



Bosna i Hercegovina
Ministarstvo vanjske trgovine
i ekonomskih odnosa BiH
Ured za veterinarstvo

Босна и Херцеговина
Министарство спољне трговине
и економских односа БиХ
Канцеларија за ветеринарство

SMJERNICE ZA UZIMANJE UZORAKA ZA KONTROLU SALMONELOZE NA POSJEDIMA RASPLODNIH JATA



SMJERNICE ZA UZIMANJE UZORAKA ZA KONTROLU SALMONELOZE NA POSJEDIMA RASPLODNIH JATA

Pripremljeno uz potporu USAID/Sweden FARMA II projekta

Sarajevo; 2017. godina



IZJAVA O OGRANIČENJU ODGOVORNOSTI

Priprema ove publikacije je omogućena od strane Američke agencije za međunarodni razvoj (USAID) i Vlade Kraljevine Švedske (Sweden). Stajališta izražena u ovoj publikaciji odražavaju stajališta autora i ne moraju odražavati stajališta Američke agencije za međunarodni razvoj (USAID), Vlade Sjedinjenih Američkih Država ili Vlade Kraljevine Švedske.

UZIMANJE UZORAKA NA INICIJATIVU VLASNIKA

Uzorci za kontrolu salmoneloze kod rasplodnih jata uzimaju se od svih rasplodnih jata vrste *Gallus gallus s najmanje 250 jedinki* (»rasplodna jata«).

Učestalost uzorkovanja

Uzorkovanje se vrši u svim rasplodnim jatima, od prijema jednodnevnih pilića, tijekom faze uzgoja pa sve do kraja reproduktivnog ciklusa jata.

FAZA UZGOJA PILENKI RASPLODNIH JATA

Tijekom faze **uzgoja pilenki**, za kontrolu salmoneloze rasplodnih jata na posjedu se uzimaju:

a)

Prilikom svakog prijema jednodnevnih pilića u nastambe za uzgoj, obvezno je provođenje uzorkovanja na salmonelu. Za pretraživanje je potrebno uzeti transportne podloške i jednodnevne piliće, osim ukoliko jednodnevni pilići nisu podrijetlom iz uvoza. Ukoliko su jednodnevni pilići iz uvoza, postupiti po Rješenju za odobrenje uvoza kojeg je izdao Ured za veterinarstvo BiH.



Slika 1: Transportna podloška

b)

Tijekom 4. tjedna starosti

Uzorci **navlaka za obuću ili fecesa** (prema proceduri opisanoj u nastavku) uzimaju se u nastambi za uzgoj jedan put tijekom 4. tjedna starosti.

c)

Dva tjedna prije početka nesivosti ili preseljenja u nastambe za nesenje. Uzorci navlaka za obuću ili fecesa (prema proceduri opisanoj u nastavku) uzimaju se u nastambi za uzgoj jedan put u navedenom razdoblju.

FAZA REPRODUKTIVNOG CIKLUSA RASPLODNIH JATA

Uzorkovanje se vrši **svaka dva tjedna** od svakog rasplodnog jata i to:

U VALIONICI



ILI

NA POSJEDU



UZIMANJE UZORAKA U VALIONICI

Za uzorak u valionici može se uzeti ili:

i)

jedan skupni uzorak po svakom rasplodnom jatu vidno uprljanih **podložaka košara za valenje**, koji se nasumično uzima iz pet odvojenih košara za valenje dok se ne dobije površina od ukupno najmanje 1m². Ako se uložena jaja iz jednog rasplodnog jata nalaze u više valionika, jedan ovakav skupni uzorak uzima se iz do pet valionika.



Slika 1: Podložka u košari za valenje

Uzorkovanje se vrši svaka dva tjedna.



Slika 2: Uzimanje uzorka podloške iz košare za valenje



Slika 3: Obilježavanje uzorka

ili

ii)

jedan uzorak po svakom rasplodnom jatu, koji se uzima s jednim ili nekoliko navlaženih **tekstilnih briseva ukupne površine od najmanje 900 cm²**; uzorak se uzima s čitave površine podloške neposredno nakon vađenja pilića, iz najmanje pet košara za valenje, **ili** uzorak sačinjen od mješavine perja (paperja) i prašine uzet s pet mjesta, uključujući i s poda, iz svih košara za valenje, a najviše do pet košara za valenje s izvaljenim jajima iz svakog roditeljskog jata, osiguravajući da je uzet barem jedan uzorak po jatu iz kojeg potiču jaja. Uzorkovanje se vrši svaka dva tjedna.

ili

iii)

jedan skupni uzorak koji sadrži 10 g ljuski izvaljenih jaja iz ukupno 25 različitih košara za valenje po svakom rasplodnom jatu **ili jedan skupni uzorak** koji se pravi na način da se uzima 250 g ljuski izvaljenih jaja po svakom rasplodnom jatu iz do pet različitih valionika. Uzorak se zdrobi (usitni), dobro izmješa i od njega se uzima 25 g poduzorka koji se šalje na pretraživanje. Uzorkovanje se vrši svaka dva tjedna.



Slika 4: Valionički ostatak

UZIMANJE UZORAKA NA POSJEDU

Uzorkovanje se vrši u svim rasplodnim jatima tijekom cijelog reproduktivnog ciklusa životinja.

Tijekom faze reproduktivnog ciklusa rasplodnih (matičnih) jata, ukoliko se uzorci uzimaju na posjedu, uzorkovanje se vrši svaka dva tjedna.

A.

U slučaju uzimanja uzoraka na posjedu u **podnom sustavu uzgoja rasplodnih jata**, može se uzeti neki od sljedećih uzoraka:

i.

Skupni uzorak fecesa koji se sastoji od **pojedinačnih uzoraka svježeg fecesa, od kojih svaki teži najmanje 1 g**. Uzorci se uzimaju nasumično na različitim mjestima unutar nastambe, ili ukoliko životinje imaju slobodan pristup u više nastambi na određenom posjedu, iz svake skupine nastambi u kojoj se drže rasplodna jata. Za analizu, uzorci fecesa se mogu združiti u najmanje dva skupna uzorka.

Broj mjesta na kojima se uzimaju pojedinačni uzorci fecesa za pripremu skupnog uzorka prikazan je u tabeli 1:

Broj peradi koja se drže u rasplodnom jatu	Broj uzoraka fecesa koji se uzimaju u rasplodnom jatu
250 - 349	200
350 - 449	220
450 - 799	250
800 - 999	260
1 000 ili više	300

ili

ii.

Brisevi obuće i/ili uzorci prašine

Navlake za obuću moraju imati zadovoljavajuću sposobnost upijanja vlage. Mogu se upotrijebiti i „čarape“ od gaze, koje su za tu namjenu prihvatljive. U uzorkovanje su uključeni i svi odvojeni odjeljci u sklopu nastambe.

Uzorci se sastoje **ili** od:

a) pet pari navlaka za obuću, gdje svaki predstavlja oko **20% površine nastambe**; brisevi se radi analize mogu združiti u najmanje dva skupna uzorka

Set za uzimanje uzoraka sastoji se od (Slika 6):

- pet pari navlaka za obuću (za uzimanje uzoraka brisa fecesa/čarape)
- jednog para nepromoćivih navlaka za obuću
- jednokratnih rukavica
- tekućine za vlaženje navlaka za uzimanje uzoraka
- vrećice sa zip zatvaračem

Slika 6: Set za uzimanje uzoraka



Priprema navlaka za uzimanje uzoraka preko obuće

Prije same uporabe navlaka za uzimanje uzoraka, iste je potrebno pripremiti, odnosno navlažiti na jedan od sljedećih načina:

- (a) s otapalom (otopina za maksimalni porast bakterija MRD: 0,8% fiziološkog rastvora, 0,1% peptona u sterilnoj deioniziranoj vodi);
- (b) sa sterilnom vodom;
- (c) s drugim otapalom odobrenim za korištenje od strane referentnog laboratorija;
- (d) na način da se autoklaviraju u spremniku zajedno s otapalom.

Prije vlaženja navlaka potrebno je koristiti jednokratne rukavice.

Navlake za obuću moraju biti dovoljno upijajuće da bi upile vlagu. Površina navlaka za obuću mora biti navlažena koristeći jedan od gore navedenih ovlaživača.

Navlake za obuću se vlaže na način da se jednostavno naspe jedan od navedenih ovlaživača unutar vrećice koja će se kasnije koristiti za spremanje i slanje uzoraka do laboratorija. Nakon naspavanja tekućine potrebno je dobro pomiješati navlake s nasutom tekućinom kako bi se navlažile (Slika 7).

Slika 7: Priprema navlaka za uzimanje uzoraka



Priprema (vlaženje) navlaka može se obaviti ili na licu mjesta prije samog postupka uzorkovanja ili u laboratoriju. Ukoliko se vlaženje navlaka obavlja u laboratoriju, laboratorij mora odrediti rok uporabe takvih navlaka.

Slika 8: Pripremljene navlake za uzimanje uzoraka



Za uzorkovanje se upotrebljava **najmanje pet pari** navlaka za uzimanje uzoraka preko obuće za svako jato, koje se nakon uzimanja uzoraka mogu združiti **u dva uzorka**.

Postupak uzorkovanja

Prilikom dolaska ispred ulaza u nastambu jata u kojem će se vršiti uzorkovanje, na obuću se navuku nepromoćive navlake za obuću za jednokratnu uporabu (PVC) kako ne bi došlo do kontaminacije samog uzorka prilikom uzimanja uzoraka.



Slika 9: Oblačenje navlaka za uzimanje uzoraka

Prilikom ulaska u samu nastambu, preko nepromoćivih navlaka za obuću navlači se prvi par navlaka za uzimanje uzoraka preko obuće (Slika 9).

Prostor se obilazi hodajući tako da se sakupe reprezentativni uzorci iz svih dijelova nastambe ili odgovarajućeg sektora. Uzorci se moraju uzeti za vrijeme hodanja po posjedu koristeći rutu koja će doprinijeti dobivanju reprezentativnog uzorka sa svih dijelova posjeda (nastambe). To uključuje područja sa steljom i podnicama, ukoliko je hodanje po podnicama sigurno. U uzorkovanje su uključeni i svi odvojeni odjeljci u sklopu nastambe.



Slika 10: Prolazak kroz nastambu i uzimanje uzoraka

Svaki par navlaka promjeniti nakon obilaska 20% površine nastambe; potrebno je pažljivo promijeniti navlake za uzimanje uzoraka na način da se upotrijebljene navlake za uzimanje uzoraka skidaju s nogu, skinute navlake se izokrenu kako bi se bolje sačuvao uzorak, a na noge se navlače nove čiste navlake za uzimanje uzoraka. Upotrijebljene navlake mogu se spremirati u vrećicu za uzorke (Slika 11).



Slika 11: Promjena navlaka

Prilikom uzimanja uzoraka mora se osigurati da su svi dijelovi nastambe proporcionalno obuhvaćeni uzorkovanjem. Svakim parom navlaka treba obuhvatiti po 20% površine nastambe, na način kako je gore opisano.



Slika 12: Skidanje navlaka za uzimanje uzoraka

Po završetku uzimanja uzoraka, navlake za obuću za uzimanje brisa fecesa/čarape treba pažljivo skinuti tako da se ne ošteti nakupljeni materijal (Slika 12).



Slika 13: Izokretanje navlaka kako bi se bolje sačuvao uzorak

Navlake za obuću se izokreću kako bi se bolje sačuvao uzeti materijal (Slika 13).



Slika 14: Stavljanje navlaka u vrećicu za uzorke

Navlake nakon skidanja staviti u vrećicu sa zip zatvaračem iz koje su uzete. Navlake se mogu združiti u dva skupna uzorka.



Slika 15: Obilježavanje uzoraka

Nakon što se uzorci spakiraju u vrećicu, potrebno je iste obilježiti kako bi se u laboratoriju mogla utvrditi veza između prapratnog akta i samog uzorka. Ovo obilježavanje uzoraka je posebno važno ukoliko se u laboratorij šalje više uzoraka. Na uzorcima mora stajati oznaka poveznice sa zapisnikom o uzorkovanju (prapratnim dokumentom).

ili

b)

barem jednog para brisa obuće koji predstavlja cjelovito područje nastambe i **dopunski uzorak prašine** koji se sakuplja s više mjesta kroz čitavu nastambu s površina koje imaju vidno nakupljenu prašinu. Za sakupljanje uzoraka prašine moraju se koristiti jedan ili nekoliko **navlaženih tekstilnih briseva** ukupne površine **od barem 900 cm²**.

B.

U slučaju uzimanja uzoraka na posjedu **rasplodnih jata koja se drže u kavezima, uzimaju se uvijek dva uzorka od po najmanje 150 g fecesa po uzorku.**

Set za uzimanje uzoraka sastoji se od::

- dvije sterilne vrećice za uzorak
- jednog para sterilnih rukavica

Prije samog postupka uzorkovanja potrebno je oprati i dezinficirati ruke. Nakon pranja i dezinfekcije ruku, na ruke navući sterilne rukavice kako bi se spriječila kontaminacija uzoraka.

Uzorci se sastoje od:

a)

Kod jata držanih u sustavu kaveza, a koja imaju postavljene pokretne trake ili sakupljače fecesa, uzima se **2 x 150 g** skupnog svježeg fecesa ispod svakog reda kaveza **sa svih** pokretnih traka ili sakupljača fecesa na posjedu. U sustavima s pokretnim trakama i strugačima oni se pokreću na dan uzorkovanja prije uzimanja uzoraka.

b)

U sustavima s usmjerivačima ("deflektorima") ispod kaveza i strugačima, prikupljaju se skupni uzorci fecesa koji se nalaze priljubljeni na strugaču nakon njegovog puštanja u pogon. Kod sustava s pokretnom trakom za prikupljanje fecesa, skupni fekalni materijal prikuplja se na istovarnim krajevima trake (Slika 16). Ukupno se uzimaju 2 skupna uzorka svježeg fecesa u količini od najmanje 150 g po uzorku.



Slika 16: Mjesto uzimanja uzoraka fecesa sa strugača fecesa.
Autor fotografije: Rob Davies

c)

U sustavima sa stepenastim kavezima bez pokretnih traka ili sustava strugača, skupni uzorci fecesa prikupljaju se iz duboke jame. U takvom slučaju mora se sakupiti **2 x 150 g** mješovitog svježeg fecesa **s 60 različitih mjesta** ispod kaveza u posudama za defekaciju. Uzorci se uzimaju na način da rukom na koju je navučena PVC rukavica za jednokratnu uporabu mješamo po površini fecesa i tek onda uzimamo uzorak. Na sljedećem mjestu ponovimo isti postupak. Takvim površinskim mješanjem fecesa osiguravamo da je u uzorku obuhvaćen što veći broj kaveza.



Slika 17: Uzimanje uzoraka u sustavu bez sakupljača i pokretnih traka/ Autor fotografije: Rob Davies



Slika 18: Uzorke prikupljati u sterilne vrećice koristeći sterilne rukavice

Uzeti uzorak fecesa prikupiti u sterilnu ambalažu (PVC vrećice, sterilne posude i sl.) uz korištenje sterilnih rukavica kako bi se osigurala zaštita od kontaminacije uzorka (Slika 18).



Slika 19: Obilježavanje uzoraka

Nakon što se uzorci spakiraju u vrećicu, potrebno je iste adekvatno obilježiti kako bi se u laboratoriju mogla utvrditi veza između pratećeg akta i samog uzorka. Ovo obilježavanje uzorka je posebno važno ukoliko se u laboratorij šalje više uzoraka (uzorci uzeti od više jata). Na uzorcima mora stajati oznaka poveznice sa zapisnikom o uzorkovanju (pratećim dokumentom).

Slanje uzoraka

Uzorci se dostavljaju u akreditirane laboratorije koji imaju akreditirane metode za otkrivanje salmonela iz fecesa životinja i uzoraka iz okoliša iz faze primarne proizvodnje prema metodi EN ISO 6579-1: Horizontalna metoda za otkrivanje, određivanje broja i serotipizaciju Salmonella – Dio 1: otkrivanje Salmonella spp. iz uzoraka iz primarne faze proizvodnje, kao što su fecesi životinja, prašina i brisevi.

Trenutačno, akreditirani laboratoriji u koje se mogu dostaviti uzorci za kontrolu salmonela iz nastambi tovnih brojlera su:

- Centar za peradarstvo i kuničarstvo Veterinarskog fakulteta u Sarajevu,
- Veterinarski institut Republike Srpske „Dr Vaso Butozan“ u Banjoj Luci,
- Veterinarski zavod Bihać,
- Veterinarski zavod Tuzlanskog kantona,
- Veterinarski zavod Slaven.

Napomena:

Status akreditiranih laboratorija je promjenjiv po pitanju metoda i izdanja istih, tako da je preporuka pratiti status akreditiranih laboratorija na stranici Instituta za akreditiranje BiH: http://www.bata.gov.ba/Akreditirana_tijela/Spisak-akreditiranih-tijela.pdf

Propratni akt (Zapisnik o uzorkovanju)

Prilikom slanja uzoraka u laboratorij, uz uzorak je potrebno ispuniti i propratni akt, odnosno zapisnik o uzorkovanju koji treba sadržati sljedeće informacije:

- datum slanja uzorka i broj propratnog akta
- vrstu i broj uzorka
- broj (i težinu uzorka ukoliko su uzeti iz kaveznog sustava držanja, npr. 2x150 g)
- identifikaciju jata koje je uzorkovano
- ime vlasnika i broj registracije posjeda
- datum i vrijeme uzorkovanja
- starost jata kod uzorkovanja
- naziv laboratorija kojem se uzorci dostavljaju
- vrstu tražene pretrage
- potpis uzorkovača

Čuvanje uzoraka

Nakon uzimanja uzoraka na posjedu mora se osigurati da isti ne budu izloženi sunčanoj svjetlosti i višim temperaturama. Zato je uzorke najbolje staviti u ručni hladnjak kako bi se osiguralo da je izbjegnuta intenzivna toplota (preko 25°C) ili izlaganje sunčanoj svjetlosti.

Uzorke je potrebno dostaviti u laboratorij najkasnije 24 sata nakon samog uzorkovanja. Za to vrijeme uzorci se trebaju čuvati u hladnjacima u kojima su osigurani hladni uvjeti.



Slika 20: Ručni hladnjak i ulošci za čuvanje uzoraka do 24 h

Za terenski rad, najprikladnije je čuvanje i prijevoz uzoraka u ručnim hladnjacima uz korištenje uložaka za hladnjake koji se prethodno bili dobro rashlađeni kako bi se osigurali hladni uvjeti.

Ukoliko uzorci nisu poslani unutar 24 sata, isti se moraju čuvati u hladnjaku.

Prijevoz uzoraka

Uzorci se dostavljaju laboratoriju lično ili kurirskom službom najkasnije 24 sata nakon samog uzorkovanja. Ukoliko uzorci nisu poslani unutar 24 sata od uzorkovanja, isti se moraju držati u hladnjaku na temperaturi od 0°C do 8°C.

Prilikom prijevoza uzoraka do laboratorija neophodno je osigurati iste uvjete koji su potrebni i za samo čuvanje uzoraka, odnosno uzorci ne smiju biti izloženi višim temperaturama (višim od 25°C) i/ili sunčanoj svjetlosti. Iz tog razloga i za prijevoz uzoraka važe ista pravila kao i za čuvanje uzoraka, odnosno najbolje je uzorke prevesti u ručnim hladnjacima do samog laboratorija.

U laboratoriju se uzorci drže u hladnjaku do pretraživanja na temperaturi od 0°C do 8°C. Uzorci se moraju staviti u proceduru pretrage najkasnije 48 sati nakon primitka uzoraka u laboratorij, odnosno najkasnije 96 sati od samog momenta uzimanja uzoraka.

Evidencije

Na posjedu je potrebno uspostaviti i čuvati evidencije o uzorkovanju i o rezultatima pretraga za svako jato na posjedu. Evidencije moraju sadržavati najmanje:

- datum uzorkovanja
- identitet uzorkovanih jata
- vrstu i broj uzorka
- starost jata kod uzorkovanja
- naziv laboratorija u koji su dostavljeni uzorci
- rezultate laboratorijskog pretraživanja

Evidencije se mogu voditi na način da se:

- uspostavi registrator u kojem će biti arhivirani zapisnici o uzorkovanju i izvješće o pretraživanju za svako ispitano jato, i mogu se i
- voditi u obliku tabele s tim da zapisnici o uzorkovanju i izvješća o pretraživanju za svako jato budu u prilogu tabele.

Evidencije moraju biti dostupne mjerodavnom veterinarskom inspektoratu na uvid.