

2003/466/KE: Vendim i Komisionit i 13 Qershorit 2003 që vendos kriteret për ndarjen në zona dhe mbikëqyrjen zyrtare pas dyshimit ose vërtetimit të pranisë së Anemisë Infektive të Salmonit (ISA). (Tekst kuptimi i të cilit lidhet me ZEE). (shënuar me numër. dokumenti C(2003) 1831)

Gazeta Zyrtare L156, 25.06.2003, fq. 0061-0073

Vendim i Komisionit i 13 Qershorit 2003 që vendos kriteret për ndarjen në zona dhe mbikëqyrjen zyrtare pas dyshimit ose vërtetimit të pranisë së Anemisë Infektive të Salmonit (ISA).. (shënuar me numër. dokumenti C(2003) 1831)

(Tekst kuptimi i të cilit lidhet me ZEE)

(2003/466/KE)

KOMISIONI I KOMUNITETEVE EUROPIANE

Duke pasur parasysh Traktatin Themelues të Komunitetit European,

Duke pasur parasysh Direktivën e Këshillit 91/67/KEE të 28 janarit 1991 mbi kushtet e shëndetit të kafshëve që rregullojnë hedhjen në treg të kafshëve dhe produkteve të akuakulturës¹, siç është ndryshuar së fundmi nga Rregullorja (KE) nr. 806/2003², dhe në veçanti neni 15 i saj,

Duke pasur parasysh Direktivën e Këshillit 93/53/KE të 24 qershorit 1993, e cila vendosi për herë të parë masat minimale komunitare për kontrollin e sëmundjeve të veçanta të peshqve³, siç është ndryshuar së fundmi nga Vendimi i Komisionit 2001/288/KE⁴, dhe veçanërisht neni 5 pika (2) dhe neni 6 i tij,

Duke pasur parasysh se:

- (1) Direktiva 93/53/KEE përcakton, që kampionimi dhe testet laboratorike për praninë e sëmundjeve të listës I dhe listës II (që referohen në Shtojcën A të Direktivës 91/67/KEE) duhet të kryhen duke përdorur metodat e përcaktuara në përputhje me nenin 15 të Direktivës 91/67/KEE;
- (2) Planet e kampionimit dhe metodat diagnostike për zbulimin dhe vërtetimin e sëmundjeve të listës II në peshq, septicemia hemorragjike virale (VHS) dhe nekroza hemopoitike invektive (IHN) parashtrohen në Vendimin e Komisionit 2001/183/KE⁵;
- (3) Sipas nenit 5 pika (2) dhe nenit 6 të Direktivës 93/53/KEE, të gjitha fermat e së njëjtës zonë, që furnizohen nga të njëjtat burime ujore, ose në zona bregdetare, në të cilat një fermë dyshohet ose vërtetohet e infektuar nga virusi i anemisë infektive të salmonit (ISA), duhet të vendoset nën mbikëqyrjen zyrtare;
- (4) Në mënyrë që të përcaktohen planet e kampionimit dhe metodat diagnostike për zbulimin dhe vërtetimin e ISA-s, dhe për të vendosur kriteret e ndarjes në zona dhe mbikëqyrjes zyrtare pas dyshimit ose vërtetimit të ISA-s, duhet të këshillohen ekspertët e laboratorit dhe të akuakulturës. Për më tepër jepen udhëzime mbi diagnozën e ISA-s në botimin më të fundit të Manualit diagnostik të sëmundjeve të kafshëve ujore të OIE-së;
- (5) Duhet të parashikohet një kohë e mjaftueshme për zbatimin e këtyre kërkesave të reja;

¹ GZ L 46, 19.2.1991, fq. 1.

² GZ L 122, 16.5.2003, fq.1.

³ GZ L 175, 19.7.1993, fq.23.

⁴ GZ L 99, 10.4.2001, fq.11.

⁵ GZ L 97, 9.3.2001, fq. 65.

- (6) Masat që parashikohen në këtë vendim janë në përputhje me mendimin e Komitetit Veterinar Veprues, mbi zinxhirin ushqimor dhe shëndetin e kafshëve.

KA MIRATUAR KËTË VENDIM

Neni 1

Planet e kampionimit dhe metodat diagnostike për zbulimin dhe vërtetimin e anemisë infektive të salmonit (ISA) dhe kriteret për ndarjen në zona dhe mbikëqyrjen zyrtare pas dyshimit ose vërtetimit të ISA-s vendosen në shtojcën e këtij vendimi.

Neni 2

Ky vendim do të zbatohet nga 23 tetori 2003

Neni 3

Ky vendim i adresohet Shteteve Anëtare.

Nënshkruar në Bruksel, më 13 qershor 2003.

Për Komisionin

David Byrne

Anëtar i Komisionit

SHTOJCË

Planet e kampionimit dhe metodat diagnostike për zbulimin dhe vërtetimin e Anemisë Infektive të Salmonit (ISA) dhe kriteret për ndarjen në zona dhe mbikëqyrjen zyrtare pas dyshimit ose vërtetimit të ISA-s

HYRJE DHE PËRKUFIZIME

Kjo shtojcë:

- (a) parashikon udhëzime për minimumin e kërkesave mbi plane të kampionimit dhe metodat diagnostike për zbulimin dhe vërtetimin e pranisë së ISA-s;
- (b) bashkon kriteret dhe përcaktimet e parashtruara në Direktivën 91/67/KEE dhe Direktivën 93/53/KEE;
- (c) vendos kritere me qëllim diagnozën e saktë, kontrollin dhe mbikëqyrjen e ISA-s, në rast dyshimi ose vërtetimi të ISA-s;
- (d) i drejtohet autoriteteve përgjegjëse për kontrollin e ISA-s dhe personelit të laboratorit që do të kryejë testet në lidhje me sëmundjen. Në përputhje me këtë, theksi vendoset në procedurat e kampionimit, parimet dhe

aplikimet e testeve laboratorike dhe vlerësimi i rezultateve të tyre ashtu edhe në teknikat e detajuara laboratorike. Megjithatë, nëse laboratorët zbatojnë modifikime të testeve të përshkruara në këtë shtojcë ose përdorin teste të tjera, parashikohet që të tregohet një specifikim dhe ndjeshmëri e njëjtë. Për më tepër, vendosen kriteret për vendosjen e zonave dhe mbikëqyrjen zyrtare pas dyshimit ose vërtetimit të ISA-s.

Për qëllimin e kësaj shtojce do të përdoren përkufizimet e mëposhtme shtesë.

"Basenet ujëmbledhës" nënkupton të gjithë zonën ujëmbledhëse nga burimet ose lumenjtë deri në grykëderdhje, ose pjesë e një zone ujëmbledhëse nga një burim ose lumë deri në një barrierë natyrale ose artificiale, e cila pengon migrimin e peshqve.

"Zonë bregdetare" nënkupton pjesë të bregdetit ose të një grykëderdhjeje me një kufizim të përcaktuar gjeografik, që konsiston në një sistem hidrodinamik homogjen ose disa sisteme të tilla.

Pjesa I përfshin parime të përgjithshme dhe kriteret për diagnozën dhe vërtetimin e ISA-s, dhe kriteret për ndarjen në zona dhe mbikëqyrjen zyrtare që duhet të vendoset pasi dyshohet ose vërtetohet ISA.

Pjesa II përshkruan inspektime dhe kampionime që do të kryhen me qëllim zbulimin e pranisë së ISA-s.

Pjesa III përshkruan metodat që do të përdoren për ekzaminimin virologjik.

Pjesa IV përshkruan procedurat për ekzaminimin e kampioneve me RT-PCR për zbulimin e ISA-s.

Pjesa V përshkruan protokollin që do të përdoret për ekzaminimin e prerjeve nga veshkat me IFAT.

Pjesa VI përfshin metodat histologjike.

Pjesa VII jep një listë akronimesh (iniciales) dhe shkurtimesh.

I. Kriteret për diagnozën e ISA-s dhe vendosjen e zonave, disa masa kontrolli dhe mbikëqyrjen zyrtare.

I.1 Parime të përgjithshme për diagnozën e ISA-s

Mjaft zona që dyshohet se ishin të infektuara me ISAV përshkruhen në Pjesën I.2 të kësaj shtojce. Shtetet Anëtare duhet të sigurojnë që pasi dyshohet se një peshk ose një fermë është e infektuar me ISAV duhet të kryhet sa më shpejt të jetë e mundur një kontroll zyrtar për të vërtetuar praninë e sëmundjes, kjo duke bërë inspektime dhe ekzaminimet klinike si dhe mbledhjen dhe zgjedhjen e kampioneve dhe metodave laboratorike, siç përshkruhet në pjesën III.4 të kësaj shtojce. Me qëllim vërtetimin zyrtar të pranisë së ISA-s, duhet të përmbushet secili nga këto tre grupe kriteresh, siç përshkruhet në pjesën I. 3

I.2 Dyshimi i infeksionit nga ISA

I.2.1 Prania e ISA-s dyshohet kur plotësohet të paktën një nga këto kriteret:

- (a) prania e peshqve të ngordhur me ISA, me ose pa shenja klinike të sëmundjes. Të dhënat post-mortem dhe shenjat klinike të sëmundjes duhet të përputhen me ato të përshkruara në botimin më të fundit të Manualit diagnostik të sëmundjeve të kafshëve ujore të OIE;
- (b) izolimi dhe identifikimi i ISAV në kultura qelizore nga një kampion i vetëm i çdo peshku në fermë, siç përshkruhet në pjesën III;
- (c) të dhëna të arsyeshme për praninë e ISAV të marra nga dy teste laboratorike të pavarur të RT-PCR (Pjesa IV) dhe IFAT (pjesa V);

- (d) futja e peshqve të rinj në një fermë ku dyshohet se ISA ishte e pranishme në kohën e transferimit;
- (e) kur kërkimi na jep edhe të dhëna epidemiologjike shtesë të lidhura me ISA-n e dyshuar ose ferma të përcaktuar.

I.2.2 Dyshimi mund të eliminohet nëse kërkimet e vazhdueshme, që përfshijnë të paktën një inspektim klinik në muaj, për një periudhë gjashtë mujore, nuk japin të dhëna për praninë e ISA-s.

I.3 Vërtetimi i ISA-s

Prania e ISA-s vërtetohet nëse plotësohen kriteret e pikave (a) ose (b) ose të (c):

- (a) vihen re shenjat klinike dhe të dhënat *post-mortem* që i përkasin ISA-s, në përputhje me botimin më të fundit të Manualit diagnostik të sëmundjeve të kafshëve ujore të OIE, përfshi ngordhje, dobësi ose sjellje jonormale, shenja të anemisë, ndryshime të tjera patologjike dhe post-mortem dhe zbulohet virusi i ISA-s me një ose më shumë nga metodat e mëposhtme:
 - (i) izolimi dhe identifikimi i ISAV në kultura qelizore nga të paktën një kampion prej çdo peshku në fermë, siç përshkruhet në pjesën III,
 - (ii) zbulimi i ISAV me anë të metodave të RT-PCR siç përshkruhet në Pjesën IV,
 - (iii) zbulimi i ISAV në inde ose përgatitjet nga indet me anë të antitropave të veçantë kundër ISAV (si IFAT në prerjet nga veshkat siç përshkruhet në pjesën V);
- (b) izolimi dhe identifikimi i ISAV në dy kandidate nga një ose më shumë peshq në fermën që do të testohet, të kontrolluara në raste të veçanta, duke përdorur metodat e përshkruara në Pjesën III;
- (c) izolimi dhe identifikimi i ISAV nga të paktën një kampion nga çdo peshk në fermë, duke përdorur metodat e përshkruara në pjesën III, me të dhëna të ngjashme të ISAV në prerjet e indeve nga çdo peshk në fermë, duke përdorur si RT-PCR (pjesa IV) dhe ashtu edhe IFAT (pjesa V).

I.4. Kriteret për vendosjen dhe shfuqizimin e zonave për kontrollin dhe mbikëqyrjen zyrtare pas dyshimit dhe vërtetimit të ISA-s.

I.4.1. Me qëllim vendosjen e një programi zyrtar mbikëqyrjeje, të bazuar në risk, Shtetet Anëtare duhet, në afërsi të një ferme ku zyrtarisht dyshohet ose vërtetohet e infektuar me ISA, të vendosin kontrollin e duhur dhe zonën e mbikëqyrjes.

I.4.2. Vendosja e zonës duhet të përcaktohet me anë të analizave rast pas rasti të rrezikut për përhapjen e mëtejshme të sëmundjes. Në përputhje me situatën epizootologjike, baseni ujëmbledhës ose zona bregdetare:

- duhet të përcaktohet si zonë kontrolli, ose
- mundet, që basenet e mëdha ose zonat bregdetare, të ndahen në një zonë kontrolli dhe në një zonë mbikëqyrjeje, nëse nuk çënohet parandalimi i përhapjes së ISA.

Për më tepër, mund të vendoset një zonë shtesë mbikëqyrjeje, nëse është e nevojshme, jashtë basenit ujëmbledhës ose zonës bregdetare.

I.4.3 Faktorët kryesorë që duhen marrë parasysh për vendosjen e zonave të mësipërme, janë ato që ndikojnë në rrezikun e përhapjes së sëmundjes në peshqit e rezervateve dhe ata të egër, të tillë si: numri, shkalla e vdekshmërisë në peshqit e fermës që dyshohet ose vërtetohet e infektuar nga ISAV; shkaku i vdekshmërisë në fermën në fjalë; fermat në kontakt; speciet e pranishme në fermë; menaxhimi që zbatohet në fermën e prekur apo në fermat fqinje; kushtet hidrodinamike dhe faktorë të tjerë me rëndësi epidemiologjike të identifikuar brenda fermës pas një kontrolli epizootik në përputhje me nenet 5 pika (2) dhe 8 të Direktivës 93/53/KEE.

I.4.4 Për vendosjen e zonës duhet të zbatohen këto kritere minimale.

I.4.4.1. Nga Shtetet Anëtare duhet të vendoset një "zonë kontrolli" në afërsi të fermës, që vërtetohet e infektuar me ISA si më poshtë:

- në zonat bregdetare, zona përfshihet në një rreth me rreze të paktën gjurmën e një baticë ose të paktën 5 km, me qendër fermën që vërtetohet e infektuar nga ISAV, ose një zonë e njëjtë, përcaktuar në bazë të të dhënave hidrodinamike dhe epizootologjike, ose
- në zonat e brendshme (larg bregdetit), i gjithë baseni ujëmbledhës që vërtetohet i infektuar nga ISAV; Shtetet Anëtare mund, në basenet ekstensive, të kufizojnë përhapjen e zonës në zona ose basene ku mendohet se nuk komprometohet parandalimi dhe përhapja e ISA-s.

I.4.4.2. Në rast dyshimi për praninë e ISA-s duhet të vendoset një "zonë e përkohshme kontrolli", bazuar në të njëjtat kritere si për zonën e kontrollit.

I.4.4.3. Nëse është e nevojshme, Shtetet Anëtare duhet të vendosin një "zonë mbikëqyrjeje" jashtë zonës së kontrollit, në zona ku mbikëqyrja është më e pakët dhe e pamjaftueshme, që korrespondojnë me:

- në zona bregdetare, një zonë që rrethon zonën e kontrollit dhe përputhet me gjurmën e baticës, një zonë që rrethon zonën e kontrollit dhe përfshin një rreth me rreze 10 km, ku si qendër është zona e kontrollit, ose një zonë e ngjashme në varësi të të dhënave hidrodinamike dhe epidemiologjike,
- në brendësi, nëse është e nevojshme një hapësirë që shtrihet jashtë zonës së vendosur të kontrollit.

I.5. Kontrolli dhe shfuqizimi i zonave të vendosura

I.5.1. Autoritetet kompetente nga Shtetet Anëtare, duhet të sigurojnë që të gjitha fermat brenda zonës së kontrollit janë subjekt i një periudhe kontrolli pasi janë boshatisur nga peshqit dhe dezinfektuar. Zgjatja e kësaj periudhe në fermat që vërtetohen të infektuara nga ISA, duhet të jetë jo më pak se gjashtë muaj. Gjatësia e kësaj periudhe për fermat e tjera në zonën e kontrollit duhet të përcaktohet nga autoritetet kompetente në bazë të vlerësimit të rrezikut rast pas rasti. Kur të boshatisen të gjitha fermat në zonën e kontrollit, duhet që të zbatohen sinkron një periudhë pushimi prej gjashtë javësh.

Për më tepër, autoritetet kompetente mund të vendosin mbi vendosjen e periudhës së pushimit në zonat e mbikëqyrjes.

I.5.2. Zonat e kontrollit mund të mos shfuqizohen dhe ripullohen derisa të gjitha fermat të boshatisen nga peshqit, dezinfektohen nëse është e nevojshme dhe të vazhdohet si tek

I.5.1. Kur bëhet ripopullimi i zonës, ajo konvertohet në një zonë mbikëqyrjeje si tek I.4.4.3.

I.5.3. Zona e kontrollit të përkohshëm mund të shfuqizohet nëse vërtetohet dyshimi për ISA-n në përputhje me pjesën I.2.2. Në rast vërtetimi për ISA-n në përputhje me pjesën I.3, zona e kontrollit të përkohshëm duhet të shndërrohet në zonë kontrollit.

I.5.4 Zonat e mbikëqyrjes nuk mund të shfuqizohen pa kaluar dy vjet nga shfuqizimi i zonës së kontrollit.

I.6. Mbikëqyrja zyrtare pas dyshimit ose vërtetimit të ISA-s

I.6.1. Duke ju referuar neneve 5 pika (2) dhe 6 të Direktivës 93/53/KEE dhe në mënyrë që të përcaktohet përhapja dhe evoluimi i sëmundjes pas një dyshimi ose vërtetimi të ISA-s në një fermë, programi i mbikëqyrjes zyrtare mbi bazën e riskut, kryhet nga autoritetet kompetente, shërbimi i kualifikuar i peshkimit nën këshillimin ose me bashkëpunimin e autoriteteve kompetente, në të gjitha fermat e zonës së përcaktuar.

I.6.2. Me qëllim zbatimin e këtij programi mbikëqyrjeje, autoritetet kompetente duhet, pas inspektimit në vatër, të identifikojnë të gjitha fermat në zonën e përcaktuar dhe të bëjnë një regjistrim zyrtar të specieve, kategorive dhe numrit të peshqve që rriten në ferma, përfshi edhe rastet e vdekshmërisë.

I.6.3. Pas regjistrimit, fermat brenda zonës së kontrollit të përkohshëm që rrisin salmonin Atlantik (*Salmo salar*) ose çdo specie tjetër që i referohet botimit më të fundit të Kodit të shëndetit të kafshëve ujore, që është e ndjeshme ose bartës i ISA-s, duhet të raportojnë për të dhënat e vdekshmërisë çdo 14 ditë tek autoritetet kompetente. Në rast se kemi rritje të vdekshmërisë, duhet të raportojmë çdo ditë. Këto do të kontrollojnë mbi këtë rritje. Nëse vërtetohet dyshimi, të gjitha fermat e vendosura në zonën e kontrollit duhet të raportojnë çdo javë mbi vdekshmërinë, madje edhe çdo ditë tek autoritetet kompetente. Fermat në zonën e mbikëqyrjes duhet të raportojnë për vdekshmërinë çdo 14 ditë tek autoritetet kompetente.

Për më tepër, gjatë vitit duhet të kryhen rregullisht inspektimet në zonat e përcaktuara me një frekuencë siç tregohet në tabelën 1. Megjithatë, kur kushtet klimatike e bëjnë të pamundur inspektimin për periudha të caktuara të vitit, Shtetet Anëtare duhet të përcaktojnë shpeshësi të tjera inspektimi në planin e kontigjencës.

Tabela 1

Programi zyrtar i mbikëqyrjes

Vendndodhja e fermës	Numri minimal i inspektimeve në vit	Numri minimal i inspektimeve në vit pas shfuqizimit të zonës së kontrollit
Zona e kontrollit	12	
Zona e mbikëqyrjes	6	6
Zona e përkohshme e kontrollit	6	

Programi i kontrollit kryhet deri sa zonat të shfuqizohen

I.6.4 Inspektimet, si përzgjedhja, mbledhja, përgatitja dhe transporti i kampioneve përcaktohen në Pjesët II.1 deri tek II.4. Ekzaminimi i kampioneve duhet të bëhet në përputhje me Pjesët III dhe IV.

II. Inspektimi dhe kampionimi

II.1. Inspektimi, përzgjedhja dhe mbledhja e kampioneve në një fermë ku dyshohet për praninë e ISA-s

II.1.1. Gjatë inspektimeve të rregullta brenda programit zyrtar të mbikëqyrjes, që shënohet në pjesën I.6 dhe në fermat që dyshohet se janë infektuar me ISA, kontrollohen të gjitha pajisjet (kafaze, tanke, rezervate) për praninë e peshqve të ngordhur, të dobët apo me sjellje anormale. Ku është e mundur, në ngordhjet e vona (jo të dekompozuar) dhe në peshqit e dobët ose me sjellje anormale, bëhen ekzaminime klinike dhe *post-mortem* për ISA-n siç përshkruhet në botimin më të fundit të Manualit diagnostik për kafshët e ujit të OIE.

II.1.2. Nëse vihen re shenja klinike për ISA-n, ose një inspektor apo veteriner ka ndonjë arsye për të dyshuar që peshku mund të jetë i infektuar, mblidhet një kampion prej 10 peshqish. Kampioni përbëhet nga peshq të ngordhur, të dobët apo me sjellje anormale, nëse është e mundur. Nëse numri i peshqve me shenja klinike nuk është i mjaftueshëm, ai plotësohet më peshq të shëndetshëm, të marrë nga kafazet, tanket apo rezervatet me numrin më të madh të ngordhjeve ose të peshqve që shfaqin shenja klinike të sëmundjes.

II.1.3. Nëse vihet re vdekshmëri ,peshk i dobët apo me sjellje jonormale, por shenjat klinike dhe të dhënat *post-mortem* nuk përputhen me ato të ISA-s, kampionimi nuk është i detyrueshëm, megjithëse këto kampione mund të kërkohen për të bërë diagnozën diferenciale dhe të merren nga inspektorët apo veterinerët.

II.1.4. Kur dyshohet se peshqit e egër janë të infektuar me ISA, Shtetet Anëtare duhet të sigurojnë që janë marrë kampionet e duhura dhe janë ekzaminuar me metodat e duhura klinike dhe laboratorike si në pjesët II dhe IV, në mënyrë që të vërtetohet prania e ISA-s dhe të vlerësohet roli që do të ketë për peshqit e fermave.

II.2. Përgatitja e kampioneve nga peshqit

II.2.1. Kampionet për ekzaminim histologjik duhet të merren nga peshqit, që shfaqin shenja klinike ose *post-mortem*, të hapur në moment. Çdo plagë e jashtme ose e brendshme duhet të kampionohet dhe, në çdo rast, merren kampione nga mëlçia, medula e veshkave, zemra dhe shpretka, nga çdo peshk dhe të futen në 8-10% (vol/vol) tretësirë e zbutur formoli. Raporti i fiksuesit me indin duhet të jetë 20:1 për të siguruar një ruajtje të kënaqshme të indit.

II.2.2. Indet për ekzaminim virologjik duhet të merren nga të gjithë peshqit e kampionuar. Duhet të merren dy kampione identike për teste krahasuese. Copëza mëlçie, veshkash, zemre dhe shpretke kalohen në tuba plastike, që përmbajnë 9 ml terren transportues, si terren kulturash indore me antibiotikë. Një kombinim 12.5 µg/ml fungizone, 200IU.ml polimixin dhe 200µg/ml kanamicin është e mjaftueshëm, por mund të përdoren edhe kombinime të tjera. Inde nga më shumë se pesë peshq mund të mblidhen në një tub, me terren transportues duke formuar një kampion të bashkuar. Pesha e indit në një kampion duhet të jetë $1.0 \pm 0.5g$.

II.2.3. Nga peshqit e sapo hapur bëhen prerje nga veshkat dhe kontrollohen me IFAT, brenda dy orëve nga hapja. Realizohet duke shkëputur një pjesë nga medula e veshkës me pinca sterile. Indet vendosen në letra thithëse për të larguar gjakun e tepërt dhe vendosen mbi

lama. Ushtrohet një shtypje mbi secilën pjesë, por nuk mbulohen, me qëllim marrjen e një shtrese të vetme qelizash. Gjatë lënies së indit mbi letrën thithëse duhet të mënjanohet që largimi i gjakut të shtojë depozitimin e proteinave të serumit mbi ind. Prerjet duhet të vendosen në vend të thatë dhe të freskët nëse nuk fiksohen menjëherë. Fiksimi duhet të bëhet brenda 72 orëve nga kampionimi. Përndryshe, prerjet mund të ruhen të ngrira për më shumë se një muaj në -20° para fiksimit.

II.2.4. Peshqit me shenja anemie mund të paralizohen dhe kampione gjaku të heparinizuara dërgohen për ekzaminime hematologjike, si matja e hematokritit.

II.2.5 Indet për analizën me RT-PCR merren nga të gjithë peshqit e kampionuar. Një copëz nga medula e veshkave, shkëputet me instrumente sterile dhe vendoset në një tub mikrofuge që përmban 1ml solucion mbrojtës ARN. Indet nga më shumë se pesë peshq mund të grumbullohen në një tub duke formuar kampionim global. Pesha e çdo kampioni duhet të jetë afërsisht 0.5g. Kur peshqit janë më të vegjël, për të formuar kampionin bëhet bashkimi i organeve si pjesë veshkash, zemra, mëlçia, shpretka ose qeska pilorike për të formuar 0.5 g.

II.3 Transportimi i kampioneve nga peshqit

II.3.1 Kampionet e gjakut dhe tuba me material indor që do të ekzaminohen me metoda virologjike ose analizën RT-PCR, duhet të vendosen në kontejnerë bashkë me një sasi akulli ose "bllaqe akulli" për të ruajtur të freskët kampionin gjatë transportit. Duhet të mënjanohet ngrirja dhe akulli duhet të jetë i pranishëm në mbërritje dhe një ose më shumë kuti akulli të jenë pjesërisht ose plotësisht të ngrira. Në rrethana të veçanta kampionet e RT-PCR dhe për ekzaminim virologjik duhet të ngrihen dhe të transportohen në laborator në temperaturë -20°C ose më të ulët.

II.3.2 Prerjet për IFAT duhet të transportohen në mbajtëse lamash me sasi të mjaftueshme desikanti për t'i mbajtur lamat të thata dhe të ngrira si më lart.

II.3.3. Nëse indet transportohen në solucion fiksues, për ekzaminim histologjik, duhet të mbahen në tuba të mbyllur hermetikisht në kontejnerë rezistentë ndaj goditjeve si për shembull kuti polistireni me mure të brendshëm të trashë.

II.3.4. Edhe pse kampionet janë të ngrira, ekzaminimi virologjik duhet të fillojë sa më shpejt të jetë e mundur dhe jo më vonë se 72 orë pas mbledhjes. Kampionet për analiza krahasuese duhet të ruhen në -20°C ose më ulët pas mbërritjes në laborator.

II.3.5 Në laborator mund të sillet peshku i plotë nëse sigurohet temperatura gjatë transportit, si përshkruhet në Pjesën II.3.1. Peshku mbështillet me letër thithëse dhe më pas me qese plastike.

II.3.6 Mund të transportohen edhe peshq të gjallë, por nën mbikëqyrjen e shërbimit veterinar shtetëror.

II.3.7 Për analizën e RT-PCR, indet ruhen në *ARNlater* dhe nxjerrja e ARN bëhet pas një kohe të përcaktuar ruajtje të kampionit në temperatura të ndryshme, si më poshtë:

- 37°C një ditë
- 25°C një javë
- 4°C një muaj
- -20°C pafund

II.3.8. Paketimi dhe emërtimi kryhet sipas rregullave të transportit kombëtar dhe ndërkombëtar.

II.4 Mbledhja e materialit diagnostik suplementar

Në marrëveshje me laboratorin diagnostik, mund të merren edhe inde të tjera, të përgatiten për ekzaminime shtesë.

III. Ekzaminimi virologjik

III.1 Përgatitja e kampionit

III.1.1 Kur paraqiten vështirësi çka e bëjnë të pamundur injektimin në qeliza brenda 72 orësh pas mbledhjes së kampionit të indeve, pranohet të mbahen në ngrirje -80°C për 28 ditë. Indi duhet të ngrihet dhe shkrihet vetëm një herë para ekzaminimit.

III.1.2 Çdo kampion (pool indi në solucion transportues) duhet të homogjenizohet plotësisht në havan, të centrifugohet në 2000 - 4000 rrot/15 minuat në $0-6^{\circ}\text{C}$ dhe supernatanti filtrohet ($0.45\mu\text{m}$) dhe ngrohet, i përzier me një sasi të barabartë serumi pozitiv për serotipet indigjene të IPNV. Titri i serumit pozitiv duhet të jetë të paktën 1: 2000 në një test pllakë-neutralizimi 50%. Përzierja ngrohet për një orë në 15°C . Kjo përbën vaksinën.

Trajtimi i të gjithë vaksinës me serum pozitiv për IPNV (virus i cili prek rreth 50% të peshqve në disa pjesë të Europës) ka si qëllim të parandalojë ECP nga IPNV pas injektimit në kulturë qelizore. Kjo do të reduktojë zgjatjen e ekzaminimit virologjik dhe numrin e rasteve ku ECP është tregues potencial i ISAV.

Kur kampionet vijnë nga njësi të pastra nga IPN, mund të mos bëhet trajtimi me serum pozitiv IPNV.

III.2 Injektimi i kulturave qelizore

III.2.1 Qelizat SHK-1 ose TO rriten në terren L-15 që përmban 5% serum fetal viçi, 2% (v/v) 200mM L-glutaminë dhe 0.08% (v/v) 50mM 2-mercaptoethanol në pllaka 12 ose 24-pusetëshe. Mund të përdoren edhe linja të tjera për izolimin e ISAV, duke pasur parasysh aftësinë e shtameve të ndryshëm për t'u rritur në linja të ndryshme. Suspensiononi i organeve i trajtuar me antiserum injektohet në kultura qelizore të reja, aktive, në rritje, në një hollim final material indor:terren kulture prej 1:1000. Për çdo suspension organi prej 40 μl vaksinë shtohet 20 ml terren kulture. Për të minimizuar rrezikun e ndotjes së ndërsjellë, rekomandohet që të përdoren pllaka të veçanta me 12 ose 24 mjedise rritëse për prova nga ferma të ndryshme peshqish.

III.2.2 Një pllakë nuk injektohet dhe mbahet si kontroll negativ. Një pllakë tjetër injektohet me një izolat ISAV si kontroll pozitiv si më poshtë. 100 μl i përgatitur nga stoku i ISAV (titri minimal 10^7 TCID₅₀ /ml) injektohet në pusëtën e parë dhe përzihet mirë. Një pjesë nga kjo përzierje kalon në pusëtën e dytë me një hollim përfundimtar 1:10 dhe përzihet mirë. Përsëritet kjo procedurë për 10 hollime. Stoku i ISAV mund të ruhet në -80°C për dy vjet dhe duhet të përdoret brenda tre ditëve pas shkrires. *Shënim:* duhet kujdes për të mënjeluar ndotjen e ndërsjellë midis kontrollit pozitiv dhe materialit që testohet. Prandaj të dy pllakat punohen të ndara nga njëra-tjetra.

III.2.3 Kampionet ngrohen në $14 \pm 2^{\circ}\text{C}$ për më shumë se 15 ditë.

III.3 Vëzhgimi në mikroskop

Duke përdorur mikroskopin, kulturat qelizore kontrollohen dy herë, një pas ditës 5-7, dhe 12-14 ditë pas injektimit. Pasi shfaqet ECP fillojnë menjëherë procedurat e identifikimit të virusit si në Pjesën III.6. Nëse nuk marrim ECP pas ditës 14, bëhet një test hemoadsorbimi (III.4).

III.4 Hemoadsorbimi

Ripërsëritja e virusit të ISA-s në kultura qelizore jo gjithmonë jep ECP. Prandaj, çdo pusetë duhet të testohet me provën e hemoadsorbimit, si më poshtë, ose të kontrollohet me testin e IF si në III.6.1.

III.4.1 Terreni i kulturës largohet nga pusetat, përfshi ato të kontrollit pozitiv dhe negativ dhe vendoset në tuba sterilë të emërtuar. Shtohen 500 µl suspension 0.2% (v/v) eritrocite lepurit ose kali ose 0.05% (v/v) eritrocite salmoni ose trofte dhe ngrohen për 45 minuta në temperaturën e dhomës. Eritrocitet largohen nga pusetat duke i bërë shpëlarjen me terren L-15. Pastaj çdo pusetë kontrollohet me mikroskop.

III.4.2 Prania e grumbujve të eritrociteve të ngjitura në sipërfaqen e qelizave SHK-1 ose TO do të jetë tregues i një infeksioni me orthomixovirus. Nëse hemoadsorbimi është pozitiv duhet të kryhet menjëherë një test identifikimi.

III.5 Nënkuktivimi ose pasazhi

III.5.1 Pasazhi bëhet në ditët e 13-tw deri në 15-twn. 200-500µl nga supernatanti i kulturës shtohen në një kulturë të re qelizash SHK-1 në pllaka 12 pusetëshe dhe ngrohen në $14^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ për më shumë se 18 ditë. Kulturat kontrollohen dy herë me mikroskop, në ditët 5-7 dhe në ditët 14-18 pas ngrohjes. Nëse në ndonjë pllakë shfaqet ECP fillojnë menjëherë procedurat e identifikimit (III.6). Nëse nuk ka ECP pas ditës 14-18, kryhet një test hemoadsorbimi (III.4).

III.5.2 Nëse kemi efekt citotoksik shtatë ditët e para pas injektimit, bëhet një pasazh në këtë kohë, qelizat ngrohen për 14-18 ditë dhe duhet të ripasazhohen dhe të ringrohen për 14-18 ditë të tjera. Nëse kemi efekt toksik pas shtatë ditësh bëhet pasazhi dhe qelizat ngrohen deri sa të arrijnë një total 28-36 ditë ngrohje nga injektimi i parë.

III.5.3. Nëse kemi një ndotje bakteriale në kulturën e parë, përsëritet testi duke përdorur homogjenizat të ruajtur në -80°C . Para injektimit homogjenizati centrifugohet më 4000 rrot/30 minuta në $0-6^{\circ}\text{C}$ dhe supernatanti filtrohet me membranë filtri $0.22\mu\text{m}$. Nëse kemi ndotje bakteriale gjatë pasazhimit, filtrohet supernatanti, injektohet në një kulturë të re qelizore dhe ngrohet për 14-18 ditë.

III.6 Testet e identifikimit të virusit

Në çdo etapë ku vërehet ECP dhe rezultati i hemoadsorbimit është pozitiv, kruhet identifikimi i virusit. Metodat e përdorura janë IF (III.6.1) dhe RT-PCR (Pjesa IV). Nëse mendohet se ka edhe viruse të tjerë të pranishëm, kryhen identifikime shtesë. Nëse këto teste nuk mund të bëjnë identifikimin përfundimtar, brenda një jave supernatanti dërgohet në një laborator reference për sëmundjet e peshqve të BE për identifikim të menjëhershëm.

III.6.1 IF

III.6.1.1. Qelizat SHK-1 ose TO rriten në terren L-15 që përmban 5% serum fetal viçi, 2% (v/v) 200mM L-glutaminë dhe 0.08% (v/v) 50mM 2-mercaptoethanol në pllaka 12 ose 24 pusetëshe dhe përdoren pasi kanë arritur një rritje 50%. Mund të përdoren edhe linja të tjera për izolimin e ISAV, duke pasur parasysh aftësinë e shtameve të ndryshëm për t'u rritur në linja të ndryshme. 225µl supernatant nga kulturat qelizore të infektuar me virus hidhen në dy puseta, përzihet dhe e njëjta sasi transferohet në dy puseta të tjera, në një hollim 1:5. Dy puseta të tjera nuk injektohen dhe ruhen si kontroll negativ. Kampionet nga vende të ndryshme

kontrollohen veçan njëri-tjetrit, ashtu edhe virusi i kontrollit. Për kontroll pozitiv përdoret një izolat reference i ISAV.

- III.6.1.2. Pllakat ngrohen në $14 \pm 2^{\circ}\text{C}$ dhe kontrollohen me mikroskop pas 7 ditësh. Kur vihet re ECP brenda shtatë ditësh hapi tjetër është fiksimi. Pusetat shpëlahen me PBS, fiksohen me Aceton 80% dhe ngrohen për 20 minuta në temperaturën e dhomës. Pllakat thahen dhe ngjyrosen menjëherë, ose ruhen në $0-6^{\circ}\text{C}$ për jo më shumë se 24 orë para ngjyrosjes.
- III.6.1.3. Pusetat e replikuara duhet të ngjyrosen me Ab monoklonalë 3H6F8 të ISAV ose Ab monoklonal të një tipi tjetër efikas, të hollon në PBS dhe të ngrohen në $37 \pm 4^{\circ}\text{C}$ për 30 minuta. Pastaj bëhet shpëlarja me 0.05% PBS Tween 20. Konjugati Anti-mause IgG FITC hollon në PBS, shtohet në secilën pusetë dhe ngrohet në $37 \pm 4^{\circ}\text{C}$ për 30 minuta. Shënim: hollimi i solucionit të Ab monoklonal dhe konjugatit me FITC bëhet në çdo laborator. AB largohen nga pllaka duke i shpëlarë me solucion 0.05% PBS Tween 20.
- III.6.1.4. Pusetat kontrollohen në mikroskop me fluoreshencë. Testi konsiderohet pozitiv nëse vërehen qeliza fluoreshente. Që testi të jetë i vlefshëm puseta e kontrollit pozitiv duhet të dalë pozitive dhe kontrolli negativ të dalë negativ me IF.

IV. Ekzaminimi i kampioneve me RT-PCR

IV.1. Kjo pjesë përshkruan procedurat që kërkohen për amplifikimin me PCR të pjesëve të 8 segmenteve të genomës së ISAV, e cila merret nga indet e peshkut ose kultura e ISAV.

IV.1.1. Nxjerrja e ARN

- (a) Largojmë ARN-later nga secili kampion. Shtojmë 1ml DEPC- trajtuar me dH_2O në secilin tub dhe më pas i centrifugojmë me 13000 rrot/5 minuta në $0-6^{\circ}\text{C}$.
- (b) Heqim supernatantin nga secili kampion, dhe shtojmë nga 800 μl TRIzol (invitrogen), ose një reagjent alternativ, në secilin kampion dhe në tubat e kontrollit që përmbajnë materialin e përshtatshëm të kontrollit (400 μl dH_2O ose homogjenizat veshkash i lirë nga patogjenet e peshkut). Nëse është e nevojshme bëhet pipetizimi i indeve. Tubat ngrohen në temp. e dhomës për 5-minuta. Në çdo tub shtojmë 160 μl kloroform dhe tubat tunden fort për 3-minuta pastaj centrifugohen me 13000 rrot./ 15-min në $0-6^{\circ}\text{C}$.
- (c) Përbërjet e lëngshme hidhen në tuba mikrofuge 1.5 ml që përmbajnë 500 μl izopropanol. Tubat ngrohen për 10-minuta në temp e dhomës pastaj centrifugohen me 6500 rrot/5min në $0-6^{\circ}\text{C}$.
- (d) Heqim supernatantin dhe shtojmë 1ml etanol 75% mbi peletën e ARN-së. Pastaj centrifugohen me 6500 rrot/5min në $0-6^{\circ}\text{C}$.
- (e) Hedhim supernatantin dhe i lemë tubat hapur për 3min që të avullojë etanoli, shtojmë 15 μl DEPC - trajtuar me dH_2O për të risuspenduar peletën.
- (f) Përdoret spektrofotometri për të llogaritur përqendrimin e ARN-së dhe pastërtinë e kampionit. Dendësia optike matet në 260 dhe 280nm.
- (g) ARN-ja duhet të përdoret menjëherë (brenda ditës) ose të ruhet përkohësisht në $0-6^{\circ}\text{C}$. ARN-ja që nuk përdoret ruhet në -80°C .

IV. 1.2. RT

- (a) Në një tub mikrofuge 1.5 ml hollëojmë 2µg ARN në DEPC-trajtuar me dH₂O. Nëse përqendrimi i ARN-së në kampion është më i vogël se sa lejohet në reaksionin RT, përdoret maksimumi i mundshëm i ARN-së. ARN-ja e holluar ngrohet në 55-60°C për 10 min.
- (b) Tubat që përmbajnë ARN vendosen në akull dhe ju shtohen reagjentë të RT për të dhënë një përqendrim përfundimtar 1X bufer, 1mM dNTPs, 100ng hegzamerë të rastësishëm, 20U RNaz inhibitor dhe 200 U MMLV-RT në një volum total 20 µl.
- (c) Tubat ngrohen në 37°C për 1-orë.
- (d) cADN-ja duhet të ruhet në 0-6°C dhe duhet të përdoret për PCR-në sa më shpejt të jetë e mundur.

IV.1.3. PCR

- (a) Shtohen 5µl cADN në 45µl miks PCR-je për të dhënë një përqendrim final 1X bufer, 0.2mM dNTPs, 1.5mM MgCl₂, 25pmol nga çdo primer dhe 1Utaq polimeraz. Përfshihet kontrolli negativ për nxjerrjen dhe hapat RT dhe PCR.
- (b) Tubat duhet të vendosen në termocikler programuar 94°C për 5-minuta dhe ndiqen 35 cikle në 94°C për 1 minutë, 55°C për 1 minutë, 72°C për 1 minutë me një ngrohje finale në 72°C për pesë minuta.
- (c) Rezultati i PCR duhet të vërtetohet me PCR duke përdorur 2% agarozë xhel elektroforezis ngjyrosur me etidium bromid dhe duke përfshirë shënues për zgjatjen e kampionit dhe kontrollit negativ nga RT dhe PCR. Hapat A. produkte të veçanta të PCR të 155 bp duhet të konsiderohen tregues të pranisë së ISAV ARV. Kampionet që përmbajnë një produkt shtesë, prej 310bp duhet gjithashtu të konsiderohen se përmbajnë ISAV ARN. Kampionet që japin produkte të shumëfishta të PCR, përfshirë të paktën një afërsisht 155bp, mund të përmbajnë ISAV ARN. Ata mund të kontrollohen më tej duke përdorur renditje nukleotidesh ADN.

IV.1.4. Vërtetimi me PCR i izolatit të ISAV nga kultura indore

Nëse vihet re ECP e plotë gjatë ekzaminimit virologjik të kampioneve të indeve në qelizat SHK-1, marrim 400µl supernatant nga puseta dhe hidhet në një tub steril 1.5 ml. Nga këto kampione duhet të nxjerrim ARN si në III.I dhe duhet të kryhet RT-PCR. Nëse përdoren kultura pa ECP, hiqet supernatanti, qelizat shpëputen nga sipërfaqja e pusetës dhe vendosen në tub steril 1.5 ml për nxjerrjen e ARN dhe RT-PCR.

IV.1.5. Vërtetimi i segmenteve të AND nga produktet e PCR

- (a) Specifiteti i produktit të PCR, 155 bp, mund të merret nga shkëputja e oligonukleotideve që hibridizohen në rajonet e produktit të PCR, në brendësi të primerave. Produkti i PCR duhet të nënshtrohet elektroforezës në 1% agarose gel në skajet e shënuesve si dhe kontrollet pozitive dhe negative.
- (b) AND duhet të nënshtrohet Southern blottit nëpërmjet një membrane dhe nukleotidi të shënuar (5'- CGGGAGTTGATCAGACATGCACTGAAGGTG-3') dhe ngrohet membrana pas disa hapash pre-hibridizimi.
- (c) Segmentet e shënuara dhe të shënuara joplotësisht shpëlahen nga membrana dhe bëhet vizualizimi i segmenteve të shënuara.

- (d) Segmentet e lidhura në një fragment 155 bp (dhe 310 bp nëse janë të pranishme) duhet të dëshmojnë për specifikimin e PCR dhe tregojnë që ARN e ISAV ishte e pranishme në kampione.

IV.1.6 Renditja i nukleotideve në produktet e PCR

Specifikimi i PCR mundësohet nga ekzaminimi i renditjes së nukleotideve të produktit 155 bp të PCR.

- (a) Produkti i PCR duhet të pastrohet nga agarozë xhel ose solucion tjetër.
- (b) Fragmenti duhet të renditet duke përdorur të njëjtët nxitës që u përdorën në PCR, ose nxitës vektorë nëse janë të klonuar para renditjes.
- (c) Sekuenca e nukleotideve duhet të krahasohet me ato të 8 segmenteve të ISAV të pranishme në database e sekuencës së nukleotideve EMBL (numrat e aksesit Y 10404, AJ012285, AJ242016).
- (d) Prania e sekuencave që korrespondojnë me ato të segmenteve të ISAV është tregues që kampioni përmban ARN të ISAV.

V. Ekzaminimi i prerjeve nga veshkat me IFAT

V.1. Protokollat e mëposhtme janë përcaktuar për kontrollin e prerjeve nga veshkat me IFAT

V.2. Përgatitja dhe ngjyrosja e prerjeve

V.2.1 Lamat duhet të fiksohen në Aceton ose metanol/aceton (1:1) për tre minuta dhe thahen në ambient. Përpara ngjyrosjes prerja rrethohet me laps ImmEdg, që ndihmon në tharje. Lamat vendosen në solucion bllokues (6% qumësht i skremuar në PBS që përmban 0.2% Tween 20) dhe ngrohet në agjitim të lehtë për 30 minuta në temperaturën e dhomës. Çdo lamë duhet të thahet duke e vendosur horizontalisht në një kuti lamash që përmban një letër të lagur për të ruajtur lagështinë.

V.2.2 Mbi prerje hedhim solucion Ab monoklonal 3H6F8 për ISAV (ose Ab të tjerë të provuar për specifikim dhe efikasitet), mbyllet kutia dhe ngrohet me agjitim për 60 minuta në temperaturën e dhomës. Ab duhet të hollohen 1:10 -1:100 qumësht të skremuar, por duhet të përcaktohet hollimi aktual që nevojitet për çdo ampulë. Lamat shpëlahen 3 herë për 2 minuta në PBS që përmban 0.1% Tween 20. Çdo prerjeje duhet ti shtohet një solucion që përmban konjugat anti-mouse-FITC, holluar 1:1000 në qumësht të skremuar 1% dhe ngrohet në një mjedis me lagështirë për 60 minuta në temperaturën e dhomës. Lamat shpëlahen tre herë për dy minuta në PBS që përmban 0.1 % Tween 20. Çdo lamë duhet të mbulohet me CITIFLUORTM (500 µl CITIFLUORTM përzier me 1.5 ml PBS me Tween 20 0.1%(v/v) ose terren i përshtatshëm për 10 minuta. Lamat shpëlahen tre herë me PBS që përmban 0.1% Tween 20. Më pas thahet solucionin i hedhur. Lamat ruhen në errësirë në 4°C para ekzaminimit mikroskopik.

V.3. Kontrolli me mikroskop me fluoreshencë

Çdo lamë kontrollohet në mikroskop me fluoreshencë, duke përdorur një filtër që do të nxitë FITC, duke e bërë atë të rrezatojëmetojë karakteristikën fluoreshente të gjelbër. Duhet të kontrollohet e gjithë fusha e ngjyrosur me objektivat 10x dhe 20x, dhe zonat e dyshimta (ato që shfaqin fluoreshencë) duhet të kontrollohet me objektivin 40X me imersion, për të siguruar që fluoreshenca është e lidhur me qelizat. Zonat e dyshuara duhet të regjistrohen për një kontroll të dytë të mëtejshëm. Pas kontrollit të parë të lamës

që del pozitive ose e dyshimtë, duhet të bëhet një kontroll i dytë për të vërtetuar rezultatin.

V.4. Kontrolllet

V.4.1 Në lamat e ngjyrosura me IFAT duhet të përfshihen tre tipat e kontrollit.

- prerje veshkash nga salmoni atlantik i painfektuar (kontroll negativ),
- kulturë qelizore SHK-1 e painfektuar, ose një kulturë tjetër qelizore e ndjeshme (kontroll negativ),
- kulturë qelizore SHK-1 e infektuar me ISAV, ose kulturë tjetër e ndjeshme (kontroll pozitiv).

V.4.2 Nëse është e mundur, këshillohet të përdoren prerje veshkash nga salmoni atlantik i infektuar me ISAV, si kontroll pozitiv.

V.4.3 Nëse merret rezultat pozitiv nga secili prej kontrolleve negative, atëherë testi për të gjitha lamat konsiderohet i pavlefshëm. Nëse të gjitha lamat rezultojnë negative, përfshi edhe kontrollin pozitiv, testi konsiderohet i pavlefshëm. Në rast pavlefshmërie shkatërrohen lamat dhe përsëritet testi duke përdorur kopje kampionesh.

V.5. Ekzaminimi i indeve të tjera

Kjo teknikë mund të zbatohet për inde të tjera të peshkut si: mëlçia, shpretka dhe zemra, që japin një sasi të konsiderueshme qelizash endoteliale, leukocitësh ose limfocitësh që mund të depozitohen në lamë. Procedura e ngjyrosjes është e njëjta si për indet, megjithëse për disa inde përdoren substanca të veçanta si propidium jodide për ngjyrosjen e qelizave në prerje.

VI. Histologjia

Seksionet në parafinë priten në madhësi 5 µm dhe ngjyrosen duke përdorur hematoksilinë dhe eosinë. Ndryshimet histologjike të lidhura me ISA-n përshkruhen në botimin më të fundit të Manualit diagnostik të sëmundjeve të kafshëve ujore.

VII. Akronimet dhe shkurtime

cADN	Acid deoksiribonukleik i shtuar
ECP	Efekt citopatik
DEPC	Dietilpirokarbonat
dNTP	Deoksinukleotid trifosfat
FITC	Fluoresheinë isotiocionat
IF	Imunofluoreshencë IFAT Test antitropor fluoreshent indirekt
OIE	Zyra Ndërkombëtare e Epizootikëve
IPN(V)	Nekrozë pankreatike infektive (virus)
ISA(V)	Anemi infektive e salmonit (virus)
PBS	Tretësirë e zbutur fosfati
ARN	Acid ribonukleik
RT-PCR	Transkriptazë e kundërt PCR
SHK-1	Qeliza veshkore salmoni
TCID ₅₀	Doza infektive 50 % e kulturës qelizore