

ÁKVÖRÐUN FRAMKVÆMDASTJÓRNARINNAR

frá 22. febrúar 2001

um sýnatökuáætlanir og greiningaraðferðir við greiningu og staðfestingu á tilteknum fisksjúkdómum og um að fella úr gildi ákvörðun 92/532/EBE

(tilkynnt með númeri C(2001) 426)

(Texti sem varðar EES)

(2001/183/EB)

FRAMKVÆMDASTJÓRN EVRÓPUBANDALAGANNA
HEFUR,

með hliðsjón af stofnsáttmála Evrópubandalagsins,

með hliðsjón af tilskipun ráðsins 91/67/EBE frá 28. janúar 1991 um skilyrði á sviði heilbrigðis dýra sem hafa áhrif á markaðssetningu fiskeldistegunda og -afurða ⁽¹⁾, eins og henni var síðast breytt með tilskipun 98/45/EB ⁽²⁾, einkum 15. gr.,

og að teknu tilliti til eftirfarandi:

- 1) Í ákvörðun framkvæmdastjórnarinnar 92/532/EBE ⁽³⁾, eins og henni var breytt með ákvörðun framkvæmdastjórnarinnar 96/240/EB ⁽⁴⁾, er kveðið á um sýnatökuáætlanir og greiningaraðferðir við greiningu og staðfestingu á tilteknum fisksjúkdómum.
- 2) Frá því að ákvörðun 92/532/EBE var samþykkt hefur orðið viss hagnýt og vísindaleg þróun og tilskipun 91/67/EBE hefur verið breytt. Þar af leiðandi ber að uppfæra sýnatökuáætlanirnar og greiningaraðferðirnar.
- 3) Slík uppfærsla varðar rannsókn og greiningu á veirum sem valda veirublæðingu (VHS) og iðradrepi (IHN), svo og breytingar í samræmi við síðustu breytingar á tilskipun 91/67/EBE.
- 4) Samráð hefur verið haft við tilvísunarrannsóknarstofu bandalagsins í fisksjúkdómum sem komið var á fót með tilskipun ráðsins 93/53/EBE ⁽⁵⁾.
- 5) Til glöggvunar verður að fella úr gildi sýnatökuáætlanir og greiningaraðferðir við greiningu og stað

festingu á tilteknum fisksjúkdómum sem voru teknar upp með ákvörðun 92/532/EBE.

- 6) Ráðstafanirnar, sem kveðið er á um í þessari ákvörðun, eru í samræmi við álit fastanefndarinnar um dýraheilbrigði.

SAMÞYKKT ÁKVÖRÐUN ÞESSA:

1. gr.

Í viðaukanum er mælt fyrir um sýnatökuáætlanir og greiningaraðferðir við greiningu og staðfestingu á veirublæðingu og iðradrepi.

2. gr.

Ákvörðun 92/532/EBE fellur úr gildi með þessari ákvörðun.

3. gr.

Ákvörðun þessari er beint til aðildarríkjanna.

Gjört í Brussel 22. febrúar 2001.

Fyrir hönd framkvæmdastjórnarinnar,

David BYRNE

framkvæmdastjóri.

⁽¹⁾ Stjttúð. EB L 46, 19.2.1991, bls. 1.

⁽²⁾ Stjttúð. EB L 189, 3.7.1998, bls. 12.

⁽³⁾ Stjttúð. EB L 337, 21.11.1992, bls. 18.

⁽⁴⁾ Stjttúð. EB L 79, 29.3.1996, bls. 19.

⁽⁵⁾ Stjttúð. EB L 175, 19.7.1993, bls. 23.

VIÐAUKI

SÝNATÖKUÁÆTLANIR OG GREININGARAÐFERÐIR VIÐ GREININGU OG STAÐFESTINGU
Á VEIRUBLÆÐINGU OG IÐRADREPI

INNGANGUR

Þessi viðauki:

- a) inniheldur viðmiðunarreglur og lágmarkskröfur um sýnatökuáætlanir og greiningaraðferðir við greiningu og staðfestingu á veirublæðingu og iðradrepi;
- b) samþættir ákvæði viðauka B og C við tilskipun 91/67/EBE að því er varðar viðurkenningu og viðhald á stöðu svæða og eldisstöðva á svæði sem ekki er viðurkennt;
- c) inniheldur ákvæði um rétta greiningu á veirublæðingu og iðradrepi og opinbera viðurkenningu á stöðu svæða og eldisstöðva á svæði sem ekki er viðurkennt í samræmi við 5. og 6. gr. tilskipunar 91/67/EBE;
- d) varðar bæði yfirvöld sem sjá um eftirlit með veirublæðingu og iðradrepi og starfsfólk á rannsóknarstofum sem sér um prófanir með tilliti til þessara sjúkdóma. Til samræmis við það er lögð áhersla á aðferðir við sýnatöku, meginreglur og framkvæmd rannsóknastofuprófana og mat á niðurstöðum þeirra sem og nákvæma rannsóknarstofutækni. Þrátt fyrir það geta rannsóknarstofur, ef við á, breytt þeim prófunum sem lýst er í þessum viðauka eða viðhaft aðrar prófanir, að því tilskildu að unnt sé að sýna fram á sambærilega næmni og sérhæfni.

I. hluti nær yfir sýnatökuáætlanir og greiningaraðferðir við eftirlit með veirublæðingu og iðradrepi í því skyni að fá og viðhalda stöðu viðurkennds svæðis eða eldisstöðvar á svæði sem ekki er viðurkennt.

Í II. hluta er lýst aðferðum við greiningu til að staðfesta veirublæðingu og iðradrep leiki grunur á að sjúkdómurinn hafi komið upp.

Í III. hluta eru viðmiðanir og viðmiðunarreglur um opinbera áætlun um heilbrigðiskoðun, sem felst í því að skjalfesta að veirublæðing og/eða iðradrep hafi ekki komið upp áður.

Í IV. hluta eru tilmæli um aðferðir við VHS- og IHN-veirutíturun til að sannprófa að frumurækt sé móttækileg fyrir sýkingu.

Skrá yfir skammstafanir er að finna í V. hluta.

I. HLUTI

Sýnatökuáætlanir og greiningaraðferðir við eftirlit með veirublæðingu og iðradrepi í því skyni að fá og viðhalda stöðu viðurkennds svæðis eða viðurkenndrar eldisstöðvar á svæði sem ekki er viðurkennt**I. Skoðun og sýnataka**

1. *Almenn ákvæði um klíniska heilbrigðisskoðun, söfnun og val sýna í tengslum við eftirlit með svæðum eða eldisstöðvum á svæði sem ekki er viðurkennt, með tilliti til þess að fá eða viðhalda viðurkenndri stöðu að því er varðar veirublæðingu og/eða iðradrep.*

Í töflum 1A, 1B og 1C er samantekt á klínískri heilbrigðisskoðun og sýnatöku úr fiskvef og/eða hrognavökva, sem á að fara fram á svæðum eða eldisstöðvum á svæði sem ekki er viðurkennt, með tilliti til þess að fá eða viðhalda viðurkenndri stöðu að því er varðar veirublæðingu og/eða iðradrep í samræmi við viðauka B og viðauka C við tilskipun 91/67/EBE. Í I.I.2 - I.I.4. eru nánari upplýsingar þar að lútandi. Tafla 1A og tafla 1B eiga ekki við um nýjar eldisstöðvar og eldisstöðvar sem taka aftur upp starfsemi sína með fisk, egg eða svil frá viðurkenndu svæði eða viðurkenndri eldisstöð á svæði sem ekki er viðurkennt, að því tilskildu að þær fullnægi þeim kröfum sem mælt er fyrir um í viðauka C við 91/67/EBE, a- eða b-lið 6. tölul. þáttar A í I. hluta eða a- eða b-lið 3. tölul. þáttar A í II. hluta.

Klínísk skoðun verður að fara fram á tímabilinu frá október og fram í júní eða þegar hitastig vatns er lægra en 14 °C. Þegar klínísk skoðun eldisstöðva fer fram tvisvar á ári verða að líða að minnsta kosti fjórir mánuðir milli skoðana. Skoða skal allar framleiðslueiningar (tjarnir, tanka, netbúr o.s.frv.) og kanna hvort í þeim er dauður fiskur eða veikburða eða fiskur sem hagar sér óeðlilega. Kanna skal sérstaklega vatnsfrárásarsvæðið þar sem veikburða fiskur hefur tilhneigingu til að safnast saman vegna vatnsstraumsins.

Velja skal fisk til sýnatöku sem hér segir.

- Ef regnbogasilungur er til staðar skal einungis velja þá fisktegund til sýnatöku. Ef ekki er um regnbogasilung að ræða skal sýnið vera úr öllum öðrum fisktegundum sem eru til staðar og eru móttækilegar fyrir veirublæðingu og/eða iðradrepi (eins og tilgreint er í viðauka A við tilskipun ráðsins 91/67/EBE). Sýnið skal gefa rétta mynd af hlutfalli tegundanna.
 - Ef vatn úr fleiri en einni lind er notað við fiskframleiðslu skal velja fisk úr öllum vatnslindum til sýnatöku.
 - Ef veikburða fiskur, fiskur sem hagar sér óeðlilega eða nýdauður fiskur (órotinn) er til staðar skal hann fyrst og fremst valinn. Ef slíkur fiskur er ekki til staðar skal heilbrigður fiskur, sem lítur eðlilega út, vera í úrtakinu sem safnað er með þeim hætti að það gefi hlutfallslega rétta mynd af öllum hlutum eldisstöðvarinnar og öllum árgöngum.
2. Sérákvæði, þ.m.t. um söfnun sýna í tengslum við eftirlit með svæðum eða eldisstöðvum á svæði sem ekki er viðurkennt, með tilliti til þess að fá eða viðhalda viðurkenndri stöðu að því er varðar veirublæðingu og/eða iðradrep.
1. Svæði eða eldisstöð á svæði sem ekki er viðurkennt, sem opinber þjónustustofnun hefur eftirlit með, getur öðlast stöðu viðurkennds svæðis eða eldisstöðvar, annaðhvort samkvæmt:
 - a) Aðferð A - eftirlitsáætlun til tveggja ára

Þegar liðin eru minnst tvö ár án þess að nokkur klínísk vísbending eða önnur vísbending hafi fundist um veirublæðingu og/eða iðradrep verður að fara fram heilbrigðisskoðun að minnsta kosti tvisvar á ári í tvö ár á öllum eldisstöðvum á svæðinu eða á hverri eldisstöð sem á að viðurkenna á svæði sem ekki er viðurkennt. Á tveggja ára eftirlitstímabilinu, áður en viðurkennd staða hlotnast, má ekki finnast nein klínísk vísbending eða önnur vísbending um veirublæðingu og/eða iðradrep og safna verður sýnum til rannsóknar í samræmi við töflu 1A. Enn fremur verður að velja, undirbúa og rannsaka sýnin eins og lýst er í I.I–I.IV og rannsóknir á rannsóknarstofu verða að hafa sýnt neikvæðar niðurstöður að því er varðar veirublæðingu og/eða iðradrep; eða
 - b) Aðferð B - eftirlitsáætlun til tveggja ára með hlutasýni

Í kjölfar opinberrar áætlunar um heilbrigðiskoðun, sem felst í því að skjalfesta að veirublæðing og/eða iðradrep hafi ekki komið upp í að minnsta kosti fjögur ár, verður að fara fram heilbrigðisskoðun að minnsta kosti tvisvar á ári í tvö ár á öllum eldisstöðvum á svæðinu eða á hverri eldisstöð sem á að viðurkenna á svæði sem ekki er viðurkennt. Á tveggja ára eftirlitstímabilinu, áður en viðurkennd staða hlotnast, má ekki finnast nein klínísk vísbending eða önnur vísbending um veirublæðingu og/eða iðradrep og sýnum til rannsóknar verður að safna í samræmi við töflu 1B. Enn fremur verður að velja, undirbúa og rannsaka sýnin eins og lýst er í I.I–I.IV og rannsóknir á rannsóknarstofu verða að sýna neikvæðar niðurstöður að því er varðar veirublæðingu og/eða iðradrep. Til þess að opinberar þjónustustofnanir geti viðurkennt áætlun um heilbrigðiskoðun, sem felst í því að skjalfesta að veirublæðing og/eða iðradrep hafi ekki komið upp áður, verður hún að standast viðmiðanir og viðmiðunarreglur III. hluta.
 2. Sérákvæði um að viðurkenna nýjar eldisstöðvar og eldisstöðvar sem taka aftur upp starfsemi sína með fisk, egg eða svil frá viðurkenndu svæði eða viðurkenndri eldisstöð á svæði sem ekki er viðurkennt.

Nýjar eldisstöðvar og eldisstöðvar, sem taka aftur upp starfsemi sína með fisk, egg eða svil frá viðurkenndu svæði eða viðurkenndri eldisstöð á svæði sem ekki er viðurkennt, geta öðlast stöðu viðurkenndrar eldisstöðvar í samræmi við kröfurnar í viðauka C við tilskipun 91/67/EBE, a- eða b-lið 6. Tölul. þáttar A í I. hluta eða a- eða b-lið 3. tölul. þáttar A í II. hluta. Til samræmis við það eiga sýnatökuákvæðin, sbr. aðferð A og aðferð B hér að framan (í I.I.2.1.a og I.I.2.1.b), ekki við um slíkar eldisstöðvar.
 3. Eftirlitsáætlun um viðhald viðurkenndrar stöðu að því er varðar veirublæðingu og/eða iðradrep.

Til að viðhalda stöðu viðurkennds svæðis eða viðurkenndrar eldisstöðvar, á svæði sem ekki er viðurkennt að því er varðar veirublæðingu og/eða iðradrep, verður skoðun og sýnataka að fara fram í samræmi við töflu 1C. Sýnin verður að velja, undirbúa og rannsaka eins og lýst er í I.I.–I.IV og rannsóknir á rannsóknarstofu verða að hafa verið neikvæðar að því er varðar sjúkdómsvalda veirublæðingar og/eða iðradreps.
3. Undirbúningur og flutningur sýna úr fiski
- Hlutar þeirra líffæra sem rannsaka á eru fjarlægðir úr fiskinum með dauðhreinsuðum áhöldum, áður en þeir eru fluttir eða sendir til rannsóknarstofu, og færðir yfir í dauðhreinsaðar plastpípur með flutningsefni, þ.e. frumuæti með 10% kálfasermi og sýklalyfjum. Unnt er að mæla með samsetningunni 200 a.e. penisillín, 200 µg streptómýsín og 200 µg kanamýsín í millílítra (ml) en einnig er heimilt að nota önnur sýklalyf með staðfesta virkni. Rannsaka skal vef úr milta, fremra nýra og að auki annaðhvort úr hjarta eða heila. Í sumum tilfellum verður að rannsaka hrognavökva (tafla 1A–C).

Heimilt er að safna hrognavökva eða líffærahlutum úr tíu fiskum hið mesta (töflur 1A–C) í eina dauðhreinsaða pípu, sem inniheldur að minnsta kosti 4 ml flutningsefnis, og mynda eitt hópsýni. Vefurinn í hverju sýni skal veða að minnsta kosti 0,5 grömm (g).

Pípurnar skulu settar í einangruð flát (t.d. pólýstýren-kassa með þykkum veggjum) ásamt nægum ís eða „ísklumpum“ til að tryggja kælingu sýnanna meðan á flutningi til rannsóknarstofu stendur. Varast ber að frysta sýnin. Hitastig sýnis skal aldrei fara yfir 10 °C í flutningi og ís skal ennþá vera í flutningsskassanum á viðtökustað eða einn eða fleiri ísklumpar verða þá enn að vera frosnir að hluta eða alveg.

Hefja skal veirufræðilega rannsókn eins fljótt og auðið er og ekki seinna en 48 klukkustundum eftir að sýnunum er safnað saman. Í undantekningartilvikum ⁽¹⁾ er heimilt að hefja veirufræðilega rannsókn ekki seinna en 72 klukkustundum eftir að efninu, sem á að rannsaka, er safnað saman, að því tilskildu að það sé varið í flutningsefni og unnt sé að fullnægja kröfum um tiltekið hitastig í flutningi (3. liður í 1.1.3).

Senda má fisk í heilu lagi til rannsóknarstofu ef unnt er að fullnægja kröfum um tiltekið hitastig í flutningi. Vefja má fisk í heilu lagi inn í rakadrægan pappír og senda síðan í plastpoka sem er kældur eins og áður er getið. Einnig er heimilt að senda lifandi fisk.

Öll pökkun og merking verður að vera í samræmi við núgildandi innlendar og alþjóðlegar flutningsreglur eftir því sem við á.

4. Söfnun viðbótargreiningarefnis

Samkvæmt samkomulagi við þá rannsóknarstofu, sem annast greininguna, er einnig heimilt að safna öðrum fiskvefjum og undirbúa fyrir viðbótarannsóknir.

II. Undirbúningur sýna fyrir veirufræðilega rannsókn

1. Frysting í undantekningartilvikum

Ef upp koma erfiðleikar í framkvæmd (t.d. slæm veðurskilyrði, lokunardagar, vandamál á rannsóknarstofu o.s.frv.) sem koma í veg fyrir að hægt sé að sá á frumur innan 48 klukkustunda frá því að vefjasýnin eru tekin er heimilt að frysta vefjasýnin í frumuæti við – 20 °C eða lægra hitastig og framkvæma veirufræðilegar rannsóknir innan 14 daga. Vefjasýnin er aðeins heimilt að þíða og endurnota einu sinni áður en rannsókn fer fram. Nauðsynlegt er að halda skrá með nákvæmum upplýsingum um ástæður fyrir hverri frystingu vefjasýna (óveður, dauðar frumulínur o.s.frv.).

2. Jafnblöndun líffæra

Gera skal vefinn í pípunum fullkomlega einsleitum (annaðhvort með speldi eða kvörn eða með mortéli og stauti með dauðhreinsuðum sandi) og setja síðan í sviflausn í upphaflega flutningsefninu.

Ef sýnið er samsett úr heilum fiskum, sem eru undir 4 cm að lengd, skulu þeir brytjaðir smátt með dauðhreinsuðum klippum eða skurðarhníf eftir að bolurinn hefur verið fjarlægður aftan við þarnaop. Ef sýnið er samsett úr heilum fiskum, sem eru 4–6 cm að lengd, skal safna innnyflunum, þ.m.t. nýra. Ef sýnið er samsett úr heilum fiskum, sem eru yfir 6 cm að lengd, skal safna vefjasýnum eins og lýst er í I.I.3. Vefjasýnin skulu brytjuð smátt með dauðhreinsuðum klippum eða skurðarhníf, gerð einsleit eins og lýst hér að framan og sett í sviflausn í flutningsefninu.

Á rannsóknarstofunni skal endanlegt hlutfall milli vefs og flutningsefnis fært að 1:10.

3. Skiljun jafnings

Jafningurinn er skilinn í kældri skilvindu við 2–5 °C við 2000 til 4000 x g í 15 mínútur og flötu safnað og það meðhöndlað, annaðhvort í fjórar klukkustundir við 15 °C eða næturlangt við 4 °C með sýklalyfjum, t.d. kann gentamísín, 1 mg/ml, að koma að notum á þessu stigi.

Hafi sýnið verið flutt í flutningsefni (þ.e. komist í snertingu við sýklalyf) má sleppa meðhöndlun flotsins með sýklalyfjum.

Markmiðið með sýklalyfjameðferð er að hafa stjórn á bakteríumengun í sýnunum og gerir hún að verkum að óþarft er að síða gegnum himnusúr.

Ef flotið, sem er safnað, er sett í geymslu við –80 °C innan 48 klukkustunda eftir að sýnin voru tekin er aðeins heimilt að þíða það og endurnota einu sinni til veirufræðilegra rannsókna.

⁽¹⁾ Í undantekningartilvikum, þ.e. þegar fiski er safnað á mjög afskekktum svæðum þar sem ekki er dagleg pósthjónusta.

Ef upp koma erfiðleikar í framkvæmd (t.d. hitaskápur bilar, erfiðleikar í frumuræktun o.s.frv.) sem koma í veg fyrir að hægt sé að sá á frumur innan 48 klukkustunda frá því að vefjasýnin eru tekin er heimilt að frysta flotið við $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ og framkvæma veirufræðilegar rannsóknir innan 14 daga.

Áður en sáð er á frumurnar er flotinu blandað saman við sama magn af hæfilega þynntri blöndu af mótsermi gegn staðbundnum sermigerðum IPN-veiru og ræktað í þessu í að minnsta kosti eina klukkustund við $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ eða mest 18 klukkustundir við $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Títíri mótsermisins skal vera minnst 1/2000 í 50% mótefnaprófi sem hindrar skellumyndun.

Markmiðið með því að meðhöndla allt sáð með mótsermi gegn IPN-veiru (veira sem sums staðar í Evrópu kemur fyrir í 50% fisksýna) er að koma í veg fyrir að frumuskemmdir (CPE), sem stafa af IPN-veiru, myndist í frumurækt sem sáð hefur verið í. Þetta stýttir veirufræðilegu rannsóknina og fækkar þeim tilfellum þar sem telja verður tilkomu frumuskemmda hugsanlega vísbendingu um veirublæðingu eða iðradrep.

Þegar sýni koma frá framleiðslueiningum sem álitnar eru lausar við smitrænt drep í brisi (IPN) er heimilt að sleppa því að meðhöndla sáð með mótsermi gegn IPN-veiru.

III. Veirufræðileg rannsókn

1. Frumurækt og æti

BF-2- eða RTG-2- og annaðhvort EPC- eða FHM-frumur eru ræktaðar við $20\text{--}25\text{ }^{\circ}\text{C}$ í hentugu æti, t.d. Eagles-MEM (eða afbrigði af því) að viðbættum 10% af nautgripafóstursermi og sýklalyfjum með stöðluðum styrkleika.

Þegar frumurnar eru ræktaðar í lokuðum hettuglösnum er mælt með því að sýrustig ætisins sé stillt með bíkARBónati. Heimilt er að stilla sýrustig ætisins, sem er notað við ræktun frumna í opnum einingum, með Tris-HCl (23 mM) og Na-bíkARBónati (6 mM). Sýrustig (pH) verður að vera $7,6 \pm 0,2$.

Frumurækt, sem nota á til að sá vefjarefni í, skal vera ný (4 til 48 klukkustunda gömul) og í góðum vexti (ekki samfellt frumulag) við sáningu.

2. Sáning í frumurækt

Líffærasviflausn, meðhöndluð með sýklalyfjum, er sáð í frumurækt í tveimur þynningum, þ.e. frumþynningu og, að auki, 1:10 þynningu hennar, sem gefur endanlega þynningu vefjarefnis í frumuræktaræti sem er 1:100 og 1:1000 í hvoru tilviki um sig (til að koma í veg fyrir samstæða truflun). Sá skal að minnsta kosti í tvær frumulínur (sjá I. III.1). Hlutfallið milli sáðmagns og magns frumuræktarætis ætti að vera um 1:10. Fyrir hvora þynningu og frumulínu skal að minnsta kosti nota um 2 cm^2 frumusvæði sem svarar til eins bolla í 24 bolla frumuræktarbakka. Mælt er með því að nota frumuræktarbakka en aðrar einingar með álíka eða stærra ræktunarsvæði eru einnig nothæfar.

3. Frumurækt

Frumurækt, sem sáð hefur verið í, er ræktað við $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ í sjö til tíu daga. Breytist litur frumuræktarætis úr rauðu í gult, sem bendir til súrnunar ætis, skal stilla sýrustigið með dauðhreinsaðri bíkARBónatlausn eða jafngildum efnum til að tryggja sé að frumur séu móttækilegar fyrir veirusýkingu.

Á að minnsta kosti sex mánaða fresti, eða þegar grunur leikur á um að frumur séu ekki lengur jafnmóttækilegar fyrir veirusýkingu, fer fram títrun frosinna VHSV- og IHNV-stofna til að sannprófa að frumurækt sé móttækileg fyrir sýkingu. Ráðlagðri aðferð er lýst í IV. hluta.

4. Smásjárskoðun

Skoða skal reglulega (minnst þrisvar í viku) hvort frumuskemmdir koma fyrir í frumurækt, sem sáð hefur verið í, við um það bil fertugfalda stækkun. Séu greinileg merki um frumuskemmdir skal grípa strax til sanngreiningar veira samkvæmt aðferðinni í I.IV.

5. Umsáning

Hafi engar frumuskemmdir orðið eftir frumuræktun í sjö til tíu daga fer fram umsáning yfir á nýja frumurækt þar sem svipað frumusvæði er notað og í frumuræktuninni.

Ætisskammtar (flot) úr hverri rækt eða bolla, sem mynda frumræktina, eru blandaðir eftir frumulínu sjö til tíu dögum eftir sáningu. Blöndunum er síðan sáð í samstæðar frumuræktir sem eru óþynntar eða þynntar 1:10 (sem gefur endanlega þynningu flots sem er 1:10 og 1:100 í hvoru tilviki um sig), eins og lýst er í I.III.2. Annar kostur er að sá skömmtum úr 10% af ætinu, sem myndar frumræktina, beint í bolla með nýrri frumurækt (umsáning frá bolla yfir í bolla). Heimilt er að forræktun þynntu vökvanna fari fram á undan sáningunni þar sem mótsermi gegn IPN-veiru er notað og hæfilega þynnt eins og lýst er í I.II.3.

Ræktir, sem sáð hefur verið í, eru því næst ræktaðar í sjö til tíu daga við 15 °C undir eftirliti eins og lýst er í I.III.4.

Komi fram frumuskemmd vegna eitúráhrifa á fyrstu þremur dögum ræktunar getur umsáning farið fram á því stigi en þá skal rækta frumurnar í sjö daga og umsá þeim aftur sjö daga til viðbótar. Komi fram frumuskemmd vegna eitúráhrifa eftir þrjá daga er heimilt að umsá einu sinni og rækta uns alls 14 dagar eru liðnir frá frumsáningu. Síðustu sjö daga ræktunar skulu engin ummerki um eitúráhrif koma í ljós.

Verði bakteríumengun þrátt fyrir meðhöndlun með sýklalyfjum verður skiljun við 2 000 til 4 000 × g í 15 til 30 mínútur við 2–5 °C að eiga sér stað fyrir umsáningu og/eða síun flotsins gegnum 0,45 µm síu (vægt prótínbindandi himna). Þar að auki eru aðferðir við umsáningu þær sömu og út af frumuskemmdum vegna eitúráhrifa.

IV. *Sanngreining veira*

1. *Próf til að sanngreina veirur*

Ef merki um frumuskemmdir hafa fundist í frumurækt er æti (floti) safnað og það rannsakað með einni eða fleiri af eftirtöldum aðferðum: hlutleysingu, flúrskinsmerkingu mótefna (IF), ELISA-prófi. Hafi prófin ekki leitt til öruggrar sanngreiningar veirunnar á einni viku skal senda flotið til innlendrar tilvísunarrannsóknarstofu í fisksjúkdómum eða til tilvísunarrannsóknarstofu Evrópusambandsins í fisksjúkdómum til skjótrar sanngreiningar.

2. *Hlutleysing*

Fjarlægja ber frumur úr flötinu, sem var safnað, í skilvindu (2 000 til 4 000 × g) eða með himnusíun (0,45 µm) með vægt prótínbindandi himnu og þynna flotið með frumuæti í 1:100 og 1:10000.

Skammtar af báðum þynningum flotsins eru blandaðir og settir í ræktun í 60 mínútur við 15 °C með jafnstórum hlutum af eftirtöldum prófunarefnum, hver í sínu lagi:

- sermi sem inniheldur hópserháft mótefni gegn VHS-veiru, þynnt í hlutfallinu 1:50 (rúmmálshlutfall) ⁽¹⁾
- sermi sem inniheldur hópserháft mótefni gegn IHN-veiru, þynnt í hlutfallinu 1:50 (rúmmálshlutfall) ⁽¹⁾
- blanda mótserma gegn staðbundnum sermigerðum IPN-veiru, þynnt í hlutfallinu 1:50 (rúmmálshlutfall) ⁽¹⁾
- einungis æti (jákvæður samanburður)

Úr hverri veiruflotsermiþöndu er sáð í að minnsta kosti tvær frumuræktir með 50 µl í hvora um sig og þær síðan ræktaðar við 15 °C. Fylgst er með því hvort frumuskemmdir verða eins og lýst er í I.III.4.

Sum afbrigði VHS-veiru bindast ekki í hlutleysingarprófum. Slík einangur verður að sanngreina með flúrskinsmerktum mótefnum (IF) eða ELISA-prófi.

Heimilt er að nota önnur hlutleysingarpróf sem reynsla er fyrir að skili árangri.

3. *Aðferð með notkun flúrskinsmerktra mótefna (IF)*

Fyrir hvert veirueinangur, sem á að sanngreina, skal setja frumur á að minnsta kosti átta þekjugler eða tilsvareandi, svo þétt að það leiði til um 60–90% samfellu frumulags eftir 24 klukkustunda ræktun. Mælt er með EPC-frumum í þessu skyni vegna mikillar viðloðunar við glerfleti en einnig er hægt að nota aðrar frumulínur, t. d. BF-2, RTG-2 eða FHM.

Þegar frumurnar hafa sest á glerflötinn (um einni klukkustund seinna), eða þegar rækt hefur staðið yfir í allt að 24 klukkustundir, er veirunni, sem á að sanngreina, sáð. Sáð er í fjórar ræktir í rúmmálshlutfallinu 1:10 og fjórar ræktir í hlutfallinu 1:1000. Ræktun við 15 °C stendur síðan yfir í 20 til 30 klukkustundir.

Eftir ræktun eru ræktimar skolaðar tvisvar í Eagles-MEM án sermis, festar í 80% af ísköldu asetoni og síðan litaðar með tveggja-laga IFAT. Fyrri prófunarefnalagið er fjöl- eða einstofna mótefni sem stenst kröfur um viðmiðunargæði. Síðara prófunarefnalagið er flúrskinsmerkt mótsermi gegn því ónæmisglóbúlíni sem notað er í fyrri laginu. Fyrir hvert mótsermi, sem prófað er, skal lita að minnsta kosti eina rækt sem sáð hefur verið í með stórum skammti og eina með litlum skammti. Þekkt neikvæð og jákvæð viðmiðunarsýni skulu vera hluti af prófinu. Mælt er með FITC- eða TRITC-flúrskini.

Litaðar ræktir eru undirbúnar með glýserólsalti. Þær ber að skoða undir aðfallandi útfjólubláu ljósi. Notað er augngler með tíffaldri eða tólfaldri stækkun og stækkunargler með tuttugu og fimm- eða fertugfaldri stækkun og samsvarandi talnaopum > 0,7 og > 1,3.

Framangreind aðferð með flúrskinsmerktum mótefnum er sett fram sem dæmi. Heimilt er að beita öðrum aðferðum með flúrskinsmerktum mótefnum (með tilliti til frumuræktar, festingar og mótefna sem standast kröfur um viðmiðunargæði) sem reynst hafa skilað árangri.

⁽¹⁾ Eða eins og viðkomandi tilvísunarrannsóknarstofa tilgreinir með tilliti til hugsanlegra eitúráhrifa mótserma á frumur.

4. ELISA-próf

Bollar í míkrotítrunarplötum eru þaktir næturlangt með ráðlögðum þynningum af hreinsuðum ónæmisglóbúlín-þáttum mótefna sem standast kröfur um viðmiðunargæði.

Eftir að bollar hafa verið skolaðir með PBS-Tween-20 jafnalausn er þeirri veiru sem sanna greina á bætt í bollana, þynntri tvisvar eða fjórum sinnum, og leyft að bindast við húðunarefnið í 60 mínútur við 37 °C. Eftir skolon með PBS-Tween-20 jafnalausn er bíótínudum mótefnum, með sérhæfni sem svarar til sérhæfni húðunarefnanna, bætt við og leyft að bindast í 60 mínútur við 20 °C. Eftir aðra skolon, eins og að framan getur, er HRP-merktu streptavíðíni bætt við og leyft að bindast í eina klukkustund við 20 °C. Eftir lokaskolon kemur bundið ensím í ljós með því að nota viðeigandi ELISA-ensímhvarfefni (OPD eða önnur).

Framangreind ELISA-aðferð, sem byggist á bíótín-avidín, er sett fram sem dæmi. Þess í stað er heimilt að nota aðrar ELISA-aðferðir með staðfestri virkni.

TAFLA 1A

Skoðun og sýnatökuáætlun á svæðum og eldisstöðvum á svæði sem ekki er viðurkennt, sem fer fram á tveggja ára eftirlitstímabili áður en viðurkennt staða fæst að því er varðar veirublæðingu og/eða iðradrep

(í samræmi við viðauka B og C við tilskipun 91/67/EBE og ákvæði I. hluta þessa viðauka)

	Fjöldi klínískra skoðana á ári (tvö ár)	Fjöldi rannsóknarstofurannsóknna á ári (tvö ár)	Rannsóknarstofurannsókn til að staðfesta tilvist veira ⁽¹⁾	
			Fjöldi fiska í vexti (Líffæri)	Seiðastofn: fjöldi fiska (Hrognavökvi)
Meginlandssvæði og eldisstöðvar á meginlandssvæði				
a) Eldisstöðvar með seiðastofn	2	3	120 (fyrsta skoðun) ⁽²⁾ 150 (önnur skoðun)	30 (fyrsta skoðun) ⁽³⁾ 0 (önnur skoðun)
b) Eldisstöðvar, einungis með seiðastofn	2	1	0	150 (fyrsta eða önnur skoðun) ⁽³⁾
c) Eldisstöðvar án seiðastofns	2	2	150 (fyrsta og önnur skoðun)	0
Strandsvæði og eldisstöðvar á strandsvæði				
a) Eldisstöðvar með seiðastofn	2	2	120 (fyrsta skoðun) 150 (önnur skoðun)	30 (fyrsta skoðun) ⁽³⁾ 0 (önnur skoðun)
b) Laxeldisstöðvar án seiðastofns	2	2	30 (fyrsta og önnur skoðun) ⁽⁴⁾	0
c) Eldisstöðvar, sem ekki eru laxeldisstöðvar, án seiðastofns	2	2	150 (fyrsta og önnur skoðun)	0

Hámarksfjöldi fiska í hverju hópsýni: 10

⁽¹⁾ Einnig er heimilt að nota hlutasýni, sem er tilgreint í töflu 1B, ef kröfunum sem er lýst í II.1, I.I.2.1.b og III er fullnægt.

⁽²⁾ Klínískar skoðanir.

⁽³⁾ Ef ekki er hægt í undantekningartilvikum að ná hrognavökva er heimilt að taka sýni úr líffærum þess í stað.

⁽⁴⁾ Sýnunum skal safnað í fyrsta lagi þremur vikum eftir að fiskur er fluttur úr ferskvatni í saltvatn.

TAFLA 1B

Skoðun og sýnatökuáætlun, sem fer fram á tveggja ára eftirlitstímabili áður en viðurkennd staða fæst að því er varðar veirublæðingu og/eða iðradrep, á svæðum og eldisstöðvum á svæði sem ekki er viðurkennt en skjalfest er að veirublæðing og/eða iðradrep hafi ekki komið þar upp áður

(í samræmi við viðauka B og C við tilskipun 91/67/EBE og ákvæði I. og III. hluta þessa viðauka)

	Fjöldi klínískra skoðana á ári (tvö ár)	Fjöldi rannsóknarstofurannsóknna á ári (tvö ár)	Rannsóknarstofurannsókn til að staðfesta tilvist veira ⁽¹⁾	
			Fjöldi fiska í vexti (Líffæri)	Seiðastofn: fjöldi fiska (Hrognavökvi)
Meginlandssvæði og eldisstöðvar á meginlandssvæði				
a) Eldisstöðvar með seiðastofn	2	2	0 (fyrsta skoðun) ⁽¹⁾ 30 (önnur skoðun)	30 (fyrsta skoðun) ⁽²⁾ 0 (önnur skoðun)
b) Eldisstöðvar, einungis með seiðastofn	2	1	0	30 (fyrsta eða önnur skoðun) ⁽²⁾
c) Eldisstöðvar án seiðastofns	2	2	30 (fyrsta og önnur skoðun)	0
Strandssvæði og eldisstöðvar á strandssvæði				
a) Eldisstöðvar með seiðastofn	2	2	0 (fyrsta skoðun) 30 (önnur skoðun)	30 (fyrsta skoðun) ⁽²⁾ 0 (önnur skoðun)
b) Laxeldisstöðvar án seiðastofns	2	2	30 (fyrsta og önnur skoðun) ⁽³⁾	0
c) Eldisstöðvar, sem ekki eru laxeldisstöðvar, án seiðastofns	2	2	30 (fyrsta og önnur skoðun)	0

Hámarksfjöldi fiska í hverju hópsýni: 10

⁽¹⁾ Klínískar skoðanir.

⁽²⁾ Ef ekki er hægt í undantekningartilvikum að ná hrognavökva er heimilt að taka sýni úr líffærum þess í stað.

⁽³⁾ Sýnunum skal safnað í fyrsta lagi þremur vikum eftir að fiskur er fluttur úr ferskvatni í saltvatn.

TAFLA 1C

Skoðun og sýnatökuáætlun á svæðum og eldisstöðvum á svæði sem ekki er viðurkennt í því skyni að viðhalda viðurkenndri stöðu að því er varðar veirublæðingu og/eða iðradrep

(í samræmi við viðauka B og C við tilskipun 91/67/EBE og ákvæði I. hluta þessa viðauka)

	Fjöldi klínískra skoðana á ári	Rannsóknarstofurannsókn til að staðfesta tilvist veira ⁽¹⁾	
		Fjöldi fiska í vexti (Líffæri)	Seiðastofn: fjöldi fiska (Hrognavökvi)
Meginlandssvæði og eldisstöðvar á meginlandssvæði			
a) Eldisstöðvar með seiðastofn	2	20 (fyrsta eða önnur skoðun)	10 (fyrsta eða önnur skoðun) ⁽²⁾

	Fjöldi klínískra skoðana á ári	Rannsóknarstofurannsókn til að staðfesta tilvist veira ⁽¹⁾	
		Fjöldi fiska í vexti (Líffæri)	Seiðastofn: fjöldi fiska (Hrognavökvi)
b) Eldisstöðvar einungis með seiðastofn	2	0	30 (fyrsta eða önnur skoðun) ⁽²⁾
c) Eldisstöðvar án seiðastofns	2	30	0
Strandsvæði og eldisstöðvar á strandsvæði			
a) Eldisstöðvar með seiðastofn	2	20 (fyrsta eða önnur skoðun)	10 (fyrsta eða önnur skoðun) ⁽²⁾
b) Eldisstöðvar án seiðastofns	1	30 ⁽³⁾	0

Hámarksfjöldi fiska í hverju hópsýni: 10

⁽¹⁾ Á viðurkenndum svæðum skal aðeins safna sýnum frá helmingi fiskeldisstöðva á svæðinu til skiptis ár hvert. Á viðurkenndum eldisstöðvum á svæði sem ekki er viðurkennt skal safna sýnum ár hvert.

⁽²⁾ Ef ekki er hægt í undantekningartilvikum að ná hrognavökva er heimilt að taka sýni úr líffærum þess í stað.

⁽³⁾ Sýnunum skal safnað í fyrsta lagi þremur vikum eftir að fiskur er fluttur úr ferskvatni í saltvatn.

II. HLUTI

Aðferðir við greiningu til að staðfesta veirublæðingu og iðradrep leiki grunur á að sjúkdómurinn hafi komið upp

Greina skal veirublæðingu og iðradrep með einni af eftirfarandi aðferðum:

- A. hefðbundinni veirueinangrun þar sem sanngreining veira með mótefnum fylgir í kjölfarið,
- B. veirueinangrun samtímis sanngreiningu veira með mótefnum,
- C. öðrum greiningaraðferðum (IFAT, ELISA).

Fyrstu greiningu á veirublæðingu og/eða iðradrepi í eldisstöðvum á viðurkenndum svæðum skal ekki byggja á aðferð C einvörðungu. Einnig skal nota aðferð A eða B.

Í sumum tilvikum kann að reynast nauðsynlegt að vefjarefni, sem er ætlað til veirufræðilegra rannsókna, fylgi viðbótarefni til gerlafræðilegra, sniklafræðilegra, vefjafræðilegra eða annarra rannsókna svo unnt sé að framkvæma samiburðargreiningu.

A. Hefðbundin veirueinangrun þar sem sanngreining veira með mótefnum fylgir í kjölfarið

I.1. Sýni valið

Velja skal að minnsta kosti 10 fiska til rannsóknar með dæmigerð einkenni veirublæðingar eða iðradreps.

I.2. Undirbúningur og flutningur sýna úr fiski

Eins og mælt er fyrir um í I.I.3

I.3. Söfnun viðbótargreiningarefnis

Eins og mælt er fyrir um í I.I. 4

II. Undirbúningur sýna fyrir veirufræðilega rannsókn

Eins og mælt er fyrir um í I.II

III. Veirufræðileg rannsókn

Eins og mælt er fyrir um í I.III

IV. Sanngreining veira

Eins og mælt er fyrir um í I.IV

B. Veirueinangrun samtímis sanngreiningu veira með mótefnum

I.1. Sýni valið

Eins og mælt er fyrir um í II.A.I.1

I.2. Undirbúningur og flutningur sýna úr fiski

Eins og mælt er fyrir um í I.I.3

I.3. *Söfnun viðbótargreiningarefnis*

Eins og mælt er fyrir um í I.I. 4

II.1. *Jafnblöndun líffæra*

Eins og mælt er fyrir um í I.II.2

II.2. *Skiljun jafnings*

Jafningurinn er skilinn í kældri skilvindu við 2–5 °C við 2 000 til 4 000 x g í 15 mínútur og flotinu safnað og það meðhöndlað í fjórar klukkustundir við 15 °C með sýklalyfjum, t.d. gentamisíni, 1 mg/ml, eða síað (0,45 µm) gegnum vægt prótínbindandi himnu.

II.3. *Meðferð flots með greiningarmótsermi*

Líffærasviflausn, meðhöndluð með sýklalyfjum eða himnusúðu, er þynnt 1:10 og 1:1000 í frumuræktaræti og skammtar blandaðir og ræktaðir í 60 mínútur við 15 °C með prófunarefnunum, sem talin eru upp í I.IV.2, í jöfnum hlutföllum.

III.1. *Frumurækt og æti*

Eins og mælt er fyrir um í I.III.1

III.2. *Sáning í frumurækt*

Úr hverri veirusermblöndu (tilreidd samkvæmt II.B.II.3) er sáð í að minnsta kosti tvær frumuræktir á hverja frumulínu með 50 µl í hvora um sig.

III.3. *Frumurækt*

Eins og mælt er fyrir um í I.III.I

III.4. *Smásjárskoðun*

Skoða skal daglega hvort frumuskemmdir koma fyrir í frumurækt, sem sáð hefur verið í, við um það bil fertugfalda til hundrað og fimmtíufalda stækkun. Sé komið í veg fyrir frumuskemmdir með einum af þeim mótsermum sem notuð eru má líta svo á að veiran hafi þar af leiðandi verið sanngreind.

Komi ekkert mótsermanna í veg fyrir frumuskemmdir skal grípa til sanngreiningar veira með aðferðum samkvæmt I.IV.

III.5. *Umsáning*

Hafi frumuskemmdir ekki komið fram að sjö til tíu dögum liðnum skal umsáning fara fram úr ræktunum sem sáð hefur verið í með floti og æti (II.B.II.3) samkvæmt I.III.5.

C. Aðrar greiningaraðferðir

Flot, sem tilreitt er eins og lýst er í I.II.2, er greint með IFAT eða ELISA samkvæmt I.IV.3 eða I.IV.4 eftir atvikum. Auk þessara flýtiðferða skal veirufræðileg rannsókn koma til, annaðhvort samkvæmt A eða B, innan 48 klukkustunda eftir að sýnatöku lýkur, ef:

- a) niðurstaðan er neikvæð; eða
- b) jákvæð niðurstaða fæst með efni frá fyrsta tilfelli af iðradrepi eða veirublæðingu á viðurkenndu svæði.

Heimilt er að greina vefjarefni samkvæmt öðrum aðferðum á borð við RT-PCR, IF-greiningu á frosnum sneiðum eða mótefnalitun vefja á formalínfestu vefjarefni. Þessum aðferðum skal ætíð fylgja sáning í frumurækt með vefjarefni sem hefur ekki áður verið formalínfest.

III. HLUTI

Skjalfest að veirublæðing og/eða iðradrep hafi ekki komið upp áður á svæðum eða eldisstöðvum á svæði sem ekki er viðurkennt

Viðmiðunarreglur og viðmiðanir um opinbera áætlun um heilbrigðiskoðun

1. Áætlun um heilbrigðiskoðun getur einungis hafist:
 - eftir að framfylgt hefur verið áætlun um útrýmingu VHS-veiru og/eða IHN-veiru, sem felur í sér að allur fiskur á eldisstöðinni er fjarlægður og stöðin hreinsuð, sótthreinsuð og hvíld áður en endurnýjað er með fiski frá viðurkenndum eldisstöðvum, eða
 - á fiskeldisstöðvum þar sem aldrei hefur orðið vart við VHS-veirusýkingu eða IHN-veirusýkingu.
2. Áætlunin um heilbrigðiskoðun verður að byggjast bæði á klínískum skoðunum og rannsóknarstofurannsóknum.
3. Áætlunin verður að ná yfir tvær árlegar klínískar heilbrigðiskoðanir samkvæmt viðmiðunarreglum í I. hluta.

4. Í að minnsta kosti einni af þeim skoðunum sem fara fram ár hvert skal safna þrjátíu sýnum úr fiskvefjum og/eða hrognavökva á hverri eldisstöð. Sýnin skulu valin, undirbúin og sett í rannsóknarstofurannsókn samkvæmt I., II. og IV. hluta.
5. Áætluninni um heilbrigðisskoðun skal framfylgt í að minnsta kosti fjögur ár á öllum eldisstöðvum á því svæði sem ber að viðurkenna eða þeirri eldisstöð (á svæði sem ekki er viðurkennt) sem ber að viðurkenna.
6. Til að hægt sé að viðurkenna áætlunina opinberlega mega hvorki koma upp né greinast tilvik af veirublæðingu eða iðradrepi (engar klínískar sýkingar eða veirueinangranir).

IV. HLUTI

Aðferðir við títrun til að sannprófa að frumurækt sé móttækileg fyrir sýkingu

Ráðlagðar aðferðir við títrun, sem um getur í LIII3, eru tilgreindar hér á eftir.

Nota skal að minnsta kosti tvö VHS-veirueinangur og eitt IHN-veirueinangur. Þessi einangur skulu standa fyrir helstu veiruflokka innan Evrópusambandsins, þ.e. fyrir VHS-veiru eitt sjúkdómsvaldandi einangur úr regnbogasilungi í ferskvatni og eitt sjávarveinangur, sem er sjúkdómsvaldandi fyrir sandhverfu, og fyrir IHN-veiru einn evrópskur stofn sem er sjúkdómsvaldandi fyrir regnbogasilung. Nota skal vel skilgreind einangur frá aðildarríkjum. Tilvísunarrannsóknarstofa Evrópusambandsins í fisksjúkdómum getur látið í té tilvísunareinangur.

Veiruhirðingar í frumurækt með lágrí umsáningartölu (passage number) eru ræktaðir í frumuræktarflöskum á BF-2- eða RTG-2-frumum fyrir VHS-veiru og EPC- eða FHM-frumum fyrir IHN-veiru. Nota skal frumuæti með að minnsta kosti 10% sermi. Nota skal lágt MOI við sáningu (< 1).

Þegar allar frumur hafa skemmst er veira hirt með skiljun frumuræktarflots við $2000 \times g$ í 15 mínútur, síusæfð gegnum $0,45 \mu m$ himnusú og sett á merkt frystiglös. Veiran er geymd við $-80^\circ C$.

Einni viku eftir frýstingu eru þrjú hettuglös með hverri veiru látin þiðna í köldu vatni og títruð á viðkomandi frumulínu. Minnst sjötta hvern mánuð, eða ef grunur leikur á um að móttækileiki frumulínu fyrir sýkingu hafi minnkað, skal þiðna og títra hvert veirueinangur.

Aðferðum við títrun verður að lýsa nákvæmlega og nota sömu aðferð hvert sinn.

Endurtaka skal títrun minnst sex sinnum á hverju þýningarstigi fram að lokapýnningu. Títrunargildi eru borin saman við fyrri títrunargildi. Hafi títrun einhvers veirueinangurs af þremur fallið um tvo logra eða þar yfir, samanborið við upphaflegu títrunina, skal frumulínan ekki notuð framar í eftirlitsskyni.

Ef nokkrar frumulínur eru geymdar á rannsóknarstofunni skal rannsaka hverja línu fyrir sig.

Skrár skulu varðveittar í að minnsta kosti tíu ár.

V. HLUTI

Skammstafanir

BF-2	bluegill fry -2 (frumulína)
CPE	frumuskemmdir (cytopathic effect)
CRL	tilvísunarrannsóknarstofa bandalagsins í fisksjúkdómum
ELISA	ELISA-próf (enzyme-linked immunosorbent assay)
EPC	<i>epithelioma papulosum cyprini</i> (frumulína)
FHM	fathead minnow (frumulína)
FITC	flúorsínísóbíósýanat
Hepes	N-2- hýdroxýetylþíperasín-N'-2-etansúlfonsýra
HRP	piparrótar-peroxídasi (horse radish peroxidase)
IF	aðferð með notkun flúrskinsmerktra mótefna (immunofluorescence)
IFAT	óbeint flúrskinsmótefnapróf (indirect fluorescent antibody test)
IHN(V)	iðradrep (veira)
IPN	smitnæmt drep í brisi (veira)
MEM	nauðsynlegt lágmarksæti (minimum essential medium)

MOI	sýkingartala (hlutfallið milli fjölda viðbættra sýkjandi veiruagna og þekkts fjölda fruma í rækt)
OPD	ortófenýlendíamín
PBS	fosfatstillt saltlausn (phosphate buffered saline)
RTG-2	kynkirtill regnbogasilungs (frumulína)
RT-PCR	öfug transkriptasa-pólýmerasa-keðjuhvörf
Tris-HCl	tris(hýdroxýmetyl)amínómetan - HCl
TRITC	tetrametyl-ródamín-ísóþíósýanat
VHS(V)	veirublæðing (veira)
