

Na temelju članka 15. stavak 2. Zakona o veterinarstvu u Bosni i Hercegovini ("Službeni glasnik BiH", broj 34/02) i članka 17. Zakona o Vijeću ministara Bosne i Hercegovine ("Službeni glasnik BiH", broj 30/03 i 42/03), Vijeće ministara Bosne i Hercegovine, na prijedlog Ureda za veterinarstvo Bosne i Hercegovine, na 89. sjednici održanoj 1. kolovoza 2005. godine, donijelo je

ODLUKU

O MJERAMA KONTROLE BRUCELOZE MALIH PREŽIVAČA I UVJETIMA ZA ODREĐIVANJE ZDRAVSTVENOG STATUSA STADA OVACA I KOZA GLEDE BRUCELOZE MALIH PREŽIVAČA

Članak 1.

(Predmet odluke)

Ovom odlukom propisuju se mjere za otkrivanje, suzbijanje, kontrolu i iskorjenjivanje bruceloze ovaca i koza, kao i uvjeti za određivanje statusa posjeda, epidemioloških jedinica, odnosno Bosne i Hercegovine glede bruceloze malih preživača.

Članak 2.

(Značenje pojmova)

Pojmovi upotrijebljeni u ovoj odluci imaju slijedeće značenje:

Životinja - svaka životinja pripadnik potfamilije Caprinae;

Stado - životinja ili skupina životinja držanih na posjedu, a ako se na posjedu odvojeno drži više od jednoga stada, sve odvojene skupine životinja moraju imati isti zdravstveni status;

Posjed - označava svaki objekt, zgradu ili mjesto, a u slučaju otvorenog prostora, bilo koje mjesto na kojem se stada životinja uzgajaju, drže ili se na neki drugi način njima postupa;

Posjed ovaca i koza službeno slobodan od bruceloze - posjed koji udovoljava uvjetima iz dodatka I. koji je sastavni dio ove odluke;

Epidemiološka jedinica - najmanje zemljopisno područje u Bosni i Hercegovini za koje postoji utvrđen organ uprave mjerodavan za veterinarske poslove i na kojem djeluje jedna ili više veterinarskih organizacija;

Službeni nadzor - nadzor nad sprovođenjem mjera određenih ovom odlukom koji provode veterinarski inspektori Ureda za veterinarstvo Bosne i Hercegovine, glavni veterinarski inspektori u entitetima i Brčko Distriktu Bosne i Hercegovine;

Službena kontrola - neposredna kontrola nad sprovođenjem mjera određenih ovom odlukom koju sprovode mjerodavni veterinarski inspektori odgovorni za zdravlje životinja u epidemiološkoj jedinici;

Službena potvrda bruceloze - pozitivan rezultat laboratorijske pretrage uzorka krvi životinje sa posjeda, uzetog temeljem naredbe mjerodavnog veterinarskog inspektora i urađene u ovlaštenom laboratoriju na način opisan u dodatku II, koji je sastavni dio ove odluke;

Mjerodavna tijela - Ured za veterinarstvo Bosne i Hercegovine (u daljnjem tekstu: Ured), entitetska ministarstva poljoprivrede, Odjel za poljoprivredu Brčko Distrikta, županijska i općinska tijela mjerodavna za veterinarske poslove;

Veterinarska organizacija - pravna osoba koja ima koncesiju, ili je na neki drugi zakoniti način ovlaštena od strane mjerodavnih tijela za obavljanje javne veterinarske službe i pružanje primarne veterinarske zaštite životinja na određenom području.

Članak 3.

(Postavljanje sumnje)

(1) Vlasnik je dužan, bez odlaganja, izvijestiti veterinarsku organizaciju o svakoj promjeni zdravstvenog stanja životinja na posjedu i obavezno prijaviti svaki pobačaj životinja.

(2) Veterinar obvezno postavlja sumnju na brucelozu u slijedećim slučajevima:

a) pojava pobačaja kod životinja u zadnjoj trećini graviditeta;

b) zaostajanje posteljice nakon pobačaja;

Službeni glasnik BiH br.: 70/05

- c) dijagnoza orchitisa i epididimitisa kod muških životinja,
 - d) pozitivan rezultat ELISA testa;
 - e) utvrđena epidemiološka veza sa zaraženim posjedom.
- (3) Mjerodavni veterinarski inspektor obvezno postavlja sumnju o prisustvu bruceloze kod životinja na posjedu, u slučaju opisanom u st. 2. i 3. članka 12. ove odluke.
- (4) Sumnja o prisustvu bruceloze na posjedu može se postaviti i tijekom provođenja službenog nadzora.

Članak 4.

(Postupak u slučaju postavljene sumnje)

- (1) Veterinar iz mjerodavne veterinarske organizacije koji na poziv vlasnika ili na temelju osobne stručne procjene posumnja na prisustvo bruceloze na posjedu, u stadiu ili kod pojedinačne životinje dužan je obavijestiti mjerodavnog veterinarskog inspektora, koji odmah i bez odgode naređuje provođenje postupaka za potvrđivanje ili isključivanje prisustva bolesti.
- (2) U slučaju postavljanja sumnje na prisustvo bruceloze na posjedu, mjerodavni veterinarski inspektor obvezno naređuje slijedeće mjere:
- a) stavljanje posjeda iz stavka 1. ovoga članka pod službenu kontrolu;
 - b) izdvajanje i izolaciju unutar posjeda te laboratorijsku pretragu sumnjivih životinja, na način opisan u dodatku II, ove odluke;
 - c) označavanje i popisivanje svih životinja na imanju;
 - d) zabranu prometa životinja s i/ili na imanje;
 - e) zabranu stavljanja u promet proizvoda životinjskoga podrijetla namijenjenih ishrani ljudi (sira, mlijeka);
 - f) zabranu stavljanja u promet gnoja i gnojiva.
- (3) Mjerodavni veterinarski inspektor provodi službenu kontrolu provedbe navedenih mjera sve dok se sumnja na brucelozu službeno ne isključi ili prisustvo bolesti potvrdi.
- (4) Sumnja na prisustvo bruceloze na posjedu prestaje, ako je pretragom krvi svih sumnjivih životinja to potvrđeno, na način opisan u dodatku II, ove odluke.

Članak 5.

(Postupak u slučaju službene potvrde)

- (1) Posjed se smatra zaraženim ako se kod barem jedne životinje na posjedu službeno potvrdi bruceloza.
- (2) Ako je bruceloza malih preživača službeno potvrđena na posjedu, mjerodavni veterinarski inspektor dužan je narediti minimalno slijedeće mjere za sprječavanje širenja bolesti:
- a) zabraniti svako kretanje iz/u zaraženo stado, osim ako su životinje iz zaraženoga stada predmet uklanjanja iz stada na način opisan u članku 6. ove odluke;
 - b) izdvajanje i izolaciju životinja kod kojih je bruceloza službeno potvrđena, te popis brojeva ušnih markica izdvojenih životinja;

Službeni glasnik BiH br.: 70/05

- c) vađenje krvi svim životinjama na posjedu i upućivanje na laboratorijsku pretragu na način opisan u dodatku II, ove odluke, bez odgađanja;
- d) obvezno uklanjanje s posjeda svih životinja kod kojih je službeno potvrđena bruceloza, na način opisan u članku 6. ove odluke;
- e) držanje mlijeka od zaraženih životinja na imanju na posebnom mjestu, odvojeno od mlijeka zdravih životinja;
- f) mlijeko od pozitivnih životinja smije biti uporabljivo samo na imanju s kojega potječe, pod uvjetom da je prošlo odgovarajuću termičku obradu, samo kao hrana za životinje;
- g) mlijeko od nezaraženih životinja na zaraženome posjedu može biti stavljeno u promet samo ako je prošlo odgovarajuću termičku obradu;
- h) neškodljivo uklanjanje pobačenih fetusa, lohija, placenti i uginulih životinja, što žurnije;
- i) dezinfekciju zaraženoga objekta i zaraženoga dvorišta te predmeta s kojima je zaražena životinja bila u dodiru, prije njihove ponovne uporabe, što žurnije;
- j) dezinfekciju i neškodljivo uklanjanje (zakopavanje) prostirke, slame, stelje i gornjih slojeva zemlje gdje je boravila zaražena životinja;
- k) odlaganje gnoja s mjesta gdje su boravile zaražene životinje tako da do njega životinje na farmi ne mogu doći, takav gnoj mora biti tretiran odgovarajućim odobrenim dezinficijensom i pohranjen najmanje tri tjedna. Ako je gnoj potpuno prekriven, korištenje dezinficijensa nije potrebno. Tekući gnoj (gnojevka) obavezno mora biti dezinfikovana. Gnoj se ni na koji način ne smije koristiti za gnojidbu vrtnoga povrća koje se stavlja u promet;
- l) epidemiološko istraživanje u okviru kojeg moraju biti prikupljeni, najmanje, sljedeći podaci:
 - 1) broj životinja u stadu;
 - 2) kretanje životinja sa i na imanje u posljednjih 6 mjeseci;
 - 3) vrijeme pojave prvih znakova bolesti;
 - 4) mogući izvori zaraze na zaraženom imanju;
 - 5) popis drugih posjeda koja posjeduju životinje koje su mogle biti zaražene iz istoga/istih izvora;
 - 6) pretraživanje svih životinja starijih od 6 mjeseci, na posjedu/posjedima koji su epidemiološki povezani sa zaraženim posjedom na način opisan u dodatku II ove odluke.

Članak 6.

(Uklanjanje životinja sa posjeda)

- (1) Životinje sumnjive na brucelozu i životinje kod kojih je službeno potvrđena bruceloza, mogu se ukloniti sa posjeda samo na jedan od sljedećih načina:
 - a) upućivanjem na klanje u sanitarnu klaonicu koju za tu namjenu odredi nadležni veterinarski inspektor, ili;
 - b) ubijanjem i neškodljivim uklanjanjem lešina pod nadzorom mjerodavnog veterinarskog inspektora, u slučaju da nisu stvoreni preduvjeti za provođenje procedure opisane pod točkom a) ovog stavka.

Službeni glasnik BiH br.: 70/05

- (2) Životinje kod kojih je službeno potvrđena bruceloza, obvezno se uklanjaju s posjeda čim prije, a najkasnije sedam dana nakon što je vlasniku ili držatelju pozitivnih životinja dostavljeno rješenje o provođenju mjere uklanjanja životinja s posjeda.
- (3) Vlasnik ili držatelj odgovoran za zaražene životinje iz stavka 1. ovog članka obavezan je izvršiti naređenu mjeru i isporučiti zaražene životinje u roku iz stavka 2. ovog članka.
- (4) Procedure utvrđivanja visine naknade i postupak za isplatu naknade za uklonjene životinje iz stada provode se sukladno čl. 46. i 47. Zakona o veterinarstvu u Bosni Hercegovini.

Članak 7.

(Mjere nakon uklanjanja životinja sa posjeda)

- (1) Nakon uklanjanja životinja sukladno članku 6. ove odluke, a prije uvođenja novih životinja na posjed, objekt i druga mjesta na/u kojima se drže životinje, oprema za mužnju, alati za čišćenje staje ili dvorišta, kontejneri te druga oprema koja se koristi u radu sa životinjama moraju biti oprani i dezinficirani pod službenom kontrolom i u skladu s preporukama mjerodavnog veterinara.
- (2) Ponovo korištenje pašnjaka na kojima su pasle zaražene životinje dopušteno je 60 dana nakon što je zadnja zaražena životinja napustila te pašnjake.
- (3) Prijevozna sredstva kojima su prevožene zaražene životinje moraju biti oprana i dezinficirana, pod službenom kontrolom i u skladu s preporukama mjerodavnog veterinarskog inspektora.
- (4) Novonabavljene životinje za rasplod ne smiju biti uvedene na posjed na kojem je bilo provedeno uklanjanje životinja s posjeda sukladno članku 6. ove odluke, sve do proglašenja prestanka bolesti na posjedu sukladno članku 8. ove odluke.

Članak 8.

(Prestanak bolesti)

Smatra se da je bruceloza malih preživača na posjedu prestala, nakon uspješnog provođenja svih mjera navedenih u čl. 5., 6. i 7. ove odluke i obavljenog pretraživanja, na način opisan u dodatku I ove odluke.

Članak 9.

(Uvođenje ovaca i koza u stado)

Kod uvođenja ovaca i koza u stado, životinje namijenjene za rasplod i tov, moraju udovoljavati uvjetima navedenim u dodatku I, ove odluke.

Članak 10.

(Liječenje i cijepljenje)

Zabranjeno je liječenje životinja oboljelih od bruceloze. Cijepljenje životinja se može provoditi isključivo na temelju odobrenja Ureda.

Članak 11.

(Promet životinjama)

Životinje se mogu naći u prometu samo ako potječu sa posjeda službeno slobodnog od bruceloze.

Članak 12.

(Sezonska ispaša životinja)

(1) Na sezonsku ispašu mogu se upućivati isključivo stada ovaca i koza koja potječu sa posjeda službeno slobodnih od bruceloze.

(2) Ako je bruceloza dijagnosticirana kod životinja koje su se vratile sa sezonskih pašnjaka i koje su na pašnjacima boravile zajedno sa životinjama s drugih posjeda, sve životinje koje su bile u izravnom ili neizravnom doticaju sa životinjama sa zaraženoga posjeda smatraju se sumnjivim, te se na svim posjedima na kojima borave takve životinje primjenjuju procedure opisane u članku 4. ove odluke.

(3) U slučaju opisanom u stavku 2. ovog članka, mjerodavni veterinarski inspektor je dužan obavijestiti Ured i sve mjerodavne veterinarske inspektore na čijem području se nalaze posjedi na kojima borave sumnjive životinje.

Članak 13.

(Određivanje statusa)

(1) Uvjeti koji su potrebni za dobijanje i zadržavanje statusa, mjere koje se poduzimaju u slučaju sumnje na bolest ili potvrde bolesti na posjedu, kao i uvjeti za uvođenje ovaca ili koza na posjed službeno slobodan od bruceloze propisani su u dodatku I ove odluke.

(2) Status posjeda određuje mjerodavni veterinarski inspektor na prijedlog veterinarske organizacije, rješenjem za svaki posjed pojedinačno.

(3) Veterinarska organizacija je dužna formirati i voditi upisnik svih posjeda ovaca i koza koji se nalaze na području njihove mjerodavnosti, evidentirati svako uzorkovanje, dostavljanje uzoraka krvi na laboratorijsku pretragu, te čuvati rezultate laboratorijskih nalaza, evidentirati svaki promet životinja sa i na posjed koji se nalazi u upisniku, tako da se u svakom trenutku može nesumnjivo utvrditi podrijetlo i zdravstveni status životinja na posjedu.

(4) Kada se steknu preduvjeti za proglašenje posjeda službeno slobodnim od bruceloze, kako je određeno u dodatku I, vlasnik ili držatelj životinja podnose zahtjev za određivanje statusa posjeda veterinarskoj organizaciji.

(5) Veterinarska organizacija, dostavlja mjerodavnom veterinarskom inspektoru zahtjev za utvrđivanje statusa pojedinog posjeda, sve podatke s kojima veterinarska organizacija raspolaže u vezi posjeda i nalaze laboratorijskih pretraga koje su na posjedu provedene.

(6) Na temelju dostavljene dokumentacije, mjerodavni veterinarski inspektor donosi rješenje o statusu posjeda, ako su ispunjeni svi preduvjeti određeni u odredbama dodatka I, ove odluke.

(7) Mjerodavni veterinarski inspektori dužni su jednom godišnje, u prosincu, dostaviti Uredu popis svih registriranih posjeda ovaca i koza kojima je određen status.

(8) Status države odnosno epidemiološke jedinice službeno slobodne od bruceloze određuje Ured, kada su ispunjeni svi uvjeti navedeni u dodatku I ove odluke.

Članak 14.

(Provođenje laboratorijskih pretraga)

(1) Laboratorijska pretraživanja na brucelozu malih preživača koja se provode temeljem ove odluke, mogu se sprovoditi samo u laboratorijima ovlaštenim temeljem "Odluke o uvjetima koje moraju ispunjavati ovlašteni veterinarski dijagnostički laboratoriji" ("Službeni glasnik BiH", broj 25/04 i 16/05).

(2) Način izvođenja laboratorijskih pretraživanja opisan je u dodatku II, ove odluke.

Službeni glasnik BiH br.: 70/05

- (3) Superanaliza se provodi u ovlaštenoj laboratoriji za brucelozu Bosne i Hercegovine, koju posebnom odlukom određuje Vijeće ministara Bosne i Hercegovine.
- (4) Prva pojava bruceloze malih preživača u nekoj epidemiološkoj jedinici mora biti potvrđena u ovlaštenoj laboratoriji za brucelozu Bosne i Hercegovine.
- (5) U slučajevima kada i pored višekratnih ponavljanja, nije moguće nedvojbeno utvrditi rezultat testa, ovlašteni laboratorij za brucelozu u Bosni i Hercegovini je dužan poslati takav uzorak u najbližu ovlaštenu laboratoriju za brucelozu OIE-a i o tome izvijestiti Ured.

Članak 15.

(Program monitoringa)

- (1) Program monitoringa bruceloze malih preživača, ovisno o potrebi, donosi Ured.
- (2) Program monitoringa iz stavka 1. ovog članka obvezno sadrži:
- a) podatke o proširenosti bolesti u zemlji;
 - b) razloge i svrhu provođenja Programa;
 - c) procjenu troškova i koristi od provedbe Programa;
 - d) granice područja na kojemu će se Program provoditi;
 - e) zdravstveni status pojedinih kategorija životinja na posjedima obuhvaćenim Programom i standard koji se treba doseći za pojedine kategorije životinja;
 - f) metode pretraživanja koje će biti korištene;
 - g) laboratorij koji će provoditi pretraživanje;
 - h) način provedbe monitoringa.

Članak 16.

(Odgoda primjene)

- (1) Odredbe članka 11. ove odluke početak će se primjenjivati od 30.06.2006. godine.
- (2) Do početka primjene članka 11. ove odluke, krv svih ovaca i koza koje se nalaze u prometu, mora biti pregledana najviše 10 dana prije utovara, odnosno početka kretanja, na način opisan u dodatku II, ove odluke, a rezultati pretraga kod svih životinja trebaju biti negativni.
- (3) Na veterinarskoj svjedodžbi koji prati pošiljku životinja iz stavka 2. ovog članka treba biti posebno naznačen datum provedene pretrage, ovlašteni laboratorij u kojem je pretraga rađena i broj protokola s laboratorijskog nalaza koji se odnosi na provedenu pretragu.
- (4) Odredbe navedene u dodatku II, početak će se primjenjivati nakon tri mjeseca od dana stupanja na snagu ove odluke.

Članak 17.

(Prijelazne odredbe)

Danom stupanja na snagu ove odluke prestaju da važe Pravilnik o mjerama za suzbijanje bruceloze goveda, ovaca, koza i svinja ("Službeni list RBiH", br. 2/92 i 13/94) i Pravilnik o mjerama za suzbijanje bruceloze goveda, ovaca, koza i svinja ("Službeni glasnik RS", broj 5/97) koje se odnose na ovce i koze.

Članak 18.

(Stupanje na snagu)

Ova odluka stupa na snagu osmog dana od dana objave u "Službenom glasniku BiH".

DODATAK I

I. POSJED OVACA ILI KOZA SLUŽBENO SLOBODAN OD BRUCELOZE

A. Dobivanje statusa

Posjed sa stadima ovaca ili koza službeno slobodan od bruceloze je:

a) posjed:

- 1) na kojemu nijedna životinja prijemljiva na brucelozu nije imala kliničkih niti bilo kojih drugih znakova bruceloze u posljednjih najmanje 12 mjeseci;
 - 2) na kojemu nema ni jedne ovce ili koze koja je cijepljena protiv bruceloze;
 - 3) na kojemu je provedeno dvokratno pretraživanje ovaca i koza u razmaku ne manjem od 6 mjeseci i ne dužem od 1 godine, s negativnim rezultatom, na način opisan u dodatku B, dijelu I stavak 1. ove odluke, na svim ovacama i kozama na posjedu, starijim od 6 mjeseci, i
 - 4) na kojemu se nakon provedenoga pretraživanja iz prethodnog stavka točke 1, nalaze samo životinje ojanjene ili ojarane na tome posjedu ili koje su došle s posjeda koji je službeno slobodan od bruceloze, sukladno uvjetima iz točke D ovoga dijela, i
 - 5) koje, nakon utvrđivanja statusa posjeda službeno slobodnog od bruceloze, i dalje udovoljava uvjetima iz točke B ovoga dijela.
- b) posjed koji se nalazi u epidemiološkoj jedinici službeno slobodnoj od bruceloze.

B. Zadržavanje statusa

U slučaju kada se posjed sa stadima ovaca ili koza službeno slobodan od bruceloze nalazi u epidemiološkoj jedinici koja nije proglašena službeno slobodnom od bruceloze, i na koji se, nakon proglašenja statusa posjeda službeno slobodnog od bruceloze, nove životinje uvode sukladno uvjetima iz točke D ovoga dijela, na tom imanju treba jednom godišnje pretražiti reprezentativan broj ovaca i koza starijih od 6 mjeseci. Posjed može zadržati status posjeda službeno slobodnog od bruceloze, ako su rezultati pretraživanja negativni.

Reprezentativni broj životinja koji na službeno slobodnom posjedu treba pregledati sastoji se od:

- a) svih nekastriranih muških životinja starijih od 6 mjeseci,
- b) svih životinja dovedenih na posjed nakon prethodnoga testiranja;
- c) 25% ženskih životinja koje su spolno zrele ili daju mlijeko, a najmanje 50 ženskih životinja po posjedu osim na posjedima s manje od 50 ženskih životinja gdje treba pretražiti sve ženske životinje.

C. Sumnja na brucelozu ili pojava bruceloze

Kada je na posjedu ovaca ili koza službeno slobodnom od bruceloze jedna ili više životinja sumnjiva na brucelozu, mjerodavni veterinarski inspektor mora oduzeti posjedu status službeno slobodan od bruceloze. Međutim, status može biti privremeno oduzet, do dobivanja službene potvrde bolesti ili odbacivanja sumnje na brucelozu, ako su sumnjiva životinja ili životinje odmah izolirane i uklonjene s imanja sukladno članku 6. ove odluke;

Kada je bruceloza službeno potvrđena, privremeno oduzeti status posjed može ponovo dobiti samo ako su sve zaražene životinje ili životinje vrsta prijemljivih na zarazu, uklonjene s imanja sukladno članku 6. ove odluke, a dvokratno pretraživanje, u razmaku ne manjem od 3 mjeseca, provedeno na način opisan u dodatku B, dijelu I stavak 1. ove odluke, na svim životinjama na posjedu starijima od 6 mjeseci, dalo negativne rezultate.

D. Uvođenje ovaca ili koza na posjed službeno slobodan od bruceloze

Ovce i koze smiju se uvesti na posjed službeno slobodan od bruceloze samo ako:

- a) dolaze s posjeda službeno slobodnog od bruceloze; ili
- b) nikada nisu bile cijepljene ili ako jesu, da su bile cijepljene prije više od 2 godine. Međutim, ženske životinje starije od 2 godine, koje su bile cijepljene do dobi od 7 mjeseci, također mogu biti uvedene na posjed, i
- c) ako su bile izolovane pod službenom kontrolom na posjedu s kojeg potječu, a tijekom takve izolacije dvokratno pretražene s razmakom od 6 tjedana, na način opisan u dodatku B, dijelu I stavak 1. ove odluke, s negativnim rezultatom.

II. DRŽAVA ODNOSNO EPIDEMIOLOŠKA JEDINICA SLUŽBENO SLOBODNA OD BRUCELOZE

Država odnosno epidemiološka jedinica može se proglasiti službeno slobodna od bruceloze ako:

1. Je udovoljeno sljedećim uvjetima:

- a) više od 99,8% svih posjeda ovaca ili koza ima status posjed službeno slobodan od bruceloze; ili
- b) udovoljava sljedećim uvjetima:
 - 1) bruceloza ovaca i koza obavezno se prijavljuje u najmanje, posljednjih 5 godina,
 - 2) nije bilo niti jednoga službeno potvrđenoga slučaja bruceloze ovaca ili koza u, najmanje, posljednjih 5 godina, a cijepljenje je zabranjeno najmanje posljednje 3 godine.

2. ako je udovoljeno uvjetima iz prethodne točke; i

- a) prve godine nakon stjecanja statusa područja slobodnog od bruceloze, slučajnim kontrolama bilo na posjedu ili na klaonici, se dokaže, uz razinu povjerenja od 99%, da je manje od 0.2% posjeda zaraženo, ili da je najmanje 5% ovaca i koza starijih od 6 mjeseci pretraženo na način opisan u dodatku B, dijelu I stav 1. ove odluke, s negativnim rezultatom;
- b) godišnje, počevši od druge godine nakon stjecanja statusa područja službeno slobodnog od bruceloze slučajnim kontrolama bilo na posjedu ili na klaonici, se dokaže, uz razinu povjerenja od 95%, da je manje od 0,2% posjeda zaraženo, ili da je najmanje 5% ovaca i koza starijih od 6 mjeseci pretraženo na način opisan u dodatku B, dijelu I stavak 1. ove odluke, s negativnim rezultatom;

3. ako je uvjetima za stjecanje statusa udovoljeno bez prekida.

DODATAK II

I. TESTOVI KOJI SE KORISTE

Sva laboratorijska pretraživanja, koja se provode temeljem ove odluke, vrše se metodom brze aglutinacije (Rose Bengal test) ili metodom reakcije vezivanja komplementa (RVK).

Metoda reakcije vezivanja komplementa se koristi kao potvrdni test za dokazivanje statusa individualne životinje.

Kada se provodi test metodom brze aglutinacije, u slučaju da više od 5% životinja na posjedu pokaže pozitivnu reakciju, dodatni testovi na posjedu provode se na svakoj životinji metodom reakcije vezivanja komplementa.

Izuzetno od odredbi stavka 1. ovog dijela prilikom provođenja testiranja većeg broja životinja, kojemu nije cilj određivanje statusa posjeda, može se koristiti ELISA test, ili neki drugi test čiju upotrebu je odobrio Ured za veterinarstvo Bosne i Hercegovine.

II. STANDARDI I NAČIN IZVOĐENJA TESTOVA

A. Standardi koji se primjenjuju prilikom testiranja

Antigeni koji se koriste prilikom testiranja moraju biti odobreni od ovlaštene laboratorije za brucelozu u Bosni i Hercegovini i moraju biti standardizirani prema drugim međunarodnim standardnim anti-brucella abortus serumima.

Referentni standardni serum, po kojemu se svi drugi standardi utvrđuju i s kojim se uspoređuju je Međunarodni standardni anti brucella abortus serum (u daljnjem tekstu: OIEISS) podrijetlom iz referentne laboratorije OIE-a za brucelozu Veterinary Laboratory Agency, New Haw, Addlestone, Surrey KT₁₅ ₃NB, u Velikoj Britaniji.

Ovlaštena laboratorija za brucelozu u Bosni i Hercegovini je dužna utvrditi standardni serum za Bosnu i Hercegovinu (u daljnjem tekstu: BHSS), koji je standardiziran sa referentnim standardnim serumom.

Svi radni serum, koji se svakodnevno koriste u ovlaštenim laboratorijima za provođenje testova iz točke 1. dijela II ovog dodatka, moraju biti pripremljeni od standardnog seruma BHSS.

Za izvođenje testova brze aglutinacije i RVK, obavezno se koristi radni serum koji sadrži 1000 IU za izvođenje testa brze aglutinacije i 1000 ICFTU (međunarodne jedinice reakcije vezivanja komplementa) za izvođenje testa reakcije vezivanja komplementa.

B. Način izvođenja testa brze aglutinacije (Rose Bengal test)

Antigen mora potjecati od soja B. abortus S₉₉ ili S₁₁₁₉₋₃ ili ekvivalentnog s pH 3,65±0,05 i mora biti ofarban bojom rose bengal.

Kada se koristi u standardnoj proceduri testa, RBT antigen treba davati jasnu pozitivnu reakciju u razrjeđenju 1:45, ali ne i u razrjeđenju 1:55, OIEISS-a, razrijeđenog u 0,5% fenolne soli. Preporučuje se usporedba reaktiviteta novih i ranije standardiziranih serija antigena koristeći ploče s poznatim serumima.

Test se izvodi na slijedeći način:

- a) Test se izvodi pri sobnoj temperaturi (22 ± 4°C); iz frižidera treba izvaditi samo količinu potrebnu za izvođenje testova koji će se raditi toga dana;
- b) Staviti 25-30 μ l svakog uzorka seruma na bijelu podlogu, emajliranu ili plastičnu ploču, ili WHO hemaglutinacijsku ploču;
- c) Protresti bočicu s antigenom, jako ali pažljivo i staviti jednaki volumen antigena u blizini svakog uzorka seruma;
- d) Odmah nakon što je zadnja kap antigena dodana na ploču, u potpunosti izmiješati serum i antigen (koristeći čist stakleni ili plastični štapić za svaki test) kako bi proizveli okruglu ili ovalnu zonu, promjera otprilike 2 cm;
- e) Mješavinu pažljivo pomjerati kroz 4 minute pri sobnoj temperaturi na rokeru odnosno trosmjernom mješaču ovisno o tome da li je zona reakcije ovalna ili okrugla;
- f) Očitavanje aglutinacije se provodi odmah nakon isteka perioda od 4 minute. Bilo kakva vidljiva reakcija se smatra pozitivnom. Kontrolni serum koji daje minimalnu pozitivnu reakciju treba biti testiran prije nego što svaki dnevni test započne, kako bi se provjerila osjetljivost na uvjete testiranja.

Osjetljivost RBT se može povećati korištenjem 75 μ l seruma i 25 μ l antigena tijekom izvođenja testa, umjesto upotrebe jednakih zapremina.

C. Način izvođenja testa reakcije vezanja komplementa (RVK)

Izgled antigena kada je razrijeđen 1/10 treba biti jednolika, gusta, bijela suspenzija bez vidljivih nakupina ili ostataka nakon inkubacije pri 37°C kroz 18 sati. Ne smije proizvoditi anti-komplementaran efekt pri radnoj jačini za testiranje. Antigen se čuva pri 4°C i ne smije se smrzavati.

Nerazrijeđeni testni serum i prikladni radni standard inaktiviraju se kroz 30 minuta u vodenoj kupelji pri 60°C $\pm$ 2°C.

Antigen mora potjecati od odobrenog glatkog soja B. abortus kao što su S₉₉ ili S₁₁₁₉₋₃, i standardiziran sa OIEISS.

Test se izvodi na slijedeći način:

- a) Volumeni od 25 μ l razrijeđenog inaktiviranog testnog seruma se postavljaju u jamice u prvi, drugi ili treći red. Drugi red je anti-komplementarna kontrola za svaki serum. Volumeni od 25 μ l RVK pufera se dodaju u jamice u prvom redu (anti-komplementarne kontrole) da nadoknade nedostatak antigena. Volumeni od 25 μ l RVK pufera se dodaju u sve druge jamice osim onih u drugom redu. Serijsko dvostruko razrjeđenje se radi premještanjem 25 μ l volumena seruma iz trećeg reda naviše.
- b) Volumeni od 25 μ l antigena, razrijeđenog na radnu jačinu i 25 μ l komplementa, razrijeđenog do potrebnog broja jedinica, se dodaje u svaku jamicu, osim u one iz prvog reda;
- c) Kontrolne jamice koje sadrže samo razrjeđivač, serum + komplement + razrjeđivač, antigen + komplement + razrjeđivač, komplement + razrjeđivač, sadrže 75 μ l ukupnog volumena u svakom slučaju. Kontrolni serum koji daje najslabiju pozitivnu reakciju treba biti testiran u svakoj seriji testiranja radi provjere osjetljivosti na uvjete testiranja;
- d) Ploče se inkubiraju na 37°C kroz 30 minuta ili na 4°C preko noći, i volumen (25 ili 50 μ l ovisno o tehnici) osjetljive SRBCs se dodaje u svaku jamicu. Ploče se ponovno inkubiraju na 37°C kroz 30 minuta.
- e) Rezultati se očitavaju nakon što se ploče centrifugiraju na 100g kroz 10 minuta pri 4°C ili ostave da stoje pri 4°C kroz 2 do 3 sata kako bi se nerazgrađene stanice slegle. Stupanj hemolize se uspoređuje sa standardima koji odgovaraju 0, 25, 50, 75 i 100% razgrađenju. Odsustvo anti-komplementarne aktivnosti se provjerava za svaki serum u prvom redu.
- f) Standardizacija rezultata RVK:
- g) Rezultati se izražavaju u jedinicama koje su bazirane na OIEISS. OIEISS serum sadrži 1000 ICFTU po mililitru. Ako se ovaj serum testira opisanom metodom i daje titar od npr. 200 (50% hemoliza), onda se vrijednost za nepoznati serum testiran istom metodom može dobiti pomoću slijedeće formule: $1000 \times \frac{1}{200} \times$ titar testiranog seruma = broj ICFTU antitijela u mililitru testnog seruma.

Serumi koji daju titar ekvivalentan 20 ICFTU/ml ili više smatraju se pozitivnim.

D. Način provođenja svih ostalih odobrenih testova

Svi ostali testovi, odobreni od strane Ureda za veterinarstvo Bosne i Hercegovine izvode se na način opisan u zadnjem izdanju Priručnika za dijagnostičke testove i vakcine za kopnene životinje Međunarodnog ureda za zarazne bolesti u Parizu, a u slučajevima primjene nepotvrđenih metoda po uputi proizvođača.