изјавата: „Патолошки материјал од животинско потекло. Расиплив. Кршлив. Да не се отвора надвор од лабораторија за класична чума кај свињите“.

3. Лабораторијата за која се наменети примероците треба да биде однапред информирана за времето и начинот на пристигнување на примероците.

4. Во случај на превоз на примероците по воздушен пат до референтната лабораторија на Заедницата за класична чума кај свињите, амбалажата треба да биде означена во согласност со прописите на IATA.

VI Глава

Лабораториски тестови за откривање на вирусот и толкување на резултатите

А. Откривање на антигенот на вирусот

1. Тест со флуоресцентни антитела (FAT)

Со овој тест се врши откривање на вирусниот антиген на тенки криосекции од органски материјал од свињи за кои постои сомeneвање дека се заразени со класична чума кај свињите. Интрацелуларниот антиген е откриен преку антитело конјугирано со FITC. Позитивен резултат треба да биде потврден со повторување на боењето со специфично моноклонско антитело.

Соодветни органите на овој тест се тонзилите, бубрезите, слезената, разни лимфни јазли и илеумот. Кај дивите свињи во случај кога овие органи не се достапни или биле подложени на автолиза може да се користи размаз од клетки на коскена срж.

Тестот може да се направи во еден ден. Бидејќи примероците од органи може да се земаат само од мртви животни, примена за целите на скрининг е ограничена. Веродостојноста на резултатот може да биде намалена со сомнително боење, особено ако тестот се изведува без потребното искуство или ако органите кои се користат биле подложени на автолиза.

2. ELISA тест за откривање на антигенот

Вирусниот антиген може да се открие со различни техники на ELISA. Чувствителноста на антиген ELISA треба да биде доволно висока за да се добие позитивен резултат од животни кои покажуваат клинички знаци на класична чума кај свињите.

Употребата на ELISA тест за откривање на антиген се препорачува на примероци од животни кои покажуваат клинички знаци или патолошки промени на болеста. Овој метод не е погоден за истражување на поединечни животни. Соодветни примероци се леукоцитите, серумот, некоагулирана крв, како и суспензии на органите, земени од свињи за кои постои сомнеж дека се заразени од класична чума кај свињите.

ELISA тестот може да се направи во еден ден, со помош на автоматска опрема. Основната предност е во тоа што може да се третираат голем број на примероци за кратко време. Се препорачува употребата на ELISA техники кои даваат задоволителни резултати за соодветниот материјал. Сите ELISA тестови кои се на пазарот се помалку осетливи во однос на изолацијата на вирусот на клеточна култура и нивната чувствителност е значително подобра на примероци од крв од прасиња отколку од возрасни свињи.

Б. Изолација на вирусот

1. Изолацијата на вирусот се заснова на инкубацијата на материјалот примерок на приемливи клеточни култури од свинско потекло. Ако вирусот на класична чума кај свињите е присутен во примерокот, тој ќе се репродуцира во клетките во видливи количини кои се утврдуваат во имунолошкиот потенцијал на инфицираните клетки со конјугирани антители. Специфичните антители на класична чума кај свињите се потребни за да може да се направи диференцијална дијагноза во однос на други вируси од чума.
2. Најпогодни примероци за изолација на вирусот од класична чума кај свињите се леукоцитите, крвната плазма или целосна крв од примероци од некоагулирана крв, или органите наведени во дел А точка 1 од оваа глава.
3. Изолацијата на вирусот како тест подобро одговара за анализа на примероците земени од мал број на животни, во однос на спроведување на надзор кај поголема популација на животни. Овој тест бара поголем работен ангажман, а резултатите може да се добијат најрано за три дена. Две понатамошни пасажи на култури на клетки се потребни за да се открие мало количество на вирус во примерокот. Крајниот резултат од тестот може да биде добиен по десет дена. Примероците кои биле изложени на автолиза можат да бидат цитотоксични за клеточната култура и на тој начин да се ограничат нивната употребата.
4. Се препорачува тестот на изолација на вирусот да се примени како потврден тест во случај кога класична чума кај свињите е примарно потврдена со други методи. Изолацијата на вирусот треба да се користи како референтен тест за потврдување на позитивните резултати претходно добиени со методи на ELISA-антиген, PCR или FAT, или индиректно боење со пероксидаза.

Изолатите од вирусот на класична чума кај свињите се користат за карактеризирање на вирусот, за генетската типизација и молекуларната епидемиологија.

5. Сите изолати од вирусот на класична чума кај свињите добиени од примарните жаришта, од примарните случаи кај дивите свињи или случаи на класична чума кај свињите во клиниките или во превозните средства треба генетски да се типизираат во националната референтна лабораторија или во референтната лабораторија на ЕУ, во согласност со дел Д од оваа глава

Изолатите од вирусот треба да се испратат до референтната лабораторија на ЕУ за чување на вирусот.

В. Откривање на геномот на вирусот

1. За откривање на геномот на вирусот во примероци од крв, ткива или органи се користи Полимераза верижната реакција (PCR). Мали фрагменти од вирусна РНК се транскриптираат во ДНК фрагменти кои се засилуваат со PCR за да се добијат забележителни износи. Бидејќи овој тест овозможува да се открие само сегмент од геномот на вирусот, PCR може да даде позитивен резултат

дури и во отсуство на агенс од вирус (на пример на ткива од автолиза или на примероци земени од рековалесцентни животни).

2. PCR може да се користи за мал број на примероци внимателно избрани од сомнителни животни или материјал од абортирани фетуси.

PCR може да биде еден од соодветните методи за испитување на труповите на диви свињи, особено ако е започната автолиза/распаѓање на материјалот и поради цитотоксичност изолација на вирусот е невозможна.

3. Материјал соодветен за дијагноза со PCR се органи (истите како за вирус изолација) или некоагулирана крв.
4. Тестот PCR се врши во рок од 48 часа. За спроведување на тестот потребна е соодветна лабораториска опрема, посебни простории и квалификуван персонал. Предноста на овој метод е тоа што не треба да се реплицираат во лабораторија инфизираните вирусни честички. Методата е исклучително осетлива, но сепак при спроведување може да дојде до контаминирање што може да резултира со лажно позитивна реакција, поради што е потребно контрола и висока професионалност при спроведување на тестот. Тестовите се повеќе специфични за причинители од родот Pestivirus отколку за класична чума кај свињите и затоа се потребни дополнителни тестови за потврдување, како секвенционирање на производот од PCR.

Г. Толкување на резултатите од вирусолошките тестови

1. Вирусолошки тестови се тестови за потврда на класична чума кај свињите.

Изолацијата на вирусот се смета како референтен вирусолошки тест и треба да се користи како тест за потврда, каде што е потребно. Овој тест особено се препорачува кога е добиен позитивниот резултат со FAT, ELISA или PCR во отсуство на клинички знаци или лезии типични за болеста, или во секој друг сомнителен случај.

Сепак, примарната појава на епидемијата на класична чума кај свињите е потврдена кога се забележани клинички знаци или лезии кај испитаните свињи и најмалку два теста за откривање на антигенот или геномот дале позитивни резултати.

Секундарната појава на жариште на класична чума кај свињите е потврдена кога, освен утврдувањето на епидемиолошка врска меѓу појавата или еден потврден случај, биле забележани клинички знаци или лезии кај испитани свињи и еден тест за откривање на антигенот или геномот даде позитивен резултат.

Примарен случај на класична свинска чума кај диви свињи е потврден по изолацијата на вирусот или ако најмалку два теста за откривање на антигенот или геномот дале позитивни резултати. Понатамошни случаи на класична чума кај диви свињи, за кои епидемиолошката врска е воспоставена со случаи

веќе претходно потврдени, се потврдува ако еден тест за откривање на антигенот или геномот даде позитивни резултати.

2. Еден тест за откривање на антигенот или геномот може да даде позитивен резултат ако е направен со специфични антители или иницијатори на вирусот на класична чума кај свињите. Ако тестот не е одреден за класична чума кај свињите, но само за вируси од чуми, мора да се повтори со специфични реагенси на класична чума кај свињите.

Д. Генетска типизација на изолатите на вирусот на класична чума кај свињите

1. Генетската типизација на изолатите на вирусот на класична чума кај свињите се постигнува со одредување на нуклеотидната секвенца на делови од вирусниот геном, поточно на одредени делови на некоординиран сегмент 5' и/или ген од гликопротеин Е2. Сличноста на овие секвенции со оние веќе добиени од претходните изолати на вирус може да покажат дали појавите на болеста се предизвикани или не од нови или веќе признаени видови. Патиштата на пренос може да се потврдат или побијат врз основа на епидемиолошко истражување.

Генетската типизација на изолатите на вирусот на класична чума кај свињите особено е важна за одредување на потеклото на болеста. Тесна врска меѓу вирусите од различни појави на епидемии не е апсолутен доказ за постоењето на директна епидемиолошка врска.

2. Ако не може да се направи во кратко време типизацијата на вирусот во националната референтна лабораторија или која било друга лабораторија овластена за дијагноза на класична чума кај свињите, треба да се испрати што е можно побрзо оригинален примерок на изолатот на вирусот во референтната лабораторија на Заедницата.

Податоците од типизацијата и секвенционирањето на вирусот на класична чума кај свињите во сопственост на Националната референтна лабораторија треба да бидат пренесени во референтната лабораторија на Заедницата за да бидат ставени во базата на податоци одржувани на оваа лабораторија.

Информациите содржани во базата на референтната лабораторија на Заедницата треба да се на располагање на националната референтна лабораторија.

VII Глава

Серолошките тестови и толкување на резултатите

А. Основни принципи и дијагностичка вредност

1. Антителата во серум кај свињи заразени со класична чума кај свињите, може да се детектираат втората или третата недела по инфекцијата. Кај свињите кои ја прележале болеста, заштитни неутрализирачки антитела може да се откријат и по неколку години или дури и во текот на животот на животното. Повремено, антителата се присутни дури и кај тешко болните животни во крајната фаза. Во случај на хронична форма на болеста, антителата може да се појават неколку дена на крајот од првиот месец од инфекцијата.

Свињите инфицирани пернатално може да бидат имунотолерантни во однос на хомологен вирус на класична чума кај свињите и да не произведуваат специфични антитела. Сепак, во првите денови од животот се пронаоѓаат антитела со потекло од мајката. Полуживотот на мајчините антитела кај здравите прасиња без виремија е околу две недели. Доколку антителата на класична чума кај свињите се најдат кај прасињата постари од три месеци веројатно е дека тие се со потекло од мајката.

2. Откривањето на антитела против вирусот на класична чума кај свињите во серум или плазма е со цел дијагноза на сомнителните одгледувалишта, откривање на староста на инфекцијата на одгледувалиште каде жариште е потврдено и за надзор. Серолошките тестови имаат ограничена употреба за утврдувањето на класична чума кај свињите на одгледувалиштета со скорешна инфекција.

Серопозитивни свињи со низок степен на неутрализација може да бидат индикативни на скорешна инфекција (од 2 до 4 недели). Свињите со висок титар на неутрализација покажуваат дека вирусот е присутен на одгледувалиштета повеќе од еден месец. Местоположбата на серопозитивни свињи на одгледувалиштета обезбедува корисни податоци за начинот на кои вирусот влегол во одгледувалиштето.

Точно толкување на резултатите од серолошките тестови треба да се врши и во однос на клиничките, вирусолошките и епидемиолошките наоди и во рамките на епидемиолошката истрагата која се спроведува во случај на појава на сомнеж или потврда на жариште на класична чума кај свињите во согласност со член 8 од овој правилник.

Б. Препорачани серолошки тестови

1. Тест за неутрализација на вирус (VNT) и ELISA тест се тестови за серолошка дијагноза на класична чума кај свињите.

Квалитетот и ефикасноста на серолошката дијагноза реализирана од страна

на националната референтна лабораторија треба периодично да се проверува во однос на компаративниот тест меѓу лабораториите организиран од страна на референтната лабораторија на Заедницата.

2. VNT се заснова на определување на активноста на вирус-неутрализатор на антитела присутни во примерокот на серум, изразен во однос на лимит на неутрализација од 50 %.

Постојана/константна количина на вирусот на класична чума кај свињите е инкубирана на температура од 37 °C со разреден серум. За цели на скрининг серумите се на почеток разредени 1/10. Кога е потребна целосна титрација, се подготвуваат дупли раствори на серум почнувајќи од 1/2 или 1/5. Секое разредување се меша со еднаков волумен на суспензија од вирус кој содржи 100 инфективни дози (CTID 50).

По инкубација, смесата се инокулира во клеточните култури кои се инкубират три до пет дена. По овој период на инкубација, клеточните култури се фиксирани и евентуалната репликација на вирусот во инфицираните клетки може да се открие преку системот за имунолошко означување. Може да се користи неутрализација со пероксидаза-поврзани антитела (NPLA) или имунофлуоресцентна неутрализација (NIF).

Резултатите од VNT се изразени како реципрочна вредност на почетен раствор на серум, каде во пола од инокулираните клеточни култури (лимитирани на 50 %) отсуствува вирусна репликација (нема специфично означување). Ве проценува точката помеѓу двете нивоа на разредување. Крајното разредување на системот се заснова на актуелното разредување на серумот во текот на реакцијата на неутрализација, односно по додавањето на вирусот но пред додавањето на клеточната суспензија.

3. VNT е најчувствителниот и најсигурниот тест за откривање на антителата против вирусот на класична чума кај свињите. Се препорачува за серолошки тест за едно животно како и во стадо/одгледувалиште. Со овој тест може да се открие вкрстена неутрализација на антитела специфични за инфекции со вирусите од чуми од преживарите во свињите.

Тестот VNT за откривање на антитела на вирусот на говедска вирусна дијареа и на „бордерска болест“ се базира на истите правила наведени погоре и се користи за диференцијална дијагноза на класична чума кај свињите.

4. Соевите на Пести вируси кои се употребуваат во тестовите на неутрализација се во согласност со препораките од страна на референтната лабораторија на Заедницата.
5. Техниките на ELISA тест кои користат специфични моноклонални антитела се групирани во две категории: компетитивна или блокирачка ELISA, и не-компетитивна ELISA.

Компетитивната или блокирачка ELISA главно се заснова на моноклонални

антитела. Ако примерокот од серум содржи антитела против вирусот на класична чума кај свињите, врската меѓу одредено моноклонално пероксидаза поврзано антитело со антигенот на вирусот ќе биде инхибирано, што ќе резултира со намалување на сигналот.

Во не-компетитивна ELISA, врската меѓу антителата на серумот и антигенот на вирусот се мери директно со помош на пероксидаза конјугирани антитела со против свињи.

6. Националните лаборатории треба да вршат редовни контроли на квалитетот во однос на чувствителноста и специфичноста на секоја серија на тестови на ELISA, користејќи серија референтни серуми добиени од референтната лабораторија на Заедницата. Оваа серија вклучува:

- серуми од свињи во рана фаза на инфекција од класична чума кај свињите (пред 21 ден од инфекцијата),
- серуми од рековалесцентни свињи (по 21 ден од инфекцијата),
- серуми од свињи инфицирани со вирусни чуми кај преживари.

ELISA тестот користен за дијагноза на класична чума кај свињите треба да ги признаат сите референтни серуми на рековалесцентните свињи. Сите резултати добиени со референтните серуми треба да може да се повторат. Се препорачува тие да можат да ги откријат сите позитивни серуми од раната фаза и да покажат минимални вкрстени реакции со серуми од свињи инфицирани со чуми кај преживари предизвикани од вирус.

Добиените резултати со референтните серуми на свињите во рана фаза на инфекција даваат индикација за чувствителноста на ELISA тестот.

7. Тестовите ELISA се помалку чувствителни на VNT, затоа се препорачува да се користат како скрининг тест на ниво на стадо/одгледувалиште. Тие бараат, помалку специјализирана техника и може да бидат извршени побрзо од VNT, благодарение на автоматските системи со кои располагаат.

ELISA тестот треба да овозможи откривање на сите инфекции од класична чума кај свињите во фаза на оздравување и треба да биде колку што е можно повеќе ослободен од интерференции со можни вкрстени реакции предизвикани од антитела на вируси од чуми од преживари.

В. Толкување на резултатите од серолошките тестови и диференцијална дијагноза во однос на инфекции од вируси од чуми на преживари (BVDV и BDV)

1. Во согласност со член 4 став (3) точка (а) или член 7 став (2) од овој правилник, ако се најде титар за неутрализирање на вирусот на класична чума кај свињите еднаков или поголем од 10 ND₅₀ во серумски примероци земени од една или повеќе свињи, или во случај на позитивен ELISA тест во серумски примероци од група на свињи, на одгледувалиштето веднаш ќе почнат или ќе продолжат да се применуваат мерките наведени во член 4 став (2) од овој

правилник.

Примероците земени од оваа одгледувалиште треба да бидат повторно испитани со VNT, со конечна компаративна титрација на неутрализирали антитела на вирусот на класична чума кај свињите и на вирусите од чуми на преживарите.

2. Ако компаративните тестови покажуваат антитела на вируси од чуми кај преживари, додека се отсутни или се појавуваат во значителна мера пониски (помалку од три пати) антителата на класична чума кај свињите, сомнежот во врска со оваа болест е елиминиран, освен ако не постојат други причини за одржување во сила на соодветната одгледувалиште на мерките наведени во член 4(2) од Правилникот за мерки за сузбивање и искоренување на класична чума кај свињите.
3. Ако компаративните тестови покажуваат, кај повеќе од една свиња, титар за неутрализирање на вирусот еднаков или поголем од 10 ND₅₀ и ако овој титар е еднаков или поголем од оние на другите вируси од чуми, надлежниот орган ја потврдува класична чума кај свињите, под услов на соодветното одгледувалиште да бидат пронајдени епидемиолошки докази за болеста.
4. Ако не се пронајдени епидемиолошки докази за болеста или ако резултатите од претходните тестови се недоволни, без да е во спротивност со член 4 став (3) од овој правилник, , официјалниот ветеринар на соодветното одгледувалиште треба да:
 - продолжат да се применуваат мерките наведени во член 4 став (2) од овој правилник,
 - се извршат што е можно поскоро дополнителни испитувања за да се потврди или исклучи присуството на класична чума кај свињите, во согласност со глава IV.
5. Ако, дополнителните испитувања наведени во точка 4 од овој дел не дозволуваат исклучување на класична чума кај свињите, треба да се земат нови примероци од крв за серолошко испитување откако ќе поминат најмалку две недели од претходните контроли.

Во рамките на ова ново земање примероци, свињите кои се веќе избрани и испитани ќе бидат подложени на ново земање примероци за компаративно серолошко тестирање во однос на претходните примероци, со цел да се откријат можните сероконверзии на класична чума кај свињите или вируси од чуми кај преживари.

Ако и после овие нови тестови се уште не е можно да се потврди класична чума кај свињите, мерките наведени во член 4 од овој правилник, може да бидат укинати.

VIII Глава

Дискриминаторски тестови во случај на итна вакцинација

A. Основни принципи

1. Дискриминаторски серолошки ЕЛИСА тест е достапен за успешно да се направи разлика кои свињи биле вакцинирани со маркер вакцина кои индуцираат самоантитела само против E2 гликопротеинот на вирусот на класична чума кај свињите, од свињи кои се заразени со див тип на вирусот на класична чума кај свињите. Тестот ги детектира антителата против гликопротеинот E^{ms} од вирусот на класична чума кај свињите. Тестот е заснован на принципот дека не-заразени животни вакцинирани со маркер вакцина произведуваат само антитела против гликопротеинот E2 од вирусот на класична чума кај свињите, додека животните реално заразени со вирусот реагираат и произведуваат антитела и против други вирусни антигени.

Овој дискриминаторен тест е сензитивен и специфичен (сензитивноста на дискриминаторниот тест е 94% а специфичноста е околу 98%). Сепак свињите кои биле инфицирани со вирусот на класична чума кај свињите туку со друг пест вирус како БВД вирусот или БД, исто така ќе реагираат позитивно на E^{ms}. Сензитивноста на тестот не е идеална, сепак некои маркер вакцинирани животни кои потоа се заразени/инфицирани може да не реагираат позитивно на E^{ms}.

Податоците кои се достапни укажуваат дека дискриминаторниот тест не може да се користи како сигурен тест за примероци од серум кај диви свињи.

2. Дискриминаторниот тест е течна фаза на блокирачки ЕЛИСА. Примероците кои треба да се тестираат се инкубираат врз микротитарски плочи обложени со моноклонални анти-E^{rns} антитела заедно со дефинирана вредност на E^{rns} антиген. Секое антитело специфично за E^{rns} се врзува за одредена количина од антигенот на E^{rns} во растворот и се формира комплекс антиген-антитело кој не реагираат со анти-E^{rns} антителата од микротитарската плоча. По миењето на микротитарската плоча за да се отстрани материјалот кој не реагирал, пероксидаза означен анти-E^{rns} конјугат се додава за да се поврзе со комплексот со антигенот на E^{rns} и антителата обложени на површината на микротитарската плоча.

Конјугатот кој не е поврзан се отстранува со измивање и со додавање на супстрат кој содржи хромоген. Степенот на обојување кое се развива е обратно пропорционално со количината на антитела специфични за E^{rns} присутен во примерокот. Ако примерокот е негативен и не содржи антитела тогаш количината на E^{rns} антиген кој е додаден се врзува со анти-E^{rns} антителата од површината на плочата и се забележува јака/интензивна реакција во боја.

Резултатот се добива со споредување на оптичката густина (OD) во вдлабнатините кои содржат примероци за испитување со негативни и позитивни контроли.

Б. Упатство за користење на дискриминаторниот тест во контекст на итна вакцинација со маркер вакцина на одгледувалишта на свињи во согласност со член 19 овој правилник.

Дискриминаторниот тест е дизајниран да потврди присуство или отсуство на циркулирање на вирусот на класична чума кај свињите во популација на свињи вакцинирани со маркер вакцина. Достапните податоци укажуваат на тоа дека тој може успешно да се користи за стада, но не може со сигурност да се исклучи дека индивидуални свињи се заразени со вирусот на класична чума кај свињите. Односно специфичноста на дискриминаторниот тест не е доволна со сигурност да разграничи свињи вакцинирани со маркер вакцини од заразени свињи во случај на вакцинирање на возрасни свињи. Во случај на сомнителни резултати свињите сепак ќе треба да бидат заклани и нештетно отстранети и нивните органи тестирани на вирусот на класична чума кај свињите. Изолација на вирус и PCR се најсоодветни тестови за оваа цел.

Овие аспекти треба да се земат во предвид при креирање на стратегија за итна вакцинација со маркер вакцина и толкување на резултатите од спроведен надзор на вирус на класична чума во популација со животни вакцинирани со маркер вакцина.

Процедурата за земање на примероци и тестирање на вакцинирана популација на свињи пред симнување на ограничувањата во област каде се спроведува вакцинација во согласност со член 19 од Правилникот за мерки за сузбивање и искоренување на класична чума кај свињите, зависи од староста на свињите кои се вакцинирани, категоријата на свињи (тов/колење, приплод) и посакуваното ниво на безбедност во однос на отсуство на циркулација на вирусот во популацијата.

IX Глава

Минимални безбедносни барања кои треба да бидат исполнети во лабораториите одговорни за класична чума кај свињите

1. Минималните барања утврдени во табела 1 треба да бидат почитувани во сите лаборатории во кои се манипулира, дури и во мали количини, вирусот на класична чума кај свињите, како што е предвидено за тестовите за изолација и неутрализација на вирусот. Постморталните тестови, третманот на ткивата за ФАТ и серолошките тестови со неактивен антиген бараат помалку строги услови, со оглед дека се доволни за оваа намена основните мерки за хигиена, дезинфекција по манипулацијата и безбедно елиминирање на ткивата и серумите.
2. Дополнителните барања наведени во табела 1 треба да бидат почитувани во сите лаборатории во кои се спроведува екстензивно множење на вирусот.
3. Барањата наведени во табела 2 треба да бидат почитувани во сите лаборатории во кои се вршат експерименти на животни во присуство на вирусот на класична чума кај свињите.
4. Сите резерви од вирусот на класична чума кај свињите треба да бидат чувани на безбедно место, во лиофилизирана состојба или замрзнати. Се препорачува да не се користат замрзнувачи и фрижидери за други вируси различни од оној на класична чума кај свињите, ниту за други материјали кои немаат влијание на дијагнозата на класична чума кај свињите. Секоја епрувета треба да биде јасно означена и резервите на вирусот треба да се точно евидентирани, заедно со датумите и резултатите од контрола на квалитетот. Исто така, треба да се евидентираат вирусите кои се додаваат на резервата, означувајќи го потеклото, како и вирусите кои се пренесуваат на други лаборатории.
5. Се препорачува да се структурира единицата на биосигурност во која се манипулира вирусот на класична чума кај свињите така што да биде опкружена со места кои не се одредени за манипулација на вирусот туку за изработка на садови и места, за изработка и одржување на клеточни култури не инфицирани, за третман на серуми и серолошки тестови (со исклучок на методите кои користат живи вируси), како и различни административни служби.

Табела 1

Правила за биолошка безбедност на лабораториите за дијагностика

	Дополнителни барања	Минимални барања
Општа средина	Нормален атмосферски притисок Двоен ХЕПА филтер на вдишаниот воздух Приспособени простории, кои се користат само за дијагностицирање на класична чума кај свињите	Нормален атмосферски притисок Приспособени простории чија употреба е ограничена на одредените постапки
Лабораториска облека	Целосна промена при влезот Лабораториска облека која се носи само во единицата за манипулација со вирусот на класична чума кај свињите Ракавици кои се користат само еднаш за сите манипулации на инфициран материјал Облека стерилизирана пред излегување од единицата или миена внатре во неа	Специјална надворешна облека која се носи само во единицата за манипулација со вирусот на класична чума кај свињите Ракавици кои се користат само еднаш за сите манипулации на инфициран материјал Надворешна облека стерилизирана пред излегување од единицата или миена внатре во неа
Контрола на персоналот	Пристап во единицата резервиран само за обучен персонал Миене и дезинфекција на рацете при излез од единицата Забрането за персоналот да се приближи до свињите 48 часа по заминувањето од единицата	Пристап во единицата резервиран само за обучен персонал Миене и дезинфекција на рацете при излез од единицата Забрането за персоналот да се приближи до свињите 48 часа по заминувањето од единицата
Опрема	Оддел за биолошка сигурност (класа I или II) за сите манипулации на живи вируси. Одделот треба да биде опремен со двоен ХЕПА филтер на вдишаниот воздух Сите потребни апарати за лабораториските постапки треба да бидат достапни во рамките на приспособените простории	

Табела 2

Услови за биосигурност на просториите одредени за експериментални животни

	Барања
Општа средина	Контролирана вентилација на негативен притисок Двоен ХЕПА филтер на вдишаниот воздух Уред за прочистување на чад/целосна дезинфекција на крајот од експериментот Третман (хемиски или термички) на сите отпадни материјали за деактивирање на вирусот на класична чума кај свињите
Лабораториска облека	Целосна промена при влезот Ракавици кои се користат само еднаш за сите манипулации Облека стерилизирана пред излегување од единицата или миена внатре во неа
Контрола на персоналот	Пристап во единицата резервиран само за обучен персонал Целосно тушурање при излезот од единицата Забрането за персоналот да се приближи до свињите 48 часа по заминувањето од единицата
Опрема	Сите потребни апарати за операциите на животни треба да бидат достапни во рамките на единицата Стерилизација на сите материјали при напуштање на единицата или, во случај на примероци од животниско потекло, двојна амбалажа во херметички контејнер дезинфициран на површината за транспорт до лабораторијата одговорна за класична чума кај свињите
Животни	Убивање на сите животни пред излезот од единицата, постмортални тестови кои треба да се извршат во рамките на областа за биосигурност и горење на труповите на крајот на тестовите

ⁱ Законот за благосостојба на животните е усогласен со Директива на советот 93/119/ЕЗ од 22 Декември 1993 година за заштита на животните за време на убивање, Целекс број 31993L0119, со последната измена со Регулотива на советот 1099/2009: