

Болест се може развити у инапаратном или благом облику уз незнатно погоршање општег стања свиња, али током неколико дана развију се антители која неутралишу вирус. Специфична IgM антителија могу се обично доказати у крви два до три дана након инфекције, која нестају послје отприлике 30 до 50 дана; специфична IgG антителија могу се обично доказати у крви од 10 до 14 дана након инфекције и присутна су неколико година. Ig изотип може се одредити помоћу методе ELISA описане у Глави VIII(Б) (2) овог Прилога.

Због субклиничке или благе природе, на болест се у правилу најприје посумња тек након серолошких тестова који се спроводе у оквиру надзора болести или за издавање извозних сертификата. Недавна избијања везикуларне болести свиња у Европи била су праћена релативно благим клиничким знаковима или их уопште није било, па дијагноза често зависи од серолошких тестирања.

Међутим, клинички знакови везикуларне болести свиња не разликују се од клиничких знакова слинавке и шапа. Свако везикуларно стање мора се од почетка третирати као сумња на слинавку и шап, а диференцијално дијагностификовање мора да буде спроведено што је прије могуће.

Период инкубације везикуларне болести код појединих свиња је обично између два до седам дана, након чега се може појавити пролазна температура до 41°C, док на фарми клинички знакови могу да буду видљиви тек након дужег времена. Везикуле се могу развити на коронарном појасу, обично на споју са петом. Оне могу да захвате цијелу коронарну мишићну тетиву и могу да узрокују губитак папка. Везикуле се рјеђе појављују на њушци, посебно на дорзалној површини, на уснама, језику и сисама, а површинске ерозије могу бити видљиве на кољенима. Обољеле свиње могу шепати и због тога слабије узимати храну током неколико дана.

Код млађих категорија свиња то је јаче изражено, иако је смртност од везикуларне болести свиња врло ријетка, за разлику од смртности млађих категорија свиња код слинавке и шапа.

Забележени су и неуролошки знакови, али они нису уобичајени. Побачаји нису типична појава код везикуларне болести свиња. Затајење рада срца због мултифокалног миокардитиса може указивати на слинавку и шап и енцефаломиокардитис, поготову код млађе прасади, али се не доводи у везу са везикуларном болести свиња.

Потпуно оздрављење по правилу наступа за двије до три недеље, а једини знак болести остаје тамна, водоравна црта на ројини папка гдје је раст био привремено прекинут. Заражене свиње излучују вирус из носа и уста и путем фецеса до 48 часова прије почетка клиничких знакова. Вирус је већином умножен током првих седам дана након инфекције, а излучивање вируса из носа и уста обично престаје током двије седмице. Вирус из фецеса може да се издвоји до 20 дана након инфекције, иако је забиљежена његова присутност и до три мјесеца након инфекције. Узрочник може дуго времена преживјети у некротичном ткиву насталом на мјесту пробушених везикула, као и у фецесу.

ГЛАВА X

Референтни серуми везикуларне болести свиња

Референ-тни серум	Поријекло	Напомена (¹)
1	Серум здраве свиње (СЗС)	Негативни контролни серум

2	Серум прикупљен 21 дан послје инфекције (дпи) од свиње заражене вирусом везикуларне болести свиња сој UKG 27/72 (чисти вирус)	Позитиван контролни серум у високом титру.
3	СЗС се разријеђује серумом болесне свиње прикупљеним петог дпи вирусом везикуларне болести свиња сој Italy 8/94 у омјеру 1:10.	Слабо позитиван серум од свиње недуго након инфекције са скорашњим европским изолатом вируса везикуларне болести свиња. Серум је разријеђен како би се добио слабо позитиван резултат ELISA-ом и VN-тестом.
4	Серум свиње прикупљен 21 дпи вирусом везикуларне болести свиња сој UKG 27/72 разријеђен у омјеру 1:40	Слабо позитиван серум који одређује најнижи ниво антителија, код које би Националне Референтне Лабораторије ЕУ требале увијек дати позитиван резултат ELISA-ом и вирусном неутрализацијом. Еквивалент серуму RS 01-04-9424(²)
5	Серум прикупљен четвртог дпи од свиње заражене вирусом везикуларне болести свиња, сој UKG 27/72 (чисти вирус)	Слабо позитиван серум од свиње у раној фази инфекције.
6	Серум прикупљен петог дпи од свиње заражене вирусом везикуларне болести свиња, сој UKG 27/72 (чисти вирус)	Слабо позитиван серум од свиње у раној фази инфекције.

- 1) Ови коментари односе се на испитивање појединих свиња. За серолошки надзор треба узети у обзир осјетљивост теста.
- 2) Односно, серум са титром значајно вишим од граничне вриједности (cut-off) тако да би увијек требао дати позитиван резултат ELISA-ом и VN-тестом у поновљеном тестирању.

Na osnovu člana 13. stav 4. Zakona o veterinarstvu u Bosni i Hercegovini ("Službeni glasnik BiH", broj 34/02) i člana 17. Zakona o Vijeću ministara Bosne i Hercegovine ("Službeni glasnik BiH", br. 30/03, 42/03, 81/06, 76/07, 81/07, 94/07 i 24/08), Vijeće ministara Bosne i Hercegovine, na prijedlog Ureda za veterinarstvo Bosne i Hercegovine, na 165. sjednici održanoj 26. oktobra 2011. godine, donijelo je

ПРАВИЛНИК О УТВРЂИВАЊУ ДИЈАГНОСТИЧКИХ ПОСТУПАКА, МЕТОДА УЗИМАЊА УЗОРАКА И КРИТЕРИЈА ЗА ВРЈЕДНОВАЊЕ РЕЗУЛТАТА ЛАБОРАТОРИЈСКИХ ТЕСТОВА ЗА ВЕЗИКУЛАРНУ БОЛЕСТ СВИЊА

Члан 1.
(Предмет)

Ovim Pravilnikom se osigurava da se potvrda vezikularne bolesti svinja i diferencijalna dijagnoza slinavke i šapa vrši u skladu s postupcima, metodama uzimanja uzoraka i kriterijima za vrjednovanje rezultata laboratorijskih testova utvrđenim u Priručniku iz Priloga koji je sastavni dio ovog Pravilnika i da se temelji na:

- a) utvrđivanju kliničkih znakova bolesti;
- b) otkrivanju virusa, antigena ili genoma u uzorcima tkiva epitela, vezikularne tekućine ili fecesa;
- c) utvrđivanju reakcije specifičnih antitijela u uzorcima seruma.

Član 2.

(Laboratorijski testovi)

- (1) Referentne dijagnostičke laboratorije navedene u Prilogu II. tački 6. Pravilnika o mjerama za kontrolu određenih bolesti životinja i posebne mjere za vezikularnu bolest svinja ("Službeni glasnik BiH", broj 15/11) mogu primijeniti i prilagođene laboratorijske testove navedene u Priručniku iz Priloga ovog Pravilnika ili koristiti druge testove pod uslovom da oni osiguravaju jednaku osjetljivost i specifičnost.
- (2) Osjetljivost i specifičnost ovih prilagođenih ili drugih testova mora se procijeniti u okviru redovnih uporednih ispitivanja koje organizira OIE/EU referentna laboratorija za vezikularnu bolest svinja.

Član 3.

(Stupanje na snagu)

Ovaj Pravilnik stupa na snagu osmog dana od dana objavljivanja u "Službenom glasniku BiH".

VM broj 253/11
26. oktobra 2011. godine
Sarajevo

Predsjedavajući
Vijeća ministara BiH
Dr. Nikola Špirić, s. r.

Prilog

PRIRUČNIK

**O DIJAGNOSTIČKIM POSTUPCIMA, METODAMA
UZIMANJA UZORAKA I KRITERIJIMA ZA
VRJEDNOVANJE REZULTATA LABORATORIJSKIH
TESTOVA ZA POTVRĐIVANJE I DIFERENCIJALNO
DIJAGNOSTIFICIRANJE VEZIKULARNE BOLESTI
SVINJA**

POGLAVLJE I.**Uvod, ciljevi i značenje pojmova**

1. Ovaj Priručnik:
 - (a) utvrđuje smjernice i minimalne zahtjeve dijagnostičkog postupka, metode uzimanja uzoraka i kriterije za vrjednovanje rezultata laboratorijskih testova za tačno dijagnostificiranje vezikularne bolesti svinja. Međutim, posebna važnost se posvećuje diferencijalnom dijagnostificiranju slinavke i šapa;
 - (b) obuhvata odredbe Priloga II. Pravilnika o mjerama za kontrolu određenih bolesti životinja i posebne mjere za vezikularnu bolest svinja, a posebno tač. 4, 7. i 8. navedenog Priloga;
 - (c) namijenjen je uglavnom nadležnim organima odgovornim za kontrolu vezikularne bolesti svinja. Stoga je naglasak na načelima i primjenama laboratorijskih testova i procjeni njihovih rezultata, a ne na pojedinim laboratorijskim tehnikama.
2. Za potrebe ovog Priručnika primjenjuju se sljedeći pojmovi:
 - (a) "*serološki pozitivna svinja*" je svinja u čijem serumu je putem virus neutralizacijskog testa koji se primjenjuje u nacionalnoj laboratoriji, utvrđen titar specifičnih antitijela jednak ili viši od titra specifičnih antitijela referentnog seruma 4 vezikularne bolesti svinja navedenog u Poglavlju X. ovog Priloga;
 - (b) "*nespecifični reaktor*" je bilo koja pojedinačna serološki pozitivna svinja na farmi, kod koje je serološki test za vezikularnu bolest svinja dao pozitivan rezultat, a za koju se zna da nije bila u dodiru s virusom vezikularne bolesti svinja, niti ima dokaza da je s nje zaraza prenesena na druge svinje s

kojima je bila u kontaktu. Serološki pozitivna svinja potvrđuje se kao nespecifični reaktor ako su ispunjeni uslovi navedeni u Poglavlju VIII(C) ovog Priloga;

- (c) "*svinje u kontaktu*" su svinje koje su u direktnom kontaktu ili su bile u direktnom kontaktu, tokom posljednjih 28 dana, sa jednom ili više serološki pozitivnih svinja ili sa jednom ili više svinja za koje se sumnja da su zaražene virusom vezikularne bolesti svinja. Svinje u kontaktu mogu biti, ili su mogle biti, u istom oboru ili u susjednim oborima ukoliko postoji mogućnost direktnog kontakta svinja između obora.

POGLAVLJE II.**Smjernice za pretragu svinja koje pokazuju kliničke znakove vezikularne bolesti svinja**

1. Nadležni organi entiteta i Brčko Distrikta Bosne i Hercegovine će osigurati da, pri sumnji na prisutnost vezikularne bolesti svinja na farmi, nadležni veterinarski inspektor što prije pregleda statistički značajan broj svinja, kako bi se otkrili klinički simptomi bolesti navedeni u Poglavlju IX. ovog Priloga.
2. Nadležni organi entiteta i Brčko Distrikta Bosne i Hercegovine će osigurati da, u slučaju kad svinje pokazuju kliničke znakove koji ukazuju na vezikularnu bolest svinja ili slinavku i šap, se mora provesti, što je prije moguće, odgovarajuće uzorkovanje i laboratorijsko ispitivanje u svrhu diferencijalnog dijagnostificiranja, u skladu s odredbama navedenim u Poglavljima IV., VII. i VIII. ovog Priloga.

POGLAVLJE III.**Opći postupci uzorkovanja i prijevoza uzoraka**

1. Bilo koje lice koje ulazi ili izlazi sa farme na kojoj je postavljena sumnja na vezikularnu bolest svinja, mora se pridržavati najstrožih higijenskih mjera neophodnih da se smanji opasnost od kontaminacije ili širenja virusa.
2. Sve svinje od kojih se uzimaju uzorci moraju biti označene na propisani način tako da se uvijek mogu identifikirati u slučaju ponovnog uzimanja uzoraka. Preporučuje se da se zabilježi lokacija svake svinje na farmi od koje je uzet uzorak, zajedno sa njenom jedinstvenom identifikacijskom oznakom, naročito ako je uzorak uzet od svinje sumnjive na bolest.
3. Uzorci se moraju dostaviti u laboratoriju uz odgovarajuće propratne obrasce, koji uključuju detalje o istoriji bolesti svinja od kojih su uzeti uzorci kao i uočeni klinički znakovi, ako postoje.
4. Obzirom da svaka pojava vezikula kod svinja može biti i slinavka i šap, moraju se poduzeti posebne mjere sigurnosti pri pakiranju uzoraka za koje postoji sumnja na zarazu. Ove mjere se poduzimaju s ciljem sprječavanja loma ili prolijevanja posuda zbog opasnosti od zaraze, ali se također mora osigurati da uzorci stignu u odgovarajućem stanju. Ako se za pakiranje koristi led, mora se spriječiti prolijevanje vode. Posude s uzorcima za koje se sumnja da sadrže virus vezikularne bolesti svinja ne smiju se otvarati nakon napuštanja zaraženog prostora sve dok ne stignu u laboratoriju.
5. Uzorci za koje se sumnja da sadrže virus vezikularne bolesti svinja moraju biti analizirani samo u laboratoriji ovlaštenoj za izdvajanje virusa slinavke i šapa u dijagnostičke svrhe, u skladu s Pravilnikom o mjerama za suzbijanje i iskorjenjivanje slinavke i šapa ("Službeni glasnik BiH", broj 45/11), osim ako slinavka i šap već nije isključena.

6. Svi uzorci se mogu transportovati na temperaturi od 4 °C ako je očekivano vrijeme prijevoza do laboratorije kraće od 48 sati, u protivnom se moraju držati na temperaturi ne višoj od -20 °C.
7. Za uzorke koji se upućuju u Referentnu laboratoriju Zajednice jedina dopuštena metoda prijevoza je avionom do aerodroma London (Heathrow) ili London (Gatwick). Prije slanja pošiljke laboratorija se mora obavijestiti faksom ((44-1483) 23 26 21) ili e-mailom o detaljima leta, datumu, očekivanom vremenu dolaska i broju tovarnog lista u zračnom saobraćaju, tako da se pošiljka može pronaći po dolasku.

Pošiljka se mora adresirati na:

Institute for Animal Health, Pirbright Laboratory,

Community Reference Laboratory for swine vesicular disease

Ash Road, Pirbright, Woking,

Surrey GU24 0NF

United Kingdom, UK

Na etiketi se također moraju navesti sljedeće informacije: "Patološki materijal životinjskog porijekla bez komercijalne vrijednosti. Kvarljivo. Lomljivo. Primatelj preuzima na aerodromu. Ne smije se otvarati izvan laboratorije!"

Osoblje Referentne laboratorije Zajednice ovlašteno je za preuzimanje pošiljke na aerodromu prema posebnoj općoj uveznoj dozvoli koju u tu svrhu izdaje Ministarstvo poljoprivrede, hrane i ribarstva Ujedinjenog Kraljevstva. To je ustaljeni postupak i nije potrebna posebna dozvola za svaki pojedinačni slučaj uvoza. Zabranjeno je unošenje u Ujedinjeno Kraljevstvo uzoraka za koje se sumnja da sadrže vezikularni materijal u ručnom prtljagu od strane neovlaštenog osoblja. Ne smiju se koristiti dostavne kurirske službe.

8. Prijevoz uzoraka u referentnu laboratoriju u Bosni i Hercegovini mora se provoditi u skladu s uputama propisanim u skladu s članom 13. stav 4. Zakona o veterinarstvu u Bosni i Hercegovini.

POGLAVLJE IV.

Postupci uzorkovanja na farmi sa klinički sumnjivim svinjama

1. Kada se na osnovu uočenih kliničkih znakova bolesti posumnja na prisutnost virusa vezikularne bolesti svinja na farmi, moraju se prikupiti odgovarajući uzorci od reprezentativne grupe svinja koja pokazuje te znakove, kako bi se potvrdila bolest i diferencijalnim dijagnostificiranjem isključila slinavka i šap.
2. Na tim farmama za postavljanje dijagnoze najprimjereniji uzorci su epitelno tkivo i vezikularna tekućina iz neprobušenih ili tek probušanih vezikula uzetih od svinja koje pokazuju tipične znakove bolesti, u kojima se može utvrditi virus vezikularne bolesti svinja, njegovi antigeni ili genom. Preporučuje se uzimanje uzoraka od pet ili šest takvih svinja.
3. Čak kad su svježe epitelno tkivo i vezikularna tekućina na raspolaganju u dovoljnoj količini (1 g ili više), moraju se također uzeti i sljedeći uzorci:
 - (a) krv svinja za koje se sumnja da su zaražene, kao i svinja koje su bile u kontaktu, za serološko testiranje; i
 - (b) feces svinja za koje se sumnja da su zaražene, kao i uzorci s poda iz njihovih obora i susjednih obora za virološko testiranje.
4. Uzorci se moraju prikupljati i prevoziti u skladu sa sljedećim postupcima:
 - (a) za uzorke epitelnog tkiva i vezikularne tekućine:

- ako je moguće, mora se uzeti najmanje 1g epitelnog tkiva iz neprobušene ili tek probušene vezikule. Preporučuje se da se radi zaštite životinja i izbjegavanja povreda osoblja, prije uzimanja uzoraka svinjama da umirujuće sredstvo.

- ako se uzorci odmah prevoze u referentnu laboratoriju (manje od tri sata), uzorci epitelnog tkiva mogu se prevoziti suhi i u frižideru. Međutim, ako postoji vjerovatnoća da će prijevoz trajati više od tri sata, uzorci se moraju staviti u malu količinu transportnog medija koji sadrži jednake dijelove glicerola i 0,04M fosfatnog pufera ili drugog odgovarajućeg pufera (npr. hepes), kako bi se pH vrijednost održala na optimalnom nivou za preživljavanje virusa slinavke i šapa (pH od 7,2 do 7,6). Transportni medij mora sadržavati antibiotike za dodatno antimikrobno djelovanje. Odgovarajući antibiotici i njihova krajnja koncentracija po ml su:

- (i) penicilin 1000 IJ,
- (ii) neomicin sulfat 100 IJ,
- (iii) polimiksin B sulfat 50 IJ,
- (iv) mikostatin 100 IJ,

- ako je moguće vezikularnu tekućinu uzeti iz neprobušene vezikule, ona se mora pohraniti nerazrijeđena u posebnim spremnicima za slanje;
- (b) za uzorke krvi:

- uzorci krvi se mogu uzeti za serološka ili virološka testiranja. Za dokazivanje antitijela u pravilu se prikupljaju uzorci samo od svinja za koje se sumnja da su preboljele kliničku ili subkliničku infekciju, jer su epitelno tkivo, vezikularna tekućina i uzorci fecesa svinja koje pokazuju kliničke znakove bolesti pogodnije za otkrivanje virusa od uzoraka krvi. Preporučuje se da se uzimaju uzorci pune krvi uz upotrebu vakuumske epruvete bez antikoagulansa, te da se vakuumske epruvete ne otvaraju za vrijeme prijevoza;

- (c) za uzorke fecesa:

- uzorci fecesa s poda prostorija u kojima borave ili su boravile svinje zaražene virusom vezikularne bolesti svinja, ili obrisi fecesa i uzorci fecesa živih svinja za koje se sumnja da su zaražene, moraju se staviti u čvrste, nepropusne spremnike.

Spremnici s uzorcima za koje se sumnja da su zaraženi virusom vezikularne bolesti svinja moraju se prije prijevoza u laboratoriju izvana dezinficirati. Odgovarajući dezinficijensi su:

- natrijum hidroksid (razrijeđen u omjeru 1:100),
- formalin (u omjeru 1:9 razrijeđen otopina formalina koja sadrži najmanje 34% formaldehida), i
- natrijum hipoklorit (2% raspoloživog hlora).

Navedenim dezinfekcijskim sredstvima mora se oprezno rukovati.

POGLAVLJE V.

Postupci uzorkovanja za serološki nadzor vezikularne bolesti svinja

1. Kada se serološki nadzor provodi u sljedeće svrhe:
 - (a) za nadzor na farmama na kojima nema dokaza ili sumnje da bi bolest mogla biti prisutna;
 - (b) za nadzor u klaonicama, na stočnim sajmovima, u sabirnim centrima ili sličnim mjestima rutinskim uzimanjem uzoraka za serološko pretraživanje;
 - (c) za nediskriminirajući nadzor svinja porijeklom iz izvoznica na farmama na koje su uvezene, uzorci krvi za serološko testiranje moraju se uzimati od svinja u skladu s odredbama utvrđenim u

- programima ili planovima za praćenje ili iskorjenjivanje odobrenih u skladu s postupkom koje je utvrdio Ured za veterinarstvo Bosne i Hercegovine u saradnji s nadležnim organima entiteta i Brčko Distrikta Bosne i Hercegovine.
2. Kada se serološki nadzor provodi u sljedeće svrhe:
- za nadzor farmi smještenih unutar zaraženih i ugroženih područja, koja su određena nakon potvrde izbijanja bolesti u skladu s Prilogom II. (7) i (8) Pravilnika o mjerama za kontrolu određenih bolesti životinja i posebne mjere za vezikularnu bolest svinja; ili
 - za nadzor farmi navedenih u članu 9. Pravilnika o mjerama za kontrolu određenih bolesti životinja i posebne mjere za vezikularnu bolest svinja, uzorci krvi za serološko testiranje moraju se uzimati od svinja u skladu sa sljedećim:
- u slučaju farmi koje se bave uzgojem za rasplod, postupak nasumičnog uzimanja uzoraka mora se provoditi na način koji osigurava otkrivanje 5% prevalencije serokonverzije sa sigurnošću od 95%;
 - u slučaju farmi na kojima se drže svinje samo za tov, postupak uzimanja uzoraka mora osigurati da je ukupan broj uzetih uzoraka barem jednak broju koji je potreban da se otkrije prevalencija od 5% sa sigurnošću od 95%. U svakom slučaju uzorci se moraju uzeti iz što je više moguće nasumično odabranih obora;
 - u slučaju miješanih farmi koje se bave i uzgojem za rasplod i tovom, od svake grupe svinja mora se uzeti toliko uzoraka koliko je potrebno da se otkrije prevalencija serokonverzije od 5% sa sigurnošću od 95%.

POGLAVLJE VI.

Dalje aktivnosti i postupci ponovnog uzimanja uzoraka u slučaju otkrivanja seropozitivnih svinja

- Ako se na farmi, provodeći nadzor u skladu s Poglavljem V(1)(a) ili V(2) ovog Priloga, otkrije samo jedna seropozitivna svinja, nadležni veterinarski inspektor mora osigurati da se:
 - ukoliko već nisu primijenjene, na farmi provedu mjere navedene u članu 4. Pravilnika o mjerama za kontrolu određenih bolesti životinja i posebne mjere za vezikularnu bolest svinja;
 - na farmi provede pregled u skladu s odredbama navedenim u Poglavlju II(1) ovog Priloga;
 - uzmu uzorci krvi za serološko testiranje od:
 - sumnjive svinje,
 - svinja koje su bile u kontaktu, a koje žive u istom ili susjednim oborima; od tih svinja uzorci se uzimaju na način da se u oboru može otkriti prevalencija serokonverzije od 50% sa sigurnošću od 95%.
- Međutim, Ured za veterinarstvo Bosne i Hercegovine u saradnji s nadležnim organima entiteta i Brčko Distrikta Bosne i Hercegovine može donijeti odluku o ukidanju mjera navedenih u tački 1(a) ovog Poglavlja, ukoliko:
 - iz epidemiološkog istraživanja provedenog u skladu s članom 8. Pravilnika o mjerama za kontrolu određenih bolesti životinja i posebne mjere za vezikularnu bolest svinja, proizlazi da vezikularna bolest svinja nije unesena na farmu;
 - na farmi nisu utvrđeni klinički znakovi vezikularne bolesti svinja; i
 - farma se ne nalazi u ugroženom području ili području pod ograničenjem, koje je uspostavljeno nakon potvrde o izbijanju bolesti, ili nije predmet

- drugih ograničenja koja se primjenjuju u odnosu na potvrđeno izbijanje bolesti, i pod uslovom da:
- nijedna svinja ne napusti farmu u svrhu stavljanja u promet; i
 - se svinje sa date farme premještaju samo u klaonicu na neodgodivo klanje ili na neku drugu farmu sa koje svinje također neće biti stavljene u promet,
- sve dok se na osnovu rezultata daljnjih provjera i seroloških testiranja ne dokaže da se u potpunosti može isključiti sumnja na vezikularnu bolest svinja.
- Ako provjere i serološka testiranja provedena u skladu s tač. 1(b) i (c) ovog Poglavlja:
 - daju negativne rezultate ili se pozitivan nalaz potvrdi samo kod jedne, prethodno pozitivne svinje ("nespecifični reaktor"), vezikularna bolest svinja može se isključiti. Mjere navedene u tački 1(a) ovog Poglavlja se ukidaju, osim ako se farma nalazi u zaraženom ili ugroženom području određenom oko mjesta izbijanja bolesti u kojoj mjere za iskorjenjivanje bolesti u skladu s Prilogom II(7) ili (8) Pravilnika o mjerama za kontrolu određenih bolesti životinja i posebne mjere za vezikularnu bolest svinja moraju ostati na snazi.
 - pokažu da je na farmi prisutno više od jedne serološki pozitivne svinje, ili vezikularna bolest svinja mora biti potvrđena, ili ako nisu ispunjeni uslovi iz Priloga II(4) Pravilnika o mjerama za kontrolu određenih bolesti životinja i posebne mjere za vezikularnu bolest svinja kojima se potvrđuje prisutnost bolesti, na farmi se moraju uzeti dodatni uzorci u skladu s postupkom uzimanja uzoraka navedenim u tački 4. ovog Poglavlja.
 - Ukoliko se na farmi otkrije više od jedne serološki pozitivne svinje nakon uzimanja uzoraka i seroloških testiranja navedenih u Poglavlju V(1)(a) i (1)(c) ili Poglavlju V(2) ovog Priloga, a nisu ispunjeni uslovi predviđeni u Prilogu II(4) Pravilnika o mjerama za kontrolu određenih bolesti životinja i posebne mjere za vezikularnu bolest svinja, kojima se potvrđuje vezikularna bolest svinja, nadležni veterinarski inspektor mora osigurati da se:
 - primijene, ili se nastave primjenjivati, odredbe navedene u članu 4. Pravilnika o mjerama za kontrolu određenih bolesti životinja i posebne mjere za vezikularnu bolest svinja;
 - na farmi provede kontrola u skladu s odredbama navedenim u Poglavlju II(1) ovog Priloga;
 - za serološka testiranja uzmu dodatni uzorci krvi od seropozitivnih svinja i svinja koje su bile u kontaktu, u skladu s tačkom 1(c) ovog Poglavlja;
 - za serološka testiranja uzmu uzorci krvi od svinja iz drugih objekata na farmi, u skladu s postupkom navedenim u Poglavlju V(2) ovog Priloga;
 - uzme dovoljan broj uzoraka fecesa za virološka testiranja:
 - od seropozitivnih svinja,
 - s podova obora u kojima su seropozitivne svinje i iz susjednih obora,
 - iz nasumično odabranih obora iz drugih objekata na farmi.
- Uzorci fecesa prikupljeni u skladu s prvom i drugom alinejom ove podtačke moraju se pretražiti što je prije moguće. Ukoliko su ti uzorci negativni, ali se na osnovu rezultata seroloških testiranja sumnja da se vezikularna bolest svinja možda proširila i na druge objekte, također se moraju testirati

uzorci fecesa prikupljeni u skladu s trećom alinejom ove podtačke.

Ako na osnovu dodatnih provjera i testiranja još uvijek nisu zadovoljeni uslovi iz Priloga II(4) Pravilnika o mjerama za kontrolu određenih bolesti životinja i posebne mjere za vezikularnu bolest svinja, kojima se potvrđuje prisutnost vezikularne bolesti svinja, seropozitivne svinje moraju biti usmrćene ili zaklane, u skladu s odredbama iz Priloga II(4)(d) Pravilnika o mjerama za kontrolu određenih bolesti životinja i posebne mjere za vezikularnu bolest svinja. Međutim, ako se utvrdi da su i druge svinje seropozitivne, pored onih za koje se već dokazalo da su seropozitivne u prethodnom uzimanju uzoraka, odredbe i postupci predviđeni u podtač. (a), (b), (c) (d) i (e) ove tačke primjenjuju se i dalje mutatis mutandis.

5. Ne dovodeći u pitanje mjere predviđene u članu 9. Pravilnika o mjerama za kontrolu određenih bolesti životinja i posebne mjere za vezikularnu bolest svinja, u slučaju da se utvrdi da je jedna ili više svinja seropozitivna nakon provođenja aktivnosti nadzora navedenih u Poglavlju V(1)(b) ili V(1)(c) ovog Priloga, nadležni veterinarski inspektor mora osigurati da se:

- (a) provedu, kad je to potrebno i moguće, daljnje odgovarajuće kontrole uključujući uzimanje uzoraka, kako bi se potvrdila ili isključila sumnja na vezikularnu bolest svinja na mjestima na kojima su te svinje otkrivene, uzimajući u obzir stanje u lokalnom okruženju;
- (b) na farmi sa koje potiču svinje provedu mjere navedene u članu 4. Pravilnika o mjerama za kontrolu određenih bolesti životinja i posebne mjere za vezikularnu bolest svinja;
- (c) na farmi sa koje potiču svinje provedu kontrole u skladu s odredbama navedenim u Poglavlju II(1) ovog Priloga; i
- (d) od svinja na farmi, s koje potiču seropozitivne svinje, prikupe uzorci krvi za serološko testiranje u skladu s odredbama navedenim u Poglavlju V(2) ovog Priloga.

6. Nadležni organi entiteta i Brčko Distrikta Bosne i Hercegovine mogu donijeti odluku o ukidanju mjera iz tačke 5(b) ovog Poglavlja, ako:

- (a) se na osnovu epidemiološkog istraživanja provedenog u skladu s čl. 4. i 8. Pravilnika o mjerama za kontrolu određenih bolesti životinja i posebne mjere za vezikularnu bolest svinja može zaključiti da vezikularna bolest svinja nije unesena na farmu;
- (b) na farmi nisu otkriveni klinički znakovi vezikularne bolesti svinja;
- (c) se farma ne nalazi u ugroženom području ili području pod ograničenjem određenim nakon što je potvrđeno izbijanje bolesti ili ako za njega ne vrijede druga ograničenja koja se primjenjuju radi potvrđenog izbijanja bolesti, i pod uslovom da:
 - nijedna svinja ne napusti farmu u svrhu stavljanja u promet; i
 - se svinje sa date farme premještaju samo u klaonicu na neodgovorno klanje ili na neku drugu farmu sa koje svinje također neće biti stavljene u promet,

sve dok se na osnovu rezultata daljnjih kontrola i seroloških testiranja provedenih na mjestu gdje su otkrivene seropozitivne svinje i na farmi sa koje potiču ne potvrdi da se u potpunosti može isključiti vezikularna bolest svinja.

POGLAVLJE VII.

Načela i primjena viroloških testiranja i procjena njihovih rezultata

A. Dokazivanje virusnog antigena

1. Indirektna sandwich ELISA je zamijenila reakciju vezivanja komplemenata kao metodu izbora za dokazivanje virusnog antigena vezikularne bolesti svinja. Test je isti kao onaj koji se koristi za dijagnozu slinavke i šapa. Testiranje na obje bolesti mora se provoditi istovremeno, osim ako slinavka i šap već nije isključena. Posebno se preporučuje korištenje uzoraka epitelnog tkiva ili tekućine iz vezikularnih lezija, u kojima su već za nekoliko sati kod akutno oboljelih svinja prisutni i dokazivi u visokom titru virusi vezikularne bolesti svinja i slinavke i šapa. Pozitivni rezultati metode ELISA povezuju se sa prisutnošću od najmanje 10^5 TCID₅₀ (*Tissue culture infectious doses* - zarazne doze kulture tkiva) virusa u uzorku.

Po dva reda na mikrotitarskim udubljenjima ELISA ploča su premazana sa zečijim antitijelima za virus vezikularne bolesti svinja i antitijelima za svaki od sedam serotipova virusa slinavke i šapa. To su serumi na koje se veže virusni antigen. Svakom od tih redova dodaje se testna suspenzija uzoraka. Uključene su i odgovarajuće kontrole. U sljedećoj fazi se u odgovarajuće redove dodaje homologni serum zamorca za dokazivanje, a potom anti-zamorčiji serum kunića konjugovan enzimom kao što je peroksidaza hrena. Između svake faze preduzima se temeljno ispiranje kako bi se odstranili nevezani reagensi. Nakon dodavanja hromogena i supstrata promjena boje ukazuje na pozitivnu reakciju. Kod jake pozitivne reakcije to se vidi golim okom, ali se rezultati mogu očitati i spektrofotometrijski, pri čemu apsorpcija svjetla od 0,1 iznad pozadine upućuje na pozitivnu reakciju.

2. Za dokazivanje vezikularne bolesti svinja i za diferencijalno dijagnostificiranje slinavke i šapa u uzorcima epitelnog tkiva, vezikularnoj tekućini ili kulturi zaraženog tkiva, može se, alternativno, koristiti i ELISA uz upotrebu monoklonskih antitijela, uz primjenu odabranih monoklonskih antitijela kao antitijela za vezivanje, i sa monoklonskim antitijelima konjugovanim peroksidazom kao antitijelima za otkrivanje.

3. ELISA uz upotrebu monoklonskih antitijela može se koristiti za pretraživanje antigenih varijanti među sojevima virusa vezikularne bolesti svinja. Virusni antigeni uzgojeni na kulturama tkiva vezuju se na hiperimuni serum kunića za virus vezikularne bolesti svinja koji je adsorbiran na čvrstu fazu. Odgovarajući paneli monoklonskih antitijela reagiraju i vezivanje monoklonskih antitijela na terenske sojeve upoređuje se sa vezivanjem monoklonskih antitijela na roditeljske sojeve. Slično vezivanje upućuje na prisutnost epitopa koji su zajednički roditeljskim sojevima i terenskim sojevima.

B. Izdvajanje i uzgoj virusa

1. Pročišćene suspenzije uzoraka epitelnog tkiva, vezikularne tekućine ili fecesa za koje se sumnja da sadrže virus vezikularne bolesti svinja rutinski se inokuliraju na odgovarajuće ćelijske kulture. Ukoliko količina i kvalitet uzoraka iz vezikularnih lezija dostavljenih na pretraživanje nije dovoljna za trenutno testiranje ELISA-om, potrebno je virus uzgojiti u kulturi tkiva, kako bi se povećala količina virusnog antigena.

2. Za izdvajanje i uzgoj virusa pročišćenom suspenzijom epitelnog tkiva inokulišu se jednoslojne kulture IB-RS-2 ćelija. Treba primijeniti suspenzije epitelnog tkiva dvije

razrijeđenosti, jedna visoko razrijeđena (1:500) i jedna nisko (1:10), kako bi se izbjeglo ometanje rasta virusa interferonom, čije oslobađanje ometa rast virusa vezikularne bolesti svinja. Za izdvajanje virusa, mediju za održavanje dodaju se samo antibiotici. Za diferencijalno dijagnostificiranje virusa slinavke i šapa, primarne ćelije goveđe štitnjače ili bubrežne ćelije hrčka (BHK-21) također moraju biti inokulirane.

3. Ako se razvije citopatski efekat, supernatant se mora prikupiti iz pozitivnih kultura po završetku citopatskog efekta i kao takav koristiti za identifikaciju virusa ELISA-om. Negativne kulture se moraju inokulirati na svježe kulture tkiva za 48 ili 72 sata i ta slijepa pasaža se pretražuje u toku 72 sata. Ako ne nastupi citopatski efekat nakon ponovljene slijepe pasaže, uzorak se može proglasiti negativnim na prisutnost živog virusa.
4. Suspenzije uzoraka fecesa mogu se preraditi kako je opisano u tački 1. Obzirom da je u pravilu u fecesu prisutno manje virusa nego u epitelnom tkivu, važno je, u slučaju odsustva citopatskog efekta u prvoj i drugoj pasaži, provesti i treću slijepu pasažu.
5. Simultana inokulacija linijske kulture ćelija svinja i jedne od gore spomenutih kultura tkiva (daje se prednost primarnim kulturama ćelija štitnjače goveda) je korisna smjernica za određivanje sadrže li uzorci vezikula virus vezikularne bolesti svinja ili slinavke i šapa, jer virus vezikularne bolesti raste samo u ćelijama svinjskog porijekla. Međutim, izolati virusa slinavke i šapa, koji su više puta pasirani među svinjama, mogu također rasti u ćelijskim kulturama svinja.

C. PCR (polymerase chain reaction) za dokazivanje genoma

1. Metoda prepoznavanja nukleinske kiseline može se koristiti za dokazivanje virusnog genoma vezikularne bolesti svinja u kliničkom materijalu pomoću PCR-a i za utvrđivanje odnosa između izolata virusa vezikularne bolesti svinja određivanjem nukleotidnog niza dijela genoma. Kako bi se poboljšala osjetljivost dijagnostificiranja razvijene su tehnike koje koriste PCR. Opisane su male razlike u RT-PCR postupcima kod kojih se primjenjuju prajmeri koji ciljaju visoko konzervirane regije u genima 1C i 1D.
2. PCR je brza metoda (rezultati su dostupni obično u roku od 24 sata), dokazuje sve genotipe virusa vezikularne bolesti svinja i dovoljno je osjetljiva da se može koristiti i na uzorcima prikupljenim od klinički sumnjivih slučajeva.
3. Kad se sumnja na sub kliničku infekciju, ili kad se prikupljaju uzorci nakon što je klinička slika bolesti jasna, ili kad se pripremaju uzorci fecesa, poboljšane RT-PCR metode, kao što su ugniježdene RT-PCR, imunosna PCR, ELISA-PCR i bolje razrađene metode ekstrakcije RNK pokazale su se kao barem jednako osjetljivi, ali mnogo brži, sistemi dokazivanja u odnosu na višestruke pasaže na kulturi tkiva.
4. Sekvencioniranjem približno 200 nukleotida unutar gena 1D, koji kodira sintezu glavnog strukturnog proteina VP1, moguće je grupisati sojeve virusa vezikularne bolesti svinja prema njihovoj homologiji redoslijeda, te epidemiološki razvrstati sojeve koji uzrokuju bolest u različitim regijama ili u različito vrijeme.

D. Procjena rezultata viroloških testova

Dokazivanje antigena ili genoma virusa vezikularne bolesti svinja ELISA-om ili PCR-om ima istu dijagnostičku vrijednost kao i izdvajanje virusa.

Ipak, izdvajanje virusa mora se uzimati kao referentni test i mora se koristiti kao potvrdni test, kad je to potrebno, a

posebno ako pozitivni rezultat ELISA-e ili PCR-a nije potkrijepljen sa:

- (a) otkrivanjem kliničkih simptoma bolesti,
- (b) otkrivanjem seropozitivnih svinja, ili
- (c) direktnom epidemiološkom povezanošću s potvrđenom pojavom bolesti.

POGLAVLJE VIII.

Principi i primjene seroloških testiranja i procjena njihovih rezultata

A. Virus neutralizacijski test (VN-test)

1. Kvantitativni VN mikro-test za otkrivanje antitijela za virus vezikularne bolesti svinja provodi se na ćelijama IB-RS-2 ili ekvivalentnim sistemom ćelija u mikrotitarskim pločama za kulturu tkiva sa ravnim dnom.
2. Virus se uzgaja u jednoslojnim ćelijskim kulturama IB-RS-2 i pohranjuje ili na temperaturi od -20° C nakon dodavanja 50% glicerola ili na temperaturi od -70° C bez glicerola. Serumi se prije testiranja inaktiviraju 30 minuta na temperaturi od 56° C.

B. ELISA testovi

1. ELISA za otkrivanje antitijela je kompetitivna ELISA na osnovi monoklonskih antitijela. Ako uzorak seruma sadrži antitijela za virus vezikularne bolesti svinja, vezivanje monoklonskog antitijela konjugovanog peroksidazom na antigen virusa bit će spriječeno.

U navedenoj ELISA metodi antigen virusa vezikularne bolesti svinja veže se na čvrstu fazu pomoću monoklonskih antitijela; nakon čega se odgovarajuće razrijeđeni uzorci seruma inkubiraju, te se zatim dodaju peroksidazom konjugirana monoklonska antitijela. Potom se pomoću supstrata i hromogena mjeri inhibicija vezivanja monoklonskih antitijela.

2. Indirektna ELISA "trapping" metoda, uz primjenu izotip-specifičnih monoklonskih antitijela za otkrivanje IgG ili IgM, specifičnih za virus vezikularne bolesti svinja pomaže pri dokazivanju vremena zaražavanja svinja ili kontaminacije prostora.

Kod izotipski specifične ELISA virusni antigen vezikularne bolesti svinja veže se na čvrstu fazu uz primjenu antitijela za vezivanje antigena. Ako uzorak seruma sadrži antitijela za virus vezikularne bolesti svinja, ona se otkrivaju uz primjenu anti-svinjskih IgG ili IgM monoklonskih antitijela, konjugovanih peroksidazom. Potom se pomoću supstrata i hromogena mjeri vezivanje.

Izotipski specifična ELISA može također pomoći pri razlikovanju "nespecifičnih reaktora" od stvarno pozitivnih svinja, kako je navedeno u Dijelu C ovoga Poglavlja.

C. Primjena seroloških testova i procjena rezultata

1. VN-test i ELISA preporučuju se kao serološki testovi. U Poglavlju X. ovog Priloga navedena je lista referentnih seruma, koji se mogu dobiti od referentne laboratorije EU za primjenu standardiziranih seroloških testova.

VN-test smatra se referentnim testom, ali njegova je loša strana što traje 2 do 3 dana i zahtijeva prostor i opremu za uzgoj kulture tkiva.

ELISA je brža i lakše se standardizira. Kompetitivna ELISA uz upotrebu monoklonskih antitijela je najpouzdaniji test za otkrivanje antitijela za vezikularnu bolest svinja. Preporučuje se za orijentaciono (engl. "screening") testiranje velikoga broja uzoraka.

VN-test mora se koristiti kao potvrdni test kad je to potrebno, posebno nakon prvog otkrivanja pozitivnog uzorka na farmi. Svinje pozitivne upotrebom ELISA testa, ali negativne kod VN-testa, ne trebaju se uzimati u obzir.

2. Може се сумњати на prisutnost "nespecifičnog reaktora" kada se identificira samo jedna seropozitivna svinja i kada su ispunjeni sljedeći kriteriji:
- na farmi nema kliničkih znakova bolesti;
 - na farmi ni u prošlosti nije bilo pojave kliničke zaraze;
 - ni u prošlosti nije bilo kontakta sa poznatim izbijanjem bolesti.

Mali dio "nespecifičnih reaktora" se može dokazati bilo kojim uobičajenim serološkim testom za vezikularnu bolest svinja. Nepoznati su faktori nastanka "nespecifičnog reaktora". Možda dolazi do serološke unakrsne aktivnosti s virusom vezikularne bolesti svinja zbog infekcije nekim drugim, do sada neidentificiranim picornavirusom ili drugim nespecifičnim faktorima prisutnim u serumu.

3. Svinja je potvrđena kao "nespecifični reaktor" kada:
- naknadnim testiranjima nisu identificirane druge seropozitivne svinje;
 - uzorkovanjem provedenim na svinjama koje su bile u kontaktu, nakon prvog utvrđivanja "nespecifičnog reaktora" nije utvrđena serokonverzija;
 - titar specifičnih antitijela ostaje konstantan ili opada nakon ponovljenog uzimanja uzoraka.
4. Međutim, sljedeći dodatni kriteriji i principi moraju se također uzeti u obzir kod potvrđivanja "nespecifičnog reaktora":
- "nespecifični reaktori" se pojavljuju kod svinja u prevalenciji od oko 1 na 1000 svinja;
 - serumi od "nespecifičnog reaktora" generalno imaju sljedeće osobine:
 - nizak titar specifičnih antitijela kod VN-testa,
 - kod kompetitivne ELISA-e uz upotrebu monoklonskih antitijela na granici su pozitivne reakcije,
 - nalaz isključivo IgM i bez IgG u vezikularnoj bolesti svinja kod izotipno specifičnog ELISA testa. Specifična IgG antitijela sama, ili zajedno IgG i IgM antitijela, obično se nalaze u uzorcima seruma svinja zaraženih virusom vezikularne bolesti svinja, dok serumi "nespecifičnog reaktora" obično sadrže samo IgM. Specifična IgG ne mogu se dokazati u uzorcima seruma svinja zaraženih virusom vezikularne bolesti svinja tokom prethodnih 10 ili 14 dana, iako bi ih trebalo dokazati u drugom uzorku krvi. Ipak, nedavno zaražene svinje ne mogu se pouzdano razlikovati od "nespecifičnog reaktora" prije nego što njihova imunosna reakcija pređe od IgM na IgG proizvodnju antitijela.

POGLAVLJE IX.

Klinički znakovi i obilježja vezikularne bolesti svinja

Vezikularna bolest svinja je zarazna bolest svinja koju uzrokuje enterovirus iz porodice Picornaviridae, koja može imati subklinički, blag ili žestok tok vezikularne bolesti, u zavisnosti od soja virusa koji je uzrokuje, načina prijenosa i doze virusa, kao i stanja na farmi na kojoj se svinje drže. Dodatni faktori stresa poput prijevoza, miješanje s drugim svinjama i ekstremne temperature mogu pogodovati razvoju kliničkih znakova.

Karakteristike bolesti su blago povišena temperatura i stvaranje vezikula na koronarnim mišićnim tetivama, korijenu pete, koži udova i rjeđe na njuški, usnama, jeziku i sisama. Stopa morbiditeta može biti do 100%, ali smrtnost je vrlo niska ili jednaka nuli.

Bolest se može razviti u inaparentnom ili blagom obliku uz neznatno pogoršanje općeg stanja svinja, ali tokom nekoliko

dana razviju se antitijela koja neutrališu virus. Specifična IgM antitijela mogu se obično dokazati u krvi dva do tri dana nakon infekcije, koja nestaju poslije otprilike 30 do 50 dana; specifična IgG antitijela mogu se obično dokazati u krvi od 10 do 14 dana nakon infekcije i prisutna su nekoliko godina. Ig izotip može se odrediti pomoću metode ELISA opisane u Poglavlju VIII(B) (2) ovog Priloga.

Zbog subkliničke ili blage prirode, na bolest se u pravilu najprije posumnja tek nakon seroloških testova koji se provode u okviru nadzora bolesti ili za izdavanje izvoznih sertifikata. Nedavna izbijanja vezikularne bolesti svinja u Evropi bila su praćena relativno blagim kliničkim znakovima ili ih uopće nije bilo, pa dijagnoza često zavisi od seroloških testiranja.

Međutim, klinički znakovi vezikularne bolesti svinja ne razlikuju se od kliničkih znakova slinavke i šapa. Svako vezikularno stanje mora se od početka tretirati kao sumnja na slinavku i šap, a diferencijalno dijagnostificiranje mora biti provedeno što je prije moguće.

Period inkubacije vezikularne bolesti kod pojedinih svinja je obično između dva do sedam dana, nakon čega se može pojaviti prolazna temperatura do 41°C, dok na imanju klinički znakovi mogu biti vidljivi tek nakon dužeg vremena. Vezikule se mogu razviti na koronarnom pojasu, obično na spoju s petom. One mogu zahvatiti cijelu koronarnu mišićnu tetivu i mogu uzrokovati gubitak papka. Vezikule se rjeđe pojavljuju na njušci, posebno na dorzalnoj površini, na usnama, jeziku i sisama, a površinske erozije mogu biti vidljive na koljenima. Oboljele svinje mogu šepati i zbog toga slabije uzimati hranu tokom nekoliko dana.

Kod mlađih kategorija svinja to je jače izraženo, iako je smrtnost od vezikularne bolesti svinja vrlo rijetka, za razliku od smrtnosti mlađih kategorija svinja kod slinavke i šapa.

Zabilježeni su i neurološki znakovi, ali oni nisu uobičajeni. Pobačaji nisu tipična pojava kod vezikularne bolesti svinja. Zatajenje rada srca zbog multifokalnog miokarditisa može ukazivati na slinavku i šap i encefalomiokarditis, pogotovu kod mlađe prasadi, ali se ne dovodi u vezu sa vezikularnom bolesti svinja.

Potpuno ozdravljenje po pravilu nastupa za dvije do tri sedmice, a jedini znak bolesti ostaje tamna, vodoravna crta na rožini papka gdje je rast bio privremeno prekinut. Zaražene svinje izlučuju virus iz nosa i usta i putem fecesa do 48 sati prije početka kliničkih znakova. Virus je većinom umnožen tokom prvih sedam dana nakon infekcije, a izlučivanje virusa iz nosa i usta obično prestaje tokom dvije sedmice. Virus se iz fecesa može izdvojiti do 20 dana nakon infekcije, iako je zabilježena njegova prisutnost i do tri mjeseca nakon infekcije. Uzročnik može dugo vremena preživjeti u nekrotičnom tkivu nastalom na mjestu probušenih vezikula, kao i u fecesu.

POGLAVLJE X.

Referentni serumi vezikularne bolesti svinja

Referentni serum	Porijeklo	Napomena (¹)
1	Serum zdrave svinje (SZS)	Negativni kontrolni serum
2	Serum prikupljen 21 dan poslije infekcije (dpi) od svinje zaražene virusom vezikularne bolesti svinja soj UKG 27/72 (čisti virus)	Pozitivan kontrolni serum u visokom titru.

3	SZS se razrjeđuje serumom bolesne svinje prikupljenim petog dpi virusom vezikularne bolesti svinja soj Italy 8/94 u omjeru 1:10.	Slabo pozitivan serum od svinje nedugo nakon infekcije sa skorašnjim evropskim izolatom virusa vezikularne bolesti svinja. Serum je razrijeđen kako bi se dobio slabo pozitivan rezultat ELISA-om i VN-testom.
4	Serum svinje prikupljen 21 dpi virusom vezikularne bolesti svinja soj UKG 27/72 razrijeđen u omjeru 1:40	Slabo pozitivan serum koji određuje najniži nivo antitijela, kod koje bi Nacionalne Referentne Laboratorije EU trebale uvijek dati pozitivan rezultat ELISA-om i virusnom neutralizacijom. Ekvivalent serumu RS 01-04-9424 (2)
5	Serum prikupljen četvrtog dpi od svinje zaražene virusom vezikularne bolesti svinja, soj UKG 27/72 (čisti virus)	Slabo pozitivan serum od svinje u ranoj fazi infekcije.
6	Serum prikupljen petog dpi od svinje zaražene virusom vezikularne bolesti svinja, soj UKG 27/72 (čisti virus)	Slabo pozitivan serum od svinje u ranoj fazi infekcije.

- 1) Ovi komentari odnose se na ispitivanje pojedinih svinja. Za serološki nadzor treba uzeti u obzir osjetljivost testa.
- 2) Odnosno, serum sa titrom značajno višim od granične vrijednosti (cut-off) tako da bi uvijek trebao dati pozitivan rezultat ELISA-om i VN-testom u ponovljenom testiranju.

Na temelju članka 13. stavak 4. Zakona o veterinarstvu u Bosni i Hercegovini ("Službeni glasnik BiH", broj 34/02) i članka 17. Zakona o Vijeću ministara Bosne i Hercegovine ("Službeni glasnik BiH", br. 30/03, 42/03, 81/06, 76/07, 81/07, 94/07 i 24/08), Vijeće ministara Bosne i Hercegovine, na prijedlog Ureda za veterinarstvo Bosne i Hercegovine, na 165. sjednici održanoj 26. listopada 2011. godine, donijelo je

PRAVILNIK

O UTVRĐIVANJU DIJAGNOSTIČKIH POSTUPAKA, METODA UZIMANJA UZORAKA I KRITERIJA ZA VREDNOVANJE REZULTATA LABORATORIJSKIH TESTOVA ZA VEZIKULARNU BOLEST SVINJA

Članak 1

(Predmet)

Ovim se Pravilnikom osigurava da se potvrda vezikularne bolesti svinja i diferencijalna dijagnoza slinavke i šapa vrši sukladno postupcima, metodama uzimanja uzoraka i kriterijima za vrednovanje rezultata laboratorijskih testova utvrđenim u Priručniku iz Privitka koji je sastavni dio ovoga Pravilnika i da se temelji na:

- a) utvrđivanju kliničkih znakova bolesti;
- b) otkrivanju virusa, antigena ili genoma u uzorcima tkiva epitela, vezikularne tekućine ili fecesa;
- c) utvrđivanju reakcije specifičnih protutijela u uzorcima seruma.

Članak 2.

(Laboratorijski testovi)

- (1) Referentni dijagnostički laboratoriji navedeni u Privitku II. točki 6. Pravilnika o mjerama za kontrolu određenih bolesti životinja i posebne mjere za vezikularnu bolest svinja ("Službeni glasnik BiH", broj 15/11) mogu primijeniti i prilagođene laboratorijske testove navedene u Priručniku iz Privitka ovoga Pravilnika ili koristiti druge testove pod uvjetom da oni osiguravaju jednaku osjetljivost i specifičnost.

- (2) Osjetljivost i specifičnost ovih prilagođenih ili drugih testova mora se procijeniti u okviru redovnih usporednih ispitivanja koje organizira OIE/EU referentni laboratorij za vezikularnu bolest svinja.

Članak 3.

(Stupanje na snagu)

Ovaj Pravilnik stupa na snagu osmog dana od dana objave u "Službenom glasniku BiH".

VM broj 253/11

26. listopada 2011. godine
Sarajevo

Predsjedatelj

Vijeća ministara BiH
Dr. **Nikola Špirić**, v. r.

Privitak

PRIRUČNIK

O DIJAGNOSTIČKIM POSTUPCIMA, METODAMA UZIMANJA UZORAKA I KRITERIJIMA ZA VREDNOVANJE REZULTATA LABORATORIJSKIH TESTOVA ZA POTVRĐIVANJE I DIFERENCIJALNO DIJAGNOSTIFICIRANJE VEZIKULARNE BOLESTI SVINJA

POGLAVLJE I.

Uvod, ciljevi i značenje pojmova

1. Ovaj Priručnik:
 - (a) utvrđuje smjernice i minimalne zahtjeve dijagnostičkog postupka, metode uzimanja uzoraka i kriterije za vrednovanje rezultata laboratorijskih testova za točno dijagnostificiranje vezikularne bolesti svinja. Međutim, posebna važnost se posvećuje diferencijalnom dijagnostificiranju slinavke i šapa;
 - (b) obuhvata odredbe Privitka II. Pravilnika o mjerama za kontrolu određenih bolesti životinja i posebne mjere za vezikularnu bolest svinja, a posebno toč. 4, 7. i 8. navedenog Privitka;
 - (c) namijenjen je uglavnom mjerodavnim tijelima odgovornim za kontrolu vezikularne bolesti svinja. Stoga je naglasak na načelima i primjenama laboratorijskih testova i procjeni njihovih rezultata, a ne na pojedinim laboratorijskim tehnikama.
2. Za potrebe ovoga Priručnika primjenjuju se slijedeći pojmovi:
 - (a) "*serološki pozitivna svinja*" je svinja u čijem serumu je putem virus neutralizacijskog testa koji se primjenjuje u nacionalnom laboratoriju, utvrđen titar specifičnih protutijela jednak ili viši od titra specifičnih protutijela referentnog seruma 4 vezikularne bolesti svinja navedenog u Poglavlju X. ovog Privitka;
 - (b) "*nespecifični reaktor*" je bilo koja pojedinačna serološki pozitivna svinja na posjedu, kod koje je serološki test za vezikularnu bolest svinja dao pozitivan rezultat, a za koju se zna da nije bila u doticaju s virusom vezikularne bolesti svinja, niti ima dokaza da je s nje zaraza prenesena na druge svinje s kojima je bila u kontaktu. Serološki pozitivna svinja potvrđuje se kao nespecifični reaktor ako su ispunjeni uvjeti navedeni u Poglavlju VIII(C) ovoga Privitka;
 - (c) "*svinje u kontaktu*" su svinje koje su u izravnom kontaktu ili su bile u izravnom kontaktu, tijekom posljednjih 28 dana, sa jednom ili više serološki pozitivnih svinja ili sa jednom ili više svinja za koje se sumnja da su zaražene virusom vezikularne bolesti svinja. Svinje u kontaktu mogu biti, ili su