

764.

Na osnovu člana 54 stav 6, člana 79 stav 6, člana 82 stav 3 i člana 90 stav 3 Zakona o veterinarstvu ("Službeni list CG", broj 30/12), Ministarstvo poljoprivrede i ruralnog razvoja, donijelo je

P R A V I L N I K
O MJERAMA ZA SPRJEČAVANJE POJAVE, OTKRIVANJE, SUZBIJANJE I
ISKORJENJIVANJE EGZOTIČNIH I NEEGZOTIČNIH BOLESTI VODENIH ŽIVOTINJA I
ZDRAVSTVENIM USLOVIMA ZA NJIHOVO STAVLJANJE U PROMET*

Predmet

Član 1

Ovim pravilnikom propisuju se mjere za sprječavanje pojave, otkrivanje, suzbijanje i iskorjenjivanje egzotičnih i neegzotičnih bolesti vodenih životinja i zdravstveni uslovi koji se primjenjuju na proizvodnju, preradu i stavljanje u promet proizvoda tih životinja namijenjenih ishrani ljudi.

Definicija vodenih životinja

Član 2

Vodene životinje su:

- 1) ribe iz nadrazreda *Agnatha* i razreda *Chondrichthyes* i *Osteichthyes*;
- 2) mekušci koji pripadaju kolu *Mollusca*;
- 3) rakovi koji pripadaju potkolu *Crustacea*.

Egzotične i neegzotične bolesti

Član 3

Egzotične i neegzotične bolesti vodenih životinja date su u Prilogu 1 koji je sastavni dio ovog pravilnika.

Primjena

Član 4

Ovaj pravilnik ne primjenjuje se na:

- a) ukrasne vodene životinje koje se uzgajaju u nekomercijalne svrhe;
- b) slobodnoživeće vodene životinje koje su sakupljene ili izlovljene radi njihovog direktnog unošenja u lanac ishrane;
- c) vodene životinje koje su ulovljene, radi proizvodnje ribljeg brašna, hrane za ribe, ribljeg ulja ili sličnih proizvoda;
- d) ukrasne vodene životinje koje se drže u prodavnicama kućnih ljubimaca, vrtnim centrima, vrtnim ribnjacima, komercijalnim akvarijumima ili u veleprodajama ako:
 - nemaju nikakav direktan kontakt sa otvorenim vodama; ili
 - imaju sistem obrade otpadnih voda kojim se rizik od prenošenja bolesti u otvorene vode smanjuje na prihvatljiv nivo.

Značenje izraza

Član 5

Izrazi upotrijebljeni u ovom pravilniku imaju sljedeća značenja:

- 1) **akvakultura** je uzgoj ili kultivacija vodenih organizama primjenom tehnike čiji je cilj povećanje vodenih životinja iznad mogućnosti koje pružaju prirodni uslovi životne sredine,

koji su u vlasništvu jednog ili više fizičkih ili pravnih lica u svim fazama uzgoja ili kulture uključujući sakupljanje/izlov;

2) **životinja akvakulture** je svaka vodena životinja u svim fazama razvoja, uključujući ikru i mliječ/gamete, koja se uzgaja u uzgajalištu ili u području uzgoja mekušaca, uključujući sve vodene životinje iz prirode koje su namijenjene unošenju u uzgajalište ili područje uzgoja mekušaca;

3) **poslovanje akvakulturom** je svaka aktivnost profitabilna ili neprofitabilna, javna ili privatna, koja obuhvata uzgoj, držanje ili kultivaciju životinja akvakulture;

4) **subjekat u poslovanju akvakulturom** je fizičko ili pravno lice koje je odgovorno za uzgoj i kultivaciju vodenih životinja koje se uzgajaju u akvakulturi;

5) **odobreni objekat za preradu** je objekat u kojem se vrši prerada vodenih životinja akvakulture namijenjenih ishrani ljudi i koji je upisan u Registar odobrenih objekata;

6) **uzgajalište** je prostor, ograđeno područje ili sistem akvakulture u kojem se uzgajaju vodene životinje, radi njihovog stavljanja na tržište, osim prostora, ograđenih područja ili sistema u kojima se sakupljaju ili izlovljavaju slobodnoživeće vodene životinje namijenjene za ishranu ljudi i koje se u tim objektima drže prije klanja, bez hranjenja;

7) **područje za uzgoj mekušaca** je područje u kojem se vrši uzgoj mekušaca ili područje u kojem se vrši ponovno polaganje mekušaca u kojem se sprovode biosigurnosne mjere;

8) **ukrasna vodena životinja** je vodena životinja koja se drži, uzgaja ili stavlja na tržište isključivo u ukrasne svrhe;

9) **stavljanje na tržište** je prodaja, uključujući i ponudu za prodaju na prodaju ili drugi oblik prenosa sa ili bez naknade, uključujući i svako premještanje životinja akvakulture;

10) **proizvodno područje za mekušce** je slatkovodno, morsko, estuarsko, kopneno ili područje lagune u kojem se nalaze prirodna staništa mekušaca ili mjesta koja se koriste za uzgoj mekušaca iz kojih se mekušci sakupljaju/izlovljavaju;

11) **ribolovno područje u kojem se sprovodi organizovano poribljavanje, radi rekreativnog ribolova** (putt and take fisheries) je ribnjak ili drugi vodeni sistem u kojem se populacija održava isključivo poribljavanjem životinjama akvakulture, radi sportsko-rekreativnog ribolova;

12) **područje za ponovno polaganje mekušaca** je slatkovodno, morsko, estuarsko ili područje lagune za prirodno prečišćavanje živih mekušaca čije su granice označene bovama, stubovima ili drugim oznakama;

13) **slobodnoživeća vodena životinja** je vodena životinja koja se ne uzgaja u akvakulturi;

14) **klanje** je usmrćivanje vodenih životinja za ishranu ljudi;

15) **kompartment** je jedno ili više uzgajališta pod zajedničkim biosigurnosnim sistemom koji sadrži populaciju vodenih životinja sa posebnim zdravstvenim statusom u odnosu na specifičnu bolest;

16) **zajednički biosigurnosni sistem** je sistem u kojem se primjenjuju iste mjere u svrhu nadzora zdravstvenog statusa vodenih životinja, sprječavanja i kontrole bolesti;

17) **područje u kojem se sprovode mjere za suzbijanje bolesti** je područje oko zaraženog uzgajališta ili područja za uzgoj mekušaca na kojem se primjenjuju mjere kontrole bolesti, radi sprječavanja njenog širenja;

18) **bolest** je klinička ili inaparentna infekcija vodenih životinja povezana sa prisutnošću jednog ili više etioloških uzročnika bolesti;

19) **zone ili kompartmenti slobodni od bolesti** su zone ili kompartmenti koji su proglašeni slobodnim od bolesti u skladu sa članom 27 ovog pravilnika;

20) **nova bolest** je novootkrivena bolest, sa utvrđenim ili još uvijek neutvrđenim uzrokom, koja se može širiti unutar ili između populacija, na primjer trgovinom vodenim životinjama i/ili proizvodima porijeklom od vodenih životinja;

21) **epidemiološka jedinica** je grupa vodenih životinja koje su približno jednako izložene riziku od uzročnika bolesti u određenom području, koji može postojati zbog toga što životinje žive u istom vodenom okruženju ili zbog upravljanja koje omogućava brzo širenje uzročnika bolesti iz jedne grupe životinja u drugu;

22) **odmor** je postupak koji se preduzima za uklanjanje životinja akvakulture prijemčivih na bolest koja se suzbija ili za koje je poznato da mogu prenositi uzročnika te bolesti i vode u kojoj su životinje živjele, prema potrebi;

23) **dalja prerada** je prerada životinja akvakulture prije njihove upotrebe za ishranu ljudi bilo kojom mjerom i tehnikom kojom se utiče na anatomsku cjelovitost tih životinja, kao što su iskrvarenje, uklanjanje utrobe/evisceracija, uklanjanje glave, filetiranje i rezanje na komade, pri čemu nastaje otpad ili nus proizvodi i pri čemu bi moglo doći do rizika od širenja bolesti;

24) **povećano uginuće** je neobjašnjivo uginuće iznad nivoa koji se smatra normalnim za to uzgajalište ili područje za uzgoj mekušaca u uobičajenim okolnostima;

25) **infekcija** je prisustvo uzročnika bolesti u fazi razmnožavanja, razvoja ili u latentnoj fazi u ili na domaćinu;

26) **zaražena zona ili kompartment** je zona ili kompartment u kojoj se pojavila zaraza;

27) **karantin** je držanje grupe vodenih životinja u izolaciji na način da ne dolaze u direktni ili indirektni kontakt sa drugim vodenim životinjama, radi njihovog posmatranja određeno vrijeme, kao i testiranje i liječenje, uključujući i odgovarajuću obradu otpadnih voda;

28) **prijemčiva vrsta** je vrsta kod koje se pokazala infekcija uzročnikom bolesti prirodnim putem ili eksperimentalnom infekcijom;

29) **vektor** je vrsta koja nije prijemčiva na bolest, ali koja može da širi infekciju prenoseći uzročnika sa jednog domaćina na drugog;

30) **zona** je određeno geografsko područje sa homogenim hidrološkim sistemom koji obuhvata dio slivnog područja od izvora do prirodne ili vještačke prepreke koja sprječava uzvodnu migraciju vodenih životinja iz donjih dijelova slivnog područja, ili cijelo slivno područje od izvora do ušća, ili više slivnih područja, uključujući njihova ušća, koja su međusobno epidemiološki povezana preko ušća.

Mjere u slučaju sumnje na prisustvo egzotičnih ili neegzotičnih bolesti vodenih životinja

Član 6

U slučaju sumnje na egzotičnu ili neegzotičnu bolest iz Priloga 1 ovog pravilnika uzimaju se odgovarajući uzorci za laboratorijska ispitivanja.

Do dobijanja rezultata ispitivanja iz stava 1 ovog člana:

1) uzgajalište ili područje za uzgoj mekušaca u kojem se sumnja na prisustvo egzotične ili neegzotične bolesti stavlja se pod službeni nadzor i sprovode se odgovarajuće mjere za kontrolu radi sprječavanja širenja bolesti na druge vodene životinje;

2) životinje akvakulture ne smiju napustiti niti ući u zahvaćeno uzgajalište ili područje za uzgoj mekušaca u kojem se sumnja na prisustvo bolesti, osim u slučaju odobrenja veterinarskog inspektora;

3) vrši se epizootiološko ispitivanje.

Epizootiološko ispitivanje

Član 7

Epizootiološko ispitivanje sprovodi se ako se potvrdi prisustvo egzotičnih ili neegzotičnih bolesti vodenih životinja.

Epizootiološkim ispitivanjem vrši se:

- a) utvrđivanje mogućeg porijekla i načina kontaminacije;
- b) utvrđivanje da li su životinje akvakulture napustile uzgajalište ili područje za uzgoj mekušaca tokom određenog perioda prije prijavljivanja sumnje iz člana 6 stav 1 ovog pravilnika;
- c) utvrđivanje da li su druga uzgajališta bila zaražena.

Kada se epizootiološkim ispitivanjem utvrdi da je egzotična ili neegzotična bolest unešena u jedno ili više uzgajališta, područja za uzgoj mekušaca ili u otvorene vode, na tim uzgajalištima, područjima za uzgoj mekušaca ili otvorenim vodama preduzimaju se mjere iz člana 6 ovog pravilnika.

U slučaju velikih slivnih područja ili obalskih zona, može se ograničiti primjene mjera na područje u blizini uzgajališta ili područja za uzgoj mekušaca za koje se sumnja da je zaraženo, pod uslovom da se bolest neće širiti.

Ukidanje mjera

Član 8

Ukoliko se laboratorijskim ispitivanjem utvrdi da nema prisustva egzotičnih i neegzotičnih bolesti vodenih životinja ukidaju se mjere iz člana 6 stav 2 ovog pravilnika.

Mjere koje se preduzimaju u slučaju potvrđivanja egzotičnih bolesti vodenih životinja

Član 9

Ukoliko se potvrdi egzotična bolest vodenih životinja, preduzimaju se sljedeće mjere:

- a) uzgajališta ili područje za uzgoj mekušaca se proglašava zaraženim;
- b) oko uzgajališta ili područja za uzgoj mekušaca koje je proglašeno zaraženim uspostavlja se zaraženo i ugroženo područje u kojem se sprovode odgovarajuće mjere za suzbijanje te bolesti;
- c) zabrana poribljavanja i premještanja vodenih životinja bez odobrenja veterinarskog inspektora; i
- d) druge mjere za sprječavanje daljeg širenja bolesti.

Izlov i dalja prerada vodenih životinja iz zaraženog područja

Član 10

Vodene životinje akvakulture iz zaraženog područja koje su dostigle komercijalnu veličinu i ne pokazuju kliničke znake bolesti mogu se pod nadzorom veterinarskog inspektora izlovljavati za ishranu ljudi ili za dalju preradu.

Izlov, unošenje u objekte za dalju otpremu, prečišćavanje, dalju preradu i druge aktivnosti koje su povezane sa pripremom životinja akvakulture za unošenje u lanac ishrane, treba da se obavljaju u uslovima koji sprječavaju širenje bolesti.

Objekti iz stava 2 ovog člana, treba da budu opremljeni sistemom za preradu otpadnih voda kojim se inaktivira uzročnik bolesti ili se otpadne vode prerađuju na neki drugi način kojim se rizik od prenošenja bolesti u prirodne vode smanjuje na prihvatljiv nivo.

Uklanjanje i uništavanje

Član 11

Uginula riba i rakovi, živa riba i rakovi koji pokazuju kliničke znake bolesti i životinje koje nijesu postigle komercijalnu veličinu i ne pokazuju kliničke znake bolesti neškodljivo se uklanjaju i uništavaju pod nadzorom veterinarskog inspektora.

Dezinfekcija

Član 12

Na zaraženim uzgajalištima ili područjima za uzgoj mekušaca nakon njihovog pražnjenja, po potrebi vrši se čišćenje i dezinfekcija.

Na uzgajalištima i područjima iz stava 1 ovog člana, preduzimaju se potrebne mjere kako bi se spriječilo širenje bolesti na druge vodene životinje.

Ukidanje mjera za suzbijanje egzotične bolesti

Član 13

Mjere iz člana 9 ovog pravilnika sprovode se:

- a) dok se ne iskorijeni egzotična bolest;
- b) dok se u području u kojem se preduzimaju mjere za suzbijanje bolesti ne sprovede uzorkovanje, sa potvrđenim negativnim rezultatima.

Mjere koje se preduzimaju u slučaju potvrđivanja neegzotičnih bolesti vodenih životinja

Član 14

Ukoliko se potvrdi neegzotična bolest vodenih životinja, sprovode se mjere iz čl. 9 do 13 ovog pravilnika ili mjere za iskorjenjivanje bolesti, prema programu iz člana 25 ovog pravilnika.

U slučaju primjene mjera iz stava 1 ovog člana, vodene životinje koje nijesu dostigle komercijalnu veličinu mogu se uzgajati do dostizanja komercijalne veličine prije klanja za ishranu ljudi ili premještati u drugo zaraženo područje ili kompartment, pod uslovom da se preduzimaju mjere za smanjenje i sprječavanje daljeg širenja bolesti.

Mjere za suzbijanje neegzotične bolesti

Član 15

Kada se potvrdi prisustvo neegzotične bolesti u zoni ili kompartmentu koji nijesu proglašeni slobodnim od te bolesti preduzimaju se mjere za sprječavanje širenja neegzotične bolesti i to:

- a) proglašavanje uzgajališta ili područja za uzgoj mekušaca zaraženim;
- b) uspostavljanje područja u kojem se sprovode odgovarajuće mjere za suzbijanje te bolesti oko uzgajališta ili područja za uzgoj mekušaca koje je proglašeno zaraženim, uključujući zaraženo i ugroženo područje;
- c) ograničavanje premještanja životinja akvakulture iz područja u kojem se sprovode mjere za suzbijanje bolesti, na način da se životinje mogu isključivo:
 - 1) unositi u uzgajalište ili područje za uzgoj mekušaca u skladu sa članom 17 ovog pravilnika, ili
 - 2) izlovljavati i klati za ishranu ljudi u skladu sa članom 10 ovog pravilnika;
- d) uklanjanje i uništavanje uginulih riba i rakova, neškodljivo pod nadzorom veterinarskog inspektora.

Mjere koje se preduzimaju u slučaju potvrđivanja egzotičnih ili neegzotičnih bolesti kod slobodnoživećih vodenih životinja

Član 16

Kada se posumnja ili potvrdi na egzotičnu ili neegzotičnu bolest kod slobodnoživećih vodenih životinja preduzimaju se mjere za smanjenje i sprječavanje daljeg širenja bolesti.

Premještanje životinja akvakulture koje su namijenjene za uzgoj

Član 17

Životinje akvakulture koje su namijenjene za uzgoj, mogu se premještati na način utvrđen Prilogom 2 koji je sastavni dio ovog pravilnika.

Zahtjevi za sprječavanje bolesti tokom prevoza

Član 18

Tokom prevoza životinja akvakulture:

a) primjenjuju se mjere za sprječavanje bolesti kako ne bi došlo do promjene zdravstvenog statusa tih životinja tokom prevoza i kako bi se smanjio rizik od širenja bolesti;

b) se prevoze pod uslovima koji ne mijenjaju njihov zdravstveni status i ne ugrožavaju zdravstveni status odredišta i po potrebi mjesto tranzita.

Zamjena vode tokom prevoza, treba da se obavlja na mjestima i pod uslovima koji ne ugrožavaju zdravstveni status:

- a) životinja akvakulture koje se prevoze;
- b) vodenih životinja na mjestu zamijene vode; i
- c) vodenih životinja na mjestu odredišta.

Životinje akvakulture namijenjene za uzgoj i poribljavanje

Član 19

Životinje akvakulture koje se stavljaju na tržište za uzgoj:

a) moraju da budu klinički zdrave;

b) ne treba da potiču iz uzgajališta ili područja za uzgoj mekušaca u kojima postoji povećano uginuće životinja.

Životinje akvakulture koje su namijenjene za uništavanje ili usmrćivanje u skladu sa mjerama za suzbijanje bolesti ne mogu se stavljati na tržište za uzgoj ili poribljavanje.

Životinje akvakulture mogu se pustiti u prirodu jedino za poribljavanje ili u ribolovne vode u kojem se sprovodi organizovano poribljavanje, radi rekreativnog ribolova (putt and take fisheries) ako:

- a) ispunjavaju uslove iz stava 1 ovog člana;
- b) potiču iz uzgajališta ili područja za uzgoj mekušaca koji ima zdravstveni status u skladu sa Prilogom 2 ovog pravilnika, ili je jednak zdravstvenom statusu voda u koje se te životinje puštaju.

Unošenje životinja akvakulture prijemčivih na egzotične i neegzotične bolesti u uzgajališta ili područja koja su slobodna od te bolesti

Član 20

Životinje akvakulture prijemčive na egzotične i neegzotične bolesti, mogu se unositi radi uzgoja ili poribljavanja u zonu ili kompartment koji je proglašen slobodnim od određene bolesti ako potiču iz zemlje, zone ili kompartmenta koji su slobodni od te bolesti.

Životinje akvakulture i njihovi proizvodi koji se stavljaju na tržište radi dalje prerade prije upotrebe za ishranu ljudi

Član 21

Životinje akvakulture koje su prijemčive na jednu ili više neegzotičnih bolesti iz Priloga 1 ovog pravilnika i njihovi proizvodi, mogu se staviti na tržište radi dalje prerade u zoni ili kompartmentu koji je proglašen slobodnim od tih bolesti ako ispunjavaju jedan od sljedećih uslova:

- a) potiču iz zemlje, zone ili kompartmenta koji je proglašen slobodnim od određene bolesti;
- b) ako su prerađeni u odobrenom objektu za preradu, pod uslovima koji sprječavaju širenje bolesti;
- c) da je riba zaklana i eviscerirana prije otpreme;
- d) da su mekušci i rakovi otpremljeni kao neprerađeni ili prerađeni proizvodi.

Životinje iz stava 1 ovog člana mogu se privremeno skladišiti na mjestu prerade ako:

- a) potiču iz zemlje, zone ili kompartmenta koji je proglašen slobodnim od te bolesti; ili
- b) ako se privremeno drže u otpremnim centrima, centrima za prečišćavanje ili sličnim objektima koji su opremljeni sistemom za preradu otpadnih voda kojim se inaktivira patogen koji izaziva tu bolest ili u kojima se otpadne vode prerađuju na neki drugi način kojim se opasnost od prenošenja bolesti u prirodne vode smanjuje na prihvatljiv nivo.

Životinje akvakulture i njihovi proizvodi koji se stavljaju na tržište za ishranu ljudi bez dalje prerade

Član 22

Živi mekušci i rakovi koji su prijemčivi na bolesti iz Priloga 1 ovog pravilnika, a koji se privremeno polažu u vode ili unose u otpremni centar, centar za prečišćavanje ili slične objekte, treba da ispunjavaju uslove iz člana 21 ovog pravilnika.

Slobodnoživeće vodene životinje

Član 23

Slobodnoživeće vodene životinje koje su prijemčive na jednu ili više bolesti iz Priloga 1 ovog pravilnika, koje su ulovljene u području ili kompartmentu, koje nije slobodno od tih bolesti, prije puštanja u uzgajalište ili područje za uzgoj mekušaca koje je proglašeno slobodnim od tih bolesti treba da se drže u karantinu pod nadzorom veterinarskog inspektora sve dok se opasnost od prenošenja bolesti ne smanji na prihvatljiv nivo.

Stavljanje na tržište ukrasnih vodenih životinja

Član 24

Ukrasne vodene životinje mogu se stavljati na tržište pod uslovom da ne ugrožavaju zdravstveno stanje vodenih životinja.

Program nadzora i iskorjenjivanja bolesti

Član 25

Neegzotične bolesti prate se na osnovu programa nadzora, programa za dobijanje zdravstvenog statusa „slobodan od bolesti“ i programa za iskorjenjivanje bolesti.

U zavisnosti od procjene rizika određuje se učestalost nadzora nad zdravljem životinja, u skladu sa Prilogom 5 koji je sastavni dio ovog pravilnika.

Program nadzora i iskorjenjivanja bolesti ima za cilj utvrđivanje:

- a) svakog povećanog uginuća na svim uzgajalištima i područjima za uzgoj mekušaca, u zavisnosti od vrste proizvodnje; i

b) bolesti iz Priloga 1 ovog pravilnika na uzgajalištima i područjima za uzgoj mekušaca u kojima se nalaze vrste prijemčive na te bolesti.

Status slobodan od bolesti

Član 26

Zona ili kompartment u pogledu zdravstvenog stanja životinja akvakulture u odnosu na bolesti iz Priloga 1 ovog pravilnika razvrstavaju se u sljedeće kategorije zdravstvenog statusa:

- 1) kategorija I: „slobodan od bolesti“;
- 2) kategorija II: „sprovođenje programa nadzora radi dobijanja statusa slobodan od bolesti (program nadzora)“;
- 3) kategorija III: „nepoznat“;
- 4) kategorija IV: „sprovođenje programa iskorjenjivanja bolesti (program nadzora)“;
- 5) kategorija V: „zaražen“.

Promet između zona ili kompartmenta vrši se u skladu sa Prilogom 2 ovog pravilnika.

Uslovi za dobijanje statusa „slobodan od bolesti“

Član 27

Zona ili kompartment može steći status „slobodan od bolesti“ ako:

- a) u zoni ili kompartmentu nije prisutna ni jedna vrsta vodenih životinja koja je prijemčiva na tu bolest; ili
- b) se zna da patogen ne bi mogao da preživi u toj zoni ili kompartmentu ili njihovim vodenim resursima;
- c) zona ili kompartment ispunjava uslove iz Priloga 3 koji je sastavni dio ovog pravilnika.

Uzimanje uzoraka i dijagnostičke metode za otkrivanje i potvrđivanje virusne hemoragične septikemije i zarazne hematopoetske nekroze vodenih životinja i bonamioze i martelioze kod mekušaca dati su u Prilogu 4 koji je sastavni dio ovog pravilnika.

Suspendovanje i obnavljanje statusa slobodnog od bolesti

Član 28

Ako postoji opravdana sumnja da neki od uslova na osnovu kojih je dobijen statusa „slobodnog od bolesti“ nije ispunjen, obustavlja se promet prijemčivih vodenih životinja i vektorskih vrsta u zone ili kompartimente kojima imaju status „slobodan od bolesti“ i sprovode mjere iz čl 6 do 8 i čl. 14 i 15 ovog pravilnika.

Ako epizootiološko ispitivanje iz člana 7 ovog pravilnika potvrdi da sumnja iz stava 1 ovog člana nije opravdana, status „slobodan od bolesti“ zone ili kompartmenta se obnavlja.

Ako se epizootiološko ispitivanje potvrdi da postoji vjerojatnoća da je došlo do infekcije u područja ili kompartmenta ukida se status „slobodan od bolesti“,

Status slobodan od bolesti se obnavlja nakon ispunjavanja zahtjeva iz Priloga 3 ovog pravilnika.

Vođenje evidencije

Član 29

Radi sprječavanja pojave otkrivanja, suzbijanja i iskorjenjivanja egzotičnih i neegzotičnih bolesti životinja, pravna i fizička lica koja obavljaju djelatnost poslovanja akvakulturom, treba da vode evidenciju o:

a) svim premještanjima životinja akvakulture i njihovih proizvoda na ili sa uzgajališta ili područja za uzgoj mekušaca;

b) uginućima u svakoj epizootiološkoj jedinici prema vrsti proizvodnje; i

c) rezultatima programa praćenja/ nadzora zdravlja životinja zasnovanom na procjeni rizika.

Prevoznici životinja akvakulture treba da vode evidenciju o:

a) uginućima tokom prevoza, u mjeri u kojoj je to moguće za vrstu prevoza i vrste koje se prevoze;

b) uzgajalištima, područjima za uzgoj mekušaca i objektima za preradu u koje je ulazilo prevozno sredstvo; i

c) svakoj zamijeni vode tokom prevoza, naročito o porijeklu svježje vode i mjestu ispuštanja vode.

Početak primjene

Član 30

Odredba člana 17 ovog pravilnika primjenjivaće se od dana pristupanja Evropskoj uniji.

Stupanje na snagu

Član 31

Ovaj pravilnik stupa na snagu osmog dana od dana objavljivanja u "Službenom listu Crne Gore".

Broj: 011-16/15-3

Podgorica, 29. juna 2015. godine

Ministar,
prof. dr **Petar Ivanović**, s.r.

* U ovaj pravilnik prenesena je Direktiva Savjeta 2006/88/EZ od 24. oktobra 2006. o zahtjevima zdravlja životinja koji se primjenjuju na životinje akvakulture i njihove proizvode i o sprečavanju i kontroli određenih bolesti životinja akvakulture (Council Directive 2006/88/EC of 24 October 2006 on animal health requirements for aquaculture animals and products thereof, and on the prevention and control of certain diseases in aquatic animals), Odluke Komisije 2001/183 o utvrđivanju planova uzorkovanja i dijagnostičkih metoda za otkrivanje i potvrđivanje određenih bolesti riba i stavljanju van snage Odluke 92/532/EEZ (Commission Decision 2001/183/EC of 22 February 2001 laying down the sampling plans and diagnostic methods for the detection and confirmation of certain fish diseases and repealing Decision 92/532/EEC) i Odluke Komisije 2002/878 EC od 06. novembra 2002 koja uspostavlja planove uzorkovanja i dijagnostičke metode za otkrivanje i potvrđivanje prisutnosti bolesti mekušaca bonamioze (*Bonamia ostreae*) i marteilioze (*Marteilia refringens*) (Commission Decision 2002/878/EC of 6 November 2002 establishing the sampling plans and diagnostic methods for the detection and confirmation of the presence of the mollusc diseases Bonamiosis (*Bonamia ostreae*) and Marteiliosis (*Marteilia refringens*)).

EGZOTIČNE I NEEGZOTIČNE BOLESTI

EGZOTIČNE BOLESTI		
	BOLEST	PRIJEMČIVE VRSTE
RIBE	Epizootska hematopoetska nekroza	Kalifornijska pastrmka (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) i grgeč (<i>Perca fluviatilis</i>)
MEKUŠCI	Infekcija sa <i>Bonamia exitiosa</i>	Australijska ostriga (<i>Ostrea angasi</i>) i čileanska ostriga (<i>O. chilensis</i>)
	Infekcija sa <i>Perkinsus marinus</i>	Japanska ostriga (<i>Crassostrea gigas</i>) i američka ostriga (<i>C. virginica</i>)
	Infekcija sa <i>Microcytos mackini</i>	Japanska ostriga (<i>Crassostrea gigas</i>), američka ostriga (<i>C. virginica</i>), tihookeanska ostriga (<i>Ostrea conchaphila</i>) i Evropska ostriga (<i>O. edulis</i>)
RAKOVI	Taurski sindrom rakova	Kozice (<i>Penaeus setiferus</i> , <i>P. stylirostris</i> i <i>P. vannamei</i>)
	Bolest žute glave rakova	Kozice (<i>Penaeus aztecus</i> , <i>P. duorarum</i> , <i>P. japonicus</i> , <i>P. monodon</i> , <i>P. setiferus</i> , <i>P. stylirostris</i> i <i>P. vannamei</i>)
NEEGZOTIČNE BOLESTI		
	BOLEST	PRIJEMČIVE VRSTE
RIBE	Virusna hemoragična septikemija (VHS)	Haringe (<i>Clupea spp.</i>), bjelice (<i>Coregonus sp.</i>), štika (<i>Esox lucius</i>), bakalar (<i>Gadus aeglefinus</i>), pacifički bakalar (<i>G. macrocephalus</i>), atlantski bakalar (<i>G. morhua</i>), pacifički lososi (<i>Oncorhynchus spp.</i>), kalifornijska pastrmka (<i>O. mykiss</i>), rocling <i>Onos mustelus</i> , morska pastrmka (<i>Salmo trutta</i>), veliki romb (<i>Scophthalmus maximus</i>), papalina (<i>Sprattu ssprattus</i>) i lipljan (<i>Thymallus thymallus</i>)
	Zarazna hematopoetska nekroza (IHN)	Keta losos (<i>Oncorhynchus keta</i>), srebrni losos (<i>O. kisutch</i>), japanski losos (<i>O. masou</i>), kalifornijska pastrmka (<i>O. mykiss</i>), buljooki losos (<i>O. nerka</i>), crveni losos (<i>O. rhodurus</i>), veliki losos (<i>O. tshawytscha</i>) i atlantski losos (<i>Salmo salar</i>)
	Koi herpes viroza (KHV)	obični šaran i koi šaran (<i>Cyprinus carpio</i>).
	Zarazna anemija lososa (ISA)	Kalifornijska pastrmka (<i>Oncorhynchus mykiss</i>), atlantski losos (<i>Salmo salar</i>), morska pastrmka (<i>S. trutta</i>).
MEKUŠCI	Infekcija s <i>Marteilia refringens</i>	Australijska ostriga (<i>Ostrea angasi</i>), čileanska ostriga (<i>O. chilensis</i>), Evropska ostriga (<i>O. edulis</i>), argentinska ostriga (<i>O. puelchana</i>), obična dagnja (<i>Mytilus edulis</i>) i mediteranska dagnja (<i>M. galloprovincialis</i>)
	Infekcija s <i>Bonamia ostreae</i>	Australijska ostriga (<i>Ostrea angasi</i>), čileanska ostriga (<i>O. chilensis</i>), tihookeanska ostriga (<i>O. conchaphila</i>), azijska ostriga (<i>O. denselammellosa</i>), Evropska ostriga (<i>O. edulis</i>), i argentinska ostriga (<i>O. puelchana</i>).
RAKOVI	Bolest bijelih pjega rakova	Svi rakovi iz reda <i>Decapoda</i> .

PREMJEŠTANJE ŽIVOTINJA AKVAKULTURE KOJE SU NAMIJENJENE ZA UZGOJ

Kategorija	Zdravstveni status	Dozvoljeno unositi životinje iz	Zdravstveno sertifikovanje		Dozvoljeno otpreмати životinje u
			Pri unošenju	Pri otpremanju	
I	Slobodan od bolesti (član 27 ovog pravilnika)	Samo kategorije I	DA	NE pri otpremanju u kategoriju III ili V; DA pri otpremanju u kategoriju I, II ili IV	Sve kategorije
II	Program nadzora (član 25 ovog pravilnika)	Samo kategorije I	DA	NE	Kategoriju III i V
III	Nije određen (nije poznato da je zaražen, ali nije obuhvaćen programom za dobijanje statusa područja slobodnog od bolesti)	Kategorija I, II ili III	NE	NE	Kategoriju III i V
IV	Program iskorjenjivanja bolesti (član 25 ovog pravilnika)	Samo kategorije I	DA	DA	Samo kategoriju V
V	Zaražen (član 15 ovog pravilnika)	Svih kategorija	NE	DA	Samo kategoriju V

USLOVI ZA PROGlašAVANJE ZONE ILI KOMPARTMENTA „SLOBODNIM OD BOLESTI“

1. Zona

- (1) Zona može da obuhvati:
 - a) cijelo slivno područje od izvora do ušća; ili
 - b) dio slivnog područja od izvora do prirodne ili vještačke prepreke koja sprječava uzvodnu migraciju vodenih životinja iz donjih dijelova slivnog područja; ili
 - c) više slivnih područja, uključujući njihova ušća, zbog epidemiološke veze između slivova preko ušća.
- (2) Zona u kojoj se klinički slučaj bolesti dogodio u posljednjih deset godina ili u kojoj stanje infekcije prije nadzora nije bilo poznato zbog nepostojanja uslova koji doprinose kliničkoj manifestaciji bolesti, može se proglašiti slobodnim od bolesti ako ispunjava sljedeće uslove:
 - a) ako se u zoni sprovode osnovne mjere kontrole bolesti koje obuhvataju najmanje:
 - obavezno prijavljivanje bolesti i sumnje na bolest;
 - da se primjenjuje sistem ranog otkrivanja bolesti koji omogućava efikasnu istragu i izvještavanje, i obezbjeđuje:
 - 1) brzo prepoznavanje kliničkih znakova na osnovu kojih se može posumnjati na bolest, pojavu nove bolesti ili neobjašnjivo uginuće u uzgajalištima ili područjima za uzgoj mekušaca i u prirodi;
 - 2) brzo obavješćavanje sa ciljem da se u najkraćem roku započne dijagnostičko ispitivanje.
 - b) nadzor u skladu sa članom 25 ovog pravilnika najmanje dvije godine, a da na uzgajalištu ili područjima za uzgoj mekušaca na kojima se uzgajaju prijemčive vrste nije otkriven uzročnik bolesti.

2. Kompartimenti

- (1) Kompartiment može obuhvatati jedno ili više uzgajališta, grupu uzgajališta ili područje za uzgoj mekušaca, koji se smatraju jednom epidemiološkom jedinicom zbog geografskog položaja i udaljenosti od drugih grupa uzgajališta ili područja za uzgoj mekušaca, pod uslovom da su sva uzgajališta u tom kompartimentu obuhvaćena zajedničkim sistemom biološke sigurnosti.
- (2) Kompartiment u kojem se poslednji klinički slučaj bolesti dogodio u periodu od 10 godina ili ako stanje infekcije u tom kompartimentu ili u vodama koje okružuju taj kompartiment nije bilo poznato prije nadzora zbog nepostojanja uslova koji pogoduju kliničkoj manifestaciji bolesti proglašava se slobodnim od bolesti ako ispunjava sljedeće uslove:
 - a) da se u kompartimentu sprovode osnovne mjere kontrole bolesti koje obuhvataju najmanje:
 - obavezno prijavljivanje bolesti i sumnje na bolest;
 - da se primjenjuje sistem ranog otkrivanja bolesti koji omogućava efikasnu istragu i izvještavanje, i obezbjeđuje:
 - 1) brzo prepoznavanje kliničkih znakova na osnovu kojih se može posumnjati na bolest, pojavu nove bolesti ili neobjašnjivo uginuće u uzgajalištima ili područjima za uzgoj mekušaca i u prirodi;
 - 2) brzo obavješćavanje najkraćem mogućem roku rad započinjanja dijagnostičkog ispitivanja.
 - b) nadzorom najmanje dvije godine, na uzgajalištu ili područjima za uzgoj mekušaca na kojima se uzgajaju prijemčive vrste nije otkriven uzročnik bolesti.
- (3) Svako uzgajalište ili područje za uzgoj mekušaca koje se nalazi u kompartimentu podliježe dodatnim mjerama prema potrebi.
- (4) Mjere mogu obuhvatati uspostavljanje zaštitne zone (buffer zone) oko kompartimenta u kojem se provodi program monitoringa i uvođenje dodatnih mjera zaštite od ulaska mogućih nosioca patogena ili vektora.
- (5) Kompartiment može obuhvatati:
 - a) jedno uzgajalište koje se može smatrati jednom epizootičkom jedinicom jer nije pod uticajem zdravstvenog statusa životinja u okolnim vodama; ili
 - b) više od jednog uzgajališta, koja se, zbog obimnog kretanja životinja između uzgajališta, smatraju jednom epizootičkom jedinicom, pod uslovom da se sva uzgajališta nalaze pod zajedničkim biosigurnosnim sistemom.
- (6) Kompartiment se snabdijeva vodom:
 - a) preko postrojenja za prečišćavanje voda dezaktivacijom relevantnih patogena kako bi se rizik od unošenja bolesti smanjio na prihvatljivi nivo;
 - b) direktno iz bunara, bušotine ili izvora, a ako se izvor vode nalazi izvan prostora uzgajališta, voda se dovodi direktno do uzgajališta i kanališe kroz cijevi.
- (7) Moraju postojati prirodne ili vještačke prepreke koje vodenim životinjama iz okolnih vodotokova onemogućavaju ulazak u uzgajališta u kompartimentu.
- (8) Kompartiment, po potrebi, treba da bude zaštićen od poplave i ulaska vode iz okolnih vodotokova.

3. Novo uzgajalište koje prvi put ili ponovo počinju djelatnost akvakulture

- (1) novo uzgajalište koje ispunjava zahtjeve iz tačke 3 ovog priloga, i koje započinje djelatnost sa životinjama akvakulture koje potiču iz kompartimenta koji je proglašen slobodnim od bolesti, može se proglasiti slobodnim od bolesti bez obavljenog uzorkovanja koje se zahtijeva za dobijanje odobrenja;
- (2) uzgajalište koje nakon određene pauze ponovo započinje svoju djelatnost koristeći životinje akvakulture koje potiču iz kompartimenta koji je proglašen slobodnim od bolesti, i koje ispunjava zahtjeve iz tačke 3 ovog dijela, može se proglasiti slobodnim od bolesti bez obavljenog uzorkovanja koje se zahtijeva za dobijanje odobrenja, pod uslovom da:
 - a) je poznat zdravstveni status uzgajališta u protekle četiri godine njegovog rada, a ako je uzgajalište radilo manje od četiri godine, uzima se u obzir stvarni period u kojem je bilo u funkciji,
 - b) uzgajalište nije bilo podvrgnuto mjerama zdravlja životinja u odnosu na bolesti iz Priloga 1 ovog pravilnika i u njemu se nisu nikada pojavile te bolesti,
 - c) je prije unošenja životinja, ikre ili gameta akvakulture, uzgajalište očišćeno i dezinfikovano nakon čega je, po potrebi, slijedio odmor u određenom periodu.

UZIMANJE UZORAKA I DIJAGNOSTIČKE METODE ZA OTKRIVANJE I POTVRĐIVANJE VIRUSNE HEMORAGIČNE SEPTIKEMIJE -VHS I ZARAZNE HEMATOPOETSKE NEKROZE- ZHN VODENIH ŽIVOTINJA I BONAMIOZE I MARTELIOZE KOD MEKUŠACA

DIO I

1. Klinički pregledi, sakupljanje i odabir uzoraka za nadzor zona ili uzgajališta radi postizanja ili zadržavanja odobrenog statusa na VHS i/ili ZHN

1.1. Klinički pregledi sprovode se u periodu od oktobra do juna ili kada je temperatura vode niža od 14°C, a u uzgajalištima u kojima se klinički pregledi sprovode dva puta godišnje, vremenski razmak između pregleda je najmanje četiri mjeseca.

Sve proizvodne jedinice (ribnjaci, bazeni, kavezi itd.) se pregledaju kako bi se utvrdilo prisustvo uginulih ili oslabljenih riba ili riba sa neuobičajenim ponašanjem, a posebnu pažnju treba obratiti na područje ispusta vode gdje se zbog vodene struje obično sakupljaju oslabljene ribe.

1.2. Riba za uzorkovanje odabiraju se na sljedeći način:

– ako su prisutne kalifornijske pastrmke, samo ribe te vrste biraju se za uzorkovanje, ukoliko kalifornijska pastrmka nije prisutna, uzorak se sastoji od riba svih drugih vrsta prijemčivih na virus VHS i/ili ZHN (Prilog 1 ovog pravilnika), koje moraju biti srazmjerno zastupljene u uzorku;

– ukoliko se za proizvodnju riba koristi više izvora vode, uzorak se mora sastojati od riba iz svih izvora vode;

– ukoliko su prisutne oslabljene ribe, ribe sa neuobičajenim ponašanjem ili svježe uginule ribe (koje još nisu u stanju raspadanja), prvenstveno se biraju te ribe, a ako nijesu dostupne, u odabrane ribe treba uključiti i zdrave ribe normalnog izgleda koje treba sakupiti tako da u uzorku budu srazmjerno zastupljeni svi dijelovi uzgajališta kao i sve starosne kategorije.

2. Sakupljanje uzoraka, za nadzor zona ili uzgajališta radi postizanja ili zadržavanja odobrenog statusa na VHS i/ili ZHN

2.1. Zona ili uzgajalište koje je pod nadzorom nadležnih službi, može dobiti status odobrene zone odnosno uzgajališta na VHS i/ili ZHN prema jednom od sljedećih modela:

(a) Model A – dvogodišnji program nadzora

Nakon dvogodišnjeg odsustva bilo kojeg kliničkog ili drugog znaka VHS i/ili ZHN, sva uzgajališta u zoni ili bilo koje uzgajalište, koji će biti odobreni, tokom dvije godine podvrgavaju se kliničkom pregledu dva puta godišnje.

Dvogodišnjem kontrolnom periodu prije sticanja odobrenog statusa ne smije biti kliničkih ili drugih znakova VHS i/ili ZHN, a uzorci za ispitivanje uzimaju se u skladu sa tabelom 1.A ovog priloga. Uzorci se odabiraju, pripremaju i ispituju treba da daju negativne rezultate na VHS i/ili ZHN; ili

(b) Model B – dvogodišnji program nadzora sa smanjenom veličinom uzorka

Nakon sprovedenog pregleda zdravlja kojim je dokumentovano odsustvo VHS i/ili ZHN tokom najmanje četiri prethodne godine, sva uzgajališta u zoni ili bilo koje uzgajalište koje treba da bude odobreno i da je zdravstveno pregledano dva puta godišnje u toku dvije godine.

Tokom dvogodišnjeg kontrolnog perioda koje prethodi sticanju odobrenog statusa, odsustvo kliničkih ili drugih znakova VHS i/ili ZHN treba da je stalno i da su prikupljeni uzorci za ispitivanje u skladu sa tabelom 1.B ovog Priloga.

Uzorci treba da su odabrani, pripremljeni i ispitani sa negativnim rezultatima laboratorijskih ispitivanja VHS i/ili ZHN.

2.2. Nova uzgajališta i uzgajališta koja ponovo započinju svoju djelatnost sa ribama, ikrom ili gametima iz odobrene zone ili iz odobrenog uzgajališta

Nova uzgajališta i uzgajališta koja ponovo započinju svoju djelatnost sa ribama, ikrom ili gametima iz odobrene zone ili iz odobrenog uzgajališta mogu steći status u skladu sa ovim pravilnikom.

2.3. Program nadzora za održavanje odobrenog statusa na VHS i/ili ZHN

Da bi zona ili uzgajalište zadržali odobreni status na VHS i/ili ZHN, pregledi i uzimanje uzoraka za ispitivanje sprovode se u skladu sa tabelom 1C ovog Priloga.

Uzorci se odabiraju, pripremaju i ispituju, a rezultati laboratorijskih ispitivanja moraju biti negativni na prisustvo uzročnika VHS i/ili ZHN.

3. Priprema i slanje uzoraka ribe

3.1. Prije slanja ili prevoza u laboratoriju, dijelovi organa koji će se ispitivati uzimaju se iz ribe pomoću sterilnog pribora za sekciju i prenose u sterilne plastične epruvete koje sadrže transportni medijum odnosno medijum za ćelijsku kulturu sa 10% telećeg seruma i antibiotcima.

Preporučuje se kombinacija od 200 iJ penicilina, 200 µg streptomcina i 200 µg kanamicina po mililitru (ml), ali se mogu koristiti i drugi antibiotici dokazane efikasnosti.

Tkiva za ispitivanje su slezina, prednji bubreg i, dodatno, ili srce ili encefalon, a u nekim slučajevima mora biti ispitana ovarijalna tečnost (tabele 1A do 1C ovog Priloga).

3.2. Ovarijalna tečnost ili dijelovi organa od najviše 10 riba (tabele 1A do 1C ovog Priloga) mogu se prikupiti u jednu sterilnu epruvetu koja sadrži najmanje 4 ml transportnog medijuma i koja predstavlja jedan grupni (zajednički) uzorak.

Tkivo u svakom uzorku treba da ima težinu najmanje 0,5 grama (g).

3.3. Epruvete treba smjestiti u izolovane posude (npr. polistirenske kutije debelih zidova) zajedno sa dovoljnom količinom leda ili ulošcima za frižider koji će obezbijediti hlađenje uzoraka tokom prevoza do laboratorije.

Zamrzavanje treba izbjegavati, a tokom prevoza temperatura uzorka ne smije biti iznad 10°C, a pri prijemu uzorka led još uvijek treba da se nalazi u transportnoj kutiji odnosno jedan ili više uložaka za frižider treba da su djelimično ili u potpunosti zamrznuti.

3.4. Virusološko ispitivanje započinje se odmah, a najkasnije 48 sati nakon prikupljanja uzoraka. U izuzetnim-slučajevima virusološko ispitivanje može započeti najkasnije u 72 sata od prikupljanja materijala, pod uslovom da je materijal za ispitivanje zaštićen transportnim medijumom i da se mogu ispuniti zahtjevi u odnosu na temperaturu tokom prevoza.

3.5. U laboratoriju se mogu poslati cijele ribe pod uslovom da se mogu ispuniti zahtjevi u odnosu na temperaturu tokom prevoza.

Cijele ribe mogu biti umotane u upijajući papir i potom poslane u plastičnim kesicama ohlađenim kako je gore navedeno, a mogu biti poslate i žive ribe.

4. Prikupljanje dodatnog dijagnostičkog materijala

Druga tkiva riba mogu se prikupiti i pripremiti za dodatna ispitivanja na zahtjev laboratorije.

PRIPREMA UZORAKA ZA VIRUSOLOŠKA ISPITIVANJA

1. Zamrzavanje u posebnim slučajevima

Kada je zbog praktičnih razloga (npr. loši vremenski uslovi, neradni dani, problemi u laboratoriji itd.) nemoguće zasijati ćelije u roku od 48 sati nakon prikupljanja uzoraka tkiva, uzorci tkiva se mogu zamrznuti u medijumu za ćelijsku kulturu na temperaturi od -20°C ili nižoj, a virusološka ispitivanja obaviti u roku od 14 dana.

Tkivo se može zamrznuti i odmrznuti samo jednom prije ispitivanja, a evidencija se vodi sa svim podacima o razlozima za svako zamrzavanje uzoraka tkiva (kao što je nevrjeme, propadanje ćelijskih linija itd.).

2. Homogenizacija organa

Tkiva iz epruveta u laboratoriji se potpuno homogenizuju (ili u homogenizatoru Stomacher ili miješalici ili tarioniku i tučku sa sterilnim pijeskom) i potom suspenduju u izvornom transportnom medijumu.

Ukoliko se uzorak sastoji od cijelih riba kraćih od 4 cm, one se usitne sterilnim makazama ili skalpelom nakon što se ukloni zadnji dio tijela iza crijevnog otvora, a ukoliko uzorak čine cijele ribe dužine tijela od 4 do 6 cm, uzima se utroba uključujući bubrege.

Ukoliko uzorak čine cijele ribe duže od 6 cm, uzimaju se uzorci tkiva.

Uzorke tkiva treba usitniti sterilnim makazama ili skalpelom, homogenizovati i napraviti suspenziju u transportnom medijumu.

Konačni odnos tkiva i transportnog medijuma mora se u laboratoriji postaviti u razmjeri 1:10.

3. Centrifugiranje homogenizata

Homogenizat se centrifugira u centrifugi ohlađenoj pri 2 do 5°C na brzini 2000 do 4000 x g u trajanju od 15 minuta, i taj se supernatant prikuplja i obrađuje ili četiri sata na 15°C ili preko noći na 4°C sa antibioticima; u ovoj fazi može biti koristan gentamicin 1 mg/ml.

Ukoliko se uzorak šalje u transportnom medijumu (tj. izložen antibioticima), može se izostaviti obrada supernatanta antibioticima.

Svrha obrade antibioticima je suzbijanje bakterijske kontaminacije uzorka, tako da nije potrebna filtracija kroz membranske filtere.

Ukoliko se prikupljeni supernatant čuva na -80°C tokom 48 sati od sakupljanja, može se još samo jednom ponovo upotrijebiti za virusološke analize.

Ako je zbog neplaniranih razloga (npr. kvar inkubatora, problemi sa ćelijskim kulturama itd.) nemoguće inkulisati ćelije u roku od 48 sati od prikupljanja uzoraka tkiva, supernatant se može zamrznuti na temperaturi od -80°C , a virusološko ispitivanje obaviti u roku od 14 dana.

Prije inokulacije ćelija, supernatant se pomiješa s jednakim dijelovima odgovarajuće razrijeđenih grupa antiseruma za lokalne serotipove virusa IPN (Infektivne nekroze pankreasa) pa se sa njima inkubira najmanje jedan sat na 15°C ili najviše 18 sati na 4°C .

Titar antiseruma mora biti najmanje 1/2000 s neutralizacijom plaka od 50% u testu neutralizacije.

Svrha tretiranja svih inokuluma antiserumom za virus IPN (virus koji se u nekim dijelovima Evrope javlja u 50% uzoraka ribe) je spriječavanje da se u inokuliranim ćelijskim kulturama razvije citopatogeni efekat (CPE) zbog virusa IPN.

Ako uzorci potiču iz proizvodnih jedinica koje se smatraju slobodnim od IPN-a, može se izostaviti tretiranje inokuluma antiserumom za virus IPN-a.

VIRUSOLOŠKA ISPITIVANJA

1. Ćelijske kulture i medijumi

Ćelije BF-2 ili RTG-2 i EPC ili FHM umnožavaju se na temperaturi od 20 do 30°C u odgovarajućem medijumu, (npr. Eaglovom MEM-u ili njegovim modifikacijama), obogaćenom sa 10% fetalnog goveđeg seruma i antibioticima u standardnim koncentracijama.

Ako se ćelije umnožavaju u zatvorenim posudama, preporučuje se puferisanje medijuma bikarbonatom.

Medijum koji se koristi za kulturu ćelija u otvorenim jedinicama može se puferisati Tris-HCL-om (23 mM) i Na-bikarbonatom (6 mM). pH mora biti $7,6 \pm 0,2$.

Ćelijske kulture koje će se koristiti za inokulisanje sa tkivnim materijalom treba da budu stare 4 do 48 sati i pri inokulisanju treba da budu u fazi aktivnog rasta (bez zgrušavanja).

2. Inokulacija ćelijskih kultura

Suspenzija organa tretirana antibioticima inokuliše se u ćelijske kulture u dva razrjeđenja, odnosno osnovnom razrjeđenju 1:10, što dovodi do konačnih razrjeđenja tkivnog materijala u ćelijskoj kulturi 1:100 odnosno 1:1000 (kako bi se spriječila homologna interferencija). Inokulisuje se najmanje dvije ćelijske linije.

Odnos veličine inokuluma i količine ćelijske kulture treba da bude 1:10.

Za svako razrjeđenje i svaku ćelijsku liniju treba upotrijebiti najmanje oko 2 cm^2 površine ćelija, što odgovara jednom bunarčiću na posudi sa 24 udubljenja za ćelijsku kulturu.

Preporučuje se korišćenje posuda za ćelijsku kulturu, ali su prihvatljive i druge jedinice sa sličnim ili većim površinama za rast.

3. Inkubacija ćelijskih kultura

Inokulisane ćelijske kulture inkubiraju se sedam do deset dana pri 15°C , a ako se boja medijuma za ćelijsku kulturu promijeni iz crvene u žutu, što ukazuje na zakiseljenje medijuma, prilagoditi pH pomoću sterilnog rastvora bikarbonata ili odgovarajućim supstancama kako bi se obezbijedila osjetljivost ćelija na virusnu infekciju.

Najmanje svakih šest mjeseci ili ako se sumnja na smanjenu osjetljivost ćelija, obavlja se titracija zamrznutih čuvanih virusa VHS-a i ZHN-a kako bi se verifikovala osjetljivost ćelijskih kultura na infekciju.

4. Mikroskopiranje

Inokulirane ćelijske kulture treba redovno pregledati (najmanje tri puta nedjeljno) na pojavu citopatogenog efekta (CPE) pri povećanju od 40 do 150 puta, a ako se uoči citopatogeni efekat (CPE), odmah treba početi sa postupkom identifikacije virusa.

5. Subkultivisanje

Ako se nakon primarne inkubacije od sedam do deset dana ne razvije citopatogeni efekat (u daljem tekstu: CPE), sprovodi se subkultivisanje na svježim ćelijskim kulturama korišćenjem površine slične površini primarne kulture.

Alikvoti hranjive podloge (supernatant) svih kultura/bunarčića, koje čine primarnu kulturu, puliraju se prema ćelijskoj liniji sedam do deset dana nakon inokulacije, a tako dobijeni zbirni uzorci inokulišu se u homologne ćelijske kulture, nerazrijeđene i razrijeđene 1:10 (pri čemu se dobiju konačna razrijeđena supernatanta u odnosu 1:10 odnosno 1:100).

Druga slučaj je da se alikvoti 10% hranjive podloge koja čini primarnu kulturu inokušu direktno u bunarčić sa svježom ćelijskom kulturom (subkultivisanje iz bunarčića u bunarčić).

Inokulaciji može prethoditi preinkubacija razrjeđenja sa antiserumom za virus IPN u odgovarajućem razrjeđenju.

Inokulirane kulture se potom inkubiraju sedam do deset dana pri 15°C i posmatraju u skaldu sa ovim Prilogom.

Ako se tokom prva tri dana inkubacije javi toksični CPE, u toj se fazi može sprovesti subkultivacija, ali se ćelije potom moraju inkubisati sedam dana i ponovo subkultivisati uz dodatnih sedam dana inkubacije, a ako se toksični CPE razvije nakon tri dana, ćelije se mogu jednom staviti u pasažu i inkubisati dok ne prođe ukupno 14 dana od primarne inokulacije.

U posljednjih sedam dana inkubacije ne smiju se javiti znaci toksičnosti.

Ako uprkos obradi antibioticima dođe do bakterijske kontaminacije, prije subkultivacije treba sprovesti centrifugiranje na 2000 do 4000 x g kroz 15 do 30 minuta pri 2 do 5°C i/ili filtriranje supernatanta kroz filter od 0,45 µm (membrana sa niskom sposobnošću vezanja proteina), postupak subkultivacije isti je kao i za toksični CPE.

IDENTIFIKACIJA VIRUSA

1. Testovi za identifikaciju virusa

Ako se u ćelijskoj kulturi uoči postojanje CPE-a, medijum (supernatant) se sakupi i pretraži korišćenjem jedne ili više sljedećih metoda: neutralizacija, IF, ELISA, a ako se ovim testovima ne može sa sigurnošću identifikovati virus u roku od nedjelju dana, supernatant se proslijeđuje u nacionalnu referentnu laboratoriju ili u referentnu laboratoriju Evropske unije za bolesti riba kako bi se virus odmah identifikovao.

2. Neutralizacija

Iz sakupljenog supernatanta uklanjaju se ćelije centrifugiranjem (2000 do 4000 x g) ili membranskim filtriranjem kroz filter sa membranom (0,45 µm) sa niskom apsorpcijom proteina i razrijedite supernatant 1:100 i 1:10000 u medijumu za ćelijsku kulturu.

Alikvoti dva razrjeđenja supernatanta se pomiješaju i odvojeno inkubiraju 60 minuta pri 15°C sa jednakim dijelovima sljedećih reagensa:

- serum koji sadrži grupu specifičnih antitijela za virus VHS u razrjeđenju 1:50 (vol:vol)
- serum koji sadrži grupu specifičnih antitijela za virus ZHN u razrjeđenju 1:50 (vol:vol)
- grupni uzorak antiseruma za lokalne serotipove virusa IPN u razrjeđenju 1:50 (vol:vol)
- sam medijum (pozitivna kontrola).

Za svaku mješavinu supernatanta virusa i seruma se najmanje dvije ćelijske linije inokulišu sa 50 µl i inkubiraju pri 15°C.

Neki sojevi virusa VHS ne reaguju u neutralizacijskom test, a ti izolati moraju se identifikovati metodom IF ili ELISA.

Mogu se primijeniti i drugi neutralizacijski testovi dokazane djelotvornosti.

3. Imunofluorescencija (IF)

Za svaki izolat virusa koji treba identifikovati, na najmanje osam pokrovnih stakala ili njihovih ekvivalenata treba nanijeti ćelije u gustini tako da se postigne približno 60 do 90%-tna konfluencija 24 sata nakon nanošenja.

Za te svrhe se preporučuju ćelije EPC jer one snažno prijanjaju za staklenu površinu, ali se mogu koristiti i druge ćelijske linije kao što su BF-2, RTG-2 ili FHM.

Nakon što se ćelije natalože na staklenu površinu (otprilike jedan sat nakon nanošenja) ili nakon što su kulture bile inkubisane u periodu do 24 sata, inokuliše se virus koji treba da bude identifikovan. Četiri kulture se inokulišu u zapreminsko odnosu 1:10, a četiri kulture u odnosu 1:1000, a zatim se inkubiraju 20 do 30 sati na 15°C.

Nakon inkubacije, kulture se dva puta isperu u Eaglovom MEM-u bez seruma, fiksiraju u 80%-tnom ledeno hladnom acetonu i potom boje dvoslojnim IFAT-om.

Prvi sloj reagensa sastoji se od poliklonalnih ili monoklonalnih antitijela referentnog kvaliteta.

Drugi sloj reagensa je fluorohromom konjugovani antiserum za imunoglobulin korišćen u prvom sloju.

Za svaki pretraživani antiserum mora se obojiti najmanje jedna kultura inokulirana visokom dozom i jedna kultura inokulirana niskom dozom, u test se moraju uključiti i odgovarajuće negativne i pozitivne kontrole, a preporučuju se fluorohromi kao što su FITC i TRITC.

Na obojene kulture nanijeti fiziološki rastvor sa dodatkom glicerola.

Pregledati ih pod ulaznim ultraljubičastim svjetlom i koristiti okulare s uveličanjem od 10 ili 12 puta i te objektivne s uveličanjem od 25 ili 40 puta, sa numeričkim otvorima > 0,7 odnosno 1,3.

4. ELISA

Bunarčići na mikrotitarskoj ploči prekriju se preko noći preporučenim razrjeđenjima pročišćenih imunoglobulinskih frakcija antitijela referentnog kvaliteta.

Nakon ispiranja bunarčića puferom PBS-Tween-20, u njih se dodaje virus koji treba identifikovati, i to u serijama dvostrukog ili četverostrukog razrjeđenja, ostavi se da reaguje sa absorbovanim antitijelom 60 minuta na 37°C.

Nakon ispiranja puferom PBS-Tween-20, dodaju se biotinom obilježena antitijela čija specifičnost odgovara specifičnosti absorbovanih antitijela i ostave se da reaguju 60 minuta na 20°C, a nakon još jednog ispiranja dodaje se streptavidin konjugovan sa peroksidazom rena i ostavlja da reaguju jedan sat pri 20°C.

Nakon zadnjeg ispiranja, vezani enzim se vizuelizuje upotrebom odgovarajućih supstrata ELISA (OPD ili drugi).

Tabela 1A: Pregled i uzorkovanja za zone i za uzgajališta

	Broj kliničkih pregleda godišnje (dvije godine)	Broj laboratorijskih pregleda godišnje (dvije godine)	Laboratorijsko ispitivanje na prisustvo virusa ⁽¹⁾	
			Broj riba iz uzgoja (materijal organa)	Broj matičnih riba (ovarijalna tečnost)
Kontinentalne zone i uzgajališta				
(a) Uzgajališta s matičnim ribama	2	2	120 (prvi pregled) ⁽²⁾	30 (prvi pregled) ⁽³⁾
			150 (drugi pregled)	0 (drugi pregled)
(b) Uzgajališta samo s matičnim ribama	2	1	0	150 (prvi ili drugi pregled)
(c) Uzgajališta bez matičnih riba	2	2	150 (prvi i drugi pregled)	0
Obalske zone i uzgajališta				
(a) Uzgajališta sa matičnim ribama	2	2	120 (prvi pregled)	30 (prvi pregled)
			150 (drugi pregled)	0 (drugi pregled)
(b) Uzgajališta salmonida bez matičnih riba	2	2	30 (prvi i drugi pregled) ⁽⁴⁾	0
(c) Uzgajališta drugih vrsta osim salmonida i bez matičnih riba	2	2	150 (prvi i drugi pregled)	0

Najveći broj riba u zbirnom uzorku: 10

⁽¹⁾ Može se koristiti alternativno umanjena veličina uzorka, kao što je navedeno u Tabeli 1B, ako su zahtjevi koji su opisani u tekstu označeni sa II.1, I.1.2.1.b i III ispunjeni⁽²⁾ Klinički pregled⁽³⁾ U posebnim okolnostima, ako se ne može uzorkovati ovarijalna tečnost mogu se umjesto nje uzorkovati organi.⁽⁴⁾ Uzorci se moraju sakupljati najranije tri nedjelje od prenošenja ribe iz slatke u morsku vodu.

Tabela 1B: Pregled i uzorkovanja za dvogodišnji kontrolni period prije dobijanja odobrenog statusa u odnosu na VHS ili ZHN za zone i uzgajališta

	Broj kliničkih pregleda godišnje (dvije godine)	Broj laboratorijskih pregleda godišnje (dvije godine)	Laboratorijsko ispitivanje na prisustvo virusa	
			Broj riba iz uzgoja (materijal organa)	Broj matičnih riba (ovarijalna tečnost)
Kontinentalne zone i uzgajališta				
(a) Uzgajališta sa matičnim ribama	2	2	0 (prvi pregled) ⁽¹⁾ 30 (drugi pregled)	30 (prvi pregled) ⁽²⁾ 0 (drugi pregled)
(b) Uzgajališta samo sa matičnim ribama	2	1	0	30 (prvi ili drugi pregled)
(c) Uzgajališta bez matičnih riba	2	2	30 (prvi i drugi pregled)	0
Obalske zone i uzgajališta				
(a) Uzgajališta sa matičnim ribama	2	2	0 (prvi pregled) 30 (drugi pregled)	30 (prvi pregled) ⁽²⁾ 0 (drugi pregled)
(b) Uzgajališta salmonida bez matičnih riba	2	2	30 (prvi i drugi pregled) ⁽³⁾	0
(c) Uzgajališta drugih vrsta osim salmonida i bez matičnih riba	2	2	30 (prvi i drugi pregled)	0

Najveći broj riba u zbirnom uzorku: 10

⁽¹⁾ Klinički pregled⁽²⁾ U posebnim okolnostima, ako se ne može uzorkovati ovarijalna tečnost mogu se umjesto nje uzorkovati organi.⁽³⁾ Uzorci se moraju sakupljati najranije tri nedjelje od prenošenja ribe iz slatke u morsku vodu.

Tabela 1C: Pregled i uzorkovanja za zone i uzgajališta za održavanje statusa u odnosu na VHS i/ili ZHN

	Broj kliničkih pregleda na godinu (dvije godine)	Broj riba u uzorku za laboratorijsko ispitivanje na prisustvo virusa ⁽¹⁾	
		Broj riba iz uzgoja (materijal organa)	Broj matičnih riba (ovarijalna tečnost)
Kontinentalne zone i uzgajališta			
(a) Uzgajališta sa matičnim ribama	2	20 (prvi ili drugi pregled)	10 (prvi ili dugi pregled) ⁽²⁾
(b) Uzgajališta samo sa matičnim ribama	2	0	30 (prvi ili drugi pregled) ⁽²⁾
(c) Uzgajališta bez matičnih riba	2	30	0
Obalske zone i uzgajališta			
(a) Uzgajališta sa matičnim ribama	2	20 (prvi ili drugi pregled)	10 (prvi ili drugi pregled) ⁽²⁾
(b) Uzgajališta drugih vrsta osim samonida I bez matičnih riba	2	30 ⁽³⁾	0

Najveći broj riba u zbirnom uzorku: 10

⁽¹⁾ U odobrenim zonama uzorci moraju biti uzimani rotacijom po 50% ribnjaka svake godine. U odobrenim ribnjacima u neodobrenim zonama uzorci moraju biti uzimani svake godine.

⁽²⁾ U posebnim okolnostima, ako se ne može uzorkovati ovarijalna tečnost mogu se umjesto nje uzorkovati organi.

⁽³⁾ Uzorci se moraju sakupljati najranije tri nedjelje od prenošenja ribe iz slatke u morsku vodu.

DIO II.

DIJAGNOSTIČKI POSTUPCI ZA POTVRĐIVANJE VHS-A I ZHN-A U SLUČAJU SUMNJE NA POJAVU BOLESTI

Za dijagnostikovanje VHS-a i ZHN-a primjenjuje se jedna ili više sljedećih metoda:

- Uobičajno izdvajanje virusa nakon kojeg slijedi serološka identifikacija virusa
- Izdvajanje virusa uz istovremenu serološku identifikaciju virusa
- Druge dijagnostičke metode – IFAT, ELISA

Uz tkivni materijal za virusološko pretraživanje mora se predati i dodatni materijal za bakteriološko, parazitološko, histološko ili drugo pretraživanje u svrhu diferencijalnog dijagnostikovanja.

Glava A. Uobičajeno izdvajanje virusa nakon kojeg slijedi serološka identifikacija virusa

I.1. Odabiranje uzoraka

Za ispitivanje treba prikupiti najmanje 10 riba koje pokazuju tipične znakove ZHN-a ili VHS-a.

I.2. Pripremanje i slanje uzoraka riba vrši se u skladu sa ovim prilogom.

I.3. Uzimanje dodatnog dijagnostičkog materijala vrši se u skladu sa ovim prilogom.

II. Pripremanje uzoraka za virusološko ispitivanje vrši se u skladu sa ovim prilogom.

III. Virusološko ispitivanje vrši se u skladu sa ovim prilogom.

IV. Identifikacija virusa vrši se u skladu sa ovim prilogom.

Glava B. Izdvajanje virusa uz istovremenu serološku identifikaciju virusa

I.1. Odabiranje uzoraka vrši se u skladu sa ovim prilogom.

I.2. Pripremanje i slanje uzoraka riba vrši se u skladu sa ovim prilogom.

I.3. Prikupljanje dodatnog dijagnostičkog materijala vrši se u skladu sa ovim prilogom.

II.1. Homogenizacija organa vrši se u skladu sa ovim prilogom.

II.2. Centrifugiranje homogenata vrši se u skladu sa ovim prilogom.

Homogenat se centrifugira na 2000 do 4000 x g 15 minuta u centrifugi ohlađenoj pri 2 do 5 °C supernatant se odlije i tretira antibioticima, npr. gentamicinom 1 mg/ml, četiri sata na 15 °C ili se filtrira kroz membranu (0,45 µm) s niskom sposobnošću vezanja proteina.

II.3. Obrada supernatanta dijagnostičkim antiserumom

Suspenzija organa obrađena antibioticima ili filtrirana kroz membranski filter razrjeđuje se u odnosu 1:10 i 1:1000 u medijumu za ćelijsku kulturu i alikvoti se pomiješaju i inkubiraju 60 minuta na 15°C s jednakim dijelovima reagensa.

III.1. Čelijske kulture i medijum vrši se u skladu sa ovim prilogom.

III.2. Inokulacija ćelijskih kultura

Iz svake mješavine virusa i seruma inokulišu se najmanje dvije ćelijske kulture po ćelijskoj liniji, svaka sa 50 µl.

III.3. Inkubacija ćelijskih kultura vrši se u skladu sa ovim prilogom.

III.4. Mikroskopiranje

Inokulisane ćelijske kulture svakodnevno se pregledaju na pojavu citopatogenog efekta (CPE) pri povećanju od 40 do 150 puta. Ako jedan od korišćenih antiseruma spriječi nastanak citopatogenog efekta (CPE), može se smatrati da je virus identifikovan. Ukoliko citopatogeni efekat nije spriječen nekim od antiseruma, potrebno je sprovesti identifikaciju virusa postupcima.

III.5. Supkultivisanje

Ukoliko se nakon sedam do deset dana ne pojavi citopatogeni efekat (CPE), mora se sprovesti subkultivisanje sa kulturama inokuliranim sa supernatantom i medijumom vrši se u skladu sa ovim prilogom.

Glava C. Druge dijagnostičke metode

Supernatant pripremljen u skladu sa ovim prilogom. može se pregledati metodom IFAT ili ELISA. Brze metode treba dopuniti virusološkim ispitivanjem u roku od 48 sati od uzorkovanja ako:

(a) se dobije negativan rezultat, ili

(b) se dobije pozitivan rezultat iz materija koji predstavlja prvi slučaj ZHN-a ili VHS-a u odobrenoj zoni.

Materijal tkiva se može ispitati drugim dijagnostičkim metodama, kao što su: RT-PCR, IF na zamrznutim rezovima, imunohistohemija na formalinom fiksiranom materijalu tkiva.

Navedeni postupci moraju se uvijek dopuniti inokulacijom nefiksiranog materijala tkiva na ćelijskim kulturama.

DIO III.

DOKUMENTOVANA ODSUTNOST VHS-A I/ILI ZHN-A U ZONAMA ILI U UZGAJALIŠTIMA U NEODOBRENIM ZONAMA

Smjernice i kriterijumi za program službenih zdravstvenih pregleda

1. Program zdravstvenih pregleda može se započeti:

– nakon što se sprovede program iskorjenjivanja VHS-a i/ili ZHN-a, u okviru kojeg se uklonila sva riba iz uzgajališta, sprovelo čišćenje, dezinfekcija i odmor objekta prije ponovnog naseljavanja ribom porijekom iz odobrenih uzgajališta, ili

– u uzgajalištima u kojima u prošlosti nisu utvrđene infekcije virusima VHS-a ili ZHN-a.

2. Program zdravstvenih pregleda mora se zasnivati na kliničkim pregledima i laboratorijskim ispitivanjima.

3. Program mora uključivati dva godišnja zdravstvena pregleda u skladu sa smjernicama u skladu sa ovim prilogom.

4. Pri najmanje jednom od pregleda koji se obavljaju svake godine, na svakom se uzgajalištu uzima 30 uzoraka tkiva riba i/ili ovarijalne tečnosti.

5. Program zdravstvenih pregleda sprovodi se najmanje četiri godine na svim uzgajalištima u zoni odnosno na uzgajalištu u neodobrenoj zoni koja treba biti odobrena.

6. U svrhu službenog priznavanja programa, ne smije se pojaviti ni utvrditi niti jedan slučaj VHS-a ili ZHN-a (bilo klinička infekcija bilo izolacija virusa).

DIO IV.

POSTUPAK TITRACIJE ZA PROVJERU OSJETLJIVOSTI ĆELIJSKIH KULTURA NA INFEKCIJU

Preporučeni postupci titracije:

Treba koristiti najmanje dva izolata virusa VHS-a i jedan izolat virusa ZHN-a.

Izolati trebaju predstavljaju glavnu grupu virusa u Evropi, (npr. za virus VHS-a treba odabrati jedan patogeni izolat koji potiče od kalifornijske pastrmke iz slatke vode i jedan izolat koji je patogen za romba iz morske vode, a za virus ZHN-a treba odabrati jedan evropski soj koji je patogen za kalifornijsku pastrmku).

Treba koristiti dobro definisane izolate porijeklom iz Evrope.

Referentni izolati mogu se dobiti od referentne laboratorije EU za bolesti riba.

Serie virusa u ćelijskim kulturama niske pasaže umnožavaju se u flaskovima za ćelijsku kulturu na BF-2 ili RTG-2 ćelijama za virus VHS-a i na EPC ili FHM ćelijama za virus ZHN-a.

Treba koristiti medijum za ćelijsku kulturu s najmanje 10% seruma, a za inokulaciju treba koristiti niski MOI (< 1).

Kod punog citopatogenog efekta (CPE), virus se sakuplja centrifugiranjem supernatanta ćelijske kulture na 2 000 x g 15 minuta, sterilise se filtriranjem kroz membranski filter od 0,45 µm te raspodijeli u označene kríoeprovete, a virus se čuva na – 80°C.

Nedjelju dana nakon zamrzavanja, hladnom vodom otope se po tri epruvete svakog virusa pa se titriraju na odgovarajućim ćelijskim linijama, najmanje svakih šest mjeseci ili ako se sumnja da je osjetljivost ćelijske linije smanjena, svaki izolat virusa mora se rastvoriti i titrirati.

Postupci titracije moraju se detaljno opisati i svaki put se mora primijeniti isti postupak.

Titracija sa razrjeđenjem do završne tačke treba uključivati najmanje šest ponavljanja u svakoj fazi razrjeđenja.

Titri se poredi sa prethodno dobijenim titrima, a ako titar bilo kojeg od tri izolata virusa padne za faktor od 2 log ili više u odnosu na početni titar, ćelijska se linija ne bi trebala više koristiti u svrhu nadziranja.

Ako se u laboratoriji drže različite ćelijske linije, svaku bi liniju trebalo ispitivati odvojeno.

Evidencija se čuva najmanje 10 godina.

AKRONIMI I SKRAĆENICE

BF-2	Mlađ ribe <i>Lepomis macrochirus</i> (ćelijska linija)
CPE	Citopatogeni efekat
RLEU	Referentna laboratorija EU za bolesti riba
ELISA	Imunoenzimski test
EPC	<i>Epithelioma papulosum cyprini</i> (ćelijska linija)
FHM	<i>Pimephales promelas</i> (ćelijska linija)
FITC	Fluorescein izotiocijanat
Hepes	N-2-hidroksietil-piperazin-N'-2-etan sulfonska kiselina
RP	Peroksidaza rena
IF	Imunofluorescencija
IFAT	Metoda indirektno fluorescencije za dokazivanje antitijela
ZHN (V)	Zarazna hematopoetska nekroza (virus)
ZNG (V)	Zarazna nekroza gušterače (virus)
MEM	Minimalni esencijalni medijum
MOI	Višestrukost infekcije (odnos između broja dodanih čestica infektivnog virusa i poznatog broja ćelija u kulturi)
OPD	Orto-fenilendiamin
PBS	Fiziološki rastvor puferisana fosfatnim puferom
RTG-2	Gonade kalifornijske pastrmke (ćelijska linija)
RT-PCR	Lančana reakcija polimeraze uz reverznu transkripciju
Tris-HCl	Tris-(hidroksimetil)-aminometan – HCl
TRITC	Tetrametil-rodamin-izotiocijanat
VHS(V)	Virusna hemoragična septikemija

PLANOVI UZORKOVANJA I DIJAGNOSTIČKE METODE ZA OTKRIVANJE I POTVRĐIVANJE PRISUTNOSTI BOLESTI MEKUŠACA BONAMIOZE (*BONAMIA OSTREAE*) I MERTEILIOZE (*MARTEILIA REFRINGENS*)

Planovi uzorkovanja i dijagnostičke metode koje se sprovode uključujući tehnike, postupke ispitivanja i korišćenje medijuma, njihova standardizacija i tumačenje rezultata, za otkrivanje i potvrđivanje prisustva bolesti bonamioze (*Bonamia ostreae*) i merteilioze (*Marteilia refringens*) kod mekušaca u slučaju znatnih uginuća i radi priznavanja odobrenih (slobodnih) zona i uzgajališta, sprovode se u skladu sa Dijagnostičkim priručnikom za bolesti akvatičkih životinja Svjetske organizacije za zdravlje životinja (OIE), Dio 2., Odjeljak 2.2 Bolesti mekušaca: Poglavlje 1.2 (Opšti podaci), Poglavlje 2.1.1. (bonamioza) i Poglavlje 2.2.4. (merteilioza).

UČESTALOST NADZORA NAD UZGAJALIŠTIMA I PODRUČJIMA ZA UZGOJ MEKUŠACA

Prisutne vrste	Zdravstveni status	Nivo rizika	Nadzor (engl. surveillance)	Preporučena učestalost inspekcijskih pregleda za ribu	Preporučena učestalost inspekcijskih pregleda za školjke	Napomene
Nema vrsta prijemčivih na bolesti sa liste iz Priloga I ovog pravilnika	Kategorija I Status slobodan od bolesti	Nizak	Pasivni	jednom svake četiri godine	jednom svake četiri godine	Preporučena učestalost inspekcijskih pregleda primjenjuje se ne dovodeći u pitanje posebne zahtjeve za svaki pojedini zdravstveni status, koji se po mogućnosti kombinuju sa inspekcijskim pregledima iz člana 25 ovog pravilnika. Cilj inspekcijskih pregleda je provjera usaglašenosti sa ovim pravilnikom, provjera zdravstvenog statusa životinja, savjetovanja subjekta u poslovanju akvakulturom o pitanjima vezanim za zdravlje vodenih životinja i, po potrebi, preduzimanje potrebnih veterinarskih mjera.
Prijemčive vrste na jednu ili više bolesti sa liste iz Priloga I ovog pravilnika	Kategorija I Status slobodan od bolesti	Visok	Aktivni, ciljani ili pasivni	dva puta godišnje	jednom godišnje	
		Srednji		jednom godišnje	jednom svake dvije godine	
		Nizak		jednom svake dvije godine	jednom svake dvije godine	
	Kategorija II Nije proglašen slobodnim od bolesti, ali je obuhvaćen programom nadzora	Visok	Ciljani	dva puta godišnje	jednom godišnje	
		Srednji		jednom godišnje	jednom svake dvije godine	
		Nizak		jednom svake dvije godine	jednom svake dvije godine	
	Kategorija III Nije poznato da je zaražen, niti je obuhvaćen programom nadzora	Visok	Aktivni	tri puta godišnje	dva puta godišnje	
		Srednji		dva puta godišnje	jednom godišnje	
		Nizak		jednom godišnje	jednom svake dvije godine	
	Kategorija IV Zaražen, ali je obuhvaćen programom iskorjenjivanja bolesti	Visok	Ciljani	jednom godišnje	jednom godišnje	
		Srednji		jednom svake dvije godine	jednom svake dvije godine	
		Nizak		jednom svake dvije godine	jednom svake dvije godine	
	Kategorija V Zaražen.	Visok	Pasivni	jednom godišnje	jednom godišnje	
		Srednji		jednom svake dvije godine	jednom svake dvije godine	
		Nizak		jednom svake dvije godine	jednom svake dvije godine	

Nivoi rizika

- (1) Smatra se da je uzgajalište ili područje za uzgoj mekušaca visokorizično ako:
 - a) ima visoki rizik od širenja bolesti na druga uzgajališta ili na slobodnoživuće populacije ili od unosa bolesti sa drugih uzgajališta ili slobodnoživućih populacija;
 - b) radi u uslovima uzgoja koji bi mogli povećati rizik od izbijanja bolesti (velika biomasa, niski kvalitet vode) ,imajući u vidu prisutne vrste;
 - c) prodaje žive vodene životinje za dalji uzgoj ili poribljavanje.
- (2) Smatra se da je uzgajalište ili područje za uzgoj mekušaca srednjerizično ako:
 - a) ima srednji nivo rizika od širenja bolesti na druga uzgajališta ili na slobodnoživuće populacije ili od unosa bolesti sa drugih uzgajališta ili slobodnoživućih populacija;
 - b) radi u uslovima uzgoja koji neće povećati opasnost od izbijanja bolesti (srednja biomasa i srednji kvalitet vode) ,imajući u vidu prisutne vrste;
 - c) prodaje žive vodene životinje uglavnom za ishranu ljudi.
- (3) Smatra se da je uzgajalište ili područje za uzgoj mekušaca niskorizično ako:
 - a) ima nizak nivo rizika od širenja bolesti na druga uzgajališta ili na slobodnoživuće populacije ili od unosa bolesti sa drugih uzgajališta ili slobodnoživućih populacija;
 - b) radi u uslovima uzgoja koji neće povećati opasnost od izbijanja bolesti (niska biomasa, dobri kvalitet vode),imajući u vidu prisutne vrste ;
 - c) prodaje žive vodene životinje samo za ishranu ljudi.

Vrste zdravstvenog nadzora (eng. surveillance)

- (1) Pasivni nadzor uključuje obavezno hitno prijavljivanje pojave ili sumnje na pojavu određene bolesti ili svakog povećanog uginuća, kada se obavezno sprovode mjere u slučaju sumnje na pojavu bolesti i epizootičko istraživanje.
- (2) Aktivni nadzor uključuje:
 - a) rutinske inspekcijske preglede koje obavlja ovlašćena laboratorija;
 - b) pregled populacije životinja akvakulture u uzgajalištu ili području za uzgoj mekušaca radi provjere postojanja kliničkih znakova bolesti;
 - c) uzimanje uzoraka radi dijagnostike u slučaju sumnje na bolest sa liste ili u slučaju povećanog uginuća uočenog tokom inspekcijskog pregleda;
 - d) obavezno hitno prijavljivanje svake pojave ili sumnje na pojavu određene bolesti ili svakog povećanog uginuća.
- (3) Ciljani nadzor uključuje:
 - a) rutinske inspekcijske preglede koje obavlja ovlašćena laboratorija;
 - b) uzimanje propisanih uzoraka životinja akvakulture i njihovo ispitivanje na jedan ili više specifičnih patogena utvrđenim metodama;
 - c) obavezno hitno prijavljivanje pojave ili sumnje na pojavu određene bolesti ili svakog povećanog uginuća.