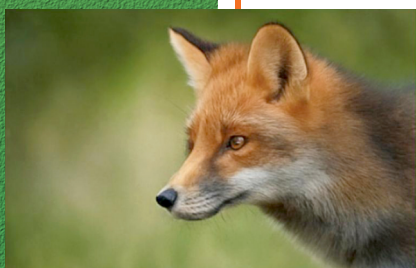




Ovaj dokument je pripremljen
uz finansijsku podršku Evropske unije



POSTUPAK **ZA BEZBJEDNO** **PRIKUPLJANJE,** **PAKOVANJE** **I TRANSPORT UZORAKA** **ZA DIJAGNOSTIČKO** **ISPITIVANJE** **PREKOGRANIČNIH** **BOLESTI ŽIVOTINJA**

Ova publikacija izrađena je u okviru projekta finansiranog od strane Evropske Unije:
"Regionalna akcija za iskorenjivanje životinjskih bolesti u Zapadnom Balkanu"
(EuropeAid/140314/DH/SER/MULTI)

"Regionalna akcija za iskorjenjivanje bolesti
životinja na Zapadnom Balkanu"
EuropeAid/140314/DH/SER/MULTI

POSTUPAK

ZA BEZBJEDNO PRIKUPLJANJE, PAKOVANJE I TRANSPORT UZORAKA ZA DIJAGNOSTIČKO ISPITIVANJE PREKOGRANIČNIH BOLESTI ŽIVOTINJA

MAJ 2025

SADRŽAJ

LEGENDA	3
PODRUČJE PRIMJENE	4
OPŠTE SMJERNICE	4
OPŠTI POSTUPCI I SMJERNICE ZA PRIKUPLJANJE UZORAKA	4
OPŠTI BIOBEZBJEDNOSNI I BIOSIGURNOSNI PROTOKOLI TOKOM UZORKOVANJA	4
OPŠTA NAČELA PAKOVANJA I TRANSPORTA UZORAKA	5
PAKOVANJE	5
OBILJEŽAVANJE	7
ČUVANJE I PREVOZ	8
POSEBNA UPUTSTVA ZA PRIKUPLJANJE UZORAKA ZA DIJAGNOSTIKU AFRIČKE KUGE SVINJA (AKS)	9
Materijal za uzorkovanje i ambalaža za AKS	9
POSEBNA UPUTSTVA ZA PRIKUPLJANJE UZORAKA ZA DIJAGNOSTIKU AVIJARNE INFLUENCE (AI)	12
Materijal za uzorkovanje i ambalaža za AI	12
POSEBNA UPUTSTVA ZA PRIKUPLJANJE UZORAKA ZA DIJAGNOSTIKU BOLESTI PLAVOG JEZIKA ...	16
Materijal za uzorkovanje i ambalaža za bolest plavog jezika	16
POSEBNA UPUTSTVA ZA PRIKUPLJANJE UZORAKA ZA DIJAGNOSTIKU KLASIČNE KUGE SVINJA	19
Materijal za uzorkovanje i ambalaža za KKS	19
POSEBNA UPUTSTVA ZA PRIKUPLJANJE UZORAKA ZA DIJAGNOSTIKU SLINAVKE I ŠAPA	23
Materijal za uzorkovanje i ambalaža za SiŠ	23
POSEBNA UPUTSTVA ZA PRIKUPLJANJE UZORAKA ZA DIJAGNOSTIKU BOLESTI KVRGAVE KOŽE GOVEDA	30
Materijal za uzorkovanje i ambalaža za bolest krgave kože goveda	30
POSEBNA UPUTSTVA ZA PRIKUPLJANJE UZORAKA ZA DIJAGNOSTIKU KUGE MALIH PREŽIVARA ...	34
Materijal za uzorkovanje i ambalaža za PPR	34
POSEBNA UPUTSTVA ZA PRIKUPLJANJE UZORAKA ZA DIJAGNOSTIKU BJESNILA	37
Materijal za uzorkovanje i ambalaža za bjesnilo	37
POSEBNA UPUTSTVA ZA PRIKUPLJANJE UZORAKA ZA DIJAGNOSTIKU BOGINJA OVACA I KOZA ...	40
Materijal za uzorkovanje i ambalaža za SP i GP	40
INSTRUKCIJE ZA UZORKOVANJE	44
PRIKUPLJANJE KRVI – GOVEDA	44
PRIKUPLJANJE KRVI – OVCE/KOZE	46
PRIKUPLJANJE KRVI – SVINJE	47
PRIKUPLJANJE KRVI- PTICE	48
PRIKUPLJANJE KRVI OD UGINULIH ŽIVOTINJA	49
PRIKUPLJANJE BRISEVA	49
BIOPSIJA KOŽE	51
PRIKUPLJANJE KRVI KOD BJESNILA	53
SAKUPLJANJE VEKTORA	54

LEGENDA

Kalijum EDTA epruveta sadrži EDTA kao antikoagulans. Ova epruveta koristi se za pripremu uzoraka EDTA plazme, pune krvi i koštane srži. Napomena: Epruvetu treba blago obrnuti nekoliko puta odmah nakon prikupljanja krvi kako bi se spriječilo zgrušavanje. Nemojte mućkati!

Epruveta za izdvajanje seruma sadrži gel koji odvaja ugrušak od seruma u uzorcima pune krvi. Tokom centrifugiranja gel se pokreće i stvara barijeru između čelija i seruma, obezbjeđujući pristup serumu za različite hemijske, serološke i druge postupke.

Kese koje se mogu zatvoriti / kese sa zipom različitih veličina - Primarna ambalaža za jedan uzorak ili sekundarna ambalaža za više uzoraka od jedne životinje. Napomena: Koristite kesu koja je dovoljno velika da je uzorak ne ispuni potpuno.

Sterilna posuda s navojnim zatvaračem različitih veličina - Primarne ambalaža za jedan uzorak ili sekundarna ambalaža za više uzoraka od jedne životinje.

Sterilni bris bez transportne podloge - Primarna ambalaža za jedan uzorak.

Sterilni bris sa transportnom podlogom - Primarna ambalaža za jedan uzorak.

Izdržljiva kesa za cijele leševe.

Plastične posude različitih veličina od deblje, tvrde plastike.

Filter papir za prikupljanje uzoraka krvi

Probang

PODRUČJE PRIMJENE

Cilj ovih instrukcija jeste davanje doprinosa terenskom ispitivanju slučajeva sumnji na prekogranične bolesti životinja (afrička kuga svinja, avijarna influenza, bolest plavog jezika, klasična kuga svinja, slinavka i šap, bolest kvrgave kože goveda, kuga malih preživara, bjesnilo i boginje ovaca i koza), kao i da se obezbijedi prikupljanje odgovarajućih uzoraka, koji će biti propisno upakovani i bezbjedno transportovani do laboratorije radi dobijanja pouzdane dijagnoze.

Uputstva su u skladu sa relevantnim zakonodavstvom EU, preporukama referentne laboratorije EU i standardima Svjetske organizacije za zdravlje životinja (WOAH).

OPŠTE SMJERNICE

OPŠTI POSTUPCI I SMJERNICE ZA PRIKUPLJANJE UZORAKA

Laboratorijska dijagnostika zaraznih bolesti životinja i/ili prekograničnih bolesti životinja uvijek je urgentna. Uzorci se moraju prikupiti u što je moguće kraćem roku nakon prijave sumnje i dostaviti u laboratoriju bez odlaganja, a u svakom slučaju najkasnije 24 sata od prikupljanja.

Tokom prikupljanja uzoraka, treba uzeti u obzir sljedeća načela i pravila:

- Najbolje je da osposobljena/iskusna lica pomognu u sputavanju životinje.
- Uzeti sve uzorke potrebne od jedne životinje prije uzimanja uzoraka od sljedeće.
- Uzorci krvi moraju se prikupiti u zatvorenom sistemu pomoću odgovarajuće vrste vakutejnera.
- Koristite novu, jednokratnu, iglu za svaku životinju.
- Nakon sakupljanja krvi, vratiti igle u njihove zaštitne navlake i odložiti oštre predmete u čvrstu posudu koja ne propušta tečnost.
- Prilikom prikupljanja uzoraka od živih životinja moraju se poštovati odgovarajuća načela dobrobiti životinja.
- Ukoliko su zastupljene velike patološke lezije, prilikom prikupljanja uzoraka tkiva, zahvaćeni dijelovi unaprijed utvrđenog tkiva treba da budu uzeti za slanje na laboratorijsku dijagnostiku.
- Ukoliko je predviđeno dostavljanje uzoraka regionalnoj/međunarodnoj referentnoj laboratoriji, naročito za potvrdu indeksnih slučajeva, preporučuje se prikupljanje dovoljno materijala za uzorak. Ipak, u slučaju prikupljanja briseva, za vršenje svih laboratorijskih ispitivanja (PCR, izolacija virusa) biće potrebna dva ili čak tri brisa. Ukoliko niste sigurni šta je potrebno uraditi, uvijek kontaktirajte laboratoriju.

OPŠTI BIOBEZBJEDNOSNI I BIOSIGURNOSNI PROTOKOLI TOKOM UZORKOVANJA

Kako bi se izbjeglo inficiranje zaposlenih, širenje infekcije na druge životinje, unakrsna kontaminacija uzoraka, kao i spriječila kontaminacija okoline prilikom prikupljanja kliničkih uzoraka za dijagnostiku, moraju se poštovati opšta pravila biobezbjednosti i biosigurnosti.

Bolest na koju se sumnja možda nema zoonotski potencijal ili potencijal širenja tokom postupka uzorkovanja, ali konačna dijagnoza se može utvrditi tek nakon dobijanja laboratorijskih rezultata i diferencijalna dijagnostika se mora uzeti u obzir. Sva lica koja ulaze i izlaze sa gazdinstva za koje postoji sumnja na prisustvo bolesti moraju biti svjesna rizika od dalje kontaminacije.

- Slijedite odgovarajuća uputstva za rad koja opisuju korake koje je potrebno preduzeti da bi se izbjeglo dalje širenje zaraze. To podrazumijeva i korišćenje predviđene lične zaštitne opreme tokom prikupljanja uzoraka.
- Treba poštovati opšte aseptične postupke, vodeći računa da se izbjegne unakrsna kontaminacija i da se uvijek koriste nove igle za različita grla kako bi se izbjeglo prenošenje bolesti.
- Prilikom vraćanja brisa u plastičnu posudu, izbjegavajte da brisom dodirnete bilo što izvan same posude.
- Ruke se moraju prati nakon rada sa životinjama a rukavice se moraju skinuti. Ukoliko pranje ruku na terenu nije moguće, koristite antibakterijski gel.
- Koristite novi par rukavica za svako grlo.
- Sve uzorke koji čekaju testiranje treba smatrati zaraženima i s njima postupati u skladu s tim.
- Ukoliko je kontaminirana tokom prikupljanja, spoljna površina primarne ambalaže treba da se očisti i dezinfikuje prije pakovanja (vodeći računa da se oznake ne oštete/ne izbrišu). Sekundarno i tercijarnu ambalažu treba uvijek očistiti i dezinfikovati prije otpremanja.

OPŠTA NAČELA PAKOVANJA I TRANSPORTA UZORAKA

Ova procedura čuva integritet uzoraka i obezbjeđuje da uzorci stignu u laboratoriju u optimalnom stanju za ispitivanje. Pakovanje će takođe smanjiti na najmanju moguću mjeru rizik od izlaganja infekciji lica koja su uključena u transport i zaštititi životnu sredinu i prijemčive populacije životinja, kao i osigurati bezbjednost laboratorijskog osoblja od eventualnih rizika.

PAKOVANJE

- Pakovanje prikupljenih uzoraka uvijek vršite u čistom okruženju, udaljenom od mjesta uzorkovanja.
- Pakovanje treba da bude čvrsto, kako bi se izbjeglo oštećenje i curenje uzoraka u slučaju da bude zdrobljeno. Barem sekundarno ili spoljnje pakovanje mora biti čvrsto.
- Minimum zahtjeva za transport biološkog materijala poštuje načelo trostrukog pakovanja:
 - Primarna ambalaža;
 - Sekundarno pakovanje; i
 - Spoljnje pakovanje.

PRIMARNA AMBALAŽA

Standardna primarna ambalaža je: bris, vakutejner, mala plastična posuda s poklopcem ili mala kesa koja se može zatvoriti/kesa sa zipom.

- U principu, primarna ambalaža se koristi za jedan uzorak od jedne životinje. Jedan uzorak može sadržati nekoliko poduzoraka to jest, različite organe (slezina, tonzile, i slično). Ako su potrebni objedinjeni uzorci, obratite se nadležnom organu ili laboratoriji.
- Primarna ambalaža mora da bude takva da ne propušta tečnost kod tečnih uzoraka ili nepropusna za ostale uzorke. Ako niste sigurni, koristite selotejp.
- Ukoliko se koriste kese koje se mogu zatvoriti/kesa sa zipom, prije zatvaranja ispuštite vazduh.



SEKUNDARNO PAKOVANJE

Standardno sekundarno pakovanje je dovoljno velika kesa koja se može zatvoriti/kesa sa zipom ili dovoljno velika plastična kutija.

- Koristite sekundarno pakovanje za pakovanje više primarnih ambalaža od jedne životinje.
- Obilježite sekundarno pakovanje koristeći istu oznaku kao i za životinju od koje su uzorci uzeti.
- Primarna ambalaža mora biti postavljena tako da je poklopcem okrenuta ka gore (vertikalni položaj).
- Sekundarno pakovanje mora da bude nepropusno.
- Stavite dovoljnu količinu apsorpcionog materijala (papir, vata ili slično) u sekundarno pakovanje kako bi se izbjeglo curenje uzoraka i da bi se odvojile primarne ambalaže.
- Očistite i dezinfikujte sekundarno pakovanje sa spoljne strane prije stavljanja u spoljnje pakovanje.



SPOLJNJE PAKOVANJE

Standardno spoljnje pakovanje je kutija od stiropora, ručni frižider ili debela plastična kesa.

- U idealnom slučaju, spoljnje pakovanje treba da bude čvrsto, kako bi se zaštitila cjelovitost uzoraka. Kod velikih uzoraka (cijeli leševi, kosti ili slično), spoljnje pakovanje može da bude i dovoljno čvrsta plastična kesa.

- Stavite sva sekundarna pakovanja u spoljni paket koji sadrži dovoljnu količinu zaleđenih patrona kako bi se održavao hladni lanac tokom transporta. Koristite mokri led samo kada zaleđene patrone nijesu dostupne.
- Očistite i dezinfikujte spoljnje pakovanje sa spoljnje strane prije nego što ga predate prevozniku ili stavite u prevozno sredstvo.
- Prateću dokumentaciju stavite u čistu, vodonepropusnu kesu sa zipom, i dobro je pričvrstite na stranicu spoljnjeg pakovanja ili je stavite unutar spoljnjeg pakovanja. Preporučljivo je da prateću dokumentaciju fotografirate i proslijedite laboratoriji kako bi se omogućilo da se neophodne administrativne procedure obave unaprijed, kako bi se analiza uzoraka mogla započeti odmah nakon dostavljanja u laboratoriju.



OBILJEŽAVANJE

Obilježavanje treba da obezbijedi praćenje svakog uzorka do životinje i gazdinstva od kojeg je uzorak uzet.

- Obilježavanje se obavlja u skladu s važećim zahtjevima u zemlji.
- U idealnom slučaju, obilježavanje se vrši voodootpornim flomasterom.
- Minimum informacija neophodnih za svaku pojedinačnu životinju su:
 - Vrsta uzorka (primarna ambalaža); i
 - Identifikaciona oznaka ili jedinstveni broj životinje od koje je uzorak uzet. Službenu identifikacionu oznaku treba uvijek koristiti. U slučaju uginulih neobilježenih domaćih životinja ili divljih životinja, koristi se jedinstveni referentni broj za životinju (primarna ambalaža i sekundarna posuda).
- Minimum informacija neophodnih za gazdinstvo s kojeg je uzet uzorak čine:
 - Identifikacioni broj gazdinstva i/ili ime i prezime vlasnika;
 - Datum prikupljanja;
 - Bolest na koju se sumnja;
 - Lice koje je prikupilo uzorke; i
 - Zapažanja o kliničkim znacima i lezijama, morbiditetu, mortalitetu i istoriji.
- Spoljnje pakovanje uvijek se obilježava oznakom "UN 3373", koja označava da paket sadrži biološki materijal kategorije B.



Napomena: Važno je voditi računa prilikom slanja uzoraka u laboratoriju da laboratoriji treba obezbijediti ŠTO JE MOGUĆE VIŠE INFORMACIJA. Zaposleni u laboratoriji treba da zna istoriju i glavne nalaze kako bi odabrali najprimjereniju laboratorijsku tehniku.

ČUVANJE I PREVOZ

Aдекватna kontrola temperature je od presudnog značaja za očuvanje ispravnosti uzoraka i obezbjeđivanje pravilne dijagnoze.

- Generalno, uzorci se čuvaju na temperaturi od 2-8 °C ako je slanje predviđeno u roku od 24 časa. Ukoliko je slanje uzoraka nakon tog perioda a uzorkovani materijal je podesan za analizu nakon zamrzavanja, uzorci se mogu čuvati u zamrzivaču do slanja. Imajte u vidu da neki uzročnici bolesti mogu biti uništeni zamrzavanjem. Više informacija nalazi se u odgovarajućem odjeljku za svaku vrstu uzorka.
- Prevoz uzoraka treba uvijek da vrše profesionalna lica koja su pohađala odgovarajuću obuku za prevoz infektivnog materijala. Kontakt sa neovlašćenim licima mora se strogo izbjegavati u svakom trenutku.
- Prevozna sredstva treba da ispunjavaju sljedeće zahtjeve:
 - da obezbjeđuju siguran transport i sprečavaju širenje uzročnika infekcije na putu do laboratorije;
 - da obezbjeđuju uslove za temeljno čišćenje i dezinfekciju nakon dostavljanja uzoraka; i
 - da obezbjeđuju uslove za održavanje propisnog temperaturnog režima tokom prevoza.
- Ukoliko prevoz vrši lice (ili prevozno preduzeće koje je imenovano ili s kojim je potpisan ugovor) koje nije prisutno tokom prikupljanja uzoraka, potrebno ga je blagovremeno obavijestiti kako ne bi došlo do kašnjenja u dostavljanju uzoraka u laboratoriju.
- Laboratoriji je potrebno blagovremeno dostaviti obavještenje o slanju uzoraka, kako bi se obezbijedilo da su zaposleni spremni za prijem uzoraka. Prekogrančne i egzotične bolesti životinja obično imaju prioritet i analiziraju se u skladu s hitnim postupkom.
- Mora se uspostaviti odgovarajući protokol za komunikaciju s laboratorijom koji treba da obuhvati sljedeće:
 - Laboratorija je dužna da obezbijedi listu **od najmanje** dvije kontakt osobe (barem broj telefona) odgovorne za prijem i obradu uzoraka.
 - Prije slanja uzoraka s terena, uvijek obavijestite imenovanu kontakt osobu u laboratoriji **TELEFONOM** o dolasku pošiljke.
 - Ukoliko je moguće, obavještenje treba dostaviti i putem e-maila.
 - Dostavite informacije o očekivanom vremenu dolaska, prevoznom preduzeću/prevozniku, broju i vrsti uzoraka i ukratko podatke o anamnezi.
- Nakon prijema u laboratoriju, prevoznik treba odmah da obavijesti pošiljaoca o uspješnoj dostavi uzoraka.

POSEBNA UPUTSTVA ZA PRIKUPLJANJE UZORAKA ZA DIJAGNOSTIKU AFRIČKE KUGE SVINJA (AKS)

Materijal za uzorkovanje i ambalaža za AKS

Materijal za uzorkovanje			
	Sterilni špric i igla		EDTA vakutejneri (ljubičasti poklopac)
	Vakutejneri za serum (crveni poklopac)		Plastične kese koje se mogu zatvoriti/kese sa zipom za prikupljanje uzoraka tkiva
	Posude s poklopcem s navojem - za prikupljanje uzoraka tečnosti ili tkiva		Apsorpcioni materijal
	Patrone za zamrzavanje		Velika plastična posuda
	Spoljnje pakovanje		Dezinficijens/antibakterijski gel
	Hemijska olovka		Vodootporni marker
	Naljepnice		Odštampani obrasci
	Posuda za oštre predmete i kesa za jednokratnu upotrebu		Set instrumenata za autopsiju (noževi, makaze, skalpeli, itd.)
	Oprema za ličnu zaštitu		

Rezistentnost i epidemiologija

Afrička kuga svinja (AKS) je zarazna virusna bolest svinja koju uzrokuje virus afričke kuge svinja, rod *Asfivirus*, porodica *Asfaviridae*. Virus je stabilan u ekskretima zaraženih svinja, leševima svinja i svježem svinjskom mesu i proizvodima od mesa.

Otpornost na fizička i hemijska dejstva

PARAMETAR	INAKTIVACIJA
Temperatura:	70 minuta na 56 °C ili 20 minuta na 60 °C
pH:	Inaktivije se na pH <3,9 ili pH >11,5.
Dezinficijensi/hemikalije:	- etar, - hloroform, - 8/1000 natrijum hidroksid (30 minuta), - hipohloriti – od 0,03% do 0,5% hlora (30 minuta), - 3/1000 formalin (30 minuta), - 3% orto-fenilfenol (30 minuta) i jedinjenja joda
Preživljavanje:	- Stabilan u leševima u fazi raspadanja; - 11 dana u fecesu ili urinu na sobnoj tempeturi; - 1 mjesec u zaprljanim svinjcima; - 5 mjeseci u mesu s kostima na 4°C; - 140 dana u soljenim, suvim pršutama; - 3 - 6 mjeseci u termički neobrađenim svinjskim proizvodima.

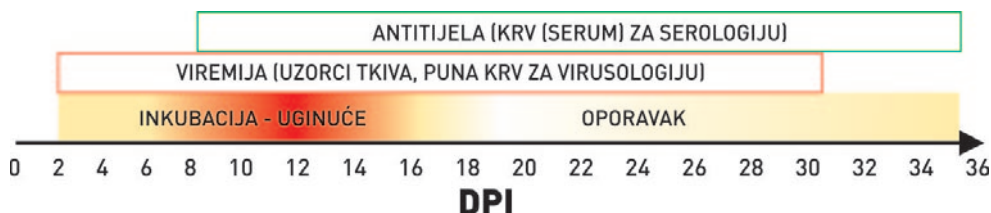
STOPA MORBIDITETA	STOPE MORTALITETA
Do 100% (zavisno od virulentnosti)	<5-100% (zavisno od virulentnosti)
DOMAĆINI	
- Domaće svinje - Divlje svinje	
PRENOŠENJE	
- Neposredno prenošenje između bolesnih i zdravih životinja; - Vektor - krpelji <i>Ornithodoros</i> (endemska područja); - Posredno prenošenje - ishrana splačinama, predmetima koji mogu biti kontaminirani, prostorijama, vozilima, alatima, odjećom.	
PUTEVI INFEKCIJE	
- Inhalacijom ili ingestijom; - Preko sluzokože nakon neposrednog kontakta (u slučajevima kada se zaraza ne prenosi krpeljima) sa zaraženim svinjama ili okolinom.	
IZVORI VIRUSA	
Krv, tkiva, sekret i ekskret oboljelih i uginulih životinja - Otpad od hrane - Meki krpelji roda <i>Ornithodoros</i> u endemskim područjima	

Patogeneza

Infekcije virusom AKS obično nastaju oranazalnim putem, neposrednim kontaktom sa zaraženim svinjama ili ingestijom. Period inkubacije traje od 4 do 19 dana. **Akutni tok bolesti uzrokovan je virulentnim sojevima, a sve tjelesne tečnosti i tkiva sadrže velike količine infektivnog virusa od pojave kliničkih znakova bolesti do smrti.** Svinje zaražene manje virulentnim izolatima mogu da prenose virus na prijemčive svinje do 1 mjeseca nakon infekcije; krv je zarazna 6 sedmica, a virus se može prenositi prolivanjem krvi. Virus se izlučuje uglavnom iz gornjeg respiratornog trakta, a prisutan je i u sekretima i ekskretima koji sadrže krv.

Dinamika virusa AKS

UZORCI ODABIRA:	KRV	TKIVO
Detekcija virusa	2 dpi do nekoliko sedmica	
Detekcija antitijela	7 - 14 dpi - doživotno (do smrti)	/



Sakupljanje uzoraka

RAZLOZI ZA UZORKOVANJE	UZORAK	ZAPREMINA I KOLIČINA UZORKA (od jedne jedinice)	PRIMARNA AMBALAŽA	MINIMALAN BROJ GRLA OD KOJIH ĆE SE UZETI UZORCI	TEMPERATURA TOKOM ČUVANJA I PREVOZA	DIAGNOSTIČKA TEHNIKA
Klinička sumnja (žive životinje)	Serum	- 2-5 ml krvi		Najmanje 5 grla s kliničkim znacima Ili U skladu s preporukama državnog organa nadležnog za veterinu	2-8°C ako se dostavlja za manje od 5 dana. - Ukoliko je duže od 5 dana, ugrušak treba ukloniti a uzorke čuvati na -20°C.	Ab ELISA
	Puna krv	- 2-5 ml krvi			2-6°C ako se šalje u roku od 48 časova; - Ukoliko se šalje za više od 48 časova, čuvajte ih na -20°C	qPCR PCR FAT Ag ELISA Izolacija virusa
Klinička sumnja (uginule životinje)	<u>Prioritet:</u> - Tonzile - Slezina - Bubreg	- Cijele tonzile - Tkivo slezine 5x5 cm - Tkivo bubrega 5x5 cm	  	Najmanje 5 grla s kliničkim znacima; Ili U skladu s preporukama državnog organa nadležnog za veterinu	2-8°C ako se šalje u roku od 48 časova; - Ukoliko se šalje za više od 48 časova, čuvajte ih na -20°C.	qPCR PCR FAT Ag ELISA Izolacija virusa
	<u>Opcionalno:</u> - Pluća - Faringealni i mezenterijalni limfni čvorovi - Dugačka cjevasta kost ili sternum u slučajevima autoliziranih leševa	- Plućno tkivo 5x5 cm 2 limfna čvora - cijela dugačka cjevasta kost ili sternum				

 EDTA epruveta
  Epruveta za serum
  Sterilna epruveta sa čepom
 : Plastična kesa sa zipom
 Plastična kesa za cijele leševe

POSEBNA UPUTSTVA ZA PRIKUPLJANJE UZORAKA ZA DIJAGNOSTIKU AVIJARNE INFLUENCE (AI)

Materijal za uzorkovanje i ambalaža za AI

Materijal za uzorkovanje			
	Sterilni špricci i igle		Sterilni bris od viskozne vate
	Vakutejneri za serum (crveni poklopac)		EDTA vakutejneri (ljubičasti poklopac)
	Plastične kese koje se mogu zatvoriti/kese sa zipom za prikupljanje uzoraka tkiva		Izdržljiva kesa za cijele leševe
	Apsorpcioni materijal		Patrone za zamrzavanje
	Velika plastična posuda		Spoljnje pakovanje
	Dezinficijens/antibakterijski gel		Hemijska olovka
	Vodootporni marker		Naljepnice
	Odštampani obrasci		Posuda za oštre predmete i kesa za jednokratnu upotrebu
	Oprema za ličnu zaštitu		

Rezistentnost i epidemiologija

Avijarna influenza je veoma zarazna virusna infekcija uzrokovana virusima porodice *Orthomyxoviridae*, roda *influenza A*. Brojne vrste ptica, uključujući i ptice koje žive u divljini, ptice koje žive u kavezima i domaće patke, kokoške, ćurke i druge vrste domaće živine, prijemčive su na infekciju virusom *influenza A*.

Virusi *influenza* su veoma varijabilni - postoji najmanje 16 HA i 9 N podtipova koji se obično klasifikuju kao **nisko patogeni sojevi (LPAI)** koji obično uzrokuju malo ili čak nijedan klinički znak kod živine i **visoko patogeni sojevi (HPAI)**, koji mogu da izazovu ozbiljne kliničke znake i potencijalno visoke stope smrtnosti kod živine (100%). Avijarna influenza ima zoonotski potencijal; kod ljudi su zabilježene infekcije sojevima H5N1 i H7N9.

Virus je otporan u spoljnim uslovima i može da preživi dugo (nekoliko sedmica do nekoliko mjeseci) u fecesu ili vodi, naročito u hladnijim uslovima. Period inkubacije kreće se od nekoliko dana do 2 sedmice.

Otpornost na fizička i hemijska dejstva

PARAMETAR	INAKTIVACIJA
Temperatura:	1 čas na 56-60 °C
pH:	Inaktivira se na pH <4,0 ili >10
Dezinficijensi/hemikalije:	- Podložan dejstvu natrijum hipohlorita, etanola u koncentracijama od 60% do 95%, jedinjenja kvaternarnog amonijuma, - aldehidi (glutaraldehid, formaldehid), - fenolna jedinjenja - kisjeline - povidon jod i druga sredstva
Preživljavanje:	Dugo preživljava u rashlađenim i smrznutim tkivima

Epidemiologija

STOPA MORBITETETA	STOPE MORTALITETA
Do 100%	Od 2% do 100%
DOMAĆINI	
• Kokoške, ćurke, prepelice • Kod pataka i gusaka su simptomi blagi ili ih uopšte nema. Patke i guske smatraju se prirodnim rezervatom LPAI virusa • Ljudi u bliskom kontaktu sa zaraženim pticama su u opasnosti od zaraze avijarnom influencom. • Iako se veliki broj slučajeva obolijevanja kod ljudi ispoljava kao konjunktivitis ili blago respiratorno oboljenje, neki virusi često izazivaju teški oblik bolesti, pa čak i smrt.	
PRENOŠENJE	
• Fekalno-oralni put • Aerosol • Neposredno prenošenje između bolesnih i zdravih životinja • Virus AI može se prenositi sa ptica na ljude kao rezultat direktnog kontakta sa inficiranim pticama, kao, na primjer, tokom dvorišnih klanja i čerupanja zaražene živine	
PUTEVI INFEKCIJE	
• Ingestija • Inhalatorna • Preko sluzokože nakon neposrednog kontakta sa zaraženim pticama ili okolinom	
IZVORI VIRUSA	
• Feces • Svi sekreti i ekskreti ptica u periodu inkubacije i oboljelih ptica	

Patogeneza

LPAI virusi obično uzrokuju subkliničke infekcije ili blagu formu bolesti kod živine i drugih vrsta ptica. HPAI virusi obično uzrokuju sistemsku infekciju i ozbiljnu bolest kod pilića i ćuraka i najčešće veoma malo jedinki u inficiranim jatima preživljava bolest. Virus se može nalaziti u svim organima i tkivima od 2 dpi.

Dinamika HPAI/LPAI

UZORAK ODABIRA:	KRV	TRAHEALNI I KLOAKALNI BRISEVI	RESPIRATORNI I DIGESTIVNI TRAKT	UNUTRAŠNJI ORGANI
Detekcija virusa (HPAI)	2 dpi do smrti	- 2 -15 dpi (zavisno od soja) Značajno duže kod pataka i vodenih ptica	- 2-5 dpi (zavisno od soja) Do 14 dpi ako se jedinka oporavi	
Detekcija antitijela (HPAI)	/	/		
Detekcija virusa (LPAI)	2-15 dpi zavisno od soja	2– 15 dpi zavisno od tipa		
Detekcija antitijela (LPAI)	7-14 dpi i može se detektovati nekoliko mjeseci	/		

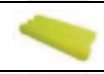
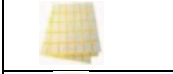
Sakupljanje uzoraka

RAZLOZI ZA UZORKOVANJE	UZORAK	ZAPREMINA I KOLIČINA UZORKA (od jedne jedinke)	PRIMARNA AMBALAŽA	MINIMALAN BROJ GRLA OD KOJIH ĆE SE UZETI UZORCI	TEMPERATURA ČUVANJA I TRANSPORTA	DIAGNOSTIČKA TEHNIKA
Klinička sumnja (živa ili uginula životinja)	Prioritet: Oboljele ili uginule ptice	- Cijeli leševi eutanaziranih oboljelih ptica ili leševi uginulih ptica		5 leševa	Leševi, brisevi, puna krv i uzorci tkiva: - 2-6°C ako se šalje u roku od 48 časova; - Ukoliko se šalje za više od 48 časova, čuvajte ih na -20°C	RT-qPCR RT-PCR Ab ELISA Izolacija virusa
	Trahealni / orotrahealni bris Kloakalni bris	- 1 x trahealni / orotrahealni bris - 1 x kloakalni bris		20 jedinki		
	Serum	- 1-2 ml krvi		20 jedinki		
	Puna krv	- 1-2 ml krvi		20 jedinki		
	Serum	- 1-2 ml krvi		U skladu s preporukom organa nadležnog za veterinu		
Prevalenca infekcije (nadzor)	Serum	- 1-2 ml krvi		U skladu s preporukom organa nadležnog za veterinu	Uzorci seruma: - 2-8°C ako se dostavlja za manje od 5 dana. - Ukoliko je duže od 5 dana, ugrušak treba ukloniti a uzorke čuvati na - 20C.	Kompetitivna ELISA



POSEBNA UPUTSTVA ZA PRIKUPLJANJE UZORAKA ZA DIJAGNOSTIKU BOLESTI PLAVOG JEZIKA (BT)

Materijal za uzorkovanje i ambalaža za BT

Materijal za uzorkovanje			
	Sterilni špricci i igle		EDTA vakutejneri (ljubičasti poklopac)
	Vakutejneri za serum (crveni poklopac)		Sterilni bris od viskozne vate
	Plastične kese koje se mogu zatvoriti/kese sa zipom za prikupljanje uzoraka tkiva		Posude s poklopcem s navojem - za prikupljanje uzoraka tečnosti ili tkiva
	Apsorpcioni materijal		Patrone za zamrzavanje
	Velika plastična posuda		Spoljnje pakovanje
	Dezinficijens/antibakterijski gel		Vodootporni marker
	Hemijska olovka		Odštampani obrasci
	Naljepnice		Set instrumenata za autopsiju (noževi, makaze, skalpeli, itd.)
	Posuda za oštre predmete i kesa za jednokratnu upotrebu		Oprema za ličnu zaštitu

Rezistentnost i epidemiologija

Bolest plavog jezika je infektivna, nekontagiozna bolest koju prenose insekti roda *Culicoides*, od koje obolijevaju sve vrste preživala. Uzročnik je virus bolesti plavog jezika (BTV) koji pripada rodu *Orbivirusa* porodice *Reoviridae*. Postoji najmanje 27 serotipova BTV.

Virus je **veoma stabilan** u prisustvu proteina i može da preživi godinama u krvi na temperaturi od 20°C.

Otpornost na fizička i hemijska dejstva

PARAMETAR	INAKTIVACIJA
Temperatura:	3 sata na 50°C ili 15 minuta na 60°C
pH:	Inaktivise se na pH <6,0 ili >8,0
Dezinficijensi/hemikalije:	- β-propiolakton; - jodoformi i - fenolna jedinjenja

Epidemiologija

BTV najteže pogađa ovce, dok je infekcija kod goveda generalno subklinička. Međutim, goveda imaju epidemiološki značaj jer jačaju virus koji se može prenijeti na ovce.

STOPA MORBITETA	STOPE MORTALITETA
Do 100% kod ovaca, manje kod goveda	Zavisno od serotipa, 30-70% kod ovaca Ispod 1% kod goveda
DOMAĆINI	
- Domaće i divlje vrste preživala (uključujući ovce, koze, goveda, bivole, antilope i jelene) - Uloga vrsta nepreživala u divljini nije poznata	
PRENOŠENJE	
BTV se prenosi sa inficirane na neinficirane životinje biološkim vektorima: <i>Culicoides</i> spp	
IZVORI VIRUSA	
- Inficirani vektori - Krv viremičnih životinja	

Patogeneza

Nakon uboda inficiranog insekta, virus se prenosi na lokalne limfne čvorove i zatim se širi na krv, izazivajući viremiju.

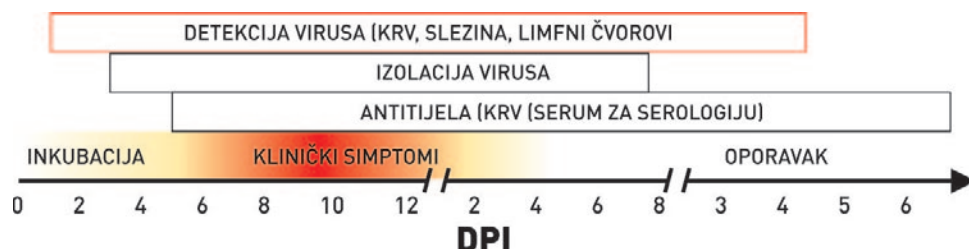
U ranim fazama viremije virus se vezuje za sve elemente krvi, dok se u kasnijim fazama viremije isključivo vezuje za eritrocite.

Produžena viremija je moguća čak i u prisustvu neutralizujućih antitijela.

BTV cilja epitelne ćelije krvnih sudova i sluzokože, izazivajući edem, hiperemiju, hemoragiju i infarkt tkiva.

Dinamika virusa bolesti plavog jezika

UZORAK ODABIRA:	KRV	SLEZINA/LIMFNI ČVOROV
Detekcija virusa	2 do > 150 dni (goveda) – PCR (izolacija virusa do 60 dni)	6 do 151 dni - RT-PCR 40 dni - Izolacija virusa
Detekcija antitijela	7- 8 dni – <u>doživotno</u>	/



Sakupljanje uzoraka

RAZLOZI ZA UZORKOVANJE	UZORAK	ZAPREMINA I KOLIČINA UZORKA (od jedne jedinice)	PRIMARNA AMBALAŽA	MINIMALAN BROJ GRLA OD KOJIH ĆE SE UZETI UZORCI	TEMPERATURA TOKOM ČUVANJA I PREVOZA	DIAGNOSTIČKA TEHNIKA
Klinička sumnja (žive životinje)	Prioritetno: Puna krv	3 ml (minimum) do 5 ml (preporučuje se)		5 životinja s kliničkim znacima. Ukoliko nema 5 grla, grla s kliničkim znacima.	2-6°C ako se šalje u roku od 48 časova; - Ukoliko se šalje za više od 48 časova, čuvajte ih na -20°C.	RT-qPCR RT-PCR Izolacija virusa
	Opcionalno: Nazalni i/ili okularni bris	2 x nazalni bris 2 x okularni bris				
Klinička sumnja (uginule životinje)	Prioritetno: - Slezina - Limfni čvor - Puna krv	- Tkivo slezine 5x5 cm 1- 2 mezenterijalna ili medijastinalna limfna čvora - Krv 3 ml (minimum) do 5 ml (preporučeno)	  	5 životinja	2-6°C ako se šalje za manje od 48 časova; - Ukoliko se šalje za više od 48 časova, čuvajte ih na -20°C.	RT-qPCR RT-PCR Izolacija virusa
	Opcionalno: Pluća, nazalni i/ili okularni bris	- Plućno tkivo 5x5 cm 2 x nazalni i/ili okularni bris	 			
Prevalenca infekcije		3 ml (minimum) do 5 ml (preporučuje se)		U skladu s preporukama organa nadležnog za veterinu	2-8°C ako se dostavlja za manje od 5 dana. - Ukoliko je duže od 5 dana, ugrušak treba ukloniti a uzorke čuvati -20°C.	ELISA
(nadzor)	Serum					
Imunološki status kod pojedinačnih životinja ili populacija (post vakcionalno)						


 EDTA epruveta


 Plastična kesica sa zipom


 Epruveta za serum


 Sterilna epruveta sa čepom


 Sterilni bris bez podloge za transport

POSEBNA UPUTSTVA ZA PRIKUPLJANJE UZORAKA ZA DIJAGNOSTIKU KLASIČNE KUGE SVINJA (KKS)

Materijal za uzorkovanje i ambalaža za KKS

Materijal za uzorkovanje			
	Sterilni špricci i igle		EDTA vakutejneri (ljubičasti poklopac)
	Vakutejneri za serum (crveni poklopac)		Plastične kese koje se mogu zatvoriti/kese sa zipom za prikupljanje uzoraka tkiva
	Posude s poklopcem s navojem - za prikupljanje uzoraka tečnosti ili tkiva		Apsorpcioni materijal
	Patrone za zamrzavanje		Velika plastična posuda
	Dezinficijens/antibakterijski gel		Izdržljiva kesa za cijele leševe ili glave životinja
	Spoljnje pakovanje		Naljepnice
	Hemijska olovka		Vodootporni marker
	Odštampani obrasci		Posuda za oštre predmete i kesa za jednokratnu upotrebu
	Oprema za ličnu zaštitu		Set instrumenata za autopsiju (noževi, makaze, skalpeli, itd.)

Rezistentnost i epidemiologija

Klasična kuga svinja je zarazna virusna bolest svinja koju uzrokuje virus klasične kuge svinja (KKS), rod Pestivirus, porodica Asfviridae. Virus je umjereno osjetljiv i ne opstaje u životnoj sredini. Virus KKS relativno je stabilan u vlažnim ekskretima zaraženih svinja, leševima svinja i svježem svinjskom mesu i nekim proizvodima od mesa. Lako se inaktiviraju deterdžentima, rastvaračima masti, proteazama i običnim dezinficijensima. Osjetljiv je na sušenje i ultraljubičastu svjetlost.

Otpornost na fizička i hemijska dejstva

PARAMETAR	INAKTIVACIJA
Temperatura:	- 1 minut na 90-100°C - 5 minuta na 70 °C - 30 minuta na 65,5°C u mesu
pH:	Inaktiviše se na pH ≤ 3 ili pH >10.
Dezinficijensi/hemikalije:	- Etar, hlороform, - β-propiolakton (0,4%), - natrijum hipohlorit, - fenolna jedinjenja, - jedinjenja kvaternarnog amonijuma i aldehidi, - dezinficijensi na bazi hlора - krezol (5%), - natrijum hidroksid (2%), - formalin (1%)
Preživljavanje:	- 3 mjeseci u rashlađenom mesu; - 4 godine u zamrznutom mesu; - 17 – 180 dana u sušenom i dimljenom mesu; - 3 – 4 dana u organima u raspadanju; - 15 dana u krvi i koštanoj srži u raspadanju; - Do 4 sedmice u štalama tokom zime; - 3 dana na 50°C; - 7 - 15 dana na 37°C.

Epidemiologija

STOPA MORBITETA	STOPE MORTALITETA
Do 100% (zavisno od virulentnosti, starosti i imunološkog statusa)	Do 100% (zavisno od virulentnosti, starosti i imunološkog statusa)
DOMAĆINI	
• Domaće svinje • Divlje svinje	
PRENOŠENJE	
• Neposredni kontakt životinja (sekreti, ekskreti, sjeme, krv) • Posredni kontakt preko prostorija, alata, vozila, odjeće, instrumenata, igala i insekata; • Prenos vazduhom na kratke udaljenosti; • Nedovoljno termički obrađeni ostaci hrane koji se daju svinjama za ishranu; • Transplacentna infekcija.	
PUTEVI INFEKCIJE	
• Ingestijom; • Kontakt s konjunktivom ili sluzokožom, abrazije kože; • Prenos genitalnim putem; • Vještačko osjemenjavanje; • Prenos preko krvi perkutano.	
IZVORI VIRUSA	
• Krv, sekreti i ekskreti (oronazalni i lakrimalni iscjedak, urin, izmet, sjeme) i tkiva • Meso bolesnih, uginulih i trajno inficiranih životinja.	

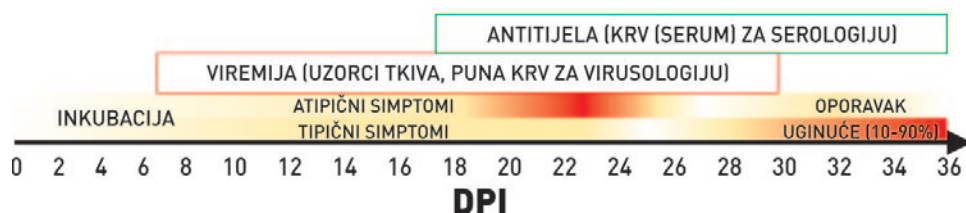
Patogeneza

Najčešći put infekcije je ingestijom, inhalacijom, kontaktom preko konjunktive ili sluznice, abrazijom kože, prenos genitalnim putem i vještačkim osjemenjavanjem. Period inkubacije može da varira od 2 do 15 dana, a u akutnim slučajevima je često 3 do 7 dana. Svinje prenatalno izložene virusu KKS mogu biti trajno zaražene do kraja života i period inkubacije kod njih može trajati i nekoliko mjeseci prije nego što pokazuju znake bolesti. Svinje su obično infektivne u periodu između 5 i 14 dana nakon infekcije, ali do 3 mjeseca u slučajevima hroničnih infekcija. Nakon ingestije, viremija se javlja u roku od 24 časa. Tonzile su početno mjesto replikacije virusa. Replikacija se odvija i na drugim mjestima, naročito u limfnim tkivima (slezini, Pajеровim pločama, limfnim čvorovima, timusu), u endotelnim ćelijama, koštanoj srži i leukocitima u cirkulaciji. U roku od tri do četiri dana virus se širi na mnoge epitelne ćelije i prisutan je u ekskretima i sekretima.

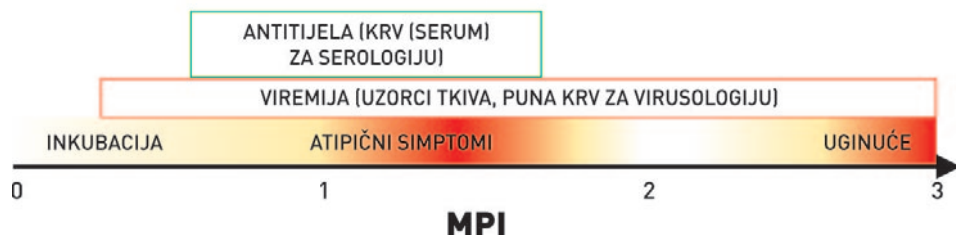
Dinamika virusa KKS

UZORAK ODABIRA:	KRV	UZORCI TKIVA
Detekcija virusa	3 dpi – 4 (5) spi	2 – 14 dpi Do 3 mjeseca u slučaju hronične infekcije
Detekcija antitijela	2– 3 wpi – doživotno (do uginuća)	/

KKS AKUTNI TOK BOLESTI



KKS HRONIČNI TOK BOLESTI



Sakupljanje uzoraka

RAZLOZI ZA UZORKOVANJE	UZORAK	ZAPREMINA I KOLIČINA UZORKA (od jedne jedinice)	PRIMARNA AMBALAŽA	MINIMALAN BROJ GRLA OD KOJIH ĆE SE UZETI UZORCI	TEMPERATURA TOKOM ČUVANJA I PREVOZA	DIJAGNOSTIČKA TEHNIKA
Klinička sumnja (žive životinje)	<u>Prioritet:</u> - Serum - Puna krv	- 2-5 ml krvi		Najmanje 5 grla s kliničkim znacima ili U skladu s preporukama državnog organa nadležnog za veterinu	2-8°C ako se dostavlja za manje od 5 dana. - Ukoliko je duže od 5 dana, ugrušak treba ukloniti a uzorke čuvati na - 20°C.	Ab ELISA VNT RT-qPCR PCR FAT
		- 2-5 ml krvi			2-6°C ako se šalje u roku od 48 časova; - Ukoliko se šalje za više od 48 časova, čuvajte ih na -20°C.	Ag ELISA Izolacija virusa
Klinička sumnja (uginule životinje)	<u>Prioritet:</u> - Tonzile - Slezina - Bubreg <u>Opcionalno:</u> - Pluća - Faringealni i mezenterijalni limfni čvorovi - Dugačka cjevasta kost ili sternum u slučaju autoliziranih leševa	- Cijele tonzile - Tkivo slezine 5x5 cm - Tkivo bubrega 5x5 cm	 	Najmanje 5 grla s kliničkim znacima; ili U skladu s preporukama državnog organa nadležnog za veterinu	2-8°C ako se dostavlja za manje od 48 časova. - Ukoliko se šalje za više od 48 časova, čuvati na -20°C	RT-qPCR PCR FAT Ag ELISA Izolacija virusa
		- Plućno tkivo 5x5 cm - 2 limfna čvora - cijela dugačka cjevasta kost ili sternum				



EDTA epruveta

Epruveta za serum



Sterilna epruveta sa

Plastična kes a sa zipom

POSEBNA UPUTSTVA ZA PRIKUPLJANJE UZORAKA ZA DIJAGNOSTIKU SLINAVKE I ŠAPA (SiŠ)

Materijal za uzorkovanje i ambalaža za SiŠ

Materijal za uzorkovanje			
	Sterilni špricci i igle		EDTA vakutejneri (ljubičasti poklopac)
	Vakutejneri za serum (crveni poklopac)		Sterilni bris od viskozne vate
	Plastične kese koje se mogu zatvoriti/kese sa zipom za prikupljanje uzoraka tkiva		Posude s poklopcem s navojem - za prikupljanje uzoraka tečnosti ili tkiva
	Probang		Apsorpcioni materijal
	Patrone za zamrzavanje		Velika plastična posuda
	Dezinficijens/antibakterijski gel		Izdržljiva kesa za cijele leševe ili glave životinja
	Spoljnje pakovanje		Naljepnice
	Hemijska olovka		Vodootporni marker
	Odštampani obrasci		Posuda za oštre predmete i kesa za jednokratnu upotrebu
	Oprema za ličnu zaštitu		Jednokratna kružna oštrica za "punch" biopsiju promjera 16-17 mm
	Set instrumenata za autopsiju (noževi, makaze, skalpeli, itd.)		

Rezistentnost i epidemiologija

Bolest slinavka i šap je visoko kontagiozna bolest koja se širi kretanjem inficiranih ili kontaminiranih životinja, proizvoda, ljudi i vjetrom. Inficirane životinje proizvode veliku količinu virusa, čak i prije pojave simptoma. Uzročnik bolesti je visoko patogeni RNK virus iz familije Picornaviridae, roda Aphovirus. Postoji sedam imunološki i serološki različitih tipova virusa slinavke i šapa (A, O, C, SAT1, SAT2, SAT3 i Asia 1) a svaki od njih ima više tipova protiv kojih ne postoji unakrsna zaštita. Virus slinavke i šapa ima širok raspon domaćina, uključujući goveda, svinje, ovce, koze, i divlje preživare. Ljudi se izuzetno rijetko razbolijevaju od ove bolesti (profesionalno oboljenje).

Virus veoma dugo opstaje na otvorenom prostoru u kojem je bolest prisutna i može se lako širiti u okviru istog gazdinstva na različite sektore preko ljudi, alata, slame ili stajskog đubriva.

Otpornost na fizička i hemijska dejstva¹

PARAMETAR	INAKTIVACIJA
Temperatura:	Čuva se zamrzavanjem Progresivno se inaktivira na > 50°C
pH:	Inaktivira se na pH <6,0 ili >9,0
Dezinficijensi/hemikalije:	Inaktivira se: - natrijum hidroksid (2%), - natrijum karbonatom (4%), - limunskom kiselinom (0,2%), - sirćetnom kiselinom (2%), - natrijum hipohloritom (3%) - kalijum peroksimonosulfatom/natrijum hloridom (1%), i - hlor-dioksidom. Otporan na jodoforme, jedinjenja kvaternarnog amonijuma, fenole, naročito u prisustvu organskih materija.
Preživljavanje:	Preživljava u limfnim čvorovima i koštanoj srži u neutralnoj pH vrijednosti. Propada u mišiću pri pH <6,0, odnosno nakon nastupanja rigor mortis. Rezidualni virus preživljava u mlijeku i mliječnim proizvodima tokom redovne pasterizacije, ali ga inaktivira UHT pasterizacija. Preživljava sušenje, ali može se danima održati u organskoj materiji pod vlažnim i hladnim temperaturama. Može opstati u kontaminiranoj stočnoj hrani i okolini do 1 mjeseca, zavisno od temperature i pH uslova

STOPA MORBITITETA	STOPE MORTALITETA
Do 100%	Niska (1-5%) kod odraslih životinja Viša (20% ili više) kod mladih teladi, jagnjadi i prasadi
DOMAĆINI	
• Svi domaći preživari: • Goveda • Ovce i koze • Svinje • Bivoli • Svi divlji preživari	
PRENOŠENJE	
• Neposredni kontakt između inficiranih i prijemčivih životinja • Neposredni kontakt s kontaminiranim predmetima (ruke, obuća, odjeća, vozila, itd.) • Ishrana (prvenstveno kod svinja) neobrađenim kontaminiranim mesnim proizvodima (splachine). • Ishrana kontaminiranim mlijekom (telad). • Vještačko osjemenjavanje kontaminiranim sjemenom. • Udisanje infektivnih aerosola. • Vazduhom, naročito u umjerenim područjima (do 60 km unutar kopna i 300 km duž mora). • Ljudi često mogu nositi virus SiŠ u svom respiratornom traktu tokom perioda od 24-48h, što dovodi do uobičajene prakse ličnog karantina od 3 do 5 dana za zaposlene izložene virusu u istraživačkim institucijama. • Tokom aktivne epidemije, ovaj period se može skratiti na jednu noć nakon temeljnog tuširanja i pranja kose, promjene odjeće i iskašljavanja.	
IZVORI VIRUSA	
• Životinje u periodu inkubacije i sa kliničkim znakovima • Disanje, pljuvačka, feces i urin; mlijeko i sjeme (do 4 dana prije ispoljavanja kliničkih znakova) • Meso i mesni proizvodi čiji pH ostaje iznad 6,0 • Nosioци: oporavljene ili vakcinisane i životinje izložene virusu SiŠ kod kojih virus opstaje u orofarinksu duže od 28 dana • Stopa nosilaca kod goveda se kreće od 15-50% • Status nosioca kod goveda obično ne traje više od 6 mjeseci, iako u malom procentu može trajati do 3 godine • Domaći bivoli, ovce i koze obično ne nose virus SiŠ duže od nekoliko mjeseci; afrički bivo je glavni domaćin SAT serotipova a može čuvati virus tokom najmanje 5 godina • Posredni dokazi s terena ukazuju da u rijetkim prilikama nosioci mogu prenijeti infekciju prijemčivim životinjama u bliskom kontaktu: mehanizam prenošenja je nepoznat	

Patogeneza

Viremija, kako je utvrđeno VI ili qRT-PCR, se lako otkriva 1 do 2 dana prije pojave pireksije ili drugih kliničkih znakova. Efektivni imunološki odgovor na virus SiŠ, kojeg odlikuje brzo stvaranje specifičnih antitijela, dovodi do uklanjanja infektivnog virusa iz krvi u roku od otprilike 7 - 14 dana nakon infekcije)

Lezije se progresivno razvijaju:

Goveda:

1. DAN	Uočava se formiranje neoštećenih vezikula napunjenih tečnošću. Koža koja ih prekriva postaje bjeličasta.
2. DAN	Vezikula je rupturirana, ali veći dio izbljedjelog epitela je i dalje netaknut, sa oštrim rubovima (nazubljenim), i na mjestima gdje je odvojena, ispod može se uočiti crveni dermis.
3-4. DAN	Vezikularni epitel je nestao, nakon čega se uočava taloženje fibrina na otvorenom dermisu. Epitel počinje da se obnavlja na rubovima lezija.
5-7. DAN	Obnavljanje epitela je evidentno, fibrinski čep nestaje a zastupljena je i posljedična skarifikacija.
>7	Fibrinski čep je nestao, a novi epitel prekriva dermis. Formiranje ožiljaka napreduje.

Ovce i koze:

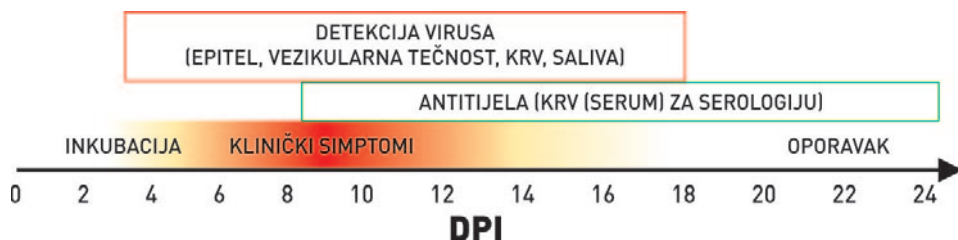
1. DAN	Uočava se formiranje neoštećenih vezikula napunjenih tečnošću. Koža koja ih prekriva postaje bjeličasta.
2. DAN	Vezikula je rupturirana, ali veći dio izbljedjelog epitela je i dalje netaknut, sa oštrim rubovima (nazubljenim), i na mjestima gdje je odvojena, ispod može se uočiti crveni dermis.
3-4. DAN	Vezikularni epitel je nestao, nakon čega se uočava taloženje fibrina na otvorenom dermisu. Epitel počinje da se obnavlja na rubovima lezija.
5-7. DAN	Obnavljanje epitela je evidentno, fibrinski čep nestaje a zastupljena je i posljedična skarifikacija.
>7	Fibrinski čep je nestao, a novi epitel prekriva dermis. Formiranje ožiljaka napreduje.

Svinje:

1. DAN	Uočava se formiranje neoštećenih vezikula napunjenih tečnošću. Koža koja ih prekriva postaje bjeličasta.
2. DAN	Vezikula je rupturirana, ali veći dio izbljedjelog epitela je i dalje netaknut, sa oštrim rubovima (nazubljenim), i na mjestima gdje je odvojena, ispod može se uočiti crveni dermis.
3-4. DAN	Vezikularni epitel je nestao, nakon čega se uočava taloženje fibrina na otvorenom dermisu. Epitel počinje da se obnavlja na rubovima lezija
5-7. DAN	Obnavljanje epitela je evidentno, fibrinski čep nestaje a zastupljena je i posljedična skarifikacija
>7	Fibrinski čep je nestao, a novi epitel prekriva dermis. Formiranje ožiljaka napreduje.

Dinamika virusa SiŠ

UZORAK ODABIRA:	KRV	VEZIKULARNA TEČNOST/ NAZALNI/OKULARNI ISCJEDAK EPITEL / PLJUVAČKA	PROBANG UZORCI
Detekcija virusa	Viremična faza (1-2 dana prije pojave prvih simptoma – 15 dpi	Nerupturirane ili nedavno rupturirane vezikule: lezije 1. do 4. dana)	Prije pojave kliničkih znakova, tokom pojave jasnih znakova SiŠ i nakon toga
Detekcija antitijela	5-7 dpi – od nekoliko mjeseci do nekoliko godina	/	/



Sakupljanje uzoraka

RAZLOZI ZA UZORKOVANJE	UZORAK	ZAPREMINA I KOLIČINA UZORKA (od jedne jedinice)	PRIMARNA AMBALAŽA	MINIMALAN BROJ GRLA OD KOJIH ĆE SE UZETI UZORCI	TEMPERATURA TOKOM ČUVANJA I PREVOZA	DIAGNOSTIČKA TEHNIKA
Klinička sumnja (žive životinje)	(1) <u>Prioritet:</u> • Vezikularna tečnost; • Epitel; • Pljuvačka	• Što je moguće više vezikularne tečnosti; • Najmanje 2 cm² ili najmanje 1-2 grama;		5 životinja	- 2-6°C ako se šalje u roku od 48 časova; - Ukoliko se šalje za više od 48 časova, čuvajte ih na - 20°C	Izolacija virusa RT-PCR Uredjaji za "lateral flow" (brzi test za upotrebu na terenu)
	(2) <u>Prioritet:</u> Puna krv iz jugularne ili repne vene	• 3 ml (minimum) do 5 ml (preporučuje se)				
	(3) <u>Prioritet:</u> Serum iz jugularne ili repne vene					
	(4) <u>Prioritet:</u> Oralni, nazalni i brisevi tonzila	• 2 x oralni • 2 x nazalni • 2 x bris tonzila				
	(5) <u>Opcionalno</u> kada uzorci epitela nijesu raspoloživi – Probang uzorci	• 1 grablica		5 jedinki sa jasnim kliničkim znacima ili konvalescentne	- Rashlađeni ili zamrznuti odmah nakon prikupljanja	
Klinička sumnja (uginule životinje)	(1) <u>Prioritet:</u> • Vezikularna tečnost; • Epitel; • Pljuvačka • Oralni, nazalni i brisevi tonzila.	• Što je moguće više vezikularne tečnosti; • Najmanje 2 cm² ili najmanje 1-2 grama; • 2 x oralni • 2 x nazalni • 2 x bris tonzila		U rijetkim slučajevima kada dolazi do uginuća	- 2-6°C ako se šalje za manje od 48 časova; - Ukoliko se šalje za više od 48 časova, čuvajte ih na - 20°C	Izolacija virusa RT-PCR Uredjaji za "lateral flow" (brzi test za upotrebu na terenu)

	U slučaju da le- neophodan post- mortem pregled (značajno za mlade životinje); • Srce;	5x5 cm zahvaćenog organa ili cijelog organa od manjih životinja			- 2-6°C ako se šalje za manje od 48 časova; - Ukoliko se šalje za više od 48 časova, čuvajte ih na - 20°C	
Prevalenca infekcije (nadzor)					- 2-8°C ako se dostavlja za manje od 5 dana. - Ukoliko je duže od 5 dana, ugrušak treba ukloniti a uzorke čuvati na - 20°C.	Test neutralizacije virusa Ab ELISA
Imunološki status pojedinačnih životinja ili populacija (post- vakcinalno)	Serum	3 ml (minimum) do 5 ml (preporučuje se)		U skladu s preporukama državnog organa nadležnog za veterinu		



POSEBNA UPUTSTVA ZA PRIKUPLJANJE UZORAKA ZA DIJAGNOSTIKU BOLESTI KVRGAVE KOŽE GOVEDA (LSD)

Materijal za uzorkovanje i ambalaža za LSD

Materijal za uzorkovanje			
	Sterilni špricci i igle		EDTA vakutejneri (ljubičasti poklopac)
	Vakutejneri za serum (crveni poklopac)		Sterilni bris od viskozne vate
	Plastične kese koje se mogu zatvoriti/kese sa zipom za prikupljanje uzoraka tkiva		Posude s poklopcem s navojem - za prikupljanje uzoraka tečnosti ili tkiva
	Jednokratna kružna oštrica za "punch" biopsiju promjera 16-17 mm		Apsorpcioni materijal
	Patrone za zamrzavanje		Velika plastična posuda
	Spoljnje pakovanje		Dezinficijens/antibakterijski gel
	Hemijska olovka		Vodootporni marker
	Naljepnice		Odštampani obrasci
	Posuda za oštre predmete i kesa za jednokratnu upotrebu		Set instrumenata za autopsiju (noževi, makaze, skalpeli, itd.)
	Oprema za ličnu zaštitu		

Rezistentnost i epidemiologija

Uzročnik bolesti kvrgave kože goveda je virus iz porodice Poxviridae, rod Capripoxvirus. Ovu bolest koja podliježe obaveznoj prijavi odlikuje povišena temperatura, noduli na koži, sluzokoži i unutrašnjim organima, emacijacija, uvećani limfni čvorovi, edem kože, a ponekad i smrt.

Virus je veoma otporan na spoljnu sredinu i može da preživi dugo (više mjeseci) izvan domaćina, naročito u suvim krastama.

Otpornost na fizička i hemijska dejstva

PARAMETAR	INAKTIVACIJA
Temperatura:	2 sata na 55°C ili 30 minuta na 65°C
pH:	Inaktivise se na pH <4,0 ili >11,0
Dezinficijensi/hemikalije:	Osjetljiv je na fenol (2%/15 minuta), natrijum hipohlorit (2-3%), jedinjenja joda (u razrjeđenju 1:33), Virkon® (2%), kvaternarna amonijum jedinjenja (0,5%), etar (20%), hloroform, formalin (1%)
Preživljavanje:	Dugo preživljava u rashlađenim i smrznutim tkivima

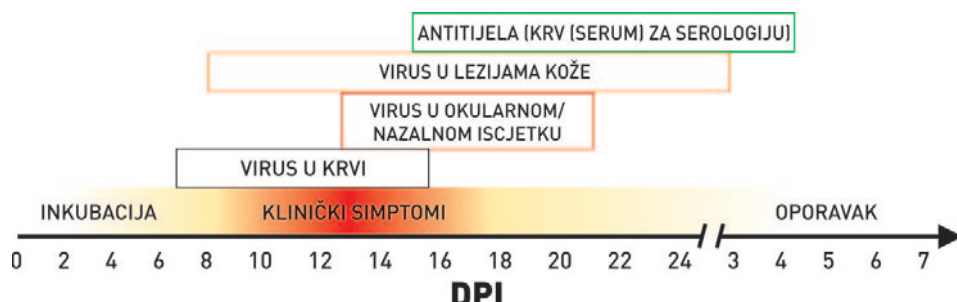
STOPA MORBITITETA	STOPE MORTALITETA
≤30%	1-5% (do 40% u nekim slučajevima)
DOMAĆINI	
• Goveda (pretežno) • Vodeni bivo • Nije poznat značaj divljih preživara u epidemiologiji ove bolesti	
PRENOŠENJE	
• Hematofagni artropodni vektori (muve, komaraci i krpelji) • Prenos prirodnim kontaktom je rijedak, ali može da se dogodi • Jatrogeno • Zagađena voda • Polnim putem, prirodnim pripustom ili vještačkim osjemenjavanjem • Trans-placentarno	
IZVORI VIRUSA	
• Rupturirani noduli • Okularni i nazalni iscjedak, pljuvačka, svi sekreti i ekskreti životinja u periodu inkubacije i oboljelih životinja	

Patogeneza

Nakon inficiranja, virus se prvo može detektovati u krvi u fazi viremije (6-15 dana nakon infekcije) odakle se širi na dalje lokacije u koži, kao i u reproduktivni trakt i druge unutrašnje organe. Karakteristične kožne lezije pojavljuju se 6-20 dni, obično 2 dana nakon pojave povišene temperatura, zahvataju dermis, epidermis i ponekad na potkožni dio, pokrivajući cijelo tijelo ili se javlja lokalno. Kožni noduli predstavljaju najbolje uzorke za dijagnostiku jer je u njima koncentracija virusa najviša i virus se može detekovati do 3 mjeseca nakon pojave nodula.

Dinamika virusa LSD

UZORAK ODABIRA:	KRV	NAZALNI/OKULARNI ISCJEDAK	KOŽA
Detekcija virusa	6-15 dpi	12-21 dpi	Do 3 mpi
Detekcija antitijela	14 dpi – doživotno	/	/



Sakupljanje uzoraka

Zbog veoma karakterističnih kliničkih znakova bolesti kurgave kože, ne preporučuje se post mortem pregled radi dijagnostike.
Dovoljno je uzeti uzorke iz kožnih nodula.

RAZLOZI ZA UZORKOVANJE	UZORAK	ZAPREMINA I KOLIČINA UZORKA (od jedne jedinice)	PRIMARNA AMBALAŽA	MINIMALAN BROJ GRILA OD KOJIH ĆE SE UZETI UZORCI	TEMPERATURA TOKOM ČUVANJA I PREVOZA	DIJAGNOSTIČKA TEHNIKA
Klinička sumnja (žive životinje)	(1) <u>Prioritet</u> (najmanje jedan od sljedeća tri uzorka: • Biopsija kože; • Punch biopsija kože jednokratnom kružnom oštricom; ili • Kraste.	• 2 x kožni bioplat; • 5 x "punch" biopata kože promjera 16-17 mm; • 2 x kraste.		5 grla s kliničkim znacima	• 2-6°C ako se šalje u roku od 48 časova; • Ukoliko se šalje za više od 48 časova, čuvajte ih na -20°C	qPCR PCR Izolacija virusa Ab ELISA VNT AGID IFAT
	(2) Puna krv	• 3 ml (minimum) do 5 ml (preporučuje se)				
	(3) Nazalni brisevi	• 2 x nazalni bris od jedne životinje				
	(4) Serum	• 3 ml (minimum) do 5 ml (preporučuje se)				
	Sjeme	• 2 - 3 ml sjemena				
Klinička sumnja (uginule životinje)	<u>Prioritet</u> Biopsija kože	• 2 x kožni bioplat		5 životinja s lezijama	• 2-6°C ako se šalje u roku manje od 48 časova; • Ukoliko se šalje za više od 48 časova, čuvajte ih na -20°C	qPCR PCR Izolacija virusa

	<u>U slučaju da je neophodna obdukcija:</u> - Lezije na plućima, uključujući i zdravo plućno tkivo; - Mezenterijalni limfni čvorovi - Ostali organi s nodularnim lezijama	5x5 cm zahvaćenih organa				qPCR PCR Izolacija virusa
	Puna krv	3 ml (minimum) do 5 ml (preporučuje se)				
Prevalencija infekcije (nadzor)	Serum	3 ml (minimum) do 5 ml (preporučuje se)		U skladu s preporukama državnog organa nadležnog za veterinu	2-8°C ako se dostavlja za manje od 5 dana. - Ukoliko je duže od 5 dana, ugrušak treba ukloniti a uzorke čuvati -20°C.	Ab ELISA VNT AGID IFAT
Imunološki status jedinki ili populacija životinja (post-vakcionalno)						



POSEBNA UPUTSTVA ZA PRIKUPLJANJE UZORAKA ZA DIJAGNOSTIKU KUGE MALIH PREŽIVARA (PPR)

Materijal za uzorkovanje i ambalaža za PPR

Materijal za uzorkovanje			
	Sterilni špricci i igle		EDTA vakutejneri (ljubičasti poklopac)
	Vakutejneri za serum (crveni poklopac)		Sterilni bris od viskozne vate
	Plastične kese koje se mogu zatvoriti/kese sa zipom za prikupljanje uzoraka tkiva		Posude s poklopcem s navojem - za prikupljanje uzoraka tečnosti ili tkiva
	Apsorpcioni materijal		Patrone za zamrzavanje
	Velika plastična posuda		Spoljnje pakovanje
	Hemijska olovka		Dezinficijens/antibakterijski gel
	Naljepnice		Vodootporni marker
	Odštampani obrasci		Posuda za oštre predmete i kesa za jednokratnu upotrebu
	Set instrumenata za autopsiju (noževi, makaze, skalpeli, itd.)		Oprema za ličnu zaštitu

Rezistentnost i epidemiologija

Uzročnik kuge malih preživara je virus porodice *Paramyxoviridae*, rod *Morbillivirus*.

Virus nije **mного otporan** na uslove spoljne sredine pa ne može dugo da preživi (nekoliko časova) izvan domaćina.

Otpornost na fizička i hemijska dejstva

PARAMETAR	INAKTIVACIJA
Temperatura:	3 časa pri 37°C ili 2,2 minuta na 56°C
pH:	Inaktivise se na pH <4,0 ili >11,0
Dezinficijensi/hemikalije:	Alkohol, etar i uobičajeni deterdženti; osjetljiv na većinu dezinficijenasa.
Preživljavanje:	Dugo preživljava u rashlađenim i smrznutim tkivima

Epidemiologija

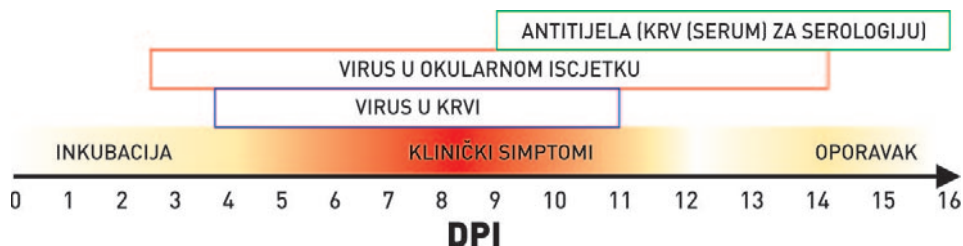
STOPA MORBIDITETA	STOPE MORTALITETA
90- 100%	50-100%
DOMAĆINI	
• Koze (pretežno) i ovce • Predispozicija kod koze povezana s rasom • Kod goveda se javlja inaparentna infekcija i ne prenose bolest • Za svinje je prijavljena prijemčivost i prenošenje virusa u laboratorijskim uslovima, ali do sada nije bilo prijava s terena • Nije poznat značaj divljih preživara u epidemiologiji ove bolesti	
PRENOŠENJE	
• Uglavnom aerosolima ili neposrednim kontaktom između životinja koje žive u blizini • Predmetima se može širiti infekcija; prostirkom, hranom za životinje, preko pašnjaka i pojila	
IZVORI VIRUSA	
• Okularni i nazalni iscjedak, iskašljani sekreti i svi sekreti i ekskreti životinja u periodu inkubacije i oboljelih životinja	

Patogeneza

Patološke promjene se uglavnom nalaze na glavi životinje (mršavljenje, konjuktivitis, erozivni stomatitis, lezije na tvrdom nepcu, farinksu itd.), i u respiratornom sistemu (bronhopneumonija je trajna).

Dinamika virusa PPR

UZORAK ODABIRA:	KRV	NAZALNI / OKULARNI ISCJEDAK	FECES
Detekcija virusa	3-10 dpi	2-> 14 dpi	>60 dpi
Detekcija antitijela	8 dpi – <u>doživotno</u>	/	/



Sakupljanje uzoraka

RAZLOZI ZA UZORKOVANJE	UZORAK	ZAPREMINA I KOLIČINA UZORKA (od jedne jedinice)	PRIMARNA AMBALAŽA	MINIMALAN BROJ GRLA OD KOJIH ĆE SE UZETI UZORCI	TEMPERATURA TOKOM ČUVANJA I PREVOZA	DIJAGNOSTIČKA TEHNIKA
Klinička sumnja (žive životinje)	<u>Prioritetno</u> (najmanje jedan od sljedeća dva uzorka: - Nazalni bris - Okularni bris	2 x nazalni bris 2 x okularni bris		5 životinja s povišenom temperaturom	2-6°C ako se šalje u roku od 48 časova; - Ukoliko se šalje za više od 48 časova, čuvajte ih na -20°C.	RT-qPCR RT-PCR Ag ELISA Izolacija virusa
	Dodatno: Puna krv	3 ml (minimum) do 5 ml (preporučuje se)				
Klinička sumnja (uginule životinje)	<u>Prioritet:</u> - Nazalni bris - Okularni bris - Limfni čvor - Pluća	2 x nazalni bris 2 x okularni bris 1-2 mezenterična limfna čvora 1-2 medijastinalna limfna čvora - Plućno tkivo 5x5 cm		5 životinja	2-6°C ako se šalje u roku od 48 časova; - Ukoliko se šalje za više od 48 časova, čuvajte ih na -20°C.	RT-qPCR RT-PCR Ag ELISA Izolacija virusa
	<u>Opcionalno:</u> - Puna krv - Slezina	- Krv 3 ml (minimum) do 5 ml (preporučeno) - Tkivo slezine 5x5 cm				
Prevalencija infekcije (nadzor)					2-8°C ako se dostavlja za manje od 5 dana. - Ukoliko je duže od 5 dana, ugrušak treba ukloniti a uzorke čuvati -20°C.	Kompetitivna ELISA
Imunološki status kod jedinki ili populacija životinja (post-vakcinalno)	Serum	3 ml (minimum) do 5 ml (preporučuje se)		U skladu s preporukama državnog organa nadležnog za veterinu		



POSEBNA UPUTSTVA ZA PRIKUPLJANJE UZORAKA ZA DIJAGNOSTIKU BJESNILA

Materijal za uzorkovanje i ambalaža za bjesnilo

Materijal za uzorkovanje			
	Sterilni špricci i igle		Vakutejneri za serum (crveni poklopac)
	Plastične kese koje se mogu zatvoriti/kese sa zipom za prikupljanje uzoraka tkiva		Posude s poklopcem s navojem - za prikupljanje uzoraka tečnosti ili tkiva
	Filter papir		Apsorpcioni materijal
	Patrone za zamrzavanje		Velika plastična posuda
	Dezinficijens/antibakterijski gel		Izdržljiva kesa za cijele leševe ili glave životinja
	Spoljinje pakovanje		Naljepnice
	Hemijska olovka		Vodootporni marker
	Odštampani obrasci		Posuda za oštre predmete i kesa za jednokratnu upotrebu
	Oprema za ličnu zaštitu		Set instrumenata za autopsiju (noževi, makaze, skalpeli, itd.)

Rezistentnost i epidemiologija

Uzročnik bjesnila je virus bjesnila, neurotropni virus roda *Lyssavirus*, porodica *Rhaboviridae*.

Otpornost na fizička i hemijska dejstva

PARAMETAR	INAKTIVACIJA
Temperatura:	Do 24 časa u uginulim životinjama na 21°C; Izuzetno otporan na duže periode na niskim ili temperaturama zamrzavanja
pH:	Inaktivije se na pH <3 ili pH >11.
Dezinficijensi/hemikalije:	Natrijum hipohlorit, 45-75% etanol, preparati joda, jedinjenja kvaternarnog amonijuma, formaldehid, fenol, etar, tripsin, β-propiolakton
Preživljavanje:	Virus je osjetljiv na sunčevu svjetlosti, sušenje i ultraljubičasto zračenje.

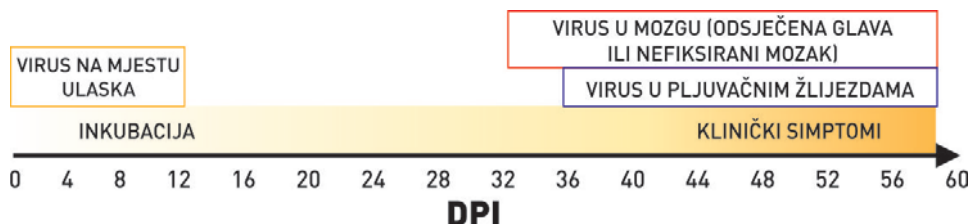
STOPE MORTALITETA
(nakon pojave kliničkih znakova)
DOMAĆINI
Svi sisari
PRENOŠENJE
- Virus bjesnila se prvenstveno prenosi pljuvačkom inficirane životinje. - Infekcija se prvenstveno pojavljuje preko ugriznih rana ili kada inficirana pljuvačka dođe u kontakt s otvorenom posjekotinom, ranom ili sluzokožom, na primjer, usta, nosne šupljine ili očiju. - Povremeno može doći do transmisije udisanjem inficiranog aerosola.
IZVORI VIRUSA
Glavni izvor virusa je pljuvačka i moždano tkivo

Patogeneza

Generalno, period inkubacije kreće se između 2 i 3 mjeseca (prijavljeni su periodi od 2 sedmice do 6 godina) u zavisnosti od mjesta ulaska, količine virusa i soja virusa. Nakon inokulacije, virus se replikuje u ćelijama poprečno prugastih mišića ili neposredno inficira nervne ćelije. Kada dopre do CNS, replikacija virusa se odvija brzo, uzrokujući patološke efekte na fiziologiju nervnih ćelija. Virus potom napušta CNS, što izaziva infekciju nekih susjednih nenervnih tkiva, kao što su sekretorna tkiva pljuvačnih žlijezda.

Dinamika virusa bjesnila

UZORAK ODABIRA:	
Detekcija virusa	Moždano tkivo od početka kliničkih znakova do smrti
Detekcija antitijela	2 – 3 sedmice nakon vakcinacije, do kraja života



Sakupljanje uzoraka

RAZLOZI ZA UZORKOVANJE	UZORAK	ZAPREMINA I KOLIČINA UZORKA (od jedne jedinice)	PRIMARNA AMBALAŽA	MINIMALAN BROJ GRLA OD KOJIH ĆE SE UZETI UZORCI	TEMPERATURA TOKOM ČUVANJA I PREVOZA	DIJAGNOSTIČKA TEHNIKA
Klinička sumnja (učinile životinje; izloženost ljudi)	Cijele životinje (samo za male životinje)	Nije primjenjivo		Nije primjenjivo	- 4°C ako se šalje za manje od 48 časova; - Ukoliko se šalje za više od 48 časova, čuvajte ih na - 20°C	RT-qPCR RT-PCR FAT Izolacija virusa
	Odsječena glava	Nije primjenjivo	 			
Monitoring efikasnosti oralne vakcinacije	Odrezana glava i serum i/ili tjelesne tečnosti	- 3-5 ml krv/tjelesne tečnosti	 	3-4 nedelja posle ORV 4 životinja na 100 kmz/godišnje	- 4°C ako se šalje za manje od 48 časova; - Ukoliko se šalje za više od 48 časova, čuvajte ih na - 20°C	VNT (REFIT, FAVN) FAT Izolacija virusa - RTqIT RT-PCR RFLP Prisustvo tetra ciklina Procjena starosti
	Cijeli trup	Nije primjenjivo				
	Krv	- Filter papir treba namočiti u tjelesne tečnosti/krv	 			



POSEBNA UPUTSTVA ZA PRIKUPLJANJE UZORAKA ZA DIJAGNOSTIKU BOGINJA OVACA (SP) I KOZA (GP)

Materijal za uzorkovanje i ambalaža za SP i GP

Materijal za uzorkovanje			
	Sterilni špricci i igle		EDTA vakutejneri (ljubičasti poklopac)
	Vakutejneri za serum (crveni poklopac)		Sterilni bris od viskozne vate
	Plastične kese koje se mogu zatvoriti/kese sa zipom za prikupljanje uzoraka tkiva		Posude s poklopcem s navojem - za prikupljanje uzoraka tečnosti ili tkiva
	Jednokratna kružna oštrica za "punch" biopsiju promjera 16-17 mm		Apsorpcioni materijal
	Patrone za zamrzavanje		Velika plastična posuda
	Spoljnje pakovanje		Dezinficijens/antibakterijski gel
	Hemijska olovka		Vodootporni marker
	Naljepnice		Odštampani obrasci
	Posuda za oštre predmete i kesa za jednokratnu upotrebu		Set instrumenata za autopsiju (noževi, makaze, skalpeli, itd.)
	Oprema za ličnu zaštitu		

Rezistentnost i epidemiologija

Boginje ovaca i koza virusne su bolesti ovaca i koza koje odlikuju povišena temperatura, otežano disanje, oticanje očnih kapaka, serozno-mukozni eksudat iz očiju i nosa, pojava papula ili nodula, vezikula (rijetko), unutrašnje lezije (naročito u plućima) i uginuće.

Bolest izaziva virus ovčjih boginja (SPV) i virus kozjih boginja (GPV), dva srodna ali različita virusa koji pripadaju porodici *Poxviridae*, rod *Capripoxvirus*.

Virusi su **veoma otporni** na spoljnu sredinu i mogu da prežive dugo (do 6 mjeseci) izvan domaćina, naročito u suvim krastama.

Otpornost na fizička i hemijska dejstva

PARAMETAR	INAKTIVACIJA
Temperatura:	2 sata na 56°C ili 30 minuta na 65°C
pH:	Inaktiviše se na pH <4,0 ili >11,0
Dezinficijensi/hemikalije:	Osjetljiv je na fenol (2%/15 minuta), natrijum hipohlorit (2-3%), jodna (u razređenju 1:33), Virkon® (2%), kvaternarna amonijum jedinjenja (0,5%), Etar (20%), hloroform, formalin (1%)
Preživljavanje:	Dugo preživljava u rashlađenim i smrznutim tkivima

Epidemiologija

STOPA MORBITETA		STOPE MORTALITETA	
70-90%		5-10% (do 100% u nekim slučajevima)	
DOMAĆINI			
Sve rase ovaca i koza			
PRENOŠENJE			
- Aerosol - Direktni kontakt sa teško oboljelim životinjama - Posredno prenošenje odvija se preko kontaminiranih alata, vozila, proizvoda (prostirka, hrana za životinje) i insekata.			
IZVORI VIRUSA			
- Ulcerirane papule na sluzokoži prije nekroze. - Kožne lezije sa krastama. - Okularni i nazalni iscjedak, pljuvačka, svi sekreti i ekskreti životinja u periodu inkubacije i oboljelih životinja			

Patogeneza

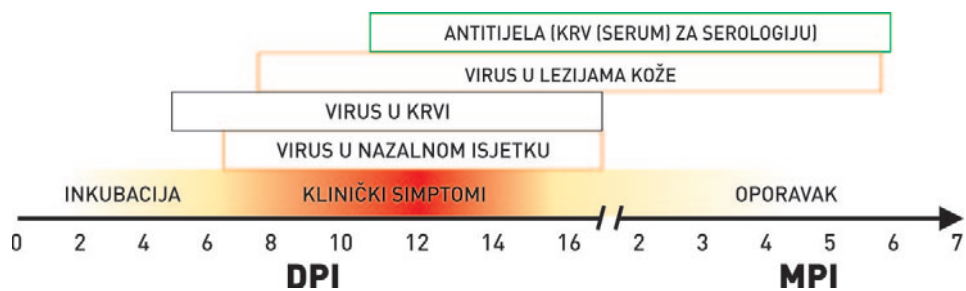
Bolest je obično akutna, s pireksijom, seroznim okularnim i nazalnim iscjetkom, dijarejom, pneumonijom i erozivnim lezijama na različitim sluzokožama, naročito u ustima. Ako oboljela životinja ne ugiše u ovoj akutnoj fazi bolesti u narednih 5-10 dana, papule formiraju kraste koje traju do 6 sedmica, ostavljajući male ožiljke.

U roku od 24 sata od pojave papula, kod oboljelih životinja javlja se rinitis, konjunktivitis i uvećanje svih površinskih limfnih čvorova, naročito preskapularnih limfnih čvorova.

Na postmortem pregledu akutno inficiranih životinja, sluzokoža je nekrotična a svi limfni čvorovi su uvećani i edematozni. Papule, koje mogu biti ulcerozne, obično se nalaze na sluznici abomasuma, a ponekad i na zidu rumena i debelog crijeva, na jeziku, tvrdom i mekanom nepcu, dušniku i jednjaku. Na površini bubrega i jetre povremeno mogu da se uoče blijede površine prečnika oko 2 cm. Brojne tvrde lezije prečnika do 5 cm često se uočavaju u plućima.

Dinamika virusa SP/GP

UZORAK ODABIRA:	KRV	NASAL MUCOSA	KOŽA
Detekcija virusa	4-28 (8-14) dpi	6-64 dpi	8 dpi do 180 dpi
Detekcija antitijela	10-14 dpi do 6-7 mpi	/	/



Sakupljanje uzoraka

RAZLOZI ZA UZORKOVANJE	UZO RAK	ZAPREMINA I KOLIČINA UZORKA (od jedne jedinice)	PRIMARNA AMBALAŽA	MINIMALA N BROJ GRILA OD KOJIH ĆE SE UZETI UZORCI	TEMPERATURA TOKOM ČUVANJA I PREVOZA	DIJAGNOSTI ČKA TEHNIKA
Klinička sumnja (žive životinje)	(1) <u>Prioritet</u> (najmanje jedan od sljedeća tri uzorka): • Biopsija kože; • Punch biopsija kože jednokratnom kružnom oštricom; ili • Kraste.	• 2 x kožni bioplat; • 5 x "punch" bioplat kože promjera 16-17 mm; • 2 x kraste.		5 životinja s nodulama	- 2-6°C ako se šalje u roku od 48 časova; - Ukoliko se šalje za više od 48 časova, čuvajte ih na - 20°C	qPCR PCR Izolacija virusa
	(2) Puna krv	• 3 ml (minimum) do 5 ml (preporučuje se)		5 životinja s povišeno m temperat urom		
	(3) Okularni ili nazalni brisevi	• 2 x nazalni bris ili 2 x okularni bris od jedne životinje				
Klinička sumnja (uginule životinje)	<u>Prioritet</u> : • Kožne lezije • Limfni čvorovi • Pluća ili trahealne lezije	• 5 x kožni bioplat, isječak kože od 10x10 cm • Cijeli limfni čvor • 100 g pluća		5 životinja	- 2-6°C ako se šalje u roku od 48 časova; - Ukoliko se šalje za više od 48 časova, čuvajte ih na - 20°C	qPCR PCR Izolacija virusa
		<u>Opcionalno</u> : ostali organi s nodularnim lezijama	• 5x5 cm zahvaćenih organa			
Prevalenca infekcije (nadzor)	Serum	• 3 ml (minimum) do 5 ml (preporučuje se)		U skladu s preporukam a državnog organa nadležnog za veterinu	- 2-8°C ako se dostavlja za manje od 5 dana. - Ukoliko je duže od 5 dana, ugrušak treba ukloniti a uzorke čuvati -20°C.	Ab ELISA
Imunološki status kod jedinke ili populacija životinja (post- vakcinalno)						



INSTRUKCIJE ZA UZORKOVANJE

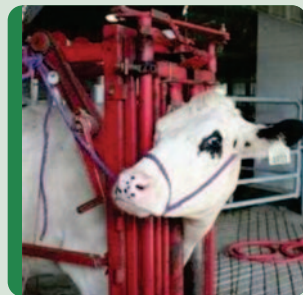
PRIKUPLJANJE KRVI – GOVEDA

- **Fiksirajte životinju kako bi se spriječilo njeno pomjeranje tokom postupka**

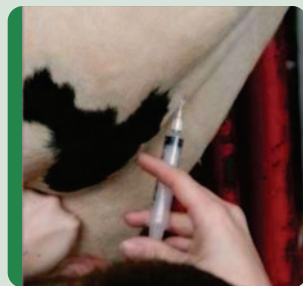
- Glavu treba podići, čime se lakše uočava vratna vena. Odaberite lijevu stranu jer će jednako skliznuti u stranu.
- Držite glavu goveda okrenutu u stranu, pod uglom od 30°, kako biste istegli vrat i izložili jugularnu venu.
- Prikupljanje krvi se najjednostavnije vrši ako su angažovana dva lica – jedno da fiksira životinju, a jedno da prikupi krv.

- **Prikupljanje iz jugularne vene:**

- Ošišati (po potrebi) malu površinu iznad jugularne brazde i prebrisati gazom natopljenom antiseptikom da bi se uklonila površinska nečistoća i prljavština (može pomoći da se uoči vena).
- Zatvorite jugularnu venu pritiskom na bazu jugularne brazde i uočite izdignutu venu.
- S otvorom igle prema gore, probodite iglu kroz kožu i u venu pod uglom od 20° u odnosu na kožu životinje.
- Krvni sud je prilično velik i relativno uočljiv.
- Kada koristite vakutejner, nakon ubadanja igle, pričvrstite iglu i gurnite epruvetu vakutejnera u holder.
- Ako ste pogodili venu, krv će slobodno isticati u epruvetu. Može se napuniti više epruveta zaredom, tako što uklonite napunjenu epruvetu i postavite novu.
- Kada koristite iglu i špric – ispustite vazduh i sa iglom pričvršćenom na špric ubodite iglu pod uglom od 20° u odnosu na površinu kože životinje i povucite klip šprica da biste potvrdili pravilno postavljanje i prikupili krv.
- Ako koristite iglu i epruvetu, držite epruvetu ispod igle prilikom ubadanja vene.
- Ako ste promašili venu, možete pažljivo da namjestite iglu sve dok ne uđe u nju.



Povucite glavu u stranu



Zatvorite jugularnu venu pritiskom na bazu jugularne brazde i ubodite iglu



Prikupljanje krvi:

- Gurnite epruvetu vakutejnera u holder (ako se koriste vakutejneri)
- Povucite klip šprica da prikupite krv (ako se koristi špric)
- Držite epruvetu ispod igle (ako se koristi igla i epruveta)

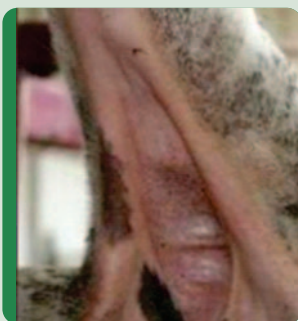
- Obično se ne radi više od dva do tri pokušaja zaredom kako bi se umanjila patnja životinje i eventualno oštećenje vene.
- Prikupiti potrebnu količinu krvi. Jedan od čestih razloga nepodesnosti seruma za serološko ispitivanje jeste nedovoljna količina (to jest, premalo seruma koji ostaje nakon stvaranja ugruška).
- Serijski uzorci mogu se uzeti promjenom strane i pomjeranjem mjesta uboda kaudalno, pod uslovom da se nijesu formirali hematomi. Formiranje hematoma se može izbjeći otpuštanjem pritiska s jugularne vene nakon ubadanja igle.
- Iglu odložite u odobrenu posudu za odlaganje oštih predmeta.

NAPOMENA: *Prilikom upotrebe vakutejnera, nemojte izvlačiti iglu iz kože dok je epruveta vakutejnera prikačena, jer će na taj način vakuum nestati.*

● Sakupljanje iz koksigealne vene kod goveda:

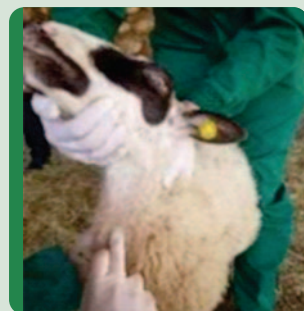
- Podignite rep jednom rukom vertikalno, sve dok ne bude u horizontalnom položaju u odnosu na tlo.
- Locirajte žlijeb koji se nalazi u ventralnoj srednjoj liniji repa.
- Obrišite mjesto antiseptičkim sredstvom.
- Na sredinu duž koksigealnih pršljenova (oko 150 mm od baze repa), ubodite iglu vertikalno u odnosu na površinu kože do dubine od oko nekoliko milimetara. Pritisnite vakuumsku epruvetu u holder. Ako nema krvi, pažljivo pomjerite iglu malo naprijed, ukoliko je i dalje nema, onda malo unazad. Nemojte uklanjati iglu prije nego što se krv izvuče.
- Izvucite uzorak krvi i izvadite iglu.
- Iglu odložite u odobrenu posudu za odlaganje oštih predmeta.
- Da bi se obezbijedila odgovarajuća hemostaza, mjesto uboda treba držati pritisnuto gazom tokom 30 do 60 sekundi.

NAPOMENA: *Prilikom upotrebe vakutejnera, nemojte izvlačiti iglu iz kože dok je epruveta vakutejnera prikačena, jer će na taj način vakuum nestati.*

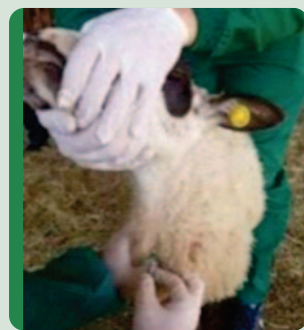


PRIKUPLJANJE KRVI - OVCE/KOZE

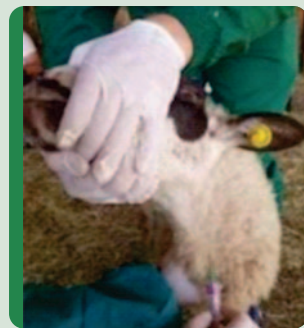
- Fiksirajte životinju kako bi se spriječilo njeno pomjeranje tokom postupka
- Glavu treba podići, čime se lakše uočava vratna vena.
- Ovcu postaviti tako da su leđa životinje naslonjena na Vaše noge. Kao alternativu, postavite ovcu na zadnjicu, s leđima uz Vaše noge (položaj na zadnjim nogama ili „sjedeci” položaj).
- Glavu ovce držite okrenutu u stranu, pod uglom od 30°, kako biste izdužili vrat i izložili jugularnu venu. Izaberite lijevu stranu. Ako je moguće, ošišajte vunu na vratu.
- Prikupljanje krvi se najjednostavnije vrši ako su angažovana dva lica – jedno da fiksira životinju, a jedno da prikupi krv.
- Prikupljanje iz jugularne vene:
 - S otvorom igle prema gore, probodite iglu kroz kožu i u venu pod uglom od 20°.
 - Metoda vakutejnera - nakon ubadanja, stabilizovati iglu
 - i gurnuti vakutejner u holder.
 - Ako ste pogodili venu, krv će slobodno isticati u epruvetu. Može se napuniti više epruveta zaredom, tako što uklonite napunjenu epruvetu i postavite novu.
 - Kada koristite iglu i špric – ispustite vazduh i sa iglom pričvršćenom na špric ubodite iglu pod uglom od 20° i povucite klip šprica da biste potvrdili pravilno postavljanje i prikupili krv.
 - Ako koristite iglu i epruvetu, držite epruvetu ispod igle prilikom ubadanja vene.
 - Ako ste promašili venu, možete pažljivo da namjestite iglu sve dok ne uđe u nju.
 - Krvni sud je prilično velik i relativno uočljiv.
 - Obično se ne radi više od dva do tri pokušaja zaredom kako bi se umanjila patnja životinje i eventualno oštećenje vene.
 - Prikupiti potrebnu količinu krvi. Jedan od čestih razloga nepodesnosti seruma za serološko ispitivanje jeste nedovoljna količina (to jest, premalo seruma koji ostaje nakon stvaranja ugruška).
 - Ako koristite EDTA epruvete, ne zaboravite da ih nekoliko puta lagano okrenete gore-dolje.



Povucite glavu u stranu



Zatvorite jugularnu venu pritiskom na bazu jugularne brazde i ubodite iglu



- Gurnite epruvetu vakutejnera u holder (ako se koriste vakutejneri)
- Povucite klip šprica da prikupite krv (ako se koristi špric)
- Držite epruvetu ispod igle (ako se koriste igla i epruveta)

- Serijski uzorci mogu se uzeti promjenom strane i pomjeranjem mjesta uboda kaudalno, pod uslovom da se nijesu formirali hematomi.

NAPOMENA: *Prilikom upotrebe vakutejnera, nemojte izvlačiti iglu iz kože dok je epruveta vakutejnera prikačena, jer će na taj način vakuum nestati.*

PRIKUPLJANJE KRVI – SVINJE

- Fiksirajte životinju kako bi se spriječilo njeno pomjeranje tokom postupka:
 - Dobro fiksiranje od presudnog je značaja kod prikupljanja krvi od svinja.
 - Svinje se fiksiraju omčom ili užetom, držanjem uza zid ili u čošku.
 - Veće svinje stoje na sve četiri noge s vratom podignutim prema gore.
 - Omča/uže se stavlja iza ocnjaka kako ne bi lako skliznula.
 - Životinja će pokušati da se kreće unazad i na taj način dovoljno zateže uže.
 - Treba spriječiti pomjeranje svinje unaprijed.
 - Čistiti po potrebi kako bi se uklonila površinska nečistoća i prljavština.
 - Podignite glavu svinje kako biste pronašli jugularnu brazdu. Fiksirajte svinju omčom ili užetom
- Prikupljanje iz jugularne vene:
 - Spoljna jugularna vena nalazi se 25 do 40 mm ispod kože.
 - Propisno mjesto uboda je najdubljij tački jugularne brazde formirane između medijalnih sternocefalnih i lateralnih brahiocefalnih mišića.
 - Usmerite iglu kaudo-dorzalno, malo pri središnjoj liniji, 120 mm iznad tačke ramena (pogledajte fotografiju).
 - Ubodite iglu punom dužinom. Ako ste promašili venu, možete pažljivo da namjestite iglu sve dok ne uđe u nju. Obično se ne radi više od dva do tri pokušaja zaredom kako bi se umanjila patnja životinje i eventualno oštećenje vene.



Ispravna tačka venipunkture.
Iglu treba postaviti 120 mm
iznad tačke ramena i
25 do 40 mm ispod kože.



Krv ulazi u epruvetu nakon
ispravnog pozicioniranja
Uz zahvalnost "Norecoba".
<https://norecoba.no/education-training/other-teaching-materials/pig-bleeding>

- Kod većih svinja, masno tkivo iznad vene mora se pritisnuti.
- Stabilizovati iglu i gurnuti vakutejner u holder.
- Dovoljno je uzeti oko 5 ml krvi.

NAPOMENA: *Prilikom upotrebe vakutejnera, nemojte izvlačiti iglu iz kože dok je epruveta vakutejnera prikačena, jer će na taj način vakuum nestati*

PRIKUPLJANJE KRVI- PTICE

OPREZ: *Avijarna influenza ima zoonotski potencijal. Uvijek koristite kompletnu opremu za ličnu zaštitu, uključujući i masku za lice i zaštitu za oči.*

● Prikupljanje krvi od živih ptica:

Da bi se dobio serum koji će biti ispitivan na prisustvo antitijela protiv avijarne influence, nije neophodan antikoagulans i zgrušavanje krvi je dozvoljeno. Pošto je visoko patogena AI akutna i smrtonosna bolest za većinu vrsta, otkrivanje antitijela je od koristi samo ako se sumnja na nisku patogenost AI.

● Prikupite krv iz brahijalne vene (najveće vene ispod krila): Prikupljanje krvi špricom

- Stavite pticu na sto, postavljajući je na stranu.
- Podignite krilo jednom rukom i dio perja duž krila. Da bi perje lakše stajalo razdvojeno, može se koristiti voda ili denaturisani alkohol. Vena će postati vidljiva.
- Postavite iglu pod blagim uglom, s otvorom igle prema gore, na venu na donjoj strani krila (otvor je zakošeni otvoreni dio igle).
- Ubodite iglu u venu i polako izvlačite krv.
- Izvadite iglu i pritiskajte venu nekoliko sekundi. Time će se značajno smanjiti mogućnost pojave velikih hematoma koji se često javljaju kod živine.
- Potrebno je prikupiti 1-2 ml krvi. Ispraznite špic u odgovarajuću epruvetu s vakuumom ili bez njega.
- Kod običnih epruveta, iglu je potrebno ukloniti sa šprica, a svježe izvučenu krv polako ispustiti kroz vrh šprica u epruvetu.
- Kod vakuumskih epruveta, iglu šprica napunjenog krvlju ubodite u gumeni čep i pustite da vakuum izvuče krv.
- Nemojte istiskivati krv kroz iglu jer će to izazvati hemolizu.



Vidljiva brahijalna vena.



Prikupljanje krvi bez šprica

- Da biste omogućili pristup krilnoj veni, iščupajte nekoliko pera iz pregiba krila.
- Pomoću sterilnog skalpela probodite venu kako biste dobili uzorak krvi. Nemojte praviti zasjek duž vene. Prikupite uzorak krvi u male staklene posude za živinu.
- Stavite uzorak krvi u epruvetu (2 ml je dovoljno).
- Da biste dobili serum, stavite bočicu krvi na nagnutu površinu 10-15 min da bi se omogućilo zgrušavanje.
- Uzorci seruma sada se mogu centrifugirati.

PRIKUPLJANJE KRV I OD UGINULE ŽIVOTINJE

U slučaju nedavnog uginuća, krv mrtve životinje može se dobiti direktno iz srca, iz torakalne ili abdominalne šupljine ili na kraju iz velikih krvnih sudova (*v. portae* ili *v. cava caudalis*) ili organa punih krvi, kao što je slezina.

- **Srce:** Postavite životinju u lateralni položaj i povucite prednju nogu prema naprijed. Pomoću sterilnog šprica (5 - 20 ml) i igle (min. 5 cm), punktirajte grudni koš u 4.. interkostalni prostor na gornjoj liniji donje trećine (linija lakta). Stavite iglu u vertikalni položaj. Odmah prebacite krv u vakutejner koji sadrži antikoagulans (vakutejner s čepom ljubičaste boje) i nekoliko puta lagano okrenite epruvetu kako bi se komponente pomiješale.
- **Grudni koš i trbušna šupljina:** Prilikom izvođenja post mortalnog pregleda, postavite trup u ventrodorzalni položaj kako bi se izbjeglo izlivanje tjelesnih tečnosti. U slučaju unutrašnjeg krvarenja ili perfuzije krvi, prikupite tečnost (5-10 ml) iz donjeg dijela trupa pomoću sterilnog šprica (5 - 20 ml) i igle. Odmah prebacite krv u vakutejner koji sadrži antikoagulans (vakutejner s čepom ljubičaste boje) i nekoliko puta lagano okrenite epruvetu kako bi se komponente pomiješale.
- **Veliki krvni sudovi i organi:** Prilikom izvođenja post mortalnog pregleda pronađite *v. portae*, *v. caudalis*, slezinu, itd. Pomoću sterilnog šprica (5 - 20 ml) i igle, prikupite 5-10 ml krvi i odmah je prebacite u vakutejner koji sadrži antikoagulans (vakutejner s ljubičastim čepom), i nekoliko puta lagano okrenite epruvetu kako bi se komponente pomiješale.

PRIKUPLJANJE BRISEVA

- Koristite **viskozne briseve** za uzorkovanje. Štapići s pamučnom vatom mogu da se koriste u slučaju da nema štapića s viskoznom vatom.
- Prije približavanja životinji, označite bris sa svim potrebnim informacijama (identifikacioni broj životinje, vrsta brisa).
- Odvrnite epruvetu u kojoj se nalazi bris čvrsto hvatajući poklopac rukom kojom uzimate bris (ne dodirujte vrh brisa).

- Pažljivo rukujte drvenim štapićima brisa, jer se mogu lako slomiti.
- **Izbjegavajte dodirivanje brisom površina koje se ne uzorkuju** (tj. kože oko nosa/očiju ili bilo koje druge okolne površine).
- Nakon prikupljanja uzorka, precizno vratite bris nazad u plastičnu epruvetu.

Okularni bris (goveda, ovce/koze)

- Povucite ventralni očni kapak i pažljivo uvucite bris u udubljenje konjunktive.
- Okrenite bris za 360 stepeni i vratite bris u poklopac (nije potrebna podloga za čuvanje uzorka).



Nazalni bris (goveda, ovce/koze)

- Nježno ubacite bris (viskozni kraj) duboko u nosnu šupljinu i okrećite/pomjerajte ukruo oko 5 sekundi.
- Bris ubacujte u nosnu šupljinu do 1 cm od poklopca na koji su pričvršćeni brisevi.
- Bris se najlakše umetne ako ga držite duž ventromedijalnog dijela nosne šupljine.



Nježno okrećite ili lagano pomjerajte naprijed-nazad kako bi se prikupio uzorak i

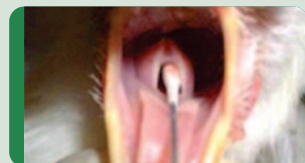
IZBJEGLO IZAZIVANJE pretjerane iritacije ili traume i pojava KRVI NA BRISU.

- Obje nosne šupljine treba uzorkovati istim brisom kako bi se obezbijedila dovoljna količina sluzi.
- Vratite bris u poklopac (nije potrebna podloga za čuvanje uzorka).



Prikupljanje trahealnih/orofaringealnih briseva (ptice)

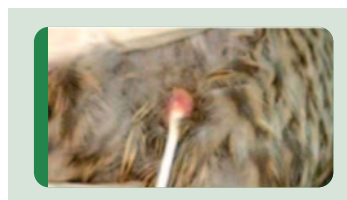
- Koristite sterilne epruvete od 5 – 15 ml.
- Brisevi se mogu prikupiti od uginulih ili bolesnih ptica.
- Koristite suve briseve za prikupljanje uzoraka od uginulih ptica; brisevi natopljeni transportnim podlogama za viruse (VTM) ili PBS treba da se koriste za uzorke uzete od živih ptica.
- Ubacite bris, pratite unutrašnji zid grla i protrljajte sluznicu. Koristite jedan bris za svaku pticu.



- Stavite briseve u epruvete koje sadrže dovoljno VTM ili PBS da navlaže briseve, s ne više od 2 ml VTM ili PBS.
- Mogu se objediniti uzorci brisa prikupljeni od više jedinki. Stavite
- Najviše pet briseva u jednu epruvetu i uronite briseve u 4–5 ml VTM ili PBS.

Prikupljanje kloakalnih briseva (ptice)

- Koristite sterilne epruvete od 5 – 15 ml.
- Brisevi se mogu prikupiti od uginulih ili bolesnih ptica.
- Koristite suve briseve za prikupljanje uzoraka od uginulih ptica; brisevi natopljeni transportnim podlogama za viruse (VTM) ili PBS treba da se koriste za uzorke uzete od živih ptica.
- Ubacite cijelu glavu štapića u kloaku.
- Blago pritiskajući, okrenite bris u kloaki dva ili tri puta.
- Otresite veće komade fecesa i ubacite bris u epruvetu.
- Uronite briseve u VTM ili PBS (maksimalno 2 ml).
- Brisevi se odmah moraju rashladiti na ledu ili zamrznutim gel patronama i dostaviti laboratoriji što je moguće prije.
- Ukoliko brzi prevoz do laboratorije u roku od 48h ne može biti garantovan, uzorci se moraju odmah zamrznuti, uskladištiti i potom transportovani na suvom ledu.
- Mogu se objediniti uzorci brisa prikupljeni od više jedinki. Stavite najviše pet briseva u jednu epruvetu i uronite briseve u 4-5 ml VTM ili PBS.
- Brisevi za PCR analizu mogu se poslati suvi, ukoliko se brzo šalju u laboratoriju i transportuju pod odgovarajućim uslovima.
- Ako iz bilo kojeg razloga nije izvodljivo uzeti kloakalne briseve od živih ptica,
- Pažljivo prikupljeni uzorci svježeg fecesa mogu poslužiti kao alternativa.



BIOPSIJA KOŽE

Kraste su odličan materijal za uzorkovanje jer se lako sakupljaju, ne zahtijevaju sedaciju životinje niti lokalnu anesteziju, dobro podnose dugotrajan transport pri različitim temperaturama i sadrže visoke koncentracije virusa:

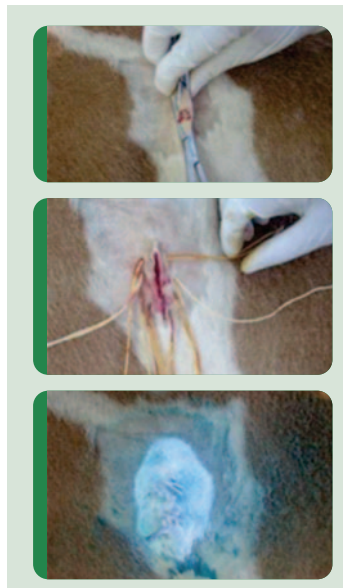
- Koristite pincetu za skidanje kraste i stavite je u označenu posudu s navojnim zatvaračem. Iza nje će ostati otvoreni ulcer.



- Ako je to indikovano, koristite kružnu blok anesteziju prilikom zatvaranja ulcera hirurškim koncem.
- Po potrebi, tretirajte ranu (prašak se ne preporučuje).

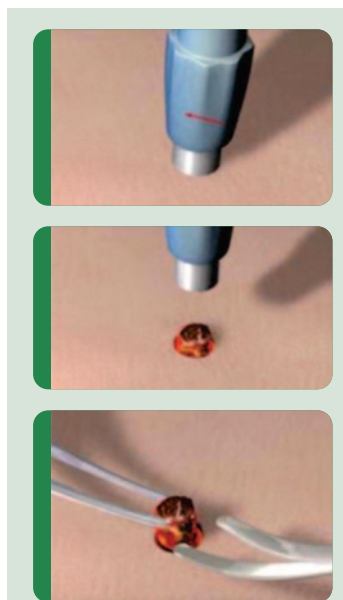
Ako se koristi hirurški metod:

- Koristite kružnu blok anesteziju ako hirurški uzimate uzorke kože pune debljine iz lezija.
- Napraviti rez i izvaditi nodul.
- Zatvorite ranu.
- Tretirati dezinficijensom i antibiotskim praškom.



Punch biopsija kože jednokratnom kružnom oštricom (prečnika 16 do 17 mm)

- Fiksirajte životinju kako bi se spriječilo njeno pomjeranje tokom postupka.
- Ošišajte dlake u području nodula koji će se bioprirati.
- Ako je potrebno, koristite kružnu blok anesteziju.
- Kružna oštrica za biopsiju postavlja se na sredinu mjesta koje se uzorkuje.
- Okrećite oštricu u jednom smjeru (time će se umanjiti svaka greška u isjecanju) uz blagi pritisak prema dolje (više je do okretanja nego pritiska).
- Kada probije kožu, izvadite oštricu polako, ravno prema gore.
- Pazite da ne poremetite uzorak.
- Forcepsom uhvatite samo rub uzorka i izvucite uzorak ka gore i van.
- Ako koristite forceps, nemojte da uhvatite cio uzorak, jer se tako uzorak može zgnječiti.
- Makazama izrežite što je moguće niže.



- Stavite uzorak u sterilnu epruvetu i obilježite je naljepnicom.
- Koristite hirurški konac za ušivanje rane, obično je potreban jedan ili dva šava.
- Tretirajte ranu na odgovarajući način.

PRIKUPLJANJE UZORAKA ZA DIJAGNOSTIKU BJESNILA

OPREZ: Bjesnilo je smrtonosna zoonoza. Mozak, kičmena moždina, pljuvačne žlijezde i pljuvačka životinje mogu da sadrže virus bjesnila. Uvijek koristite kompletnu opremu za ličnu zaštitu, uključujući i masku za lice i zaštitu za oči.

Dekapitacija

- Isprskati životinju insekticidom, ako je infestirana krpeljima ili buvama. Uklonite crve truljenja.
- Nikada nemojte koristiti sjekiru ili električnu testeru jer se inficirani materijal može dospjeti u aerosol. Koristite težak i oštar nož. Izbegavajte oštećivanje mozga.
- Položite životinju na površinu i ispružite vrat. Ako to učinite na stolu, možete da pustite glavu da visi preko ivice, sa izloženim vratom.
- Vrat treba da se reže na sredini između baze lobanje i ramena.
- Glavu ostavite neoštećenu i ne uklanjajte kožu, uši ili njušku.
- Očistite i dezinfikujte nož i bilo koji drugi instrument koji je korišten za dekapitaciju: prvo ih operite vodom i deterdžentom. Dezinfikujte svježe pripremljenim rastvorom izbjeljivača, alkohola (40-70% etanol), joda (25 ppm) ili kvaternarnim amonijum (200 ppm) jedinjenjima. Dezinficijens treba da ostane u kontaktu s inficiranim površinama najmanje 10 minuta.

Uputstva za pakovanje

- Stavite glavu u izdržljivu plastičnu kesu i zatvorite je. Ukoliko izdržljiva plastična kesa nije dostupna, stavite je u dvostruke kese. Ako kesa nema svoj sistem za zatvaranje, zalijepite je ljepljivom trakom.
- U slučaju lisice ili manje životinje, kesu stavite u plastičnu kutiju (sekundarna ambalaža). Stavite dovoljnu količinu apsorpcionog materijala (između primarne i sekundarne ambalaže). Očistite i dezinfikujte sekundarnu ambalažu spolja.
- U slučaju većih životinja (govedo ili konj), glava se ne može zapakovati kako je gore objašnjeno: umotajte cijelu glavu u najmanje tri plastične kese, svaku od njih zasebno zapečatite ili zalijepite.
- Stavite sekundarnu ambalažu u spoljnu ambalažu. Očistite i dezinfikujte spoljne pakovanje.
- Stavite zamrznute patrone za zamrzavanje u spoljne pakovanje. Glavu čuvajte na temperaturi od +4°C. **Ne zamrzavajte:** jer to može da odloži ispitivanje.

Prikupljanje krvi/tjelesnih tečnosti

- Krv/tjelesnu tečnost treba prikupiti špricom i iglom direktno iz srca ili grudnog koša.
- Prikupljenu krv/tečnost treba ulijti u epruvetu za prikupljanje krvi s crvenim čepom.
- Epruvete treba čvrsto zatvoriti i obilježiti.
- U slučaju da je laboratorija sproveda i izvršila validaciju postupaka za dijagnostičko ispitivanje, alternativna metoda je prikupljanje krvi na filter papir:
 - Natopite filter papir krvlju ili tjelesnim tečnostima životinje;
 - Ostavite ga da se suši na vazduhu na nekoliko minuta;
 - Stavite filter papir u samoljepljivu kesu.
 - Filter papir se može transportovati bez rashlađivanja.

SAKUPLJANJE VEKTORA

● Prikupite sljedeće informacije sa svakog mjesta uzorkovanja:

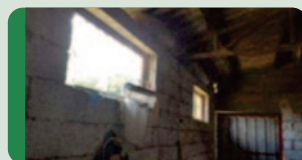
- Lokacija gazdinstva (preko GPS uređaja ili pametnog telefona s funkcijom

geolokacije);

- Ime i prezime, adresu i kontakt podatke vlasnika gazdinstva
- Okolina/namjena zemljišta
- Prisutna vrsta domaćina
- Datum, datum početka i kraja sakupljanja
- Meteorološki parametri (temperatura, padavine) tokom perioda korišćenja zamke
- Lice koje prikuplja zamke
- Fotografija lokacije za prikupljanje (panoramska, ako je moguće)

● Aktiviranje zamki

- Pobrinite se da se zamka postavi što je moguće bliže životinjama a da istovremeno ostaje van njihovog dohvata, daleko od vještačkih izvora osvjetljenja (da bi se izbjegla unakrsna kontaminacija) i da se zaštiti od iznenadne kiše i direktnog izlaganja sunčevoj svjetlosti;
- Okačiti ovipozicijsku zamku na čvrsti nosač (npr. zid ili drvenu gredu) užetom koje spaja prsten na vrhu klopke i kukicom ili ekserom na nosač;



- Okačiti najmanje jednu ovipozicijsku zamku po gazdinstvu, 1,60 m iznad zemlje od zamke sa UV lampom;
- Pobrinite se da se mreža za komarace postavi oko zamke sa UV lampom kako bi se izbjegao ulazak većih insekata, ako je potrebno, fiksirajte mrežu ljepljivom trakom;
- Povežite lijevak s konusnom mrežom i pričvrstite je elastičnom trakom oko lijevka;
- Dodajte 100-200 ml vode s jednom do dvije kapi deterdženta (ili 70% etanola) u plastičnu posudu i spojite je s konusnom mrežom. (Za prikupljanje živih Culicoida spojite lijevak direktno s cilindrom kaveza za držanje insekata u kojem se nalazi vlažni papir);
- Tek sada možete da priključite zamku na automobilski akumulator od 12V ili glavno napajanje električnom energijom ako koristite klopku sa kablom.

● Prikupljanje zamki

- Ne odvajajte klopku od glavnog izvora električne energije prije nego što skinete i stabilno postavite plastičnu posudu koji sadrži noćni ulov;
- Lagano tapkajte konusnu mrežu iznad plastične posude (ili cilindra kaveza) prije nego što je uklonite kako biste bili sigurni da Culicoidi koji se nalaze na konusnoj mreži ne mogu da pobjegnu;
- Izvadite posudu iz konusne mreže i zatvorite je odgovarajućim poklopcem za transport. U slučaju kaveza, pritegnite cilindar kaveza elastičnom trakom kako bi se spriječilo da Culicoidi pobjegnu;
- Tek sada možete da isključite klopku s napajanja.

POSTUPAK
ZA BEZBEDNO
PRIKUPLJANJE,
PAKOVANJE
I TRANSPORT UZORAKA
ZA DIJAGNOSTIČKO
ISPITIVANJE
PREKOGRAIČNIH
BOLESTI ŽIVOTINJA