



INSPEKCJA  
WETERYNARYJNA

Warszawa, dnia 21 listopada 2024 r.

**GŁÓWNY LEKARZ  
WETERYNARII**

# **I N S T R U K C J A**

## **Głównego Lekarza Weterynarii**

### **nr BP.0200.1.15.2024**

dotycząca pobierania i przesyłania próbek do laboratoryjnych badań  
diagnostycznych w kierunku afrykańskiego pomoru świń

Opracowano w:

Główny Inspektorat Weterynarii:

- Biuro do Spraw Laboratoriów
- Biuro Zdrowia i Ochrony Zwierząt

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach



## Spis treści

### Część I

1. Wstęp.....	5
1.1. Cel instrukcji .....	6
1.2. Zakres stosowania .....	6
1.3. Specyficzne definicje związane z instrukcją.....	6
1.4. Wymagania dotyczące osób pobierających materiał do diagnostycznych badań laboratoryjnych.....	7
1.5. Wymagane środki ostrożności .....	7
2. Materiały potrzebne do pobierania próbek.....	7
3. Zwierzęta .....	8
4. Rodzaj pobieranego materiału, zależnie od rodzaju badań laboratoryjnych, sposób pobrania materiału i jego konserwacja.....	8
4.1.Krew.....	8
4.2. Wycinki narządów. ....	10
5. Monitoring bierny .....	10
6. Wizytacje w gospodarstwach i liczba próbek pobieranych do badań laboratoryjnych.....	10
7. Przesyłanie materiału do badań.....	13
7.1. Opakowanie próbek przed transportem .....	14
7.2. Warunki transportu .....	15
7.3. Dokumentacja towarzysząca próbce.....	15
8. Urzędowe potwierdzanie wystąpienia choroby kategorii A – ASF .....	16
9. Wykaz aktów prawnych i dokumentów pozwiązanych.....	17

### Część II

1. Informacje wstępne .....	17
1.1. Cel instrukcji .....	18
1.2. Zakres stosowania .....	18
1.3. Specyficzne definicje związane z instrukcją .....	18
1.4. Wymagane środki ostrożności .....	18
2. Materiały potrzebne do pobierania próbek .....	19

3. Rodzaj pobieranego materiału i sposób jego pobierania .....	19
3.1. Próbkę pasz i ściółki .....	19
3.2. Wymazy .....	19
3.3. Zbieranie próbek owadów .....	20
3.4. Opakowanie próbek i transport .....	21
3.5. Dokumentacja towarzysząca próbce .....	22
Postanowienia końcowe .....	23

Niniejsza instrukcja została wydana na podstawie art. 13 ust. 1 pkt 1 ustawy z dnia 29 stycznia 2004 r. o Inspekcji Weterynaryjnej (Dz. U. z 2024 r., poz. 12).

Niniejsza instrukcja została opracowana we współpracy Krajowego Laboratorium Referencyjnego Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach z Głównym Inspektoratem Weterynarii.

Stosowanie niniejszej instrukcji, jako aktu prawa wewnętrznego, nie może prowadzić do naruszenia przepisów powszechnie obowiązujących. Na przepisy niniejszej instrukcji nie należy powoływać się przy rozstrzyganiu o prawach i obowiązkach podmiotów prywatnych, gdyż nie jest ona dla nich wiążąca.

**Niniejsza instrukcja składa się z dwóch części. Część pierwsza dotyczy pobierania próbek od świń oraz od dzików. Część druga dotyczy pobierania próbek innych niż pobrane od świń lub dzików.**

## **Część I**

### **1. Wstęp**

Afrykański pomór świń (ang. African swine fever - ASF) jest zakaźną, wolno szerzącą się, wirusową chorobą świń domowych oraz dzików, wywołaną przez DNA wirusa z rodzaju *Asfivirus*. Na zakażenie wrażliwe są również wolno żyjące gatunki z rodziny świniowatych, występujące na terenie Afryki. W Europie, poza Sycylią, stwierdzony jest jeden genotyp wirusa p72 genotyp II.

Obecnie brak jest skutecznej i bezpiecznej szczepionki przeciwko ASF. Choroba zwalczana jest metodami administracyjnymi poprzez uśmiercenie i unieszkodliwienie świń z zakażonych gospodarstw i unieszkodliwienie zwłok/tusz zakażonych dzików. Przyjętą w Polsce podstawą wdrożenia procedury administracyjnej po stwierdzeniu ogniska afrykańskiego pomoru świń, jest urzędowe potwierdzenie wystąpienia choroby (przyżyciowo lub w zwłokach zwierząt) na podstawie wyników badań laboratoryjnych próbek pobranych od zwierząt.

W rozpoznawaniu ASF istotną rolę odgrywają badania molekularne. Badania serologiczne służą do wykrywania obecności przeciwciał.

W celu właściwego rozpoznania choroby ważny jest wybór odpowiednich próbek do badań, ich prawidłowe pobranie, zapakowanie i przesłanie do laboratorium.

## **1.1. Cel instrukcji**

Ujednoczenie zasad pobierania materiału do laboratoryjnych badań diagnostycznych w kierunku ASF, rodzaju próbek oraz zasad ich przesyłania do laboratorium.

## **1.2. Zakres stosowania**

Pobieranie próbek od świń lub dzików.

Próbki surowicy/krwi oraz narządów wewnętrznych świń lub dzików, ewentualnie próbki innych matryc/innego rodzaju materiału biologicznego: szpiku kostnego, mięśni, skóry oraz zeszkobin z kości. Ponadto, w przypadku podejrzenia nielegalnego stosowania białka pochodzenia zwierzęcego dla świń, badaniom podlegają próbki paszy lub próbki pozostałości pokarmu.

Na obszarze objętym ograniczeniami II i III<sup>1</sup> w przypadku chorób świń o przebiegu posocznicowym, podczas stawiania diagnozy zawsze należy uwzględniać możliwość zakażenia wirusem afrykańskiego pomoru świń w ramach diagnostyki różnicowej i dokonać zgłoszenia do powiatowego lekarza weterynarii właściwego miejscowo dla lokalizacji gospodarstwa.

## **1.3. Specyficzne definicje związane z instrukcją**

Badanie serologiczne - wykrywanie obecności przeciwciał w próbkach surowicy/krwi świń lub dzików.

Badanie wykonuje się metodą ELISA (ang. enzyme linked immunosorbent assay), a w przypadku uzyskania wyniku dodatniego lub wątpliwego – potwierdzającym testem immunoperoksydazowym (IPT) lub testem immunoblotting (IB). Badania wykonuje się zgodnie z zaleceniami podręcznika WOAHA Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, rozdział 3.9.1 „African swine fever” oraz zaleceniami Europejskiego Laboratorium Referencyjnego (EURL) ds. ASF w Valdeolmos w Hiszpanii.

Badanie molekularne - wykrywanie obecności materiału genetycznego (kwasu deoksyrybonukleinowego - DNA) wirusa ASF w próbkach surowicy/krwi i/lub wycinkach narządów wewnętrznych świń i/lub dzików. Obecność DNA wirusa ASF może być wykrywana w innym materiale, włączając szpik kostny, mięśnie, skóra, zeszkobiny z kości. Badanie wykonuje się testem PCR w czasie rzeczywistym

---

<sup>1</sup> Rozporządzenie wykonawcze Komisji (UE) 2023/594 z dnia 16 marca 2023 r. ustanawiające środki szczególne w zakresie zwalczania chorób w odniesieniu do afrykańskiego pomoru świń oraz uchylające rozporządzenie wykonawcze (UE) 2021/605 (Dz.Urz.UE.L 2023 Nr 79, str. 65)

(ang. real-time polymerase chain reaction - PCR). W przypadku uzyskania wyniku niespecyficznego pobrane próbki są badane ponownie lub wnioskuje się o dodatkowe pobranie materiału od tych samych zwierząt. Badania wykonuje się zgodnie z zaleceniami podręcznika WOAH Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, rozdział 3.9. 1 „African swine fever” oraz zaleceniami EURL ds. ASF w Valdeolmos w Hiszpanii.

#### **1.4. Wymagania dotyczące osób pobierających materiał do diagnostycznych badań laboratoryjnych**

Osoby odpowiedzialne za stosowanie instrukcji, pobierający materiał do laboratoryjnych badań diagnostycznych powinny przechodzić okresowe szkolenia w celu nabycia i utrzymywania odpowiednich kwalifikacji, kompetencji oraz doświadczenia w zakresie prac związanych z niniejszą instrukcją.

#### **1.5. Wymagane środki ostrożności**

Osoby odpowiedzialne za stosowanie instrukcji pobierający i przesyłający materiał do laboratoryjnych badań diagnostycznych w kierunku ASF powinny przestrzegać zasad pobierania, przechowywania, pakowania oraz przesyłania materiału, zawartych w niniejszej instrukcji. Szczególnie istotne jest zwrócenie uwagi na dobór właściwych próbek, sposób pakowania próbek gwarantujący bezpieczeństwo oraz zachowanie wymaganej ich jakości, a także warunki transportu.

## **2. Materiały potrzebne do pobierania próbek:**

- 1) sterylne pojemniki podstawowe, najlepiej plastikowe, zamykane szczelną nakrętką;
- 2) sterylne próbówki:
  - a) bez antykoagulantu lub igłoprobówki, jeżeli pobrana krew ma być badana metodą molekularną (real-time PCR) i metodami serologicznymi (ELISA oraz potwierdzających IPT/IB),
  - b) z EDTA/heparyną, w przypadku przeznaczenia krwi wyłącznie do badań wirusologicznych/molekularnych;
- 3) strzykawki różnych rozmiarów oraz dostosowane do nich igły, odpowiednio dobrane w zależności od miejsca pobierania próbek i wielkości badanej świni;
- 4) nóż, skalpel, nożyczki, pinceta, rękawiczki;
- 5) szczelnie zamykane kontenery do transportu pojemników podstawowych z próbkami i próbówek z krwią, oddzielne dla każdego zwierzęcia. Kontenery oraz pojemniki podstawowe muszą być wyraźnie oznakowane;
- 6) stelaże np. styropianowe lub pudełka kartonowe z otworami przeznaczonymi do transportu próbówek z krwią, umożliwiające ustawienie próbówek w pozycji pionowej w odpowiedniej kolejności;

- 7) wkłady chłodzące (w przypadku, gdy próbki będą dostarczane do laboratorium diagnostycznego po upływie 12 h od ich pobrania);
- 8) materiały pochłaniające wilgoć (bibuła, lignina, wata, gąbka, ręcznik papierowy);
- 9) etykiety i pisaki wodoodporne lub naklejki z kodami kreskowymi plastikowe koszulki na dokumentację.

### **3. Zwierzęta**

Rodzaje próbek oraz zwierzęta (świnie i dziki), od których pobiera się próbki do badań laboratoryjnych, zostały opisane w „Programie mającym na celu wczesne wykrycie zakażeń wirusem wywołującym afrykański pomór świń i poszerzenie wiedzy na temat choroby oraz jej zwalczania”. Program jest uaktualniany i wprowadzany zgodnie z rozporządzeniami Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi.

### **4. Rodzaj pobieranego materiału, zależnie od rodzaju badań laboratoryjnych, sposób pobrania materiału i jego konserwacja.**

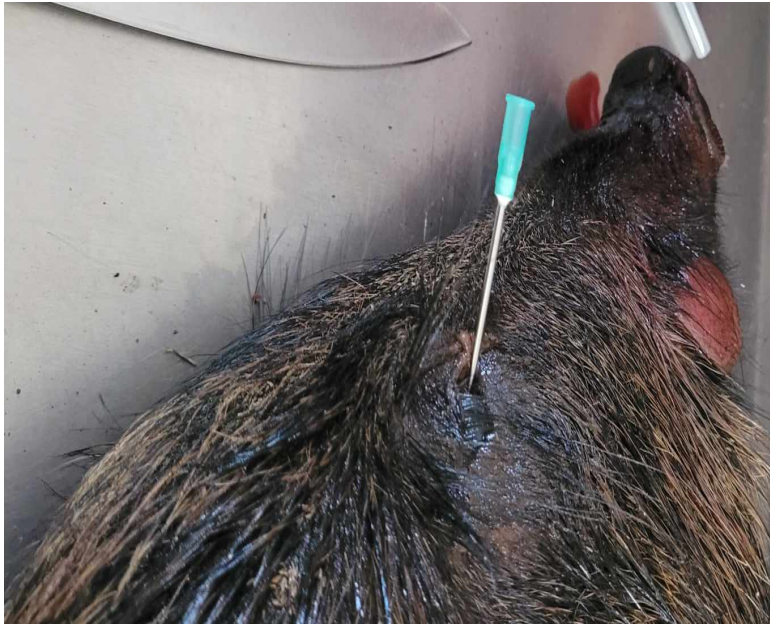
#### **4.1. Krew**

Krew może być pobrana przyżyciowo z żyły szyjnej przedniej, jarzmowej ewentualnie żyły usznej lub podczas sekcji świń lub dzików, również z zatoki jamistej (Link: <https://www.youtube.com/watch?v=N7-py2VcsoY>).

Krew z zatoki jamistej pobiera się poprzez wprowadzenie igły (np. 1,2 x80mm) do przyśrodkowego kąta oka pod kątem 45° w kierunku brzuszno – przyśrodkowo – doogonowym w stosunku do płaszczyzny środkowej głowy, przesuując ją po ścianie oczodołu, do momentu ustąpienia oporu. Igłę należy wówczas głębiej wsunąć w napotkany otwór i zaaspirować krew.



Fot.1 Miejsce wkłucia do zatoki jamistej (zdjęcie pochodzi z zasobów GIW).



Miejsca, z których pobierane są próbki krwi należy oczyścić lub opłukać wodą bez detergentów i środków dezynfekcyjnych. Miejsca te nie mogą być odkażane, ponieważ środki odkażające mogą powodować inaktywację wirusa lub dezintegrację jego materiału genetycznego. Krew należy pobierać igłą jednorazową lub wielokrotnego użytku (dotyczy należycie umytych i zdezynfekowanych igieł wykorzystywanych do pobierania krwi z zatoki jamistej) do sterylnej probówki. Po pobraniu krew należy stopniowo schłodzić. Nie wolno zamrażać pełnej krwi, pobranej do probówki z antykoagulantem.

#### **4.1.1. Krew do badań molekularnych**

Do badań molekularnych pobiera się krew w objętości minimum 2-3 ml do probówek z dodatkiem antykoagulantu (np. sole EDTA/heparyna). Probówki z krwią i z antykoagulantem należy dobrze wymieszać ruchami ósemkowymi w poziomie. Krew do badań molekularnych pobiera się od żywych świń, w pierwszej kolejności od świń z objawami choroby w przypadku podejrzenia ASF lub od dzików odstrzelonych na obszarach objętych ograniczeniami I – III lub dzików odstrzelonych na obszarze wolnym, jeżeli wykazują objawy wskazujące na zakażenie wirusem ASF (dziki chore odstrzelone).

#### **4.1.2. Krew do badań serologicznych**

Do badań serologicznych pobiera się krew do probówek bez dodatku antykoagulantu. Należy pobrać ok. 5 ml krwi. Krew do badań serologicznych należy pobrać od świń uśmierczonych w ognisku ASF w celu zapewnienia możliwości oceny długości trwania zakażenia.

Ponadto, do badań serologicznych mogą być pobierane próbki krwi od odstrzelonych dzików na obszarach występowania choroby u dzików, tj. na objętych ograniczeniami II i III (pod warunkiem występowania na obszarze objętym ograniczeniami III ASF w populacji dzików, co potwierdzono w badaniach molekularnych).

#### **4.2. Wycinki narządów.**

Do badań molekularnych należy pobrać próbki od padłych lub uśmierconych świń oraz od padłych dzików. Próbki narządów pobiera się czystymi jałowymi narzędziami, najlepiej jedнокrotnego użycia. Należy pobrać wycinki narządów wewnętrznych (ok. 2-3 cm<sup>2</sup> tkanki).

Kolejność przydatności tkanek pochodzących od padłych świń lub dzików, do badań molekularnych jest następująca: **śledziona, migdałki**, nerki, **węzły chłonne** (żołądkowe, wątrobowe, podżuchwowe, zagardłowe, krezkowe), płuca.

W przypadku jeżeli nie jest możliwe pobranie ww. próbek od padłych świń lub dzików można pobrać próbki z innych dostępnych narządów wewnętrznych takich jak: wątroba, serce, a w przypadku stanu zwłok o co najmniej umiarkowanym rozkładzie (++)- szpik kostny (całą kość długą, ewentualnie mostek).

Od zwierząt padłych należy pobrać od 1 do 3 próbek z narządów wewnętrznych i każdą z nich zapakować do oddzielnych pojemników.

#### **5. Monitoring bierny**

W przypadku prowadzenia stałego nadzoru zgodnie z art.16(1)(c) RWK 2023/594<sup>1</sup> do badań pobiera się próbki krwi lub narządów od padłych świń, jak wskazano w pkt 4. niniejszej instrukcji, zgodnie z zasadami określonymi w pkt 6.ust. 1.

#### **6. Wizytacje w gospodarstwach i liczba próbek pobieranych do badań laboratoryjnych**

1. W przypadku **podejrzenia ASF**, próbki do badań laboratoryjnych w celu potwierdzenia zakażenia pobiera się w następujący sposób: minimalna liczba próbek do badań molekularnych musi pozwalać na wykrycie 10% zakażonych świń przy 95% poziomie ufności w danej podjednostce. Dane dotyczące liczby świń,

od których należy pobrać próbki do badań laboratoryjnych zawarto w poniższej Tabeli nr 1.

<b>Tabela nr 1.</b>	
<b>Liczba świń w budynku</b>	<b>Liczba świń, od których należy pobrać próbki do badań w budynku</b>
1-10	10*
11-25	18*
26-50	23
51-75	25
76-100	26
101-500	29
501-1000	30
>1000	30

\*w przypadku mniejszej liczby świń pobiera się próbki od wszystkich świń w budynku

W przypadku podejrzenia ASF u świń w gospodarstwie należy przeprowadzić minimum wywiad (anamnesis) oraz przedmiotowe badanie ogólne w każdej podjednostce (obiekcie), w tym obejmujące pomiar temperatury wewnętrznej ciała.

W przypadku obecności świń padłych należy przeprowadzić badanie sekcyjne i pobrać próbki narządów wewnętrznych do badań laboratoryjnych, szczególnie od świń, które padły w ostatnim czasie, przed padnięciem wykazywały objawy kliniczne i gorączkę, a w badaniu sekcyjnym stwierdzone zostały zmiany anatomopatologiczne wskazujące na podejrzenie wystąpienia ASF. Następnie w celu zapewnienia realizacji próbkobrania zgodnie z Tabelą nr 1, należy pobrać próbki krwi od świń żywych, szczególnie od świń z objawami choroby, a przy braku takich świń żywych można pobrać próbki krwi od losowo wybranych świń.

2. Po potwierdzeniu ogniska ASF, przy dokonywaniu uśmiercania świń w ognisku pobiera się próbki krwi do badań molekularnych i serologicznych od losowo wybranych świń. Minimalna liczba próbek pobranych do badań serologicznych musi pozwalać na wykrycie osobników zakażonych i seroreagentów na poziomie 10%, przy 95% poziomie ufności w każdej podjednostce w gospodarstwie dane dotyczące próbkobrania zgodnie z Tabelą nr 1.
3. Pobieranie próbek do badań w gospodarstwach uznanych za kontaktowe.

W przypadku wdrożenia uśmiercania świń w gospodarstwie uznanym za kontaktowe do ogniska ASF, jako środka zapobiegawczego w rozprzestrzenianiu się ASF, przy uśmiercaniu świń pobiera się próbki do badań molekularnych i serologicznych. Próbkę pobiera się od świń wykazujących objawy kliniczne lub zmiany anatomopatologiczne, a także zgodnie z wytycznymi PLW od świń, które mogły lub miały kontakt z patogenem. Próbkę do badań laboratoryjnych pobiera się, przy założeniu, że minimalna liczba próbek pobranych do badań serologicznych musi pozwalać na wykrycie 10% zakażenia/seroreagentów, przy 95% poziomie ufności w każdej podjednostce w gospodarstwie (zgodnie z Tabelą nr 1).

4. Prewencyjne uśmiercanie zgodnie z art. 22 ust. 2 rozporządzenia (UE) nr 2020/687<sup>2</sup>.

Zgodnie z art. 22 ust. 2 rozporządzenia (UE) 2020/687, aby zapobiec rozprzestrzenianiu się choroby, właściwy organ może zastosować prewencyjne uśmiercenie, zgodnie z art. 12 ust. 1 i 2 tego rozporządzenia, lub ubój zwierząt utrzymywanych należących do gatunków umieszczonych w wykazie w zakładach znajdujących się na obszarze objętym ograniczeniami

W przypadku nakazania prewencyjnego uśmiercania na obszarze objętym ograniczeniami wyznaczonym na podstawie rozporządzenia (UE) 2020/687, próbki do badań laboratoryjnych pobiera się w gospodarstwach w których PLW podejrzewa zakażenie wirusem ASF, zgodnie z Tabelą nr 1.

5. W przypadku podjęcia decyzji dotyczącej pobierania próbek od świń przed wydaniem zgody na przemieszczenie z gospodarstw położonych w obszarach zapowietrzonych lub zagrożonych do uboju w rzeźni lub do zakładu utylizacyjnego (w celu zabicia), próbki krwi do badań molekularnych muszą zostać pobrane z każdej podjednostki (obiektu), z którego świnię będą przemieszczane, w pierwszej kolejności od świń przeznaczonych do wysyłki. Liczba próbek krwi do badań molekularnych i serologicznych musi pozwalać na wykrycie 10% zakażenia, przy 95% poziomie ufności w każdej podjednostce (obiekcie) w gospodarstwie, tj. zgodnie z Tabelą nr 1.
6. Wizytacje gospodarstw w obszarze zapowietrzonym i zagrożonym oraz pobieranie próbek do badań laboratoryjnych.

Wizytacje na obszarze zapowietrzonym przeprowadza się we wszystkich gospodarstwach.

Minimalna liczba gospodarstw w obszarze zagrożonym, w których należy przeprowadzić wizytacje (z możliwością ewentualnego pobrania próbek) musi pozwolić na wykrycie 5% gospodarstw zakażonych, przy 95% poziomie ufności, zgodnie z Tabelą nr 2.

---

<sup>2</sup> rozporządzenie delegowane Komisji (UE) 2020/687 z dnia 17 grudnia 2019 r. uzupełniające rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2016/429 w odniesieniu do przepisów dotyczących zapobiegania niektórym chorobom umieszczonym w wykazie oraz ich zwalczania (Dz.Urz.UE.L 2020 Nr 174, str. 64)

Tabela nr 2. Liczba gospodarstw w obszarze zagrożonym, w których należy przeprowadzić wizytacje przy zachowaniu możliwości wykrycia 5% gospodarstw zakażonych, na 95% poziomie ufności.

<b>Tabela nr 2.</b>	
<b>Liczba gospodarstw w obszarze zagrożonym</b>	<b>Liczba gospodarstw, w których należy przeprowadzić wizytację</b>
1-10	10*
11-25	24*
26-50	36*
51-75	42
76-100	45
101-500	57
501-1000	58
>1000	60

\*w przypadku mniejszej liczby gospodarstw, wizytuje się wszystkie gospodarstwa w obszarze zagrożonym

W trakcie wizytacji w gospodarstwie PLW może podjąć decyzję o konieczności przeprowadzenia badania laboratoryjnego w kierunku ASF i pobiera próbki krwi od świń w gospodarstwie w celu przeprowadzenia tego badania zgodnie z pkt 7.

7. W celu zniesienia nakazów i zakazów w obszarze zapowietrzonym i zagrożonym (zdjęcie obszarów) pobieranie próbek do badań laboratoryjnych przeprowadza się:
  - a) w gospodarstwach, w których PLW uzna za konieczne podczas wizytacji, o których mowa w pkt 6,
  - b) we wszystkich centrach pozyskiwania nasienia knurów.

W przypadku podjęcia decyzji o pobieraniu próbek do badań laboratoryjnych w wizytowanym gospodarstwie próbki do badań muszą być pobierane zgodnie z Tabelą nr 1 w każdej podjednostce (obiekcie) w gospodarstwie. Ta sama zasada dotyczy centrum pozyskiwania nasienia knurów.

## **7. Przesyłanie materiału do badań**

W przypadku planowanej wysyłki dużej liczby próbek (powyżej 100) lub podejrzenia choroby, należy uprzednio poinformować laboratorium o przesyłce telefonicznie lub mailem, z podaniem przybliżonej daty i godziny dostarczenia próbek.

## 7.1. Opakowanie próbek przed transportem

Pobrano materiał do badań należy bezpośrednio zapakować w sterylne i wodoodporne pojemniki podstawowe, odporne na uszkodzenia mechaniczne. Bardzo istotne jest wyraźne oznakowanie pojemników w celu odpowiedniej identyfikacji zwierząt, od których zostały pozyskane próbki. Pokrywka każdego pojemnika oraz probówki powinna być uszczelniona za pomocą taśmy klejącej lub tzw. parafilmu. Przed transportem należy sprawdzić szczelność opakowań, ponieważ wymieszanie materiału może mieć wpływ na czas i wiarygodność wykonywanych badań laboratoryjnych, natomiast próbki wylane w transporcie nie mogą zostać poddane badaniu.

Wszystkie szczelnie zamknięte pojemniki podstawowe zawierające próbki do badań powinny być umieszczone w drugim szczelnie zamkniętym i zaklejonym, wodoodpornym, plastikowym lub metalowym kontenerze odpornym na uszkodzenia mechaniczne. Wewnątrz kontenera należy umieścić materiał absorbujący w celu pochłaniania ewentualnych przecieków z pojemników lub probówek. Próbki powinny być dostarczone z wkładami chłodzącymi, w ilości wystarczającej do utrzymania wymaganej temperatury przez cały czas trwania transportu w przypadku, gdy próbki zostaną dostarczone do laboratorium diagnostycznego w czasie dłuższym niż 12 godzin od pobrania, w izolowanych termicznie, solidnie wykonanych opakowaniach. Korzystnie jest, aby opakowania były dodatkowo wypełnione materiałem zabezpieczającym przed wstrząsami i przemieszczaniem kontenerów z próbkami.

Na zewnątrz kontenera powinny być umieszczone czytelne informacje:

- Etykieta 'materiał biologiczny'.
- Etykieta 'materiał zakaźny dla zwierząt'.
- Etykieta 'przechowywać w 4 - 7°C oraz 4 °C dla organów'.
- Pełna i nazwa i adres nadawcy.
- Pełna nazwa i adres odbiorcy.

Próbki powinny być oznaczone czytelnymi, indywidualnymi kodami (należy używać wodoodpornych pisaków lub naklejek, które nie ulegną uszkodzeniu pod wpływem wilgoci albo naklejek z kodami kreskowymi), aby można było zidentyfikować w łatwy sposób od którego zwierzęcia (z jakiego gospodarstwa lub obiektu) pochodzą. Krew należy wysyłać w probówkach do tego przeznaczonych, należy unikać przesyłania krwi w pojemnikach plastikowych oraz w igłoprobówkach.

W przypadku dostarczenia do badań probówek z krwią należy umieścić je kolejno według identyfikatorów w pozycji pionowej, najlepiej w przeznaczonych do tego kartonach lub stelażach styropianowych, co umożliwi odpowiednią segregację próbek i przygotowanie materiału do badań. Opakowanie zewnętrzne należy oznaczyć podając informacje szczegółowe dotyczące pobranych próbek. W przypadku kości należy w miarę możliwości pobrać szpik kostny lub przesłać materiał (bez skóry z sierścią i tkanki mięśniowej). Podczas wysyłania kilku kości należy dokładnie oznaczyć od ilu zwierząt zostały pobrane. Wtedy najlepszym rozwiązaniem jest

zapakowanie każdej kości w oddzielne opakowanie. Próbki narządów wewnętrznych powinny zawierać opis, jest to szczególnie ważne podczas zaawansowanego rozkładu gnilnego. Próbki pozostałości pokarmu – zawierające przetworzone białko pochodzenia zwierzęcego powinny być oznakowane numerem partii.

## **7.2. Warunki transportu**

Próbki powinny być dostarczone do laboratorium w sposób uniemożliwiający zakażenie innych zwierząt lub zanieczyszczenie osób, sprzętu itp. Należy również zabezpieczyć same próbki przed wylaniem i zanieczyszczeniem podczas transportu.

Próbki od zwierząt podejrzanych o zakażenie powinny być dostarczone przez wyznaczoną osobę. Pozostałe próbki mogą być transportowane poprzez firmy kurierskie. Próbki muszą być dostarczone bezpośrednio do laboratorium.

### **7.2.1. Czas od pobrania próbek do dostarczenia ich do laboratorium**

Próbki powinny być dostarczone do laboratorium jak najszybciej, aby uniknąć procesów degradacji tkanek i materiału genetycznego wirusa. Optymalnym czasem jest dostarczenie próbek w ciągu 12 godzin od pobrania.

### **7.2.2. Temperatura transportu**

Próbki mogą być przesyłane w opakowaniach bez wkładów chłodzących w przypadku, gdy dostarczenie próbek do laboratorium nastąpi w czasie nie dłuższym niż 12 godzin od pobrania. W innym przypadku, próbki powinny być przesyłane w temperaturze 4-7°C (w kontenerach z wkładami chłodzącymi). Próbki, z wyjątkiem surowic, nie powinny być zamrażane. Dopuszcza się ewentualne zamrażanie narządów wewnętrznych w przypadku przewidywanego transportu powyżej 48 godzin.

## **7.3. Dokumentacja towarzysząca próbce**

Do próbki muszą być dołączone: pismo przewodnie oraz protokół pobrania próbek.

Pismo i protokół powinny zawierać następujące informacje:

- 1) kierunek badań;
- 2) dane posiadacza zwierzęcia: imię i nazwisko, dokładny adres i numer gospodarstwa, z którego pochodzą próbki (z podaniem nazwy gminy i powiatu);

- 3) dane dotyczące zwierzęcia (zwierząt): objawy chorobowe i zmiany pośmiertne, wiek, płeć, numer identyfikacyjny (świnie), status zwierzęcia np. padłe, odstrzelone, żywe;
- 4) miejsce znalezienia zwierzęcia (gmina oraz najbliższa wieś/najbliższe miasto, powiat, województwo) wraz z podaniem współrzędnych GPS – stopnie, minuty, sekundy (podanie współrzędnych geograficznych w formacie dziesiętnym); dane adresowe osoby zgłaszającej często nie pokrywają się z miejscem, skąd pochodziły próbki, dlatego ważnym jest podanie dokładnego miejsca próbkobrania;
- 5) podanie miejsca pobrania próbki również w formie cyfrowej (TERYT);
- 6) podanie obszaru (strefy) na terenie których zostały pobrane próbki (obszar objęty ograniczeniami I, obszar objęty ograniczeniami II, obszar ograniczeniami III) lub obszar wolny od ASF;
- 7) prawdopodobny czas padnięcia/odstrzału zwierzęcia;
- 8) specyfikacja wysłanego materiału – dokładny opis próbek (rodzaj materiału i identyfikator);
- 9) przyczyna próbkobrania.

Do przygotowania pisma przewodniego i protokołu należy wykorzystać załączniki nr 6 i 7 do rozporządzenia Ministra Rolnictwa z dnia 4 lipca 2017 r. w sprawie sposobu prowadzenia dokumentacji związanej ze zwalczaniem chorób zakaźnych zwierząt (Dz.U. z 2017 r. poz. 1388).

Oraz dodatkowo dane płatnika i preferowany sposób przekazania wyników: elektronicznie, ewentualnie listownie.

## **8. Urzędowe potwierdzanie wystąpienia choroby kategorii A – ASF**

### **8.1. Urzędowe potwierdzenie choroby u zwierząt dzikich.**

W przypadku próbek pobranych od dzików padłych lub odstrzelonych na obszarach występowania ASF u dzików, tj. na obszarze objętym ograniczeniami II lub obszarze objętym ograniczeniami III - jeżeli ASF występuje już w populacji dzików - urzędowe potwierdzenie wystąpienia choroby uzyskuje się po otrzymaniu  **dodatnich wyników badań molekularnych**  z Zakładu Higieny Weterynaryjnej (ZHW).

W przypadku próbek pobranych od dzików padłych i od dzików chorych odstrzelonych na obszarze objętym ograniczeniami I oraz na obszarze wolnym, urzędowe potwierdzenie wystąpienia ASF u dzików uzyskuje się po otrzymaniu  **dodatnich wyników badań molekularnych**  z PIWet – PIB Puławy.

### **8.2. Urzędowe potwierdzenie choroby u świń domowych.**

W przypadku próbek pobranych od świń, urzędowe potwierdzenie wystąpienia choroby uzyskuje się po otrzymaniu  **dodatnich wyników badań molekularnych**  przeprowadzonych w PIWet – PIB Puławy. Badanie serologiczne wykonuje się, jeżeli



uzyskano dodatnie wyniki badań molekularnych i zostało wyznaczone ognisko ASF. W przypadku uzyskania w ZHW wątpliwych wyników badań serologicznych metodą ELISA próbek pobranych od świń, badanie potwierdzające przeprowadza się w PIWet – PIB Puławy metodą IPT lub IB.

## **9. Wykaz aktów prawnych i dokumentów powiązanych:**

- 1) rozporządzenie delegowane Komisji (UE) 2020/687 z dnia 17 grudnia 2019 r. uzupełniające rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2016/429 w odniesieniu do przepisów dotyczących zapobiegania niektórym chorobom umieszczonym w wykazie oraz ich zwalczania;
- 2) rozporządzenie wykonawcze Komisji (UE) 2023/594 z dnia 16 marca 2023 r. ustanawiające środki szczególne w zakresie zwalczania chorób w odniesieniu do afrykańskiego pomoru świń oraz uchylające rozporządzenie wykonawcze (UE) 2021/605;
- 3) ustawa z dnia 29 stycznia 2004 r. o Inspekcji Weterynaryjnej;
- 4) rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi w sprawie wprowadzenia na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej „Programu mającego na celu wczesne wykrycie zakażeń wirusem wywołującym afrykański pomór świń i poszerzenie wiedzy na temat tej choroby oraz jej zwalczanie”;
- 5) rozporządzenie Ministra Rolnictwa z dnia 4 lipca 2017 r. w sprawie sposobu prowadzenia dokumentacji związanej ze zwalczaniem chorób zakaźnych zwierząt (Dz.U. z 2017 r. poz. 1388);
- 6) The World Organisation for Animal Health (WOAH) Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, rozdział „African swine fever”.

## **Część II**

**W przypadku podejrzenia ogniska ASF w pierwszej kolejności badaniom poddawane są próbki pobrane od świń. Próbki uwzględnione w niniejszej części podlegają badaniu w kierunku ASF wyłącznie w przypadku potwierdzenia ogniska ASF u świń. Jeżeli wystąpienie ASF nie zostanie potwierdzone, próbki podlegają utylizacji.**

### **1. Informacje wstępne**

Wirus afrykańskiego pomoru świń (jest w wysokim stopniu odporny na różnorodne warunki środowiskowe i przez długi okres (nawet 3-6 miesięcy) zachowuje zakaźność we krwi, kale, tkankach, produktach pochodzenia wieprzowego oraz dziczyźnie (szczególnie w produktach surowych lub poddanych niewystarczającej obróbce termicznej).

Potencjalnym źródłem czynnika chorobotwórczego mogą być również m.in. niesezonowane lub niezabezpieczone przed dostępem dzikich zwierząt surowce paszowe (ziarno, zielonka) lub ściółka. Zgodnie z obecnym stanem wiedzy nie można całkowicie wykluczyć owadów jako wektorów przenoszenia wirusa do gospodarstwa.

W celu właściwego rozpoznania choroby dla celów dochodzenia epizootycznego istotny jest wybór odpowiednich próbek do badań, ich prawidłowe pobranie, zapakowanie i przesłanie do laboratorium.

### **1.1. Cel instrukcji**

Ujednoczenie zasad pobierania i przesyłania próbek innych niż pobrane od świń, do badań laboratoryjnych testem real-time PCR w kierunku ASF jako element wspomagający dochodzenie epizootyczne.

### **1.2. Zakres stosowania**

W gospodarstwie, w którym wystąpiło podejrzenie wystąpienia ogniska ASF, w celu znalezienia nieskontaminowanego wtórnie źródła czynnika chorobotwórczego, pobiera się :

- próbki paszy (w tym pasze przemysłowe, surowce paszowe, zielonki, kiszonki), próbki ściółki, inne próbki pobrane ze środowiska,
- próbki owadów pochodzących z gospodarstwa oraz z jej bezpośredniego otoczenia.

### **1.3. Specyficzne definicje związane z instrukcją**

Badanie real-time PCR (badanie molekularne) - wykrywanie obecności materiału genetycznego (kwasu deoksyrybonukleinowego - DNA) wirusa ASF w analizowanych próbkach. Badanie wykonuje się testem PCR w czasie rzeczywistym (ang. real-time polymerase chain reaction).

### **1.4. Wymagane środki ostrożności**

Osoby odpowiedzialne za stosowanie instrukcji, pobierające i przesyłające próbki do badań laboratoryjnych w kierunku ASF powinny przestrzegać zasad pobierania, przechowywania, pakowania oraz przesyłania materiału, zawartych w niniejszej instrukcji. Szczególnie istotne jest zwrócenie uwagi na dobór właściwych próbek, sposób pakowania próbek gwarantujący bezpieczeństwo oraz zachowanie wymaganej ich jakości, a także odpowiednich warunków transportu.

**UWAGA: W związku z ryzykiem wtórnego zanieczyszczenia próbek konieczne jest zachowanie ostrożności przy ich pobieraniu i stosowanie zmiany odzieży ochronnej/jednorazowych rękawiczek. Jeżeli jest to możliwe, zalecane jest pobranie w pierwszej kolejności próbek paszy/surowców paszowych/ściółki,**

**przed próbobraniem od zwierząt. Pobierający próbkę powinien mieć pewność, że próbki pobierane z dodatkowych matryc nie miały bezpośredniego kontaktu z chorymi zwierzętami.**

## **2. Materiały potrzebne do pobierania próbek**

Do pobrania próbek potrzebne są następujące materiały:

- 1) sterylne pojemniki podstawowe, najlepiej plastikowe, zamykane szczelną nakrętką i/lub woreczki strunowe;
- 2) lepy na muchy typu tablicowego/arkusowego (karton powleczony klejem)
- 3) wymazówki suche, rękawiczki jednorazowe;
- 4) szczelnie zamykane kontenery do transportu pojemników podstawowych z próbkami; kontenery oraz pojemniki podstawowe muszą być wyraźnie oznakowane;
- 5) wkłady chłodzące;
- 6) pudełka styropianowe zbiorcze – utrzymujące chłodnicze warunki środowiskowe;
- 7) materiały pochłaniające wilgoć (bibuła, lignina, wata, gąbka, ręcznik papierowy);
- 8) etykiety, pisaki wodoodporne, koszulki na dokumentację.

## **3. Rodzaj pobieranego materiału i sposób jego pobierania**

### **3.1. Próbki pasz i ściółki**

3.1.1 Pobieranie próbek należy wykonać równoległe z pobieraniem próbek od zwierząt w gospodarstwie z podejrzeniem ogniska ASF, a pobrane próbki należy przekazać do laboratorium łącznie z próbkami pobranymi od zwierząt z podejrzeniem ASF.

Analizie podlegają próbki pasz, surowców do produkcji pasz oraz ściółki, w celu wykluczenia zanieczyszczenia tych produktów jako źródła zakażenia wirusem ASF w gospodarstwie. Nie ma konieczności pobierania do badań próbek paszy pełnoporcjowej, dodatków paszowych czy premiksów przechowywanych w zabezpieczonych, nieotwartych, szczelnych opakowaniach przez okres przynajmniej 30 dni ani sezonowanych przez okres powyżej 3 m-cy surowców przeznaczonych na ściółkę.

3.1.2. Sposób pobierania próbek:

1) z każdej partii lub miejsca składowania surowców przeznaczonych do badań laboratoryjnych należy pobrać 5 próbek pierwotnych materiału o masie 20-50g z różnych miejsc (różna lokalizacja w obrębie partii, powierzchnia, głębokość). W przypadku surowców lekkich (np. słomy) masa próbek może być niższa i odpowiadać objętości mieszczącej się w dłoni. Każda z próbek pierwotnych powinna być zapakowana osobno i oznaczona w sposób umożliwiający identyfikację próbek z danej partii (np. Partia A, próbki A1-A5). Opis każdej partii materiału w towarzyszącej

dokumentacji powinien umożliwić odtworzenie lokalizacji jej przechowywania w gospodarstwie;

2) do badań należy również pobrać resztki pokarmu pobrane bezpośrednio z kojców gdzie nie wystąpiło podejrzenie ASF.

### 3.1.3. Uwagi dodatkowe:

- 1) w przypadku kontrolowania różnych surowców, każdy z nich należy traktować jako osobną partię materiału i pobrać po 5 próbek pierwotnych w sposób opisanych powyżej;
- 2) w przypadku przechowywania danego surowca (np. ziarna) w różnych lokalizacjach na fermie, każda lokalizacja powinna być traktowana jako osobna partia materiału, i z każdej z nich należy pobrać po 5 próbek pierwotnych i odpowiednio oznakowana;
- 3) w przypadku przechowywania jednolitego surowca w więcej niż jednym opakowaniu/kontenerze umieszczonych w jednej lokalizacji, traktujemy całość jako jedną partię materiału i pobieramy 5 próbek pierwotnych z losowo wybranych kontenerów, zamieszczając odpowiednią adnotację w opisie próbek.

## 3.2. Wymazy

W przypadku konieczności określenia roli powierzchni we wprowadzeniu wirusa do gospodarstwa (itp. powierzchni urządzeń rolniczych, kanałów wentylacyjnych, środków transportu itp.), należy pobrać do badań próbki środowiskowe (wymazy).

Wymazy środowiskowe należy pobierać przy pomocy jałowych kompresów gazowych o wymiarach 5 x 5 cm zwilżonych wcześniej 5 ml PBS. Przy pobieraniu wymazu każdorazowo należy stosować rękawiczki jednorazowe w celu uniknięcia kontaminacji próbek. Zwilżonym gazikiem należy dwukrotnie przetrzeć wytypowaną powierzchnię około 20 cm<sup>2</sup> wykonując ruchy pionowe, a następnie poziome, tak aby zapewnić dwukrotne pokrycie całości powierzchni. Następnie umieścić gazik w szczelnie zamkniętym woreczku strunowym i przekazać do laboratorium.

## 3.3. Zbieranie próbek owadów:

- 1) pułapki do odłowu owadów należy umieścić wewnątrz budynku chlewni (2 lepy), w części w której wystąpiło podejrzenie ASF oraz na zewnątrz budynku (1 lep), nie dalej niż 15 m od miejsca przebywania zwierząt;
- 2) odłów owadów odbywa się bezpośrednio po stwierdzeniu podejrzenia ogniska ASF. Lepy należy umieścić w miejscu odłowu w momencie postawienia podejrzenia ogniska ASF i zdjąć bezpośrednio przed zabijaniem świń;
- 3) w idealnej sytuacji, lepy powinny znajdować się w miejscu o bezpośrednim dostępie światła słonecznego;

- 4) lepy należy zawiesić na wysokości około 1,5 m, najlepiej w miejscu o możliwie swobodnym dostępie z obu stron (klej znajduje się z obydwu stron arkusza), jednak dopuszcza się również umieszczenie lepu na ścianie;
- 5) po zawieszeniu lepu należy oderwać folię ochronną (z obydwu lub jednej strony w zależności od sposobu zawieszenia lepu) i **pozostawić ją do zabezpieczenia lepu po jego zebraniu**;
- 6) po zakończeniu odłowu należy zabezpieczyć lepłą powierzchnię z owadami za pomocą arkusza ochronnego (**patrz punkt 5**);  
arkusze należy przykleić delikatnie, nie dociskając ich do lepu, aby nie uszkodzić owadów przed identyfikacją gatunkową;
- 7) zabezpieczone lepy należy zapakować w worki celofanowe/strunowe (każdy lep w osobny worek), opisać na załączonej etykiecie (**data, miejsce odłowu, wewnątrz/na zewnątrz budynku, czas w jakim lep był wywieszony**), zabezpieczyć workiem foliowym, spakować do pudełka transportowego z wkładami chłodzącymi i wraz z próbkami, przesłanymi z likwidacji ogniska, niezwłocznie przekazać do PIWet-PIB w Puławach;
- 8) należy bezwzględnie zapobiegać kontaminacji lepu.

### 3.4. Opakowanie próbek i transport

Próbki powinny być opakowane i dostarczone do laboratorium w sposób uniemożliwiający zakażenie innych zwierząt lub zanieczyszczenie środków transportu, sprzętu itp.

Pobrany materiał do badań należy zapakować w sterylne i wodoodporne pojemniki podstawowe, odporne na uszkodzenia mechaniczne. Bardzo istotne jest wyraźne oznakowanie pojemników w celu odpowiedniej identyfikacji próbek. Przed transportem należy sprawdzić szczelność opakowań, ponieważ wymieszanie/wyciek materiału może mieć wpływ na czas i wiarygodność wykonywanych badań laboratoryjnych.

Wszystkie szczelnie zamknięte pojemniki podstawowe zawierające próbki do badań powinny być umieszczone w drugim szczelnie zamkniętym i zaklejonym, wodoodpornym pojemniku odpornym na uszkodzenia mechaniczne. W przypadku transportu pasz płynnych wewnątrz kontenera należy umieścić materiał absorbujący w celu pochłaniania ewentualnych przecieków z pojemników lub probówek. Próbki powinny być dostarczone z wkładami chłodzącymi, w ilości wystarczającej do utrzymania wymaganej temperatury przez cały czas trwania transportu 4 - 7°C.

Korzystnie jest, aby opakowania były dodatkowo wypełnione materiałem zabezpieczającym przed wstrząsami i przemieszczaniem pojemników z próbkami.

Na zewnątrz kontenera powinny być umieszczone czytelne informacje:

- 1) Etykieta 'materiał biologiczny'.

- 2) Etykieta 'materiał zakaźny dla zwierząt'.
- 3) Etykieta/oznaczenie 'przechowywać w 4 - 7°C.
- 4) Pełna i nazwa i adres nadawcy.
- 5) Pełna nazwa i adres odbiorcy.

Próbki powinny być oznaczone czytelnie (należy używać wodoodpornych pisaków lub naklejek, które nie ulegną uszkodzeniu pod wpływem wilgoci albo naklejek), aby można było zidentyfikować w łatwy sposób ich pochodzenie i lokalizację pobrania na fermie.

Opakowanie zewnętrzne należy oznaczyć podając informacje szczegółowe dotyczące pobranych próbek lub odniesienie do tych informacji w piśmie przewodnim/protokole pobrania próbek.

Próbki powinny być dostarczone do laboratorium jak najszybciej, aby uniknąć procesów degradacji próbek i materiału genetycznego wirusa. Optymalnym czasem jest dostarczenie próbek w ciągu 12 godzin od pobrania. Próbki powinny być przesyłane w temperaturze 4-7°C (w kontenerach z wkładami chłodzącymi).

### **3.5. Dokumentacja towarzysząca próbce**

Do próbki należy dołączyć pismo przewodnie oraz protokół pobrania próbek.

Pismo i protokół powinny zawierać następujące informacje:

- 1) kierunek badań;
- 2) dane posiadacza zwierzęcia: imię i nazwisko, współrzędne geograficzne, dokładny adres i numer gospodarstwa, z którego pochodzą próbki (z podaniem nazwy gminy i powiatu);
- 3) dane dotyczące próbek: rodzaj, miejsce pobrania, pasza komercyjna/własna, identyfikacja partii/lokalizacji pobrania próbek na fermie;
- 4) podanie obszaru (strefy), na terenie których zostały pobrane próbki (obszar objęty ograniczeniami I, obszar objęty ograniczeniami II, obszar ograniczeniami III) lub obszar wolny od ASF;
- 5) prawdopodobny czas padnięcia/wystąpienia objawów choroby;
- 6) w przypadku lepu na owady: data, miejsce odłowu (wewnątrz/na zewnątrz budynku), czas w jakim lep był wywieszony;
- 7) wszelkie inne istotne informacje.

## **Postanowienia końcowe**

1. Traci moc instrukcja Głównego Lekarza Weterynarii nr BP.0200.1.3.2024 dotycząca pobierania i przesyłania próbek do laboratoryjnych badań diagnostycznych w kierunku afrykańskiego pomoru świń
2. Instrukcja wchodzi w życie w dniu 25.11.2024 r.

Zatwierdził  
Główny Lekarz Weterynarii  
Krzysztof Jażdżewski  
/podpisano elektronicznie/