

На основу члана 60. став 2, члана 63. став 4. и члана 94. став 2. Закона о ветеринарству („Службени гласник РС“, број 91/05),

Министар пољопривреде, шумарства и водопривреде доноси

П Р А В И Л Н И К
О УТВРЂИВАЊУ МЕРА ЗА РАНО ОТКРИВАЊЕ, ДИЈАГНОСТИКУ,
СПРЕЧАВАЊЕ ШИРЕЊА, СУЗБИЈАЊА И ИСКОРЕЊИВАЊА ЗАРАЗНЕ
БОЛЕСТИ БРУЦЕЛОЗА ГОВЕДА, НАЧИН ЊИХОВОГ СПРОВОЂЕЊА, КАО И
НАЧИН УТВРЂИВАЊА СТАТУСА ГАЗДИНСТВА СЛОБОДНОГ ОД БРУЦЕЛОЗЕ
ГОВЕДА

I. ОСНОВНЕ ОДРЕДБЕ

Члан 1.

Овим правилником утврђују се мере за рано откривање, дијагностику, спречавање ширења, сузбијања и искорењивања заразне болести бруцелоза говеда, начин њиховог спровођења, као и начин утврђивања статуса газдинства слободног од бруцелозе говеда.

Члан 2.

Поједини изрази употребљени у овом правилнику имају следеће значење:

1) сумњиво на бруцелозу говеда јесте свако говеда које показује симптоме бруцелозе и за које прописаним дијагностичким испитивањем није службено потврђено нити искључено присуство болести;

2) службена потврда бруцелозе јесте позитиван резултат лабораторијског испитивања узорка крви животиње званичним тестом на бруцелозу узоркованог на прописан начин и испитаног у акредитованој лабораторији;

3) званични тест на бруцелозу јесте било који серолошки тест описан у дијагностичком испитивању на бруцелозу;

4) стадо чини животиња или група животиња које се држе у газдинству, а ако се у газдинству одвојено држи више од једног стада сва стада морају имати исти здравствени статус;

5) стадо говеда типа Б1 јесте стадо код којег су претходни здравствени и серолошки статус и обављене вакцинације непознати;

6) стадо говеда типа Б2 јесте стадо код којег су претходни здравствени и серолошки статус и обављене вакцинације познати и у којима се спроводе прописана испитивања како би иста постигла статус стада говеда типа Б3 или Б4;

7) стадо говеда типа Б3 јесте стадо слободно од бруцелозе говеда ако испуњава следеће услове:

- да су све животиње у стаду најмање последњих шест месеци без клиничких знакова бруцелозе говеда;

- да су све животиње старије од 12 месеци испитане једним од тестова са негативним резултатом, у складу са дијагностичким испитивањем на бруцелозу, и то два серолошка испитивања у интервалу дужем од три, а краћем од 12 месеци, три теста на узорцима млека обављена у интервалу од три месеца, а после најмање шест недеља обављен серолошки тест;

8) стадо говеда типа Б4 јесте стадо службено слободно од бруцелозе говеда уколико испуњава услове из тачке 7) овог члана, као и следеће услове:

- да стадо не садржи говеда вакцинисана против бруцелозе;

- да говеда која се уводе у стадо потичу из стада службено слободно од бруцелозе говеда;

- да је тест серумске аглутинације код говеда старијих од 12 месеци показао титар на бруцелу мањи од 30 ИЈ/ml или су говеда негативна на сваки други тест, у складу са дијагностичким испитивањем на бруцелозу током 30 дана пре или 30 дана после увођења нове животиње у стадо, када се животиње морају физички изоловати од других животиња у стаду док се не докаже да су негативне на бруцелу;

9) подручје или држава службено слободна од бруцелозе говеда јесте део територије Републике Србије који испуњава услове за то;

10) подручје јесте део територије Републике Србије површине од најмање 2000 m² које је под надзором министарства надлежног за послове ветеринарства и укључује подручје најмање једног управног округа или град Београд.

II. МЕРЕ РАНОГ ОТКРИВАЊА И ДИЈАГНОСТИКЕ БРУЦЕЛОЗЕ ГОВЕДА И НАЧИН ЊИХОВОГ СПРОВОЂЕЊА

Члан 3.

Власник, односно држалац животиње обавештава без одлагања ветеринара или ветеринарског инспектора о свакој промени здравственог стања животиње на газдинству и пријављује сваки побачај животиње.

Говедо сумњиво на бруцелозу јесте говедо које показује симптоме бруцелозе и код којег присуство бруцеле није потврђено нити искључено.

Члан 4.

У случају постављања сумње на присуство бруцелозе ветеринарски инспектор мора одмах наредити узорковање крви и дијагностичко испитивање, како би се потврдило или искључило присуство бруцелозе говеда у стаду.

У случају сумње на појаву заразне болести бруцелоза говеда предузимају се следеће мере:

- 1) стављање стада под надзор;
- 2) забрана увођења у стадо или стављање у промет животиње из стада, осим упућивања на принудно клање;
- 3) одвајање и изолација говеда унутар стада сумњивих на бруцелозу;
- 4) забрана осемењавања и припуста говеда сумњивих на бруцелозу;
- 5) забрана коришћења млека крава сумњивих на бруцелозу.

Изузетно од става 2. овог члана ветеринарски инспектор може одобрити стављање у промет претходно кастрираних говеда, ако су из стада издвојене сумњиве животиње и под условом да се кастрирана говеда пребаце у стада за тов, а затим упуте на клање.

Мере из ст. 2 и 3 овог члана примењују се док се у стаду не искључи службена потврда бруцелозе говеда.

III. ДИЈАГНОСТИЧКО ИСПИТИВАЊЕ НА БРУЦЕЛОЗУ

Члан 5.

1. Идентификација узрочника бруцелозе која се врши помоћу модификованог киселог (acid-fast) или имуноспецифичног бојења организама *Brucella* морфологије у побаченом материјалу, вагиналном секрету или млеку представља веродостојну потврду бруцелозе нарочито уз позитиван налаз у имунолошким тестовима. Методе ланчане реакције полимеразе (PCR) могу се користити као додатно дијагностичко средство за утврђивања узрочника.

Када је то могуће извршиће се изолација *Brucella* spp. применом једноставних или селективних подлога и то култивацијом из секрета, који потиче из материце, побачених фетуса, секрета из вимена или ткива као што су лимфни чворови и репродуктивни органи мужјака и женке.

После изолације узрочника, врста и биоваријет се идентификују применом фаголизе, односно тестовима оксидативног метаболизма, културама, биохемијским и серолошким критеријумима. Ланчана реакција полимеразе (PCR) може да послужи и као додатни метод и као биотипски метод базиран на низу секвенци генома.

Технике и подлоге који се користе, њихова стандардизација и тумачење резултата морају бити у складу са одредбама Приручника за стандарде дијагностичких тестова и вакцина за копнене животиње који је издала Међународна организација за заштиту здравља животиња (ОИЕ), шесто издање, 2008.г., Поглавље 2.4.3 (бруцелоза говеда), Поглавље 2.7.2 (бруцелоза коза и оваца) и Поглавље 2.8.5 (бруцелоза свиња).

2. Имунолошки тестови

1) Стандарди

Код припреме свих антигена који се користе код брзе серумске аглутинације (БАБ), односно Розе Бенгал теста (РБТ), споре серумске аглутинације (САТ), реакције везивања комплемента (РВК) и млечно-прстенасте проба (МПП) мора се користити *Brucella abortus biovar 1* сој из Вејбриџа (Weybridge) број 99 или сој USDA 1119-3.

Стандардни референтни серум за БАБ, односно РБТ, САТ, РВК и МПП је референтни стандард Међународне организације за заштиту здравља животиња (ОИЕ), међународни референтни стандардни серум (ОИЕИСС), раније познат као други међународни анти-*Brucella abortus* серум Светске здравствене организације (ISAbS).

Стандардни референтни серуми за имуноензимску пробу (ЕЛИСА тестови) су:

- ОИЕИСС;
- слабо позитивни стандардни ЕЛИСА серум ОИЕ-а (ОИЕЕЛИСА_{WPSS});
- јако позитивни стандардни ЕЛИСА серум ОИЕ-а (ОИЕЕЛИСА_{SPSS});
- негативни стандардни ЕЛИСА серум ОИЕ-а (ОИЕЕЛИСА_{NSS}).

Стандардни референтни серуми за тест флуоресцентне поларизације (ФПА) су:

- слабо позитивни стандардни ЕЛИСА серум ОИЕ-а (ОИЕЕЛИСА_{WPSS});
- јако позитивни стандардни ЕЛИСА серум ОИЕ-а (ОИЕЕЛИСА_{SPSS});
- негативни стандардни ЕЛИСА серум ОИЕ-а (ОИЕЕЛИСА_{NSS}).

Стандардни серуми из ст. 3. и 4. ове подтачке могу се добити у Референтној лабораторије Европске Уније за бруцеозу (Veterinary Laboratories Agency, VLA), Вејбриџ (Weybridge), Велика Британија.

ОИЕИСС, ОИЕЕЛИСА_{WPSS}, ОИЕЕЛИСА_{SPSS} и ОИЕЕЛИСА_{NSS} су међународни примарни стандарди од којих се секундарни референтни национални стандарди за серуме (радни стандарди) морају успоставити за сваки тест из става 1. ове подтачке у свакој држави чланици.

2) ЕЛИСА тестови или друга обавезна испитивања за утврђивање бруцелозе говеда у серуму или млеку

(1) Материјал и реагенси

Коришћене лабораторијских и дијагностичких техника и тумачење добијених резултата мора да буде извршено у складу са дефиницијама из Поглавља 1.1.4 Приручника Међународне организације за заштиту здравља животиња (ОИЕ) за дијагностичка испитивања и вакцине за копнене животиње, шесто издање из 2008.

(2) Стандардизација испитивања

Стандардизација процедуре испитивања за појединачне узорке серума:

- раствор 1/150 (1 у 150 раствора) ОИЕИСС или 1/2 раствора ОИЕЕЛИСА_{WPSS} или 1/16 раствора ОИЕЕЛИСА_{SPSS} направљен у негативном серуму (или збирном негативном серуму) мора дати позитивну реакцију;

- 1/600 раствор OIEISC или 1/8 раствора OIEELISA_{WP}SS или 1/64 раствор OIEELISA_{SP}SS направљен у негативном серуму (или збирном негативном серуму) мора дати позитивну реакцију;

- OIEELISA_NSS стандард мора увек дати негативну реакцију.

Стандардизација процеса испитивања за збирне узорке серума:

- 1/150 раствор OIEISS или 1/2 раствор OIEELISA_{WP}SS или 1/16 раствор OIEELISA_{SP}SS направљеног у негативном серуму (или збирном негативном серуму) и поново разређен у негативном серуму према броју узорака који чине тај збирни узорак мора дати позитивну реакцију;

- OIEELISA_NSS мора увек дати негативну реакцију;

- тест мора да утврди инфекцију код једне животиње у групи животиња од чијих је серума и добијен збирни узорак.

Стандардизација процедуре испитивања збирног узорка млека или сурутке:

- 1/1 000 раствора OIEISS или 1/16 раствора OIEELISA_{WP}SS или 1/125 раствора OIEELISA_{SP}SS направљен у негативном серуму (или у збирном узорку негативних серума), а затим поново разређен у односу 1/10 у млеку са негативним налазом мора да да позитивну реакцију;

- OIEELISA_NSS разређен у односу 1/10 у млеку са негативним налазом мора увек дати негативну реакцију;

- тест мора да утврди инфекцију код једне животиње у групи животиња од чијег је млека или сурутке и добијен збирни узорак.

У складу са условима еталонирања за ЕЛИСА тест из ст. 2. и 3. подтачке (2) Стандардизација испитивања за узорке крвног серума дијагностичка осетљивост ЕЛИСА теста треба да буде иста или већа од БАБ, односно РБТ или РВК, при чему се мора узети у обзир епизоотиолошка ситуација на месту одакле потичу узорци.

У складу са условима еталонирања за ЕЛИСА тест из става 4. подтачке (2) Стандардизација испитивања за збирне узорке млека, дијагностичка осетљивост ЕЛИСА теста треба да буде иста или већа од МПП, при чему се узима у обзир не само епизоотиолошка ситуација на месту одакле потичу узорци, већ и просечни и очекивани екстремни услови узгоја животиња.

Када се ЕЛИСА тест користи за потребе сертификације или за утврђивање и одржавање статуса стада узимање збирног узорка серума врши се на начин да резултати испитивања без сумње укажу на конкретну животињу од које је узет узорак да би постао део збирног узорка. Свако испитивање у циљу потврђивања налаза мора се вршити на узорцима серума узетим од сваке животиње појединачно.

ЕЛИСА тест се може користити на узорку млека узетог са фарме која има најмање 30 % музних крава у фази лактације. Уколико се користи тај метод, морају се предузети мере којима се обезбеђује да се узорци, који се узимају у циљу вршења испитивања, могу, без сумње, повезати са конкретном животињом од које млеко потиче. Свако испитивање којим се потврђује налаз мора да се врши на узорцима серума узетим од сваке животиње појединачно.

3) Реакција везивања комплемената (РВК)

Антиген представља суспензију бактерија у фенол физиолошком раствору (NaCl 0,85 % (м/в) и фенолу на 0,5 % (в/в)) или у веронал пуферу. Антигени могу бити у концентрованом облику под условом да декларација на боци садржи и фактор разређења. Овај антиген се чува на температури од 4°C и не сме се замрзавати.

Инактивација серума врши се на следећи начин:

- серум говеда: 56 до 60°C у трајању од 30 до 50 минута;
- серум свиња: 60°C у трајању од 30 до 50 минута.

Да би се добила реакција највишег квалитета у току испитивања користи се виша доза коплемента од минималне за развијање потпуне хемолизе.

Током реакције везивања комплемената сваки пут се спроводи:

- контрола антикомплементарног ефекта серума;
- контрола антигена;
- контрола сензитивних црвених крвних зрнаца;
- контрола коплемента;
- контрола осетљивости серума на почетку реакције;
- контрола специфичности реакције применом негативног серума.

Израчунавање резултата обавља се на следећи начин:

- ОИЕИСС садржи 1000 међународних РВК јединица (ICFTU) по милилитру. Уколико се тестира ОИЕИСС одређеном методом резултат се приказује као титар (тј. као највећи директни раствор ОИЕИСС који даје 50% хемолизе, T_{OIEISS}). Резултати теста за серум коришћени током теста дати су у облику титра ($T_{TESTSERUM}$) и морају се изразити у ICFTU по ml. Да би се резултат титра изразио у ICFTU, фактор (F), који је неопходан за изражавање резултата за један непознати серум тест ($T_{TESTSERUM}$) који се тестира применом те методе у ICFTU мож се добити применом следеће формуле:

$$F = 1\ 000 \times 1/T_{OIEISS}$$

а садржај међународних РВК јединица по милилитру серума који се испитује ($ICFTUT_{ESTSERUM}$) може се израчунати применом следеће формуле:

$$ICFTUT_{ESTSERUM} = F \times T_{TESTSERUM}$$

Серум који садржи 20 или више ICFTU по ml сматра се позитивним.

4) Млечно прстенаста проба (МПП)

Антиген представља раствор у фенол физиолошком раствору (NaCl 0,85 % (м/в) и фенолу на 0,5 % (в/в)) бојеним хематоксилином. Антиген се чува на температури од 4°C и не сме се замрзавати.

Осетљивост антигена мора бити стандардизована у односу на ОИЕИСС и то тако да антиген доводи до позитивне реакције у 1/500 разређеном ОИЕИСС у млеку са негативним налазом, док раствор од 1/1 000 мора бити негативан.

Прстенаста проба врши се на узорцима који су узети из сваке канте са млеком или из садржаја сваке цистерне са млеком која долази са фарме.

Узорци млека се не смеју замрзавати, загревавати или снажно бућкати.

Реакција се добија употребом једне од следећих метода:

- на стубу млека од најмање 25 mm висине и на запремини млека од 1 ml којем је додато или 0,03 ml или 0,05 ml једног од стандардизованих антигена који су обојени;

- на стубу млека од најмање 25 mm висине, а запремина млека од 2 ml којем је додато 0,05 ml једног од стандардизованих антигена који су обојени;

- на запремину од 8 ml млека додаје се 0,08 ml једног од стандардизованих обојених антигена.

Ова мешавина млека и антигена мора се инкубирати на температури од 37°C у току 60 минута заједно са позитивним и негативним радним стандардима. Накнадном инкубацијом у трајању од 16 до 24 часа на температури од 4°C повећава се сензитивност теста.

Резултати се тумаче тако што се негативном реакцијом сматра ако је млеко обојено, а издвојена маст без боје, а позитивном реакцијом сматра се ако су млеко и издвојена маст на идентичан начин обојени или је млеко без боје, а издвојена маст обојена.

5) Брза серумска аглутинација (БАБ), односно Росе Бенгал тест (РБТ)

Антиген представља бактеријску суспензију у пуферованом *Brucella* антиген растварачу при рН вредности од $3,65 \pm 0,05$ који се боји применом „Бенгал” нијансе роза боје. Овај антиген се испоручује спреман за употребу и чува се на 4°C, а не сме се замрзавати.

За припрему антигена није од значаја концентрација бактеријских ћелија, али његова сензитивност се стандардизује у односу на OIEISS и то тако да антиген доводи до позитивне реакције са раствором серума од 1/45, односно до негативне реакције са раствором серума од 1/55.

Реакција се врши на следећи начин:

- серум (20-30 μ l) се помеша са истом запремином антигена на белој плочици или плочи од емајла како би се добила површина од око 2 cm у пречнику. Ова мешавина се лагано меша током четири минута на собној температури, а онда се посматра процес аглутинације под добрим осветљењем;

- може се користити аутоматизован метод, али мора да буде исто толико осетљив и прецизан као и ручни метод.

Свака видљива реакција сматра се позитивном, осим ако не дође до претераног сушења око ивица.

Позитивни и негативни радни стандарди треба да буду део сваке серије тестова.

6) Спора серумска аглутинација (САТ)

Овај антиген је бактеријска суспензија у фенол физиолошком раствору (NaCl 0,85 % (м/в) и фенола од 0,5 % (в/в)).

Формалдехид се не сме користити.

Антигени могу бити у концентрованом стању под условом да разређење које се користи буде назначено на декларацији на бочици.

EDTA се може додати суспензији антигена на 5 mM крајњег раствора, који се користи за тест како би се смањио степен лажно позитивних у тесту серумске аглутинације. После тога се рН од 7,2 мора прилагодити суспензији антигена.

OIEISS садржи 1 000 међународних јединица аглутинације.

За припрему антигена није од значаја концентрација бактеријских ћелија али његова осетљивост мора бити стандардизована у односу на OIEISS, и то тако да антиген доведе било до 50 % аглутинације са финалним разређењем серума од 1/600 до 1/1 000 било до 75 % аглутинације са финалним разређењем серума од 1/500 до 1/750.

Такође, препоручује се поређење реактивности нових и претходно стандардизованих серија антигена коришћењем групе, односно панела дефинисаних серума.

Овај тест врши се било коришћењем епрувета било микротитар плоча. Мешавина антигена и раствора серума се инкубира у трајању од 16 до 24 часа на температури од 37°C.

За сваки серум потребно је припремити најмање три раствора. Раствори сумњивог серума се припремају тако да се може видети реакција када је реч о граничној позитивној вредности у средњој епрувети (или код метода микротитар плоче).

Тумачење резултата:

- степен аглутинације *Brucelle* у серуму мора се изразити у интернационалним јединицама (ИЈ) по ml;

- серум који садржи 30 или више ИЈ по ml сматра се позитивним.

7) Испитивање флуоресцентном поларизацијом (ФПА)

ФПА врши се у стакленим епруветама или на микротитар плочи са 96 базенчића. Техника која се користи, стандардизација исте и тумачење резултата морају бити у складу са Поглављем 2.4.3 (бруцелоза говеда) Приручника Међународне организације за заштиту здравља животиња за дијагностичке тестове и вакцине за копнене животиње, шесто издање, 2008.

ФПА се стандардизује како би:

- резултати OIEELISA_{SP}SS и OIEELISA_{WP}SS били стално позитивни;

- 1/8 раствор OIEELISA_{WP}SS или 1/64 раствор OIEELISA_{SP}SS, који чине негативни серум (или збирни негативни серум) увек доводили до негативне реакције;

- OIEELISA_NSS увек доводио до негативне реакције.

У сваку серију тестова морају бити укључени следећи тестови: јак позитиван, слаб позитиван, негативан радни стандард серума (еталонирани према стандардном серуму ЕЛИСА Међународне организације за заштиту здравља животиња).

3. Допунски тестови

1) Кожни тест на бруцелозу (БСТ)

Услови за употребу БСТ су следећи:

- кожни тест на бруцелозу се не користи код сертификације животиња за промет са земљама чланицама ЕУ;

- кожни тест на бруцелозу је један од најспецифичнијих тестова за утврђивање бруцелозе код невакцинисаних животиња, међутим дијагноза се не може поставити само на основу позитивних интрадермалних реакција;

- говеда која су током испитивања негативно реаговала на неки од серолошких тестова и позитивно реаговала на БСТ сматрају се инфицираним или постоји сумња да су инфицирани;

- говеда која су током испитивања позитивно реаговала на неки од серолошких тестова могу се подвргнути на БСТ како би се потврдило тумачење резултата серолошких тестова, посебно када у стадима која су званично проглашена слободна од бруцелозе или стадима говеда слободна од бруцелозе не може искључити унакрсна реакција са антителима у односу на остале бактерије.

Овај тест се врши применом стандардизованих и дефинисаних препарата бруцела алергена који не садрже глатке антигене липополисахарида (ЛПС) будући да то може да изазове неспецифичне запаљенске реакције или да омета касније серолошке тестове.

Захтеви за производњу бруцелина морају бити у складу са Одељком Ц1 Поглавља 2.4.3 Приручника Међународне организације за заштиту здравља животиња за дијагностичке тестове и вакцине за копнене животиње, шесто издање, 2008.

Процедура тестирања обавља се на следећи начин:

- запремина од 0.1 ml бруцела алергена се убризгава интрадермално у каудални набор, кожу бока или бочну страну врата;

- резултати теста се читавају у периоду између 48 и 72 часа;

- дебљина коже на месту убода се мери кутинометром пре убризгавања и приликом поновног прегледа.

Приликом тумачење резултата јаке реакције се лако препознају по отоку и задебљањем ткива на месту апликације алергена, а задебљање коже од 1 до 2 mm сматра се позитивном реакцијом на БСТ.

2) Компетитивна ЕЛИСА (к-ЕЛИСА)

Услови за употребу к-ЕЛИСА теста су:

- к-ЕЛИСА тест се не користи за потребе сертификације животиња за промет са земљама чланицама ЕУ;

- говеда која су током испитивања позитивно реаговала на неки од серолошких тестова могу бити тестирана к-ЕЛИСА тестом што је додатна потврда резултата осталих серолошких тестова, посебно када се код стада званично слободних од бруцелозе или код стада говеда слободно од бруцелозе не може искључити унакрсна реакција са антителима у односу на остале бактерије или

елиминисати реакција због резидуалних антитела који настану као реакција на вакцинацију применом С19.

Процедура тестирања обавља се у складу са упутством које је дато у Одељку Б(2) Поглавља 2.4.3 Приручника Међународне организације за заштиту здравља животиња (ОИЕ) за дијагностичке тестове и вакцине за копнене животиње, шесто издање, 2008.

IV. МЕРЕ ЗА СПРЕЧАВАЊЕ ШИРЕЊА, СУЗБИЈАЊА И ИСКОРЕЊИВАЊА БРУЦЕЛОЗЕ ГОВЕДА

Члан 6.

Случај појаве болести бруцелоза говеда јесте појава болести код једне или више животиња у стаду, која је службено потврђена.

Оболелим од бруцелозе сматра се говедо које је дало позитивну реакцију на најмање два прописана серолошка теста и код којег је микробиолошким испитивањем одговарајућих узорака потврђена бруцелоза.

Серолошка и микробиолошка испитивања из става 2. овог члана спроводе се у складу са последњим издањем OIE Manual of Standards for Diagnostic Test and Vaccines.

Члан 7.

Када је бруцелоза говеда у стаду службено потврђена ветеринарски инспектор поред мера из члана 4. овог правилника налаже и мере за спречавање ширења и сузбијања болести на зараженом газдинству, и то:

- 1) издвајање и изолација говеда код којих је бруцелоза службено потврђена и која су била у контакту са зараженим говедима;
- 2) убијање оболелих говеда и нешкодљиво уклањање лешева под надзором ветеринарског инспектора најкасније у року од седам дана;
- 3) дијагностичко испитивање на бруцелозу свих пријемчивих животиња на газдинству без одлагања;
- 4) забрана употребе млека свих оболелих крава из зараженог стада;
- 5) хитно нешкодљиво уклањање и уништавање побачених фетуса, мртворођене телади, телади угинуле од бруцелозе после телења, као и плаценти, осим ако би их претходно требало дијагностички испитати;
- 6) дезинфекција и нешкодљиво уклањање сламе, стајњака и горњих слојева земље, као и других предмета који су дошли у контакт са зараженом животињом, плацентом или другим зараженим материјалом;
- 7) паковање или дезинфекција и одлагање стајњака из заражених објеката на место до кога животиње не могу доћи, дезинфекција течног измета (осоке) оболелих животиња и забрана коришћења стајњака за ђубрење обрадивих површина најмање три недеље.

Ветеринарски инспектор може одобрити клање претходно кастрираних

говеда са газдинства, ако су из стада издвојене животиње оболеле од бруцелозе говеда.

Члан 8.

После уклањања оболелих говеда са газдинства, а пре увођења нових животиња у стадо, опрема и предмети који су коришћени у раду са животињама чисте се, перу и дезинфикују под надзором ветеринарског инспектора.

Поновно коришћење пашњака на којима су боравиле оболеле животиње дозвољено је 60 дана пошто су их оболеле животиње напустиле. Изузетно, дозвољено је коришћење пашњака за кастриране животиње 30 дана пошто су их напустиле оболеле животиње под условом да се ове животиње са пашњака упућују директно на клање или се премештају у објекте за тов из којих се упућују директно на клање.

Место на коме је обављен утовар оболелих животиња, превозна средства и опрема која је била у контакту са оболелим животињама или материјалом који потиче од оболелих животиња или са којим су исте биле у контакту чисти се, пере и дезинфикује после употребе, утовара и превоза оболелих животиња.

Врста и концентрација дезинфекционих средстава мора бити у складу са посебним прописима.

Члан 9.

После уклањања оболелих животиња и спроведених мера из чл. 7. и 8. овог правилника спроводи се тестирање говеда на бруцелозу у стаду прописаним тестовима, како би се потврдило да је болест искорењена.

Нове животиње за приплод не уводе се у стадо све док преостале животиње у стаду намењене за приплод старије од 12 месеци не дају негативну реакцију на један или два прописана серолошка теста на бруцелозу.

Члан 10.

Сматра се да је престала болест бруцелоза говеда у дворишту после успешног спровођења свих мера из чл. 7, 8. и 9. овог правилника и обављених прописаних дијагностичких испитивања.

Члан 11.

Ветеринарски инспектор спроводи мере контроле у стадима говеда у којима је бруцелоза искорењена како би се спречило поновно заражавање говеда из других извора заразе и врши надзор над сваким увођењем говеда у стадо и премештањем говеда унутар стада, које је укључено у програм искорењивања бруцелозе.

Члан 12.

Говеда код којих је потврђена бруцелоза не лече се.

Говеда се не вакцинишу против бруцелозе.

V. ИСПИТИВАЊЕ СТАДА ГОВЕДА РАЗЛИЧИТОГ СТАТУСА

Члан 13.

Службено серолошко испитивање спроводи се у стадима типа Б1 и Б2 све док та стада не постану стада типа Б3 и Б4.

Члан 14.

Све женске животиње и сви бикови из стада типа Б1 уводе се у стадо типа Б2 ако су:

1) старије од 12 месеци и службено серолошки испитане у року од 30 дана пре стављања у промет, што се потврђује уверењем о здравственом стању и месту порекла животиње (у даљем тексту: уверење);

2) до доласка у стадо изоловане најмање 60 дана и ако су старије од 12 месеци испитане серолошки пре мешања са другим животињама.

Све женске животиње и сви бикови се из стада типа Б2 уводе у друго стадо типа Б2 ако:

1) су старије од 12 месеци и службено серолошки испитане у року од 30 дана пре стављања у промет, што се потврђује уверењем;

2) током транспорта не долазе у контакт са животињама из стада нижег здравственог статуса.

Премештање животиња из стада Б3 и Б4 спроводи се на основу дијагностичког испитивања на бруцелозу и одређивања статуса стада слободно и службено слободно од бруцелозе говеда, у складу са овим правилником.

Члан 15.

Мере контроле из члана 11. овог правилника примењују се и на стада слободна од бруцелозе и стада службено слободна од бруцелозе говеда.

VI. НАЧИН УТВРЂИВАЊА СТАТУСА ГАЗДИНСТВА СЛОБОДНОГ ОД БРУЦЕЛОЗЕ ГОВЕДА

Члан 16.

Статус газдинства слободно од бруцелозе говеда стиче се ако се утврди да је стадо службено слободно од бруцелозе говеда.

Одређивање статуса говеда односи се на сва говеда са изузетком мушких животиња за тов, под условом да долазе из стада службено слободно од бруцелозе, да се мушке животиње за тов неће користити за приплод и да ће се слати директно на клање.

Члан 17

Стадо је службено слободно од бруцелозе говеда ако:

- 1) ниједно говедо није имало клиничке симптоме бруцелозе најмање последњих шест месеци;
- 2) у њему нема говеда која су вакцинисана против бруцелозе;
- 3) тестови којима су подвргнута сва говеда у стаду која су старија од 12 месеци покажу негативне резултате, у складу са чланом 5. овог правилника, и то:
 - два серолошка испитивања обављена у размаку дужем од три, а краћем од 12 месеци;
 - три теста на узорцима млека обављена у размаку од три месеца, а затим у периоду од најмање шест недеља серолошки тест;
- 4) говедо које се уводи у стадо потиче из стада службено слободно од бруцелозе и ако је тест аглутинације код говеда старијих од 12 месеци показао титар на бруцелу мањи од 30 ИЈ/ml или ако је било који други тест одобрен од надлежног органа рађен 30 дана пре или 30 дана после увођења нове животиње у стадо показао негативан резултат.

У случају из тачке 4) овог члана животиње морају бити физички изоловане од других животиња у стаду док се не докаже да су негативне на бруцелозу.

Члан 18.

Говедо задржава статус стада службено слободно од бруцелозе говеда ако:

- 1) се један од следећих тестова у складу са чланом 5. овог правилника обавља једном годишње са негативним резултатом, и то:
 - три млечно прстенасте пробе у размацима од најмање три месеца;
 - три ELISA теста на млеку у размацима од најмање три месеца;
 - две млечно прстенасте пробе на млеку у размаку од најмање три месеца, а након најмање шест недеља прописани серолошки тест;
 - два ELISA теста на млеку у размаку од најмање три месеца, а након најмање шест недеља прописани серолошки тест;
 - два серолошка теста у размаку не краћем од три месеца и не дужем од 12 месеци;
 - министарство надлежно за послове ветеринарства на територији земље или једног њеног дела која није службено слободна од бруцелозе, али где су сва стада говеда подвргнута службеном програму сузбијања бруцелозе промени учесталост рутинских тестирања на следећи начин:
 - када је раширеност болести до 1% од укупног броја говеда у стаду потребно је два пута годишње урадити млечно прстенасте пробе или ELISA тест на узорку млека у размаку од најмање три месеца или један прописани серолошки тест;
 - када је најмање 99,8% говеда у стаду службено слободно од бруцелозе током најмање четири године размак између тестирања може се продужити на две године уколико су све животиње старије од 12 месеци тестиране или се тестирање може ограничити на животиње старије од 24 месеца, уколико се

стадо континуирано тестира сваке године. Контрола се обавља прописаним серолошким тестовима;

2) говедо које се уводи у стадо потиче из стада службено слободно од бруцелозе и ако је тест аглутинације код говеда старијих од 12 месеци показао титар на бруцелу мањи од 30 ИЈ/ml или ако је било који други тест одобрен од надлежног органа рађен 30 дана пре или 30 дана после увођења нове животиње у стадо показао негативан резултат.

У случају из тачке 2) овог члана животиње морају да буду физички изоловане од других животиња у стаду док се не докаже да су негативне на бруцелу.

Када проценат стада заражен бруцелом не прелази 0,2% у подручју током најмање две године и када животиње потичу из стада службено слободно од бруцелозе говеда које током транспорта нису дошле у контакт са животињама нижег здравственог статуса не раде се тестови из тачке 2) овог члана.

Члан 19.

Статус стада службено слободно од бруцелозе може се суспендовати или укинути, ако:

1) више нису испуњени услови из чл.16. и 17. овог правилника;

2) је једна или више животиња сумњива на бруцелозу говеда и ако су сумњиве животиње заклане или изоловане тако да је онемогућен сваки директан или индиректан контакт са другим животињама.

У случају да су животиње заклане суспензија се може повући ако два теста серумске аглутинације спроведена у складу са чланом 5. овог правилника код свих говеда старијих од 12 месеци покажу титар антитела мањи од 30 ИЈ/ml. Први тест се обавља најмање 30 дана после уклањања животиња из стада, а други 60 дана после тога.

У случају да су животиње изоловане од других животиња у стаду оне се могу поново увести у стадо и статус стада се може обновити:

1) после теста серумске аглутинације који је показао титар антитела мањи од 30 ИЈ/ml и добијања негативног резултата теста везивања комплемента;

2) после добијања негативног резултата на било које комбинације тестова одобрене у ту сврху од стране надлежног органа.

Статус стада службено слободан од бруцелозе говеда укинуће се ако резултати лабораторијских тестова или епизоотиолошких истраживања потврде присуство бруцеле у стаду.

Статус стада се неће обновити све док се сва преостала говеда која су била присутна у стаду за време избијања болести не закољу или док се стадо не подвргне контролном тестирању и ако све животиње старије од 12 месеци не покажу негативан резултат на два узастопна теста у размаку од 60 дана, при чему се прво тестирање обавља најмање 30 дана после уклањања позитивних животиња.

У случају говеда која су у време избијања болести била гравидна завршна контрола се спроводи најмање 21 дан пошто се последња гравидна животиња отели.

Члан 20.

Стадо говеда је слободно од бруцелозе ако испуњава услове из члана 16. став 1. тач.1) и 2) овог правилника.

Члан 21.

Статус стада слободан од бруцелозе задржава се ако:

1) су говеда подвргнута једном од режима тестирања из члана 17. став 1. тачка 1) овог правилника;

2) су говеда која се уводе у стадо испуњавала услове из члана 17. став 1. тачка 2) овог правилника или потичу из стада слободно од бруцелозе при чему код животиња старијих од 12 месеци, 30 дана пре или у изолацији после увођења у стадо тест аглутинације показује титар мањи од 30 ИЈ/ml и имају негативан резултат теста везивања комплемента, у складу са чланом 5. овог правилника

Члан 22.

Статус стада слободно од бруцелозе може се укинути ако:

1) више нису испуњени услови из чл.19. и 20. овог правилника;

2) се на основу резултата лабораторијских тестова или епизоотиолошких истраживања посумња да једна или више животиња старија од 30 месеци има бруцелозу, а сумњиве животиње су заклане или изоловане како би се спречио директан или индиректан контакт са другим животињама.

У случају да су животиње заклане суспензија се може повући ако два теста серумске аглутинације спроведена у складу са чланом 5. овог правилника код свих говеда старијих од 12 месеци покажу титар антитела мањи од 30 ИЈ/ml. Први тест се обавља најмање 30 дана после уклањања животиња из стада, а други 60 дана после тога.

У случају када су животиње изоловане од других животиња у стаду могу се поново увести у стадо и статус стада се може обновити ако накнадни титар серумске аглутинације буде нижи од 30 ИЈ/ml и ако резултат теста везивања комплемента буде негативан или ако резултат другог теста одобреног у ту сврху од стране надлежног органа буде негативан.

Статус стада слободно од бруцелозе повући ће се ако резултати лабораторијских тестова или епизоотиолошких истраживања потврде присуство бруцеле у стаду.

Статус стада се неће обновити све док се сва преостала говеда која су била присутна у стаду за време избијања болести не закољу или док се стадо не подвргне контролном тестирању и све животиње старије од 12 месеци не покажу негативан резултат на два узастопна теста у размаку од 60 дана при чему се прво тестирање обавља најмање 30 дана после уклањања позитивних животиња.

У случају говеда која су у време избијања болести била гравидна завршна контрола се спроводи најмање 21 дан пошто се последња гравидна животиња отели.

VII. ПРЕЛАЗНЕ И ЗАВРШНЕ ОДРЕДБЕ

Члан 23.

Даном ступања на снагу овог правилника престају да важе одредбе Правилника о начину спровођења мера за сузбијање и искорењивање бруцелозе говеда, оваца, коза, свиња и паса („Службени гласник РС”, број 36/05) у делу који се односи на говеда.

Члан 24.

Овај правилник ступа на снагу осмог дана од дана објављивања у „Службеном гласнику Републике Србије”, осим одредаба чл. 13. – 22. овог правилника које ће се примењивати од 1. јануара 2010. године.

Број: 110-00-139/2009-09
У Београду, 10. јула 2009. године

МИНИСТАР
др Саша Драгин