

Na osnovu člana 7 stav 8 Zakona o veterinarstvu ("Službeni list RCG", br. 11/04 i 24/07), Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede je donijelo

Pravilnik o mjerama za utvrđivanje, suzbijanje i iskorjenjivanje bruceloze goveda

Pravilnik je objavljen u "Službenom listu CG", br. 64/2008 od 27.10.2008. godine.

Član 1

Ovim pravilnikom se propisuju mjere za utvrđivanje, suzbijanje i iskorjenjivanje bruceloze goveda.

Član 2

Sumnjiva na brucelozu smatraju se goveda:

- koja su reagovala pozitivno ili sumnjivo na serološki test iz Priloga I koji je odštampan uz ovaj pravilnik i čini njegov sastavni dio;
- kod kojih se ustanovi jedan ili više kliničkih znakova: abortus, zaostajanje posteljice, orhitis i epididimitis, artritis koji se mogu dovesti u vezu sa ostalim kliničkim znacima ili druge promjene na osnovu kojih se može posumnjati na brucelozu;
- koja su bila u kontaktu sa ljudima ili životinjama za koje se sumnja da su zaražene ili su oboljele od bruceloze.

Član 3

U slučaju sumnje na brucelozu, veterinarski inspektor odmah stavlja gazdinstvo pod službeni nadzor kako bi se potvrdila ili isključila prisutnost bolesti, suspenduje status stada zvanično slobodnog od bruceloze, sprovodi epizootiološko ispitivanje i nalaže sljedeće mjere:

1. zabranu svih kretanja životinja u i iz gazdinstva, osim u slučaju klanja bez odlaganja pod nadzorom veterinarskog inspektora;
2. odvajanje i izolaciju goveda sumnjivih na brucelozu;
3. sprovođenje odgovarajućeg dijagnostičkog postupka kod goveda sumnjivih na brucelozu u skladu sa posebnim propisom;
4. zabranu osjemenjivanja i pripusta goveda sumnjivih na brucelozu;
5. zabranu korišćenja mlijeka životinja sumnjivih na brucelozu, osim za ishranu životinja na istom gazdinstvu nakon termičke obrade najmanje na temperaturi pasterezacije;
6. zabranu korišćenja i isporuke mlijeka ostalih životinja sa gazdinstva, osim radi termičke obrade najmanje na temperaturi pasterezacije u mljekari pod službenim nadzorom;
7. zabranu iznošenja sa gazdinstva hrane za životinje koja je bila ili je mogla biti u kontaktu sa govedima sumnjivim na brucelozu;

8. zabranu upotrebe zajedničkih ispaša i napajališta;
9. zabranu iznošenja stajskog đubriva i osoke sa gazdinstva;
10. postavljanje dezinfekcionih barijera na ulazu i izlazu iz objekta u kojem se nalaze goveda sumnjiva na brucelozu.

Izuzetno od tačke 1 stava 1 ovog člana, nadležni veterinarski inspektor može odobriti stavljanje u promet kastriranih goveda, nakon što su iz stada izdvojene sumnjive životinje, uz uslov da se kastrirane životinje upućuju u stada za tov, a zatim na klanje.

O suspenziji statusa stada iz stava 1 ovog člana, veterinarski inspektor odmah obavještava nadležni organ.

Mjere iz stava 1 ovoga člana ostaju na snazi sve dok se sumnja na prisustvo bruceloze goveda u stadu službeno ne potvrdi, odnosno ne isključi.

Član 4

Oboljelim od bruceloze smatraju se goveda kod kojih je:

1. ustanovljena pozitivna reakcija na najmanje dva serološka testa iz Priloga I;
2. mikrobiološkim ispitivanjem potvrđen uzročnik bruceloze goveda.

Član 5

Postupak izvođenja serološkog testa i mikrobiološko ispitivanje sprovodi se u skladu sa Prilogom I odnosno u skladu sa metodama Međunarodne organizacije za zdravlje životinja (OIE).

Član 6

Kad je bruceloza goveda službeno potvrđena u stadu, veterinarski inspektor tom stadu povlači status stada zvanično slobodnog od bruceloze, sprovodi epizootiološko ispitivanje i na zaraženom gazdinstvu naređuje, pored mjera iz člana 3 ovoga pravilnika, i slijedeće mjere:

1. odvajanje, izolaciju i označavanje goveda do klanja ili eutanazije u slučaju da ne postoje uslovi za klanje iz člana 7 ovoga pravilnika:

- a. kod kojih je prisutnost bruceloze goveda službeno potvrđena;
- b. koja su ispitana u skladu sa članom 3 stav 1 tačka 3 ovoga pravilnika, sa pozitivnim rezultatom;
- c. za koje veterinarski inspektor smatra da su zaražena;

2. klanje goveda ili eutanaziju u slučaju da ne postoje uslovi za klanje i neškodljivo uklanjanje leševa pod službenim nadzorom;

3. sprovođenje odgovarajućeg dijagnostičkog postupka kod svih prijemčivih životinja u skladu sa posebnim propisom;

4. zabranu korišćenja i prometa proizvoda od goveda sa zaraženog gazdinstva;

5. zabranu korišćenja mlijeka zaraženih krava, osim za ishranu životinja na istom gazdinstvu nakon što je to mlijeko prošlo termičku obradu najmanje na temperaturi pasterezacije;

6. zabranu korišćenja i isporuke mlijeka ostalih krava iz stada, osim radi termičke obrade najmanje na temperaturi pasterezacije u mljekari pod službenim nadzorom;

7. neškodljivo uklanjanje i uništavanje bez odlaganja fetusa, mrtvorođene teladi, teladi uginule od bruceloze nakon teljenja i/ili placenti, osim u slučaju da ih treba ispitati;

8. uništavanje bez odlaganja, spaljivanjem ili zakopavanjem nakon natapanja dezinficijensom slame, stelje ili drugih sredstava ili supstanci koje su bile u kontaktu sa zaraženom životinjom, teletom, placentom ili drugim zaraženim materijalom;

9. skladištenje stajskog đubriva iz objekata koje koriste životinje na mjestu kojem životinje sa gazdinstva nemaju pristup;

10. tretiranje stajskog đubriva i osoke na gazdinstvu odgovarajućim sredstvom za dezinfekciju prema uputstvu proizvođača i zabranu njihovog korišćenja u trajanju od najmanje tri nedjelje, pri čemu upotreba dezinficijensa nije neophodna ako se stajsko đubrivo pokrije slojem neinficiranog đubreta ili zemlje.

Kada je bruceloza goveda službeno potvrđena u stadu, veterinarski inspektor stavlja pod službeni nadzor objekte i postupke za neškodljivo uništavanje leševa i nusproizvoda životinjskog porijekla radi sprječavanja širenja bruceloze goveda.

O povlačenju statusa stada iz stava 1 ovog člana, veterinarski inspektor odmah obavještava nadležni organ.

Mjere iz stava 1 ovoga člana, ostaju na snazi sve dok stado ne povрати status stada zvanično slobodnog od bruceloze goveda u skladu sa posebnim propisom.

Član 7

Nakon bakteriološkog, patološkog ili serološkog ispitivanja, goveda kod kojih je službeno potvrđena bruceloza kao i one životinje koje veterinarski inspektor smatra zaraženima, moraju se zaklati ili eutanazirati pod službenim nadzorom što je prije moguće, a najkasnije 30 dana od dana kada vlasnik ili lice odgovorno za goveda, primi službeno obavještenje o rezultatima ispitivanja.

Član 8

Nakon klanja ili eutanazije goveda iz člana 7 ovog pravilnika, a prije popunjavanja stada novim grlima, objekti, pribor, oprema i druga sredstva koja se koriste za životinje moraju se očistiti i dezinfikovati pod nadzorom veterinarskog inspektora.

Pašnjaci koje su koristile ove životinje se ne smiju ponovo koristiti tokom perioda od 60 dana od dana njihovog uklanjanja sa tih pašnjaka, izuzev za kastrirane životinje, pod uslovom da ove životinje napuštaju pašnjake isključivo radi klanja ili prelaska u stada za tov, a odatle u klanicu.

Prevozna sredstva, pribor i oprema moraju se očistiti i dezinfikovati nakon prevoza životinja iz zaraženog stada, a sav materijal koji potiče od tih životinja i materijal ili supstance koje su bile u kontaktu sa takvim životinjama moraju biti učinjene neškodljivim.

Mjesta utovara životinja iz člana 7 ovog pravilnika, se nakon upotrebe moraju očistiti i dezinfikovati.

Član 9

Nakon klanja ili eutanazije goveda u skladu sa članom 7 ovog pravilnika, preostala goveda u stadu:

- ne smiju napustiti stado osim radi klanja bez odlaganja i u slučaju da se kastrirane životinje upućuju u stada za tov, a zatim na klanje, po odobrenju veterinarskog inspektora;

- podvrgavaju se ispitivanju na brucelozu u stadu radi potvrde da je bolest iskorijenjena, kao i definisanja statusa stada u skladu sa posebnim propisom.

Stado iz stava 1 ovog člana ne smije se popunjavati novim govedima sve dok životinje starije od 12 mjeseci koje u stadu ostaju, ne prođu jedno ili više zvaničnih ispitivanja na brucelozu, u skladu sa posebnim propisom.

Član 10

U cilju utvrđivanja, suzbijanja i iskorjenjivanja bruceloze goveda sprovodi se zvanično dijagnostičko ispitivanje u svim stadima goveda na teritoriji Crne Gore u skladu sa propisom.

Pri suzbijanju i iskorjenjivanju bruceloze goveda ne primjenjuje se bilo koji terapijski tretman

bruceloze, kao ni vakcinacija goveda protiv bruceloze, osim na osnovu odobrenja nadležnog organa.

U slučaju vakcinacije iz stava 2 ovog člana, vakcinacija se vrši pod nadzorom nadležnog organa i suspenduje što je prije moguće, kako bi stada mogla steći status stada zvanično slobodnih od bruceloze goveda.

Član 11

Goveda iz stada za koja se ne sumnja da su zaražena ne smiju doći u kontakt sa govedima iz stada koja nijesu jednakog zdravstvenog statusa.

O svakom uginuću ili prinudnom klanju goveda na svom gazdinstvu vlasnik životinja ili lice odgovorno za njih bez odlaganja mora obavijestiti ovlašćenog veterinara.

Član 12

Stupanjem na snagu ovog pravilnika neće se primjenjivati odredbe Pravilnika o mjerama za suzbijanje i iskorjenjivanje bruceloze kod goveda, ovaca, koza i svinja ("Službeni list SFRJ" br. 34/89) u dijelu koji se odnosi na goveda.

Član 13

Ovaj pravilnik stupa na snagu osmog dana od dana objavljivanja u "Službenom listu Crne Gore", a primjenjivaće se od 1. januara 2009. godine.

Broj: 323/08-0601-7885

Podgorica, 22. oktobar 2008. godine

Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede

Ministar,

mr **Milutin Simović**, s.r.

PRILOG I

DIJAGNOSTIKA BRUCELOZE

1. IDENTIFIKACIJA UZROČNIKA

Identifikacija uzročnika bruceloze vršena pomoću modifikovanog kiselog (acid-fast) ili imunospecifičnog bojenja organizama *Brucella morfologije* u materijalu od pobačaja, vaginalnom iscjedku ili mlijeku je vjerovatan dokaz bruceloze, posebno ako se potvrdi serološkim testovima.

Nakon izolacije, vrstu i biovar se identifikuju fagolizom i/ili testovima oksidativnog metabolizma, kulturalnim, biohemijskim i serološkim kriterijumima.

Tehnike i podloge koje se koriste, standardizacija i tumačenje rezultata moraju biti u skladu sa važećem OIE Priručnikom za standarde dijagnostičkih testova i vakcina.

2. IMUNOLOŠKI TESTOVI

2.1. Standardi

2.1.1. *Brucella abortus* biovar 1 Weybridge soj No 99 ili USDA soj 1119-3 moraju se koristiti za pripremu svih antigena koji se koriste za rose bengal test (RBT), serum aglutinacioni test (SAT), reakciju vezivanja komplemenata (RVK) i mliječno prstenastu probu (MRT).

2.1.2. Standardni referentni serum za RBT, SAT, RVK i MRT je OIE međunarodni referentni

standardni serum (OIEISS) (koji se zvao WHO) drugi međunarodni anti-*Brucella abortus* Serum (ISAbS).

2.1.3. Standardni referentni serumi za ELISA testove su:

- OIEISS;
- slabo pozitivni OIE ELISA standardni serum (OIEELISAWPSS);
- jako pozitivni OIE ELISA standardni serum (OIEELISASPSS);
- negativni OIE ELISA standardni serum (OIEELISANSS).

2.1.4. Gore navedeni standardni serumi mogu se dobiti od Agencije za veterinarske laboratorije (VLA), Weybridge, Velika Britanija.

2.1.5. OIEISS, OIEELISAWPSS, OIEELISASPSS i OIEELISANSS su međunarodni primarni standardi iz kojih se moraju utvrditi sekundarni referentni nacionalni standardi ("radni standardi") za svaki test u zemlji.

2.2. ELISA testovi ili drugi vezani testovi za otkrivanje bruceloze goveda u serumu ili mlijeku

2.2.1. Materijali i reagensi

Tehnika koja se koristi i tumačenje rezultata validuju se u skladu sa principima iz važećeg OIE Priručnika za standarde za dijagnostičke testove i vakcine, i mora da obuhvati barem laboratorijske i dijagnostičke studije.

2.2.2. Standardizacija testa

2.2.2.1. Standardizacija procedure testiranja za pojedinačne uzorke seruma:

a) prethodno razrijeđen i ⁽¹⁾ OIEISS 1/150 ili 1/2 prethodno razrijeđeni OIEELISAWPSS ili 1/16 prethodno razrijeđeni OIEELISASPSS napravljen u negativnom serumu (ili u negativnom pulu seruma) treba da da pozitivnu reakciju;

b) 1/600 prethodno razrijeđeni OIEISS ili 1/8 prethodno razrijeđeni OIEELISAWPSS ili 1/64 prethodno razrijeđeni OIEELISASPSS napravljen u negativnom serumu (ili negativnom pulu seruma) treba da da negativnu reakciju;

c) OIEELISANSS treba uvijek da da negativnu reakciju.

2.2.2.2. Standardizacija procedure testiranja za zbirne uzorke seruma:

(a) 1/150 prethodno razrijeđeni OIEISS ili 1/2 prethodno razrijeđeni OIEELISAWPSS ili 1/16 prethodno razrijeđeni OIEELISASPSS napravljen u negativnom serumu (ili u negativnom pulu seruma) i ponovo razrijeđen u negativnom serumu po broju uzoraka koji čine pul treba da da pozitivnu reakciju;

(b) OIEELISANSS treba uvijek da da negativnu reakciju;

(c) test mora biti takav da otkrije dokaze infekcije jedne životinje od grupe životinja od čijih seruma je napravljen zbirni uzorak.

2.2.2.3. Standardizacija procedure testiranja za zbirni uzorak mlijeka ili surutke:

(a) 1/1000 prethodno razrijeđeni OIEISS ili 1/16 prethodno razrijeđeni OIEELISAWPSS ili 1/125 prethodno razrijeđeni OIEELISASPSS napravljen u negativnom serumu (ili u negativnom pulu seruma) i ponovo razrijeđen 1/10 u negativnom mlijeku treba da da pozitivnu reakciju;

(b) OIEELISANSS razrijeđen 1/10 u negativnom mlijeku treba uvijek da da negativnu reakciju;

(c) test mora biti takav da otkrije dokaze infekcije u jedne životinje od grupe životinja od mlijeka ili surutke je napravljen zbirni uzorak.

2.2.3. Uslovi za upotrebu ELISA testova za dijagnostikovanje bruceloze goveda:

2.2.3.1. U skladu sa uslovima kalibracije ELISA testova za uzorke seruma, dijagnostička osjetljivost ELISA testa je jednaka ili veća od RBT ili RVK, uzimajući u obzir epizootiološku situaciju u kojoj se

koristi.

2.2.3.2. U skladu sa uslovima kalibracije ELISA testova za zbirne uzorke mlijeka, dijagnostička osjetljivost ELISA je jednaka ili veća od MRT, uzimajući u obzir ne samo epizootiološku situaciju, već i prosječne i očekivane ekstremne sisteme uzgoja.

2.2.3.3. Kada se ELISA testovi koriste za potrebe sertifikacije ili za utvrđivanje i održavanje statusa stada, pripremanje zbirnih uzoraka seruma se mora vršiti na način da se rezultati testiranja mogu bez sumnje povezati sa svakom životinjom obuhvaćenom pulom. Sva testiranja za potvrđivanje rezultata moraju se vršiti na uzorcima seruma uzetim pojedinačno od životinja.

2.2.3.4. ELISA testovi se mogu koristiti na uzorku mlijeka uzetom od mlijeka sakupljenog sa farme koja ima najmanje 30% muznih grla u fazi laktacije.

Ako se koristi ovaj metod, uzorci moraju biti označeni tako da se mogu identifikovati životinje od kojih mlijeko potiče.

Sva testiranja za potvrđivanje rezultata vršiće se na uzorcima seruma uzetim pojedinačno od životinja.

2.3. Reakcija vezivanja komplemenata (RVK)

2.3.1. Antigen predstavlja bakterijsku suspenziju u fenol fiziološkom rastvoru (NaCl 0,85% (m/v) i fenol od 0,5% (v/v)) ili u veronal puferu. Antigeni se mogu dobiti u koncentraciji pod uslovom da se faktor razrjeđenja koji se koristi naznači na etiketi boce. Antigen se mora čuvati na 4°S i ne smije se zamrzavati.

2.3.2. Serumi se moraju inaktivisati na sljedeći način:

- serum goveda: 56 do 60°S tokom 30 do 50 minuta,
- serum svinja: 60°S tokom 30 do 50 minuta.

2.3.3. Da bi se u proceduri testiranja odvijala prava reakcija, treba koristiti dozu komplementa višu od minimalno potrebne za ukupnu hemolizu.

2.3.4. Pri izvođenju reakcije vezivanja komplemenata, svaki put se moraju izvršiti sljedeće kontrole:

- (a) kontrola anti-komplementarnog efekta seruma;
- (b) kontrola antigena;
- (c) kontrola senzitivisanih crvenih krvnih zrnaca;
- (d) kontrola komplementa;
- (e) kontrola, upotrebom pozitivnog seruma, osjetljivosti na početku reakcije;
- (f) kontrola specifičnosti reakcije pomoću negativnog seruma.

2.3.5. Izračunavanje rezultata

OIEISS sadrži 1000 međunarodnih RVK jedinica (ICFTU) po ml. Ako se testira OIEISS u datoj metodi, rezultat se daje kao titar (TOIEISS). Rezultat testa za ispitujući serum dat kao titar (TTESTSERUM) mora se izraziti u ICFTU po ml. Da bi se konvertovalo izražavanje titra u ICFTU, faktor (F), potreban za konverziju titra nepoznatog ispitujućeg seruma (TTESTSERUM), testiranog tom metodom, u ICFTU se može naći pomoću sljedeće formule:

$$F = 1,000 \times 1 / \text{TOIEISS}$$

a sadržaj međunarodnih RVK jedinica po ml ispitujućeg seruma (ICFTUTESTSERUM) iz formule:

$$\text{IKBRETTESTSERUM} = F \times \text{TTESTSERUM}$$

2.3.6. Tumačenje rezultata

Serum koji sadrži 20 ili više ICFTU po ml se smatra pozitivnim.

2.4. Mliječno prstenasta proba (MRT)

2.4.1. Antigen predstavlja bakterijsku suspenziju u fenol fiziološkom rastvoru (NaCl 0,85% (m/v) i

fenol od 0,5% (v/v)) bojenu hematoksilinom. Antigen se mora čuvati na 4°S i ne smije se zamrzavati.

2.4.2. Osjetljivost antigena se mora standardizovati u odnosu na OIEISS tako da antigen izazove pozitivnu reakciju sa 1/500 razrjeđenjem OIEISS u negativnom mlijeku, dok razrjeđenje 1/1000 treba da bude negativno.

2.4.3. Prstenasta proba se mora izvršiti na uzorcima koji predstavljaju sadržaj svake kante za mlijeko ili sadržaj svakog tanka sa farme.

2.4.4. Uzorci mlijeka se ne smiju zamrzavati, grijati ili snažno mućkati.

2.4.5. Reakcija se mora izvesti pomoću jedne od sljedećih metoda:

- na stubu mlijeka visine najmanje 25 mm i na zapremini mlijeka od 1 ml kojoj je dodato ili 0,03 ml ili 0,05 ml jednog od standardizovanih bojenih antigena;

- na stubu mlijeka visine najmanje 25 mm i na zapremini mlijeka od 2 ml kojoj je dodato 0,05 ml jednog od standardizovanih bojenih antigena;

- na zapremini mlijeka od 8 ml kojoj je dodato 0,08 ml jednog od standardizovanih bojenih antigena.

2.4.6. Mješavina mlijeka i antigena se mora inkubirati na 37°S tokom 60 minuta, zajedno sa pozitivnim i negativnim radnim standardima. Dalja inkubacija tokom 16 do 24 časa na 4°S povećava senzitivnost testa.

2.4.7. Tumačenje rezultata:

(a) negativna reakcija: obojeno mlijeko, bezbojna izdvojena mast;

(b) pozitivna reakcija:

- identično obojeno mlijeko i izdvojena mast, ili

- bezbojno mlijeko i obojena izdvojena mast.

2.5. Rose bengal test (RBT)

2.5.1. Antigen predstavlja bakterijsku suspenziju u puferovanom *Brucella* antigen diluentu pri pH od $3,65 \pm 0,05$, bojen pomoću rose bengal boje. Antigen se isporučuje kao spreman za upotrebu i mora se skladištiti na 4°S i ne smije se zamrzavati.

2.5.2. Antigen se priprema bez obzira na koncentraciju ćelija, ali se njegova senzitivnost mora standardizovati u odnosu na OIEISS tako da antigen proizvede pozitivnu reakciju pri razrjeđenju seruma od 1/45 i negativnu reakciju pri razrjeđenju od 1/55.

2.5.3. RBT se izvodi na sljedeći način:

(a) serum (20-30 µl) se miješa sa jednakom zapreminom antigena na bijeloj pločici ili emajliranoj pločici tako da se napravi površina od oko 2 cm u prečniku. Mješavina se blago miješa tokom 4 minuta na sobnoj temperaturi i potom pod dobrim osvjetljenjem posmatra aglutinacija;

(b) može se koristiti automatizovani metod, ali mora biti osjetljiv i precizan barem kao i ručni metod.

2.5.4. *Tumačenje rezultata*

Svaka vidljiva reakcija se smatra pozitivnom, osim ako nije došlo do značajnog sušenja oko ivica.

Pozitivne i negativne radne standarde treba uključiti u svaku seriju testiranja.

2.6. Test serumske aglutinacije (SAT)

2.6.1. Antigen predstavlja bakterijsku suspenziju u fenol fiziološkom rastvoru (NaCl 0,85% (m/v) i fenol od 0,5 % (v/v)).

Formaldehid se ne smije koristiti.

Antigeni se mogu napraviti koncentrovani, pod uslovom da se faktor razrjeđenja naznači na naljepnici boce.

EDTA se može dodati u suspenziju antigena do 5 mM konačnog radnog razrjeđenja kako bi se

smanjio nivo lažno pozitivnih rezultata u testu serumske aglutinacije. Nakon toga se mora prilagoditi pH na 7,2 u suspenziji antigena.

2.6.2. OIEISS sadrži 1000 internacionalnih jedinica aglutinacije.

2.6.3. Antigen se priprema bez obzira na koncentraciju ćelija, ali se njegova osjetljivost mora standardizovati u odnosu na OIEISS tako da antigen izazove ili 50% aglutinacije da završnim razrjeđenjem seruma od 1/600 do 1/1000 ili 75% aglutinacije sa završnim razrjeđenjem seruma od 1/500 do 1/750.

Preporučuje se da se reaktivnost novih i ranije standardizovanih količina antigena uporedi pomoću ploče definisanih seruma.

2.6.4. Test se izvodi ili u epruvetama ili u mikrotitar pločama. Mješavinu antigena i razrjeđenja seruma treba inkubirati tokom 16 do 24 časa na 37°S.

Za svaki serum se moraju pripremiti najmanje tri razrjeđenja. Razrjeđenja sumnjivog seruma se moraju napraviti tako da se očitavanje reakcije na granici pozitivnosti odvija u srednjoj epruveti (ili polju za metod mikrotitar ploče).

2.6.5. *Tumačenje rezultata:*

Nivo aglutinacije *Brucella* u serumu se mora izraziti u IJ po ml. Serum koji sadrži 30 ili više IJ po ml se smatra pozitivnim.

3. DOPUNSKI TESTOVI

3.1. Kožni test za brucelozu (BST)

3.1.1. Uslovi za korišćenje BST

(a) Kožni test na brucelozu se ne smije koristiti za sertifikaciju u prometu sa EU.

(b) Kožni test na brucelozu je jedan od najspecifičnijih testova za otkrivanje bruceloze kod nevakcinisanih životinja, ali dijagnozu ne bi trebalo donositi samo na osnovu pozitivnih intradermalnih reakcija.

(c) Goveda, negativna na neki od seroloških testova iz ovog Priloga, a koja reaguju pozitivno na BST se smatraju inficiranim.

(d) Goveda, pozitivna na neki od seroloških testova iz ovog Priloga mogu se podvrgnuti BST kako bi se podržalo tumačenje rezultata seroloških testiranja, a naročito u stadima koja su slobodna, ili stadima koja su zvanično slobodna, kada se ne može isključiti unakrsna reakcija sa antitijelima protiv drugih bakterija.

3.1.2. Test se izvodi pomoću standardizovanog i definisanog *brucella* alergen preparata koji ne sadrži glatki lipopolisaharid (LPS) antigen, jer on može izazvati nespecifične inflamatorne reakcije ili ometati dalje serološke testove.

Jedan od takvih preparata je Brucellin INRA pripremljen od ne-glatkog soja *B. melitensis*. Zahtjevi po pitanju proizvodnje ovog preparata su dati u važećem OIE Priručnika za standarde dijagnostičkih testova i vakcina.

3.1.3. *Procedura testiranja*

3.1.3.1. Zapremina od 0,1 ml brucella alergena se intradermalno ubrizgava u kaudalni nabor, kožu boka ili sa strane vrata.

3.1.3.2. Test se očitava nakon 48-72 časa.

3.1.3.3. Debljina kože se na mjestu uboda mjeri kutinometrom prije ubrizgavanja i prilikom ponovnog pregleda.

3.1.3.4. *Tumačenje rezultata:*

Snažne reakcije se lako prepoznaju lokalnim otokom i induracijom. Zadebljanje kože od 1,5 do 2

mm se smatra pozitivnom reakcijom na BST.

3.2. Kompetitivna ELISA (cELISA)

3.2.1. Uslovi za upotrebu cELISA

(a) sELISA se ne smije koristiti za potrebe sertifikacije u prometu sa EU;

(b) pokazalo se da je cELISA specifičnija nego, na primjer, indirektna ELISA i zato se može koristiti kao podrška tumačenju rezultata seroloških testiranja.

3.2.2. Procedura testiranja

Testiranje se vrši u skladu sa instrukcijama iz važećeg OIE Priručnika za standarde za dijagnostičke testove i vakcine.

¹ Za potrebe ovog Priloga, razrjeđenja za pravljenje tečnih reagenasa koja su izražena, na primjer, kao 1/150 znači razrjeđenje od 1 u 150