

AGENȚIA NAȚIONALĂ  
PENTRU  
SIGURANȚA ALIMENTELOR

MD-2009, mun. Chișinău, str. M. Kogălniceanu, 63,  
Republica Moldova  
Tel/fax. (+373 22) 26-46-40



НАЦИОНАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО  
ПО БЕЗОПАСНОСТИ  
ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

MD-2009, ул. М. Когэличану, №63, г.Кишинев,  
Республика Молдова  
Тел./факс. (+373 22) 26-46-40

ORDINUL  
mun. Chișinău

„24” 01 2018

Nr. 34

**Cu privire la aprobarea  
Manualului de Diagnostic  
pentru Pesta Porcină Africană**

Întru executarea prevederilor Hotărîrii de Guvern nr. 1368 din 19.12.2016, Anexa nr.2 privind aprobarea Normei sanitar - veterinară privind stabilirea unor prevederi specifice de combatere a pestei porcine africane, Publicat: 23.12.2016 în Monitorul Oficial Nr. 453-458 art Nr: 1427,

**ORDON:**

1. Se aprobă Manualul de Diagnostic pentru pesta porcină africană, conform anexei.
2. Direcția Supraveghere Sanitar – Veterinară din cadrul Agenției Naționale pentru Siguranța Alimentelor, în comun cu I.P. CRDV, va organiza instruire privind implementarea întocmai a prevederilor Manualului de Diagnostic pentru pesta porcină africană.
3. Prezentul Ordin va fi publicat pe pagina web al Agenției.
4. Controlul asupra executării prezentului Ordin îl exercit personal.

Director general

Gheorghe GABERI

Prezentul Ordin este elaborat de către Direcția Supraveghere Sanitar - Veterinară, Manualul de diagnostic de către Instituția Publică Centrul Republican de Diagnostică Veterinară.

**COORDONAT:**

**Din partea IP CRDV:**

I. ROIBU

N. ANTOCI

D. MUTU

O. GROZA

O. BRICULISCAIA



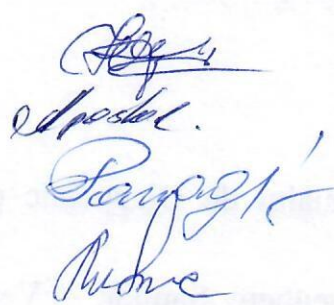
**Din partea ANSA:**

V. CARAUȘ

X. APOSTOL

A. PANAGHIU

A. MUTRUC







# Republica Moldova

GVERNUL REPUBLICII MOLDOVA

AGENȚIA NAȚIONALĂ PENTRU SIGURANȚA ALIMENTELOR

I.P. CENTRUL REPUBLICAN DE DIAGNOSTICĂ VETERINARĂ  
SECȚIA VIRUSOLOGIE

## MANUAL DE DIAGNOSTIC

# Pesta Porcină Africană

CHIȘINĂU 2018



# MANUAL DE DIAGNOSTIC AL PESTEI PORCINE AFRICANE

<b>Capitolul I: Descrierea și etiologia pestei porcine africane .....</b>	<b>3-6</b>
<b>Capitolul II: Linii directoare privind principalele criterii care trebuie reținute pentru a considera o exploatație suspectă de pesta porcină africană.....</b>	<b>6</b>
<b>Capitolul III: Proceduri de control și prelevare a probelor.....</b>	<b>6-12</b>
<b>Secțiunea 1. Linii directoare și proceduri privind examenul clinic și prelevarea probelor de la porci într-o exploatație suspectă.....</b>	<b>6-8</b>
<b>Secțiunea 2. Proceduri de prelevare a probelor în exploatații, în cazul sacrificării porcilor, ca urmare a confirmării bolii .....</b>	<b>8-9</b>
<b>Secțiunea 3. Proceduri de prelevare a probelor la sacrificarea porcilor ca măsură preventivă într-o exploatație suspectă. ....</b>	<b>9</b>
<b>Secțiunea 4. Proceduri de control și de prelevare a probelor care trebuie puse în aplicare înainte de eliberarea autorizației sanitar-veterinare cu documentele de însoțire, potrivit Hotărârii Guvernului nr. 793 din 22.10.2012 pentru aprobarea Normei sanitar-veterinare privind protecția și bunăstarea animalelor în timpul transportului, pentru mișcarea porcilor din exploatațiile situate în zonele de protecție sau de supraveghere și în cazul sacrificării sau uciderii acestor porci (Capitolul IX și X din Anexa 2 Hotărârea de Guvern nr. 1368 din 19.12.2016) .....</b>	<b>9-10</b>
<b>Secțiunea 5. Proceduri de control și de prelevare a probelor într-o exploatație, în cazul repopulării .....</b>	<b>11</b>
<b>Secțiunea 6. Proceduri de prelevare a probelor în exploatațiile situate în zona de protecție înainte de ridicarea restricțiilor .....</b>	<b>11</b>
<b>Secțiunea 7. Proceduri de prelevare a probelor în exploatațiile situate în zona de protecție înainte de ridicarea restricțiilor .....</b>	<b>12</b>
<b>Secțiunea 8. Proceduri de supraveghere serologică și de prelevare a probelor în zonele în care se suspectează sau a fost confirmată prezența pestei porcine africane la porcii sălbatici.....</b>	<b>12</b>
<b>Capitolul IV: Proceduri și criterii generale privind prelevarea și transportul probelor .....</b>	<b>13-14</b>
<b>Secțiunea 1. Proceduri și criterii generale .....</b>	<b>13</b>
<b>Secțiunea 2. Prelevarea de probe destinate testelor virusologice.....</b>	<b>13</b>
<b>Secțiunea 3. Transportul probelor .....</b>	<b>13-14</b>
<b>Capitolul V: Principii și utilizări ale testelor virusologice și evaluarea rezultatelor .....</b>	<b>14-15</b>
<b>Secțiunea 1. Detectarea antigenului viral .....</b>	<b>14</b>
<b>Secțiunea 2. Detectarea genomului viral.....</b>	<b>14-15</b>
<b>Secțiunea 3. Teste virusologice recomandate și evaluarea rezultatelor.....</b>	<b>15</b>
<b>Secțiunea 4. Caracterizarea genetică a izolatelor virusului pestei porcine africane.....</b>	<b>15</b>
<b>Capitolul VI: Principiile și utilizarea testelor serologice și evaluarea rezultatelor .....</b>	<b>16</b>
<b>Secțiunea 1. Principii fundamentale și valoare de diagnostic .....</b>	<b>16</b>
<b>Secțiunea 2. Teste serologice recomandate .....</b>	<b>16</b>
<b>Capitolul VII: Condiții minime de siguranță obligatorii în laboratoarele competente pentru pesta porcină africană .....</b>	<b>16-17</b>
<b>Bibliografia.....</b>	<b>18</b>



## Capitolul I

### Descrierea și etiologia pestei porcine africane

#### Etiologie

Pesta porcină africană (în continuare – PPA) este provocată de un virus ADN anvelopat, este unicul arbovirus cu lanț dublu de ADN aparținând genului Asfivirus din familia Asfarviridae, avînd drept gazde naturale atât porcii domestici, cât și pe cei sălbatici, însuși acest virus are abilitateade a se replica și în căpușile cu platoșă moale din genul Ornithodorus.

Virulența virusului pestei porcine africane variază în funcție de tulpină, fiind mult mai rezistent și stabil în mediu decît virusul Pestei porcine clasice, deși nu se pot identifica serotipuri diferite. Este o boală virală sistemică, contagioasă, febrilă, asemănătoare pestei porcine clasice. Se poate transmite prin căpușe cu cuticula moale din genul Ornithodorus spp.

Virusul pestei porcine africane este foarte stabil în excrețiile porcilor infectați, în carcasele de porc, în carnea proaspătă de porc și în anumite produse din carne de porc. Trebuie folosiți dezinfectanți corespunzători pentru a asigura neutralizarea în mediu.

Au fost identificate cel puțin 28 de proteine în particulele virale intracelulare. Genomul viral este compus din 170-192 kilobaze, cu regiune înalt conservată de aproximativ 125 kilobaze.

În Europa, principala cale naturală de infectare a porcilor este de tip oro-nazal, prin contact direct sau indirect cu porci infectați sau prin administrarea la animale a alimentelor contaminate cu virus. Cu toate acestea, în regiunile în care există vectori, transmiterea prin aceștia din urmă are un rol foarte important în persistența și răspândirea virusului.

Pesta porcină africană se poate răspândi, de asemenea, prin contact indirect cu materii contaminate cît și prin înțepătura insectelor contaminate - vectori ai virusului pestei porcine africane. Boala se poate transmite prin material seminal provenind de la vieri infectați.

Odată infectat un porc virusul se replică în monocitele și macrofagele locale, iar apoi ajunge la nivelul limfonodulilor regionale urmat de raspindire în tot corpul cu ajutorul circulației sanguine. În perioada acută virusul este prezent în toate organele și țesuturile și este eliminat prin toate secrețiile. Virusul poate fi prezent în organele porcilor vindecați până la 6 luni după infecție.

Perioada de incubație la indivizi este cuprinsă între 5 și 15 zile, dar în condiții reale simptomele clinice pot să nu apară într-o exploatație decăt după mai multe săptămâni de la introducerea virusului și chiar mai mult, în cazul în care tulpina virală este atenuată.

Porcii infectați produc o gamă largă de anticorpi mai puțin anticorpi neutralizanți, care pot fi detectați prin diferite metode. Anticorprii specifici reprezentați de IgG sunt detectabili începand cu a 7-a zi postinfecție și pot persista o perioadă îndelungată.

Pesta porcină africană prezintă forme acute, subacute și cronice, evoluția fiind dependentă, în principal, de virulența virusului.

Viremia persistă între 40 și 60 de zile la porcii convalescenți după infecție, care devin purtători ai virusului. Virusul PPA a fost izolat la porcii infectați până la șase luni după infectare.

#### Perioada de incubație

- 2-3 zile, în cazul infecțiilor experimentale,
- 5-15 zile, în cazul infecțiilor naturale,
- Posibil chiar câteva săptămâni, în cazul infecțiilor naturale cu tulpini slab patogene

#### Evoluție clinică

Diferită, dependentă de virulența tulpinii de virus infectante:

- 1) În infecții cu tulpini de virus foarte virulente:
  - a) forma supraacută;
  - b) forma acută.
- 2) În infecții cu tulpini moderat virulente:
  - a) forma subacută;
- 3) În infecții cu tulpini cu virulență redusă:
  - a) forma cronică sau inaparentă



### Semne clinice

#### Semne clinice in forma acuta:

- febra (41°C), anorexie, letargie, hiperemie multifocala si leziuni hemoragice ale pielii,
- conjunctivite, cianoza pielii, in special a extremitatilor;
- constipatie pasagera, alternand cu diaree, vomitari ocazionale, dispnee, tuse;
- ataxie (tulburare a coordonării mișcărilor voluntare din cauza lezării unor căi nervoase și centri nervoși), pareze si convulsii;
- moarte, dupa 5-15 zile de la aparitia semnelor clinice;
- mortalitatea la mistreții tineri poate atinge 100%;

#### Semne clinice in forma cronica:

- apatie, apetit capricios, pirexie, diaree prelungita;
- refacere aparenta cu eventuale recăderi si moarte, in final.

#### Semne clinice in forma congenitala:

- tremur congenital, slăbiciune, dezvoltare greoaie pe parcursul câtorva săptămâni sau luni, urmată de moarte;
- purceii afectați sînt normali din punct de vedere clinic, dar rămași on urmă cu creșterea, prezintă viremie persistentă, fără răspuns imun.

#### Forma moderata la scroafe:

- pirexie (stare febrilă) trecătoare și inapetență;
- moartea fetușilor, resorbție, mumificare, naștere prematură;
- avort (rar)

### Leziuni morfopatologice:

#### În forma acută:

- peteșii (pată de culoare roșie-vișinie) și echimoze răspîndite neuniform, în ganglionii limfatici, laringe, vezica, rinichi, conexiunea ileocecală;
- infarcte multifocale marginale pe splină, caracteristice, deși nu sunt întotdeauna prezente, însoțite de leucopenie si trombocitopenie;
- ganglionii limfatici sunt măriți în volum și hemoragici;
- encefalomielite cu îngroșări perivasculare.

#### In forma cronica:

- butoni ulcerosi în cecum și in intestinul gros;
- modificari ale tesutului limfoid;
- adesea, lipsesc leziunile hemoragice si inflamatorii.

#### In forma congenitală

- erori în formarea mielinei din SNC,
- hipoplazie cerebelară, microencefalie, hipoplazie pulmonara, hidropizie si alte malformatii;

### Diagnostic diferential:

Se realizează față de:

#### 1. pesta porcină clasică:

Deosebirile clinice și lezionale sunt greu sesizabile, fiind de remarcat:

- Durata perioadei febrile: pe aproape toată durata bolii în PPC, și de numai 12-14 zile în PPA;



- Dispneea (astmă) și tusea sunt sporadice în PPC și mult mai frecvente în PPA, afectând obișnuit mai mult de 30% din porci;
  - Se pot observa scurgeri oculare și nazale sanguinolente, inexistente în PPC;
  - Moartea intervine mai repede ca în PPC, posibil chiar de a doua zi după debutul clinic;
  - Avort frecvent, la 5-8 zile de la infecție sau 1-3 zile de la puseul (manifestare bruscă și puternică (însoțită de ridicarea temperaturii)) afebril, iar în PPC avorturile sunt sporadice;
  - În formele cronice, găsim artrite și necroze cutanate, inexistente în PPC;
  - Leziunile hemoragice sunt cu mult mai grave, întâlnind hemotorax, hemopericard și hemoperitoneu, inexistente în PPC;
- Este foarte important ca aceste diferențe să fie sesizate de examinator, pentru a nu întârzia procesul de eradicare a PPA și pentru a nu difuza boala în exterior.

### **2. salmoneloze** care:

- Evoluează ca episod, doar pe porci de 10-16 săptămâni (3-4 luni);
- au febră asemănătoare (40,5-41,7), dar în salmoneloză moartea porcelor febrili se produce mult mai repede, obișnuit în două zile;
- Leziuni cutanate de tip congestiv-hiperemic, fără o demarcație netă între pielea afectată și cea neafectată, cum găsim în PPA și PPC, iar testul la presiune cutanată este pozitiv (pielea afectată reia culoarea inițială imediat ce presiunea exercitată asupra ei dispăre, apoi redevine congestiv-hiperemică);
- Cazurile de salmoneloză sunt sporadice la porci mai mari de 4 luni.

### **3. pasteureloze** care:

- Sunt boli de stres ce afectează, în principal, aparatul respirator;
- Au o evoluție clinică scurtă, de 5-10 zile (rar chiar 3-5 săptămâni);
- Produc hidrotorax și hidropericard, dar nu și ascită cum întâlnim în PPA;
- Multe animale evoluează spre vindecare, cu sechele sau cronicizare;
- Și aici leziunile cutanate sunt de tip congestiv-hiperemic, cu test de presiune cutanată pozitiv, ca în salmoneloze.

### **4. rujet:**

- Afectează obișnuit porcii mai mari de 55 kg, cu febră mare (41.1-42,8 °C) și moarte în 12-48 ore;
- Anorexie și, inconstant, icter cu sau fără hemiglobinurie;
- Posibil și forme nervoase (meningite, tremor), inexistente în PPA;
- Mortalitatea este redusă și cedează la terapia cu derivați de penicilină.

### **5. purpura trombocitopenică:**

- Apare sporadic și animalele afectate nu sunt febrile.

### **6. intoxicații cu substanțe cumarinice:**

- Obișnuit întâlnite la aproximativ două săptămâni de la deratizări;
- Leziuni de diateză hemoragică pe animale nefebri;
- În niciunul dintre cazurile examinate, nu sunt decelabile leziuni splenice.

### **7. intoxicații cronice cu benzen sau substanțe cu lanț benzoic:**

- Întâlnite la porcii crescuți în apropierea rafinărilor de petrol, sau la cei furajați cu furaje proteice ce conțin reziduri;
- Pe exemplarele afebrile, sunt decelabile leziuni limitate de diateză hemoragică.

## **Capitolul II**

### **Linii directe privind principalele criterii care trebuie reținute pentru a considera o exploatare suspectă de pesta porcină africană**

1. O exploatare este considerată suspectă de PPA pe baza următoarelor constatări, criterii și motive:

1) semne clinice și modificări anatomo-patologice la porci.

Principalele semne clinice și modificări anatomo-patologice care trebuie reținute sunt următoarele:

a) febră, însoțită de morbiditate și mortalitate la porcii de toate vârstele;



b) febră însoțită de sindrom hemoragic; peteșii și echimoze, în special în limfonoduri, rinichi și splină (care este mărită în volum și închisă la culoare, în special în forma acută a bolii), precum și în vezica urinară, și ulcerații ale vezicii biliare;

2) indici epidemiologici.

Principalii indici epidemiologici care trebuie reținuți sunt următorii:

a) porci care au avut contacte directe sau indirecte cu o exploatație de creștere a porcilor în care s-a demonstrat contaminarea cu pesta porcină africană;

b) exploatație care a livrat porcine, ce s-au dovedit apoi contaminată cu virusul pestei porcine africane;

c) scroafe care au fost inseminate artificial cu material seminal de proveniență suspectă;

d) porci care au avut contacte indirecte sau directe cu porci sălbatici dintr-o populație în care s-au semnalat cazuri de pestă porcină africană;

e) porci crescuți în libertate într-o zonă în care porcii sălbatici sunt contaminați cu pesta porcină africană;

f) porci hrăniți cu ape murdare despre care se poate presupune că nu au fost tratate astfel încât să neutralizeze virusul pestei porcine africane;

g) eventuala expunere datorată, în special, intrării în exploatație sau în mijlocul de transport a unor persoane venind din exploatații suspecte de a fi infectate sau infectate cu virusul PPA;

h) vectori prezenți pe teritoriul exploatației.

2. O exploatație trebuie să fie considerată suspectă în cazul în care există suspiciunea pestei porcine africane în exploatație, datorită semnelor clinice sau modificărilor patologice, dar unde nici o investigație clinică, epidemiologică sau de laborator nu a condus la confirmarea bolii sau la identificarea altor surse sau agenți ai bolii în exploatația respectivă.

### Capitolul III Proceduri de control și prelevare a probelor

#### Secțiunea 1

#### ORIENTĂRI ȘI PROCEDURI PRIVIND EXAMENUL CLINIC ȘI PRELEVAREA PROBELOR DE LA PORCI ÎNTR-O EXPLOATAȚIE SUSPECTĂ

1. Autoritatea competentă se asigură că se va efectua un examen clinic, o prelevare a probelor și investigații de laborator corespunzătoare în exploatațiile suspecte, pentru a confirma sau a înlătura prezența pestei porcine africane, în conformitate cu orientările și procedurile prevăzute la pct. 2-6.

Independent de adoptarea măsurilor prevăzute la cap.III, pct. 8 al HG 1368 din 19.12.2016 privind aprobarea Normei sanitar-veterinară privind stabilirea unor prevederi specifice de combatere a pestei porcine africane ( *în continuare Norma sanitar – veterinară*), care reiesă din articolul 4 alineatul (2) din Directiva 2002/60/CE în exploatația respectivă, aceste orientări și proceduri se aplică, de asemenea, la toate patologiile pentru care diagnosticul diferențial ia în considerare eventualitatea pestei porcine africane. Acestea se referă, de asemenea, la cazurile în care semnele clinice și tabloul epidemiologic al bolii observate la porci sugerează o foarte mică probabilitate a prezenței pestei porcine.

În toate celelalte cazuri de suspiciune de contaminare cu virusul pestei porcine africane la unul sau mai mulți porci, măsurile prevăzute la cap.III, pct. 8 *al Normei sanitar – veterinară* vor fi adoptate în exploatația suspectă respectivă.

În cazul în care se suspectează prezența pestei porcine africane la porcii din abator sau din mijloacele de transport, orientările și procedurile prevăzute la punctele 2-6 se aplică *mutatis mutandis*.

2. În cazul în care un medic veterinar oficial vizitează o exploatație suspectă pentru a confirma sau



excluce prezența peștei porcine africane, el procedează:

- la verificarea registrelor de producție și a situației sanitare a exploatației, în cazul în care sunt disponibile, la inspectarea fiecărei subunități a exploatației pentru a selecționa porcii care urmează a fi supuși examenului clinic.

Examenul clinic cuprinde măsurarea temperaturii corporale și se referă, în primul rând, la porcii sau următoarele categorii de porci:

- porci bolnavi sau anorexici;
- porci introduși de curând și provenind din focare confirmate sau din alte surse suspecte;
- porci deținuți în subunități recent vizitate de vizitatori externi, care au intrat de curând în contact strâns cu porci suspecti sau infectați cu pestă porcină africană sau care au fost recunoscuți că au avut contacte deosebit de riscante cu o sursă potențială de virus de PPA;
- porci deja supuși prelevării de probe și testelor serologice de depistare a peștei porcine africane, în cazul în care rezultatele testelor nu permit excluderea prezenței peștei porcine africane, precum și porcii în contact;
- porci care s-au vindecat de curând.

În cazul în care inspectarea exploatației suspecte nu a dovedit prezența nici unui porc sau a nici unei categorii de porci enumerate anterior, autoritatea competentă procedează astfel încât, fără să aducă atingere altor măsuri care pot fi aplicate în exploatația în cauză, în conformitate cu *Norma sanitar – veterinară* și ținând seama de situația epidemiologică:

- să se efectueze alte investigații în exploatația respectivă, în conformitate cu punctul 3, sau
- să fie prelevate probe de sânge de la porcii din exploatație, în vederea testelor de laborator. În acest caz, procedurile de prelevare a probelor prevăzute la punctul 5, partea A și la punctul 2 din partea F se aplică orientativ, sau
- să se adopte ori să se mențină măsurile prevăzute la cap.III, pct. 8 al *Normei sanitar – veterinară*, în așteptarea investigațiilor suplimentare care urmează a fi efectuate în exploatația respectivă, sau
- să fie înlăturată suspiciunea de pestă porcină africană.

3. Atunci când se face trimitere la prezentul punct, examenul clinic care urmează să fie efectuat în exploatația respectivă trebuie să vizeze porci aleși la întâmplare în subunitățile în care riscul de introducere a virusului peștei porcine africane a fost constatat sau în cele în care se suspectează prezența virusului.

Numărul minim de porci care urmează a fi examinați trebuie să permită detectarea, în subunități, a unei prevalențe a bolii de 10 % și, după caz, cu un nivel al încrederii de 95 %.

4. În cazul în care într-o exploatație suspectă se constată că sunt porci morți sau muribunzi, se procedează la examene post-mortem, de preferință la cel puțin cinci porci și în special la porcii care:

- prezentau semene foarte clare ale bolii înainte de moarte;
- aveau temperatură foarte ridicată;
- au murit de curând.

În cazul în care aceste examene nu au pus în evidență leziuni care să sugereze apariția peștei porcine africane, dar datorită situației epidemiologice se consideră că este necesară efectuarea de investigații suplimentare, se procedează:

- în subunitatea în care erau deținuți porcii morți sau muribunzi, la un examen clinic, în conformitate cu prevederile punctului 3 și la prelevarea de probe de sânge, în conformitate cu prevederile punctului 5 și
- la un examen post-mortem a trei sau patru porci în contact, în special în cazul în care porcii prezintă semne clinice.



Independent de prezența sau absența leziunilor care sugerează apariția pestei porcine africane, trebuie prelevate probe de organe sau de țesuturi de la porcii care au făcut obiectul examenului post-mortem, pentru a le supune testelor virologice, în conformitate cu capitolul V partea B punctul 1. De preferință, probele se prelevează de la porci morți de curând.

În cursul examenelor post-mortem, autoritatea competentă trebuie să procedeze astfel încât să ia precauțiile și măsurile de igienă necesare pentru a evita răspândirea bolii.

5. În cazul în care, într-o exploatație suspectă, se constată alte semne clinice sau leziuni care ar putea să sugereze apariția pestei porcine africane, dar pe care autoritatea competentă le consideră insuficiente pentru a confirma existența unui focar de pestă porcină africană și, în consecință, sunt necesare teste de laborator, probele de sânge destinate acestor teste trebuie să fie prelevate de la porci suspecți sau de la alți porci, în fiecare dintre subunitățile în care sunt deținuți porcii suspecți, în conformitate cu procedurile următoare:

- a) numărul minim de probe care urmează să fie prelevate în vederea testelor serologice trebuie să permită detectarea, în subunitățile respective, a unei seroprevalențe de 10 % cu un nivel al încrederii de 95 %;
- b) numărul de probe care urmează să fie prelevate în vederea testelor virologice va fi conform cu instrucțiunile autorității competente, care vor ține seama de gama de teste ce pot fi efectuate, de sensibilitatea testelor de laborator utilizate și de situația epidemiologică.

6. În cazul în care, după examenele efectuate într-o exploatație suspectă, nu se depistează nici semne clinice, nici leziuni de natură să sugereze apariția pestei porcine africane, dar autoritatea competentă consideră că este necesară efectuarea unor teste de laborator suplimentare pentru a înlătura orice probabilitate de pestă porcină africană, procedurile de prelevare a probelor stabilite anterior la punctul 5 se vor aplica orientativ.

## Secțiunea 2

### **PROCEDURI DE PRELEVARE A PROBELOR ÎN EXPLOATAȚII, ÎN CAZUL SACRIFICĂRII PORCILOR, CA URMARE A CONFIRMĂRII BOLII**

1. În vederea stabilirii împrejurărilor în care a fost introdus virusul pestei porcine africane într-o exploatație infectată și a perioadei care a trecut de la introducere, la sacrificarea porcilor într-o exploatație, după confirmarea focarului, în conformitate cap. IV, pct. 11, alin. 2) din *Norma sanitar - veterinară*, probele de sânge destinate testelor serologice se prelevează, în mod aleatoriu, de la porci în momentul sacrificării.

2. Numărul minim de porci supuși prelevării de probe trebuie să permită detectarea unei seroprevalențe de 10 % cu un nivel al încrederii de 95 % pentru porcii din fiecare subunitate a exploatației.

De asemenea, se vor preleva probe în vederea testelor virologice, în conformitate cu instrucțiunile autorității competente, care vor ține seama de gama de teste care pot fi efectuate, de sensibilitatea testelor de laborator utilizate și de situația epidemiologică.

În cazurile în care prezența vectorilor infectați cu virusul pestei porcine africane a fost demonstrată anterior, trebuie prelevate, de asemenea, probe adecvate de argaside, în vederea testelor virologice, în conformitate cu instrucțiunile autorității competente și cu Anexa nr.3 la *Norma sanitar - veterinară*.

3. Cu toate acestea, în cazul apariției de focare secundare, autoritatea competentă poate să decidă derogarea de la dispozițiile punctelor 1 și 2 și să stabilească alte proceduri de prelevare a probelor, ținând seama de informația epidemiologică deja disponibilă referitoare la sursă și la căile de introducere a virusului în exploatație și de răspândirea potențială a bolii pornind din exploatație.



### Secțiunea 3

## PROCEDURI DE PRELEVARE A PROBELOR LA SACRIFICAREA PORCILOR CA MĂSURĂ PREVENTIVĂ ÎNTR-O EXPLOATAȚIE SUSPECTĂ

1. Pentru a confirma sau a înlătura posibilitatea prezenței peștei porcine africane și pentru a obține informații epidemiologice suplimentare, la sacrificarea porcilor dintr-o exploatație suspectă, ca măsură preventivă, în conformitate cu dispozițiile cap. III, pct. 9, alin. 1) din Norma sanitar - veterinară sau cap. VI, pct.20 din *Norma sanitar - veterinară*, articolului 4 alineatul (3) litera (a) sau ale articolului 7 alineatul (2) din Directiva 2002/60/CE, probele de sânge destinate testelor serologice și virologice trebuie prelevate în conformitate cu procedura stabilită la pct. 2.

2. Prelevarea probelor se referă cu prioritate la:

- porcii care prezintă semne sau leziuni post-mortem, care sugerează apariția peștei porcine africane, precum și porcii în contact;
- alți porci care ar fi putut avea contacte de risc cu porci infectați sau suspecti sau porci suspecti de a fi fost contaminați de virusul peștei porcine africane. Prelevarea probelor de la porci trebuie efectuată în conformitate cu instrucțiunile autorității competente, care vor ține seama de situația epidemiologică.

De asemenea, porcii provenind din fiecare subunitate a exploatației trebuie să facă obiectul unei prelevări aleatorii a probelor. În acest caz, numărul minim de probe care urmează a fi prelevate în vederea testelor serologice trebuie să permită detectarea unei seroprevalențe de 10 % cu un nivel al încrederii de 95 % în subunitatea respectivă.

Tipul de probe care urmează a fi prelevate în vederea testelor virologice și testele care urmează a fi utilizate vor fi în conformitate cu instrucțiunile autorității competente care va ține seama de gama de teste care pot fi efectuate, de sensibilitatea testelor și de situația epidemiologică.

### Secțiunea 4

## PROCEDURI DE CONTROL ȘI DE PRELEVARE A PROBELOR CARE TREBUIE PUSE ÎN APLICARE ÎNAINTE DE ELIBERAREA AUTORIZAȚIEI SANITAR-VETERINARE CU DOCUMENTELE DE ÎNSOȚIRE, POTRIVIT HOTĂRÎRII GUVERNULUI NR. 793 DIN 22.10.2012 PENTRU APROBAREA NORMEI SANITAR-VETERINARE PRIVIND PROTECȚIA ȘI BUNĂSTAREA ANIMALELOR ÎN TIMPUL TRANSPORTULUI, PENTRU MIȘCAREA PORCILOR DIN EXPLOATATELE SITUATE ÎN ZONELE DE PROTECȚIE SAU DE SUPRAVEGHERE ȘI ÎN CAZUL SACRIFICĂRII SAU UCIDERII ACESTOR PORCI (Capitolul IX și X din Norma sanitar - veterinară)

1. Fără a aduce atingere dispozițiilor cap. X, pct. 33, alin. 6) din *Norma sanitar - veterinară*, pentru a permite eliberarea autorizației de deplasare a porcilor dintr-o exploatație situată într-o zonă de protecție sau de supraveghere, în conformitate cap. IX, pct. 30 din *Norma sanitar - veterinară*, examenul clinic care urmează a fi efectuat de un veterinar oficial trebuie:

- să fie efectuat în cele 24 de ore care preced deplasarea porcilor;
- să fie conform cu dispozițiile stabilite de secțiunea 1 punctul 2.

2. În cazul în care porcii se transportă spre o altă exploatație, în afară de investigațiile necesare, în conformitate cu dispozițiile de la punctul 1, trebuie să se efectueze un examen clinic al porcilor, inclusiv măsurarea temperaturii unui anumit număr dintre aceștia, în fiecare subunitate de exploatație în care sunt deținuți porcii care urmează a fi transportați.



Numărul minim de porci care urmează a fi controlați trebuie să permită detectarea unei prevalențe a bolii de 10 %, după caz, cu un nivel al încrederii de 95 % în subunitățile respective.

3. În cazul în care porcii se transportă la un abator, la o unitate de transformare sau în alte locuri pentru a fi sacrificați sau uciși, în afară de investigațiile necesare, în conformitate cu dispozițiile punctului 1, trebuie să se efectueze un examen clinic al porcilor din fiecare subunitate în care sunt deținuți porcii care urmează a fi transportați. În cazul în care porcii au depășit vârsta de trei sau patru luni, examenul trebuie să cuprindă măsurarea temperaturii unui anumit număr de porci.

Numărul minim de porci care urmează a fi controlați trebuie să permită detectarea, în subunitatea respectivă, a unei prevalențe a bolii de 20 %, după caz, cu un nivel al încrederii de 95 %.

4. La sacrificarea sau uciderea porcilor menționați la punctul 3, trebuie să se preleveze, de la porcii provenind din fiecare subunitate din care au fost transportați porcii, probe de sânge, în vederea testelor serologice, sau probe de sânge sau organe, cum ar fi amigdalele, splina sau ganglionii limfatici, în vederea testelor virologice.

Numărul minim de probe care urmează a fi prelevate trebuie să permită detectarea unei seroprevalențe sau unei prevalențe a virusului de 10 % cu un nivel al încrederii de 95 % în fiecare subunitate.

Tipul de probe care urmează a fi prelevate și testele care urmează a fi utilizate sunt conforme cu instrucțiunile autorității competente, care vor ține seama de gama de teste ce pot fi efectuate, de sensibilitatea testelor și de situația epidemiologică.

5. Cu toate acestea, în cazul în care în momentul sacrificării sau uciderii porcilor se detectează semne clinice sau leziuni post-mortem care sugerează prezența pestei porcine africane, prin derogare de la dispozițiile punctului 4, se aplică dispozițiile referitoare la prelevarea probelor, stabilite la partea C.

6. Derogarea prevăzută la pct. 35 alineatul 3) și la pct. 31 și 32 din *Norma sanitar - veterinară*, se poate acorda, cu condiția ca autoritățile competente să se asigure ca un program intensiv de prelevări de probe și de teste să se aplice și la categoriile de porci menționate anterior la punctele 13, 14 și 15, care trebuie să facă obiectul controalelor sau de la care trebuie prelevate probe. În cadrul acestui program, numărul minim de probe de sânge care urmează a fi prelevate trebuie să permită detectarea unei seroprevalențe de 5 % cu certitudinea de 95 % din grupul respectiv de porci.

### Secțiunea 5

## PROCEDURI DE CONTROL ȘI DE PRELEVARE A PROBELOR ÎNTR-O EXPLOATAȚIE, ÎN CAZUL REPOPULĂRII

1. În cazul reintroducerii porcilor într-o exploatație în conformitate cap. XI, pct. 39 din *Norma sanitar - veterinară*, trebuie să se aplice următoarea procedură de prelevare a probelor:

- probele de sânge trebuie să fie prelevate cel mai devreme la 45 de zile după reintroducerea porcilor;
- în cazul reintroducerii porcilor santinele, probele de sânge destinate testelor serologice trebuie să fie prelevate în mod aleatoriu, de la un număr de porci care să permită detectarea unei seroprevalențe de 10 % cu un nivel al încrederii de 95 % în fiecare subunitate a exploatației;
- în cazul repopulării complete, probele de sânge destinate testelor serologice trebuie să fie prelevate în mod aleatoriu, de la un număr de porci care să permită detectarea unei seroprevalențe de 20 % cu un nivel al încrederii de 95 % în fiecare subunitate a exploatației.



2. În cazul reintroducerii porcilor într-o exploatație în conformitate cap. XI, pct. 40 din Norma sanitar - veterinară, se aplică următoarea procedură de prelevare a probelor:

- probe de sânge trebuie să fie prelevate cel mai devreme la 45 de zile de la reintroducerea porcilor;
- în cazul reintroducerii porcilor santinele, probele de sânge destinate testelor serologice trebuie să fie prelevate în mod aleatoriu, de la un număr de porci care să permită detectarea unei seroprevalențe de 5 % cu un nivel al încrederii de 95 % în fiecare subunitate a exploatației;
- în cazul repopulării complete, probele de sânge destinate testelor serologice trebuie să fie prelevate în mod aleatoriu, de la un număr de porci care să permită detectarea unei seroprevalențe de 10 % cu un nivel al încrederii de 95 % în fiecare subunitate a exploatației.

Procedura prevăzută la liniuța a treia se repetă, apoi, cel mai devreme la 60 de zile de la repopularea completă.

3. După reintroducerea porcilor, autoritatea competentă procedează astfel încât, în cazul apariției unei boli sau al decesului din cauză necunoscută a porcilor din exploatație, porcii respectivi să facă de îndată obiectul depistării peștei porcine africane.

Aceste dispoziții se aplică atât timp cât restricțiile prevăzute la cap. XI, pct. 39 și cap. XI, pct. 40 nu sunt ridicate în exploatația în cauză.

#### **Secțiunea 6**

### **PROCEDURI DE PRELEVARE A PROBELOR ÎN EXPLOATATELE SITUATE ÎN ZONA DE PROTECȚIE ÎNAINTE DE RIDICAREA RESTRICȚIILOR**

1. Pentru a permite ridicarea măsurilor prevăzute în cap. IX din Norma sanitar - veterinară la într-o zonă de protecție se efectuează în toate exploatațiile din zonă:

- un examen clinic, în conformitate cu procedurile definite la secțiunea 1 punctele 2 și 3;
- prelevarea de probe de sânge destinate testelor serologice, în conformitate cu punctul 2 de mai jos.

2. Numărul minim de probe de sânge care urmează a fi prelevate trebuie să permită detectarea unei seroprevalențe de 10 % cu un nivel al încrederii de 95 % la porcii din fiecare subunitate a exploatației.

Cu toate acestea, derogarea prevăzută la cap. IX, pct. 32 și cap. X, pct. 35 din Norma sanitar - veterinară nu se acordă decât în cazul în care autoritatea competentă se asigură ca numărul de probe prelevate să permită detectarea unei seroprevalențe de 5 % cu un nivel al încrederii de 95 % în subunitatea respectivă.

#### **Secțiunea 7**

### **PROCEDURI DE PRELEVARE A PROBELOR ÎN EXPLOATAȚIILE SITUATE ÎN ZONA DE PROTECȚIE ÎNAINTE DE RIDICAREA RESTRICȚIILOR**

1. Pentru a permite ridicarea restricțiilor prevăzute, într-o zonă de supraveghere, se efectuează în toate exploatațiile din zonă un examen clinic, în conformitate cu procedurile prevăzute la secțiunea 1 punctul 2.

De asemenea, se prelevează de la porci probe de sânge destinate testelor serologice:

- în orice altă exploatație în care prelevarea probelor este considerată necesară de autoritatea competentă;



- în toate centrele de colectare a materialului seminal.
2. În toate situațiile în care prelevările de probe de sânge destinate testelor serologice se efectuează în exploatații situate în zona de supraveghere, numărul de probe care urmează a fi prelevate trebuie să fie conform cu dispozițiile secțiunii 6 punctul 2 prima teză. Cu toate acestea, derogarea prevăzută la cap. IX, pct. 32 și cap. X, pct. 35 din Norma sanitar - veterinară nu se poate acorda decât în cazul în care autoritatea competentă se asigură ca probele de sânge să fie prelevate în vederea testelor serologice, în fiecare exploatație situată în zona respectivă. Numărul minim de probe de sânge care urmează a fi prelevate trebuie să permită detectarea unei seroprevalențe de 5 % cu un nivel al încrederii de 95 % la porcii din fiecare subunitate a exploatației.

### **Secțiunea 8**

## **PROCEDURI DE SUPRAVEGHERE SEROLOGICĂ ȘI DE PRELEVARE A PROBELOR ÎN ZONELE ÎN CARE SE SUSPECTEAZĂ SAU A FOST CONFIRMATĂ PREZENTA PESTEI PORCINE AFRICANE LA PORCII SĂLBATICI**

1. În cazul serosupravegherii porcilor sălbatici dintr-o zonă în care prezența pestei porcine africane este suspectată sau a fost confirmată, dimensiunea și aria geografică a populației țintă care urmează a fi supusă prelevării de probe trebuie stabilite dinainte, pentru a determina numărul de probe care urmează a fi prelevate. Dimensiunea eșantionului se stabilește în funcție de numărul estimat de animale vii, și nu în funcție de numărul de animale omorâte la vânătoare.
  2. În cazul în care datele privind densitatea și dimensiunea populației nu sunt disponibile, aria geografică ce urmează să facă obiectul prelevării de probe trebuie să fie delimitată ținând seama de prezența constantă a porcilor sălbatici și de existența barierelor naturale sau artificiale eficiente pentru a împiedica mari mișcări continue de animale. În cazul în care situația nu se prezintă în acest fel sau în cazul în care suprafețele sunt întinse, se recomandă delimitarea unor arii de prelevare a probelor de circa 200 km<sup>2</sup>, în măsură să adăpostească, în general, o populație de aproximativ 400 până la 1 000 de porci sălbatici.
  3. Fără a aduce atingere dispozițiilor la cap. XIII, pct. 46, alin. 3) și 7) din Norma sanitar - veterinară, numărul minim de porci care urmează a fi supus prelevării de probe în interiorul ariei de prelevare a probelor delimitate trebuie să permită detectarea unei seroprevalențe de 5 % cu un nivel al încrederii de 95 %. În acest scop, se supun prelevării de probe cel puțin 56 de animale în fiecare suprafață delimitată.
  4. Prelevarea probelor destinate testelor virologice de la porcii sălbatici uciși la vânătoare sau găsiți morți se efectuează în conformitate cu dispozițiile capitolului IV secțiunea 2 punctul 1.
- În cazul în care se consideră necesară supravegherea virusologică a porcilor sălbatici uciși la vânătoare, aceasta se efectuează cu prioritate la animalele în vârstă de sub un an.
5. Toate probele care urmează a fi trimise la laborator trebuie să fie însoțite de chestionarul menționat la cap. XVI, pct. 49, alin. 8) din Norma sanitar - veterinară

## **Capitolul IV Proceduri și criterii generale privind prelevarea și transportul probelor**

### **Secțiunea 1**

## **PROCEDURI ȘI CRITERII GENERALE**

1. Înainte de a efectua prelevarea de probe într-o exploatație suspectă, este necesar să se stabilească o hartă a exploatației și să se delimiteze subunitățile epidemiologice.



2. În orice situație în care se consideră necesară o a doua prelevare de probe, toți porcii supuși prelevării de probe trebuie să fie marcați cu un semn specific, astfel încât să poată fi supuși cu ușurință unei noi prelevări.
3. Toate probele trimise laboratorului trebuie să fie însoțite de formulare corespunzătoare, în conformitate cu prevederile stabilite de autoritatea competent (Foaia de însoțire, lista probelor prelevate). Formularele vor menționa detaliile referitoare la antecedentele porcilor supuși prelevării de probe, precum și semnele clinice sau leziunile post-mortem observate.
4. În cazul porcilor deținuți într-o exploatație, se precizează informații clare privind vârsta, categoria și exploatația de origine a porcilor supuși prelevării de probe. Se recomandă ca localizarea fiecărui porc supus prelevării de probe în exploatație să fie înregistrată în același timp cu marca sa specifică de identificare.

## Secțiunea 2

### PRELEVAREA DE PROBE DESTINATE TESTELOR VIRUSOLOGICE

1. Țesuturile provenind din amigdale, din ganglionii limfatici (gastrohepatici, renali, submaxilari și retrofaringieni), din splină, din rinichi și din plămâni porcilor morți sau eutanasiați constituie probele cele mai adecvate pentru a detecta virusul, antigenul sau genomul pestei porcine africane (7). În cazul în care carcasele sunt autolizate, un os lung întreg sau sternul este proba ideală.
2. Probele de sânge anticoagulat și/sau coagulat trebuie să fie prelevate de la porcii care prezintă semne de febră sau alte semne de boală, în conformitate cu instrucțiunile autorității competente.

## Secțiunea 3

### TRANSPORTUL PROBELOR

1. Se recomandă ca toate probele:
  - să fie corect identificate
  - să fie transportate și depozitate în recipiente etanșe;
  - să fie conservate la rece, la temperatura de refrigerare. Cu toate acestea, în cazul în care se prevede că sunt necesare mai mult de 48 de ore pentru ca probele să ajungă la laborator, se contactează laboratorul pentru a furniza instrucțiuni privind condițiile de temperatură cele mai potrivite pentru transport;
  - să fie livrate cât mai repede la laborator;
  - să fie conservate în ambalaje cu saci de gheață sau zăpadă carbonică pentru a asigura refrigerarea;
  - de țesuturi sau de organe să fie puse în containere individuale din plastic, închise ermetic și etichetate corespunzător. Acestea vor fi apoi puse în containere mai mari și învelite într-o cantitate de material absorbant suficientă pentru a le proteja de orice vătămare și pentru a absorbi scurgerile;
  - pe cât posibil, să fie transportate direct la laborator de către o persoană competentă, astfel încât să se asigure un transport rapid și fiabil.
2. Pe partea exterioară a ambalajului se menționează adresa laboratorului de destinație și se afișează foarte vizibil următoarele indicații:  
*„Material patologic de origine animală, perisabil, fragil, a nu se deschide în afara unui laborator competent pentru pesta porcină africană”.*
3. Persoana competentă din laboratorul de destinație a probelor trebuie să fie informată în timp util despre sosirea probelor. Laboratorul Național pentru PPA este Î.P.CRDV.



4. În cazul în care probele sunt expediate pe calea aerului la laboratorul internațional de referință pentru pesta porcină africană (8), ambalajul se etichetează în conformitate cu regulamentele Asociației de Transport Aerian Internațional (AITA).

## Capitolul V

### Principii și utilizări ale testelor virusologice și evaluarea rezultatelor

#### Secțiunea 1

#### DETECTAREA ANTIGENULUI VIRAL

##### 1. Testul de imunofluorescență directă

Principiul testului este detectarea microscopică de antigen viral pe frotiuri de amprentă sau pe criosecțiuni de organe provenind de la porci suspecți de a fi infectați cu virusul pestei porcine africane. Antigenul se detectează cu ajutorul unui anticorp specific conjugat cu FITC (izotiocianatul de fluoresceină). În citoplasmă celulelor infectate apar incluziuni celulare sau granule fluorescente. Organele adecvate sunt rinichii, splina, precum și mai multe limfonoduri. Pentru porcii sălbatici, se poate folosi, de asemenea, frotiuri de măduvă osoasă, în cazul în care organele nu sunt disponibile sau sunt autolizate.

Testul se poate efectua pe parcursul a două ore. Deoarece probele de organe nu pot fi prelevate decât de la animale moarte, utilizarea lor în vederea depistării este limitată.

Este un test extrem de sensibil pentru a fi utilizat în cazurile de pestă porcină africană în formă acută. În ceea ce privește formele subacute sau cronice, sensibilitatea testului de imunofluorescență directă nu este decât de aproximativ 40 %, probabil datorită prezenței de complexe antigeni-anticorpi care blochează reacția cu anticorpul conjugat cu FITC. Gradul de încredere al rezultatelor poate fi limitat de colorații îndoielnice, mai ales în cazul în care experiența dobândită în materie de execuție a testului nu este mare sau în cazul în care organele examinate sunt autolizate.

##### 2. Testul ELISA pentru detectarea antigenului

Antigenul viral poate fi de asemenea detectat cu ajutorul tehnicilor ELISA, dar acest test nu se recomandă decât pentru formele acute ale bolii, din cauza slabei sensibilități în prezența complexelor antigeni-anticorpi. Sensibilitatea antigenului ELISA ar trebui să fie suficientă pentru a obține un rezultat pozitiv la animalele care prezintă semne clinice ale formei acute a pestei porcine africane. În orice situație, se recomandă utilizarea acestui test doar ca "test de efectiv de animale" și utilizarea în relație cu alte teste virusologice.

#### Secțiunea 2

#### DETECTAREA GENOMULUI VIRAL

3. PCR servește la detectarea genomului viral în probele de sânge, de ser, de țesut sau de organe. Fragmentele mici de ADN viral sunt amplificate în testul PCR în cantități detectabile. Se poate detecta o gamă largă de izolate aparținând tuturor genotipurilor de virusuri cunoscute, atât virusuri nehemadsorbante, cât și izolate de slabă virulență, prin utilizarea primerilor dintr-o zonă a genomului bine conservată. Deoarece acest test nu detectează decât o secvență a genomului viral, PCR poate da un rezultat pozitiv chiar în cazul în care virusul infecțios nu este detectat prin izolare (de exemplu, în țesuturile autolizate sau în probele de la porcii convalescenți care s-au vindecat și au devenit normali pe plan clinic).

4. PCR se poate utiliza pe un număr mic de probe atent selecționate de la animale suspecte. Metoda se recomandă pentru probele de organe care sunt citotoxice, la care izolarea virusului este imposibilă (în special probe de la porci sălbatici).

5. Materialul care este adecvat pentru PCR este compus din probe ale organelor menționate pentru izolarea virusului sau din ser.

6. Testul se poate efectua pe parcursul unei zile. Acesta necesită echipament de laborator adecvat, spații separate și personal calificat. Unul dintre avantajele constă în faptul că virusul infecțios nu trebuie să fie reprodus în laborator. PCR este foarte sensibil, dar se poate produce cu



uşurinţă contaminarea, ceea ce conduce la rezultate fals pozitive. Este deci indispensabilă punerea în aplicare a procedurilor stricte de control al calităţii.

### Secţiunea 3

#### TESTE VIRUSOLOGICE RECOMANDATE ŞI EVALUAREA REZULTATELOR

7. Testele virusologice sînt indispensabile pentru a confirma prezenţa peştei porcine africane. Izolarea virusului şi testul de hemadsorbţie trebuie să fie considerate teste virusologice de referinţă şi trebuie să fie utilizate ca teste de confirmare, după caz. Utilizarea lor se recomandă în special în cazul în care rezultatele pozitive ale testelor de imunofluorescenţă directă sau de PCR nu se asociază cu detectarea semnelor clinice sau cu leziunile bolii, precum şi în alte cazuri dubioase. Cu toate acestea, se poate confirma un focar primar de PPA în cazul în care se detectează semne clinice sau leziuni ale bolii la porcii respectivi şi în cazul în care cel puţin două teste diferite de detectare a antigenului, a genomului sau a anticorpului au dat un rezultat pozitiv pe probe prelevate de la aceiaşi porci suspecţi.

Un focar secundar de PPA poate fi confirmat în cazul în care, în afară de legătura epidemiologică cu un focar sau cu un caz confirmat, au fost detectate semne clinice sau leziuni ale bolii la porcii respectivi şi în cazul în care un test de detectare a antigenului, a genomului sau a anticorpului a dat un rezultat pozitiv.

Apariţia unui caz primar de PPA la porcii sălbatici se poate confirma după izolarea virusului sau în cazul în care cel puţin două teste de detectare a antigenului, a genomului sau a anticorpului au dat un rezultat pozitiv. Alte cazuri de pestă porcină africană la porcii sălbatici, pentru care s-a stabilit o legătură epidemiologică cu cazuri confirmate anterior, se pot confirma în cazul în care un test de detectare a antigenului, a genomului sau a anticorpului a dat un rezultat pozitiv.

### Secţiunea 4

#### CARACTERIZAREA GENETICĂ A IZOLATELOR VIRUSULUI PESTEI PORCINE AFRICANE

8. Caracterizarea genetică a izolatelor virusului peştei porcine africane se obţine prin determinarea profilurilor de restricţie enzimatică şi a secvenţelor de nucleotide ale genomului virusului. Similaritatea între aceste profiluri de restricţii sau aceste secvenţe şi cele deja obţinute pornind de la izolatele anterioare ale virusului poate indica dacă focarele bolii sunt cauzate de virusuri care urmează un model molecular european sau african.

Caracterizarea genetică a izolatelor virusului peştei porcine africane este extrem de importantă, dat fiind faptul că aceasta va îmbunătăţi cunoştinţele actuale privind epidemiologia moleculară a peştei porcine africane şi variaţia genetică a virusurilor. Datele moleculare permit clasificarea noilor izolate şi furnizează informaţii despre originea lor posibilă.

9. În cazul în care caracterizarea moleculară a virusului nu se poate efectua la IP CRDV în scurt timp, proba originală sau izolatul de virus trebuie trimise LNR din Europa, pentru a se face caracterizarea cât mai repede.

Datele privind analiza restricţiei enzimaticice şi secvenţierea izolatelor de virusuri ale peştei porcine africane de care dispun laboratoarele autorizate să diagnosticeze pesta porcină africană trebuie transmise LNR în vederea introducerii informaţiilor în baza de date a laboratorului.



## **Capitolul VI** **Principiile și utilizarea testelor serologice și evaluarea rezultatelor**

### **Secțiunea 1** **PRINCIPII FUNDAMENTALE ȘI VALOARE DE DIAGNOSTIC**

1. Detectarea anticorpilor specifici pestei porcine africane se recomandă pentru forma subacută și forma cronică a bolii, precum și pentru testele la scară mare și pentru programele de eradicare a pestei porcine africane, din mai multe motive:

- 1) anticorpilor se produc rapid la porcii infectați. Anticorpilor sunt în general detectabili în probele de ser prelevate între 7 și 10 zile de la infectare;
- 2) nu există nici un vaccin împotriva PPA. Aceasta înseamnă că anticorpilor specifici PPA nu se produc decât după infectarea cu virusul PPA și persistența anticorpilor;
- 3) la porcii vindecați pot fi detectați anticorpi specifici la un nivel ridicat timp de mai multe luni, iar la unii dintre aceștia, toată viața.

Anticorpilor specifici pestei porcine africane de origine maternă se pot detecta în primele 10 săptămâni de viață a purceilor. Supraviețuirea anticorpilor maternali la purcei este de aproximativ trei săptămâni. În cazul în care sunt detectați la purcei de peste trei luni, este puțin probabil ca anticorpilor pestei porcine africane să fie de origine maternală.

2. Detectarea anticorpilor împotriva virusului pestei porcine clasice în ser sau în plasmă servește la confirmarea diagnosticului de pestă porcină africană în exploatațile suspecte, la stabilirea datei de introducere a infecției, în caz de focar confirmat, și la aplicarea măsurilor de monitorizare și de supraveghere.

Localizarea porcilor seropozitivi în exploatație poate furniza informații utile privind modul în care virusul pestei porcine africane a pătruns în exploatație.

Cu toate acestea, este necesar să se evalueze exact rezultatele testelor serologice, ținând seama de toate rezultatele clinice, virusologice și epidemiologice, în contextul anchetei care urmează a fi efectuată în caz de suspiciune sau de confirmare a existenței PPA, în conformitate cu capitolul VII din anexa nr.2 la HG 481 din 29 martie 2008.

### **Secțiunea 2** **TESTE SEROLOGICE RECOMANDATE**

3. Testul ELISA - testul immunoblocking, este cel mai bun test pentru a obține confirmarea serologică a PPA.

Calitatea și eficacitatea diagnosticului serologic efectuat de laboratoarele naționale trebuie să fie controlate cu regularitate în cadrul testului de comparare interlaboratoare, organizat periodic de laboratorul comunitar de referință.

4. Testul ELISA este cel mai util în cadrul studiilor serologice pe scară largă. În acest test, anticorpilor contra virusului pestei porcine africane, fixați pe proteinele virale ce căpтуșesc placa ELISA, se detectează prin adăugarea unei proteine A, conjugată cu o enzimă care produce o reacție de culoare, atunci când intră în contact cu substratul corespunzător.

## **Capitolul VII** **Condiții minime de siguranță obligatorii în laboratoarele competente pentru PPA**

Examenele postmortem, pregătirea țesuturilor pentru testul de imunofluorescență directă sau pentru PCR și tehnicile serologice care utilizează un antigen inactivat se pot efectua în conformitate cu unele prescripții mai puțin stricte, în măsura în care se respectă condițiile minime prevăzute de tabelul 1, se aplică normele de igienă de bază și se efectuează operațiuni de dezinfecție la încheierea lucrărilor, cu eliminarea carcaselor, a țesuturilor și a serurilor, în condiții de siguranță.



**Norme de biosecuritate aplicabile în laboratoarele de diagnostic**

Tabel

	Condiții minime	Condiții suplimentare
Mediu general	<p>Presiune atmosferică normală</p> <p>Spații rezervate, a căror utilizare se limitează la proceduri stabilite</p>	<p>Presiune atmosferică normală.</p> <p>Simplă filtrare HEPA a aerului evacuat.</p> <p>Spații rezervate, destinate procedurilor de diagnostic al pestei porcine africane și a altor boli exotice.</p> <p>Tratarea efluenților susceptibili de a fi contaminați, pentru a neutraliza virusul pestei porcine africane (prin procedee termice sau chimice)</p>
Îmbrăcăminte de laborator	<p>Îmbrăcăminte exterioară specială, care nu se utilizează decât în unitatea rezervată virusului pestei porcine africane</p> <p>Mănuși de unică folosință pentru manipularea materialului infectat</p> <p>Sterilizarea îmbrăcăminteii exterioare înaintea ieșirii din unitate sau spălarea la temperatură ridicată în interiorul acesteia</p>	<p>Schimbarea completă a îmbrăcăminteii la intrare, îmbrăcăminte de laborator care nu se utilizează decât în unitatea rezervată virusului pestei porcine africane.</p> <p>Mănuși de unică folosință pentru manipularea materialului infectat</p> <p>Sterilizarea îmbrăcăminteii înaintea ieșirii din unitate sau spălarea la temperatură ridicată în interiorul acesteia</p>
Controlul personalului	<p>Acces în unitate rezervat personalului desemnat, instruit corespunzător</p> <p>Spălarea și dezinfectarea mâinilor la ieșirea din unitate</p> <p>Interzicerea intrării personalului în spațiile în care se află porci, mai devreme de 48 de ore de la ieșirea din unitate</p>	<p>Acces în unitate rezervat personalului desemnat, instruit corespunzător</p> <p>Spălarea și dezinfectarea mâinilor la ieșirea din unitate</p> <p>Interzicerea intrării personalului în spațiile în care se află porci, mai devreme de 48 de ore de la ieșirea din unitate</p>
Echipament	<p>Hotă de biosecuritate (clasa I și II) destinată tuturor manipulărilor de virusuri vii. Hota dispune de un dispozitiv cu dublă filtrare HEPA a aerului evacuate. Toate echipamentele necesare procedurilor de laborator trebuie să fie disponibile în interiorul spațiilor rezervate laboratorului</p>	



## Bibliografie

1. Hotărîrea Guvernului nr.1368 din 19.12.2016 privind aprobarea Normei sanitar-veterinară privind stabilirea unor prevederi specifice de combatere a pestei porcine africane Publicat : 23.12.2016 în Monitorul Oficial Nr. 453-458 art Nr : 1427, elaborată în temeiul Directivei 2002/60/CE de stabilire a dispozițiilor specifice de combatere a pestei porcine africane și de modificare a Directivei 92/119/CEE în ceea ce privește boala Teschen și pesta porcină africană;
2. Hotărîrea Guvernului nr. 369 din 12 iunie 2015 „Pentru aprobarea Normei sanitar-veterinare privind protecția animalelor în momentul uciderii” (Monitorul Oficial al Republicii Moldova, 2015, nr. 150-159, art. 412);
3. Hotărîrea Guvernului nr. 793 din 22 octombrie 2012 “Pentru aprobarea Normei sanitar-veterinare privind protecția și bunăstarea animalelor în timpul transportului” (Monitorul Oficial al Republicii Moldova, 2012, nr. 222-227, art. 855);
4. Planul de contingență al Republicii Moldova pentru pesta porcină africană. Data ultimei revizii: 10.07.2017;
5. Manual operațional pentru intervenția în focarele de pestă porcină africană. Data ultimei revizii: 10.07.2017;
6. Manualul OIE ediția mai 2012, Partea 2., Secț.2.8., Cap.2.8.1