

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, СУЗБИЈАЊЕ И ИСКОРЕЊИВАЊЕ ЗАРАЗНЕ БОЛЕСТИ**  
**ЕНЗООТСКЕ ЛЕУКОЗЕ ГОВЕДА, НАЧИНУ ЊИХОВОГ СПРОВОЂЕЊА, КАО И**  
**НАЧИНУ УТВРЂИВАЊА СТАТУСА ГАЗДИНСТВА СЛОБОДНОГ ОД ЕНЗООТСКЕ**  
**ЛЕУКОЗЕ ГОВЕДА**

**I. ОСНОВНЕ ОДРЕДБЕ**

**Члан 1.**

Овим правилником утврђују се мере за рано откривање, дијагностику, спречавање ширења, сузбијање и искорењивање заразне болести ензоотрске леукозе говеда, начин њиховог спровођења, као и начин утврђивања статуса газдинства слободног од ензоотрске леукозе говеда

**Члан 2.**

Поједини изрази употребљени у овом правилнику имају следеће значење:

1) 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;

2) стадо службено слободно од ензоотске леукозе говеда јесте стадо које испуњава услове прописане у члану 17. овог правилника;

3) подручје или држава службено слободна од ензоотске леукозе говеда јесте део територије или територија Републике Србије за које испуњава услове прописане у члану 21. овог правилника;

4) подручје јесте део територије Републике Србије површине од најмање 2000 м<sup>2</sup> који је под надзором министарства надлежног за послове ветеринарства (у даљем тексту: Министарство) и укључује подручје најмање једног управног округа или града Београда.

**Члан 3.**

Дијагностичком испитивању на ензоотску леукозу подлежу:

1) говеда старија од 24 месеца;

2) говеда која се излажу на сајмовима, смотрема и изложбама, или се увозе из других земаља.

**Члан 4.**

Сумњивим на ензоотску леукозу сматрају се говеда:

- 1) која показују клинички манифестне промене (оток лимфних чворова и сл.) карактеристичне за ензоотску леукозу говеда;
- 2) код којих нису установљене туморозне промене на кожи, лимфним чворовима и органима, а серолошко испитивање даје сумњиву реакцију;
- 3) која потичу из запата у којима је утврђена ензоотска леукоза говеда или сумња на ензоотску леукозу;
- 4) код којих су, приликом клања или угинућа, утврђене карактеристичне туморозне промене, а није извршено патохистолошко испитивање;
- 5) код којих је приликом хематолошког испитивања утврђена леукоцитоза са изразитом лимфоцитозом (65%).

## II. МЕРЕ РАНОГ ОТКРИВАЊА ЕНЗООТСКЕ ЛЕУКОЗЕ ГОВЕДА, ДИЈАГНОСТИКЕ И НАЧИН ЊИХОВОГ СПРОВОЂЕЊА

### Сумња на појаву ензоотске леукозе

#### Члан 5.

У случају сумње на појаву ензоотске леукозе говеда спроводе се следеће мере:

- 1) стављање стада под надзор;
- 2) издвајање и изолацију унутар стада говеда сумњивих на ензоотску леукозу;
- 3) забрану осемењавања и припуста говеда сумњивих на ензоотску леукозу;
- 4) забрану коришћења и испоруке млека крава из стада сумњивог на ензоотску леукозу у објекте за обраду и прераду млека осим ради одговарајуће термичке обраде, не доводећи у питање посебне прописе;
- 5) забрану изношења хране за животиње која је била или је могла бити у контакту са говедима сумњивим на ензоотску леукозу говеда;
- 6) забрану употребе заједничких напајалишта;
- 7) забрану изношења стајског ђубрива и осоке са газдинства;
- 8) забрану увођења у стадо или стављања у промет говеда из стада, осим упућивања на принудно клање.

Мере из става 1. овог члана примењују се све док се сумња на појаву ензоотске леукозе говеда у стаду службено не искључи.

### Дијагностичко испитивање на ензоотску леукозу говеда

#### Члан 6.

Дијагностичка испитивања на ензоотску леукозу говеда врше се применом једном од метода, и то:

- 1) имуно-дифузионог теста у складу са условима из чл. 7. и 8. овог правилника;
- 2) имуноензимског теста (ELISA) у складу са условима из члана 9. овог правилника.

Метода имуно дифузије може се применити само за појединачне тестове.

Ако постоји оправдана сумња на резултате примењеног теста, додатна провера се спроводи применом имуно-дифузионог теста.

## Члан 7.

Агар гел имунодифузни тест спроводи се тако што:

1) антиген који се користи у тесту мора садржати гликопротеине вируса узročника ензоотске леукозе говеда. Антиген мора бити стандардизован према ЕИ серуму који се набавља у State Veterinary Serum Laboratory, Copenhagen;

2) стандардизовани антигени који се користе у лабораторији морају се најмање једном годишње тестирати у референтним лабораторијама ЕУ према службеном стандардизованом серуму ЕУ. Осим ове стандардизације, антиген који се користи може се мењати у складу са чланом 8. овог правилника;

3) реагенси за тест морају да се састоје од:

(1) антигена: мора да садржи специфичне гликопротеине вируса узročника ензоотске леукозе говеда који је стандардизован према ЕИ серуму,

(2) серум теста,

(3) познатог позитивног контролног серума,

(4) агар гела:

- 0,8% агара,

- 8,5% NaCl,

- 0,05 M Tris-puffer pH 7,2,

15 ml агара мора се унети у Петријеву шољу пречника 8,5 mm, са резултатом од 2,6 mm дубине агара;

4) калуп са седам удубљења слободних од влаге распоређује се у агар до дна посуде: калуп се састоји од средишњег и шест околних удубљења која су распоређена у круг; пречник средишњег удубљења је 4 mm; пречник периферних удубљења је 6 mm; удаљеност између средишњег и периферних удубљења је 3 mm;

5) средишње удубљење је испуњено стандардизованим антигеном, а периферна удубљења 1 и 4 познатим позитивним серумом, удубљења 2, 3, 5 и 6 испуњена су са серумима теста. Удубљења се морају пунити док се не изравнају са површином;

6) као резултат тога добијају се следеће количине:

- антигена – 32 µl,

- контролног серума - 73 µl,

- серум теста - 73 µl;

7) инкубација траје 72 сата на собној температури (од 20 до 27°C) у затвореној влажној комори;

8) се тест може прочитати након 24 или 48 сати, али се коначни резултат може добити тек по истеку 72 сата, и то:

(1) тест серум је позитиван ако ствара специфичну преципитациону линију са антигеном вируса бовине леукозе и комплетну идентификациону линију са контролним серумом,

(2) серум тест је негативан ако не ствара специфичну преципитациону линију са антигеном вируса бовине леукозе и ако не искривљује линију контролног серума,

(3) реакција се не може сматрати коначном ако линију контролног серума искривљује према антигену вируса бовине леукозе без стварања видљиве преципитационе линије са антигеном или се не може прочитати ни као позитивна ни као негативна.

Могу се користити и други облици тестова, с тим да се Е4 серум разређен у односу 1:10 у негативном серуму детектује као позитиван.

У сумњивим реакцијама тест се може поновити и користити концентровани серум.

#### Члан 8.

Раствори и материјали који се користе за стандардизацију антигена су:

- 1) 40 ml 1,6% агароза у пуферираном 0,05 М Tris/HCl, pH 7,2 са 8,5 NaCl;
- 2) 15 ml серума који садржи антитела само на гликопротеине вируса ензоотске леукозе говеда, разређен у односу 1:10 у пуферираном 0,05 М Tris/HCl, pH 7,2 са 8,5 NaCl;
- 3) 15 ml серума леукозе говеда који садржи антитела само на гликопротеине вируса ензоотске леукозе говеда, разређен у односу 1:5 М Tris/HCl, pH 7,2 са 8,5 NaCl;
- 4) четири пластичне Петријеве шоље пречника 85 mm;
- 5) пунч промера од 4 до 6 mm;
- 6) референтни антиген;
- 7) антиген који се мора нормирати;
- 8) водено купатило (56 °C).

Поступак за стандардизацију антигена је следећи:

1) агароза се разређи (1,6%) у пуферираном Tris/HCl уз пажљиво загревање до 100 °C;

2) загревање у воденом купатило на 56 °C траје сат времена. Такође, разређени серум који садржи антитела само на гликопротеине вируса ензоотске леукозе говеда загрева се у воденом купатилу на 56 °C. Потом се измеша 15 ml растворене агарозе на 56 °C са 15 ml серума (1:10), протресе се и улије 15 ml у обе Петријеве шоље. Поступак се понови са серумом који је разређен у односу 1:5. Кад се агароза стврдне у њој се направе рупице, након чега се додаје антиген;

3) додавање антигена врши се у све четири Петријеве шоље према следећем распореду:

(1) Петријеве шоље 1 и 3:

- бунарчић А – неразређен референтни антиген,
- бунарчић Б – 1:2 разређен референтни антиген,
- бунарчић Ц и Е - референтни антиген,
- бунарчић Д – неразређени тест антиген,

(2) Петријеве шоље 2 и 4:

- бунарчић А – неразређен тест антиген,
- бунарчић Б – 1:2 разређен тест антиген,
- бунарчић Ц - 1:4 разређен тест антиген,
- бунарчић Д - 1:8 разређен тест антиген.

При спровођењу огледа потребно је пратити и следећа упутства:

1) оглед се изводи са два разређења серума (1:5 и 1:10) да би се постигла оптимална преципитација;

2) ако је пречник преципитационог прстена мали при оба разређења, тада се серум мора даље разредити;

3) ако је пречник преципитационог прстена при оба разређења превелик и слабо видљив, тада се мора одабрати слабије разређен серум;

4) коначна концентрација агарозе мора бити 0,8%, односно 5% и 10% посто серума;

5) измерене величине пречника унети у координантни систем. Разређење антигена који треба тестирати са истим промером као и референтни антиген који представља радно разређење.

#### Члан 9.

При спровођењу имуноензимског теста (ELISA) за откривање ензоотске леукозе говеда користе се следећи материјали и реагенси:

- 1) микроплочице чврсте фазе, цевчице или нека друга чврста фаза;
- 2) антиген који се фиксира на чврсту фазу са или без поликлоналних или моноклоналних антителиа. Ако антиген у потпуности обложи чврсту фазу, сви узорци теста који имају позитивну реакцију морају се поново тестирати на контролни антиген у случају ензоотске леукозе говеда. Контролни антиген треба да буде истоветан са антигеном, осим код антигена ELG. Ако антителиа обложе чврсту фазу, антителиа не смеју реаговати на антигене, осим ELG антигена;
- 3) биолошка течност коју треба тестирати;
- 4) одговарајућа позитивна и негативна контрола;
- 5) коњугат;
- 6) супстрат прилагођен коришћеном ензиму;
- 7) блокирајући раствор, ако је потребан;
- 8) раствор за разређивање узорака теста за припрему реагенса;
- 9) систем читавања који одговара коришћеном супстрату.

Осетљивост ELISA теста мора бити на нивоу на којем Е4 серум има позитиван резултат када је разређен 10 пута (серумски узорци) или 250 пута (млечни узорци) више него разређење које се постиже индивидуалним узорцима када су укључени у групне узорке. У групама где се узорци (серум и млеко) тестирају индивидуално, Е4 серум разређен 1:10 (у негативном серуму) или 1:250 (у негативном млеку) мора имати позитиван резултат кад се тестира у истом разређењу пробе која се користи за индивидуалне узорке теста.

Научни или специјалистички институти који спроводе дијагностичка испитивања применом ELISA методе за откривање ензоотске леукозе говеда одговорни су за проверу квалитета ELISA теста, а нарочито за одређивање, за сваку серију производње броја узорака који се удружују на темељу вредности добијених за Е4 серум.

Е4 серум набавља се од National Veterinary Laboratory, Copenhagen.

ELISA тест може се користити на узорку млека или сурутке узетих из млека прикупљеног на фарми од најмање 30% музних крава у фази млечности. Ако се користи та метода, морају се предузети мере како би се осигурало да се узети узорци могу идентификовати са животињама од којих су млеко или испитивани серуми узети.

### III. МЕРЕ ЗА СПРЕЧАВАЊЕ ШИРЕЊА, СУЗБИЈАЊА И ИСКОРЕЊИВАЊА ЕНЗООТСКЕ ЛЕУКОЗЕ ГОВЕДА

## Потврда ензоотске леукозе говеда

### Члан 10.

Газдинство се сматра зараженим ако се код једног или више говеда потврди ензоотска леукоза говеда.

Оболелим од ензоотске леукозе говеда сматрају се говеда код којих се:

- 1) серолошким испитивањем, применом агар-гел имунодифузиона или ELISA методе утврди позитивна реакција;
- 2) приликом клања, у органима или ткивима утврде морфолошке и патохистолошке промене карактеристичне за ензоотску леукозу.

### Члан 11.

Говеда оболела од ензоотске леукозе не лече се.

Против ензоотске леукозе не врши се вакцинација.

### Члан 12.

Када се потврди ензоотска леукоза говеда, поред мера из члана 5. овог правилника, спроводе се следеће мере:

1) исхрана животиња млеком од заражених крава дозвољена је само након одговарајуће термичке обраде или након што је млеко упућено у млекуару где се термички обрађује, док се храњење говеда млеком које није прошло термичку обраду може вршити само у стадима у којима су сва говеда намењена клању, у складу са чланом 13. овог правилника;

2) обрада целих трупова, полутки, четвртина, комада трупова и изнутрица заражених говеда које су намењене храњењу животиња, на начин којим се спречава ширење ензоотске леукозе говеда.

Када је ензоотска леукоза говеда службено потврђена у стаду, ветеринарски инспектор мора спровести надзор над објектима за прераду отпадака животињског порекла како би утврдио да нема опасности од ширења ензоотске леукозе говеда путем животињских производа произведених у наведеним објектима.

Власник је дужан да обавести ветеринара или ветеринарског инспектора о сваком угинућу или принудном клању говеда на свом газдинству.

У уверење о здравственом стању које прати говеда упућена на клање код којих је утврђена ензоотска леукоза уписује се: „Ензоотска леукоза говеда”.

Клање говеда код којих је потврђена ензоотска леукоза говеда

### Члан 13.

У циљу искорењивања ензоотске леукозе говеда извршиће се клање свих говеда из стада у коме је ензоотска леукоза потврђена, најкасније у року од 30 дана након што је власник или држалац животиња обавештен о резултатима тестирања.

### Члан 14.

У случају упућивање говеда из члана 13. овог правилника на клање ниједно говече не сме напустити стадо без одобрења ветеринарског инспектора.

Сва говеда која потичу из стада у коме је потврђена ензоотска леукоза говеда морају се дијагностички испитати на ту болест.

Говеда која потичу из стада која нису заражена ензоотском леукозом говеда, могу се користити за обнову стада.

#### Члан 15.

После клања говеда из члана 13. овог правилника, а пре увођења нових животиња у стадо врши се чишћење, прање, дезинфекција штале и других објеката у којима се држе говеда, као и контејнера и опреме, под надзором ветеринарског инспектора.

Превозна средства, контејнери и опрема перу се, чисте и дезинфикују након превоза говеда или материјала који потичу од заражених говеда, као и опреме и пратећих предмета који су били у контакту са тим животињама. После употребе места за утовар се чисте и дезинфикују.

#### Члан 16.

Власник или држалац животиња спречава контакт својих животиња са говедима из стада која нису истог здравственог статуса.

### IV. НАЧИН УТВРЂИВАЊА СТАТУСА ГАЗДИНСТВА СЛОБОДНОГ ОД ЕНЗООТСКЕ ЛЕУКОЗЕ ГОВЕДА

#### Члан 17.

Статус газдинства службено слободно од ензоотске леукозе говеда стиче се ако се утврди да је стадо службено слободно од ензоотске леукозе говеда, у складу са овим правилником

Стадо је службено слободно од ензоотске леукозе ако:

1) нема доказа, клиничких или на основу резултата лабораторијских испитивања, о постојању ензоотске леукозе говеда у стаду и ниједан овакав случај није потврђен предходне две године;

2) су сва говеда старија од 24 месеца реаговала негативно током предходних 12 месеци на два теста обављена у складу са чл. 6. до 9. овог правилника у интервалима од најмање 4 месеца или стадо испуњава услове из тачке 1) овог члана и налази се у подручју службено слободном од ензоотске леукозе говеда.

#### Члан 18.

Говеда задржавају статус стада службено слободно од ензоотске леукозе ако:

1) су испуњени услови из члана 17. став 2. тачка 1) овог правилника;

2) говеда која се уводе у стадо потичу из стада службено слободно од ензоотске леукозе говеда;

3) говеда старија од 24 месеца и даље реагују негативно на тест обављен у складу са чл. 6. до 9. овог правилника, у интервалима од три године.

#### Члан 19.

Статус стада службено слободног од ензоотске леукозе говеда укинуће се ако:

- 1) нису испуњени услови из члана 18. овог правилника;
- 2) се лабораторијским или клиничким прегледом посумња да једно или више говеда има ензоотску леукозу говеда, при чему се сумњива говеда одмах шаљу на клање.

#### Члан 20.

Ако је статус стада службено слободног од ензоотске леукозе говеда укинут у складу са чланом 19. овог правилника, статус се може поново стећи ако:

1) је макар једно говече у стаду службено слободном од ензоотске леукозе говеда реаговало позитивно на један од тестова из члана 6. овог правилника или ако се код једног говечета посумња на инфекцију, а спроведене су следеће мере:

(1) говедо које је реаговало позитивно, а у случају краве и свако њено теле, је напустило стадо и упућено је на клање под надзором ветеринарског инспектора,

(2) сва говеда у стаду старија од 12 месеци реаговала су негативно на два серолошка теста (у интервалу од четири до 12 месеци) обављена у складу са чл. 6. до 9. овог правилника најмање три месеца након уклањања позитивних животиња и њиховог могућег потомства,

(3) је обављено епизоотиолошко испитивање са негативним резултатом, а стада епизоотиолошки повезана са зараженим стадом, код којег су спроведене мере из тачке 1) подтачка (2) овог члана.

Изузетно, Министарство може одобрити изузеће од обавезног клања телади заражених крава, ако су одвојена од мајке одмах након тељења и ако испуњавају услове из тачке 2) подтачка (3) овог члана;

2) је више говеда из стада службено слободног од ензоотске леукозе говеда реаговало позитивно на један од тестова наведених у члану 6. овог правилника или када се на неки други начин посумња на инфекцију више говеда у стаду тако да:

(1) су сва говеда реаговала позитивно, а у случају крава, и њихова телад, упућена су на клање под надзором ветеринарског инспектора,

(2) су сва говеда у стаду старија од 12 месеци реаговала негативно на два теста, обављена у складу са чл. 6. до 9. овог правилника и то у интервалима од четири до 12 месеци,

(3) сва говеда у стаду морају после идентификације остати у објекту све до старости од 24 месеца, када се тестирају, у складу са чл. 6. до 9. овог правилника, изузев ако Министарство не дозволи слање тих говеда директно на клање под надзором ветеринарског инспектора,

(4) је обављено епизоотиолошко испитивање показало негативан резултат, а сва стада, епизоотиолошки повезана са зараженим стадом, су подвргнута мерама тачке 2) подтачка (2) овог члана.

#### Члан 21.

Министарство може прогласити подручје или државу службено слободну од ензоотске леукозе говеда ако је испуњен један од следећих услова:



1) ако су испуњени услови из члана 17. овог правилника и ако је најмање 99,8% стада службено слободно од ензоотске леукозе говеда;

2) ако није потврђен ниједан случај ензоотске леукозе говеда у подручју или држави у последње три године, а присуство тумора, за које се сумња да су последица ензоотске леукозе се обавезно пријављује, уз испитивање узрока њиховог настанка, а у случају државе, све животиње старије од 24 месеца у најмање 10 % свих стада, тестиране методом случајног одабира, имале су негативан резултат у складу са чл. 6. до 9. овог правилника у последња 24 месеца, а у случају одређеног подручја земље, све животиње старије од 24 месеца су тестиране и имале су негативан резултат, у складу са чл. 9. до 12. овог правилника, у предходна 24 месеца;

3) ако свака друга метода показује са сигурношћу од 99 % да је мање од 0,2 % стада заражено.

#### Члан 22.

Подручје или држава задржаће статус службено слободног од ензоотске леукозе говеда ако:

1) су све заклане животиње на територији државе или одређеног подручја подвргнуте постморталном прегледу на коме се сви тумори који би могли бити последица вируса ензоотске леукозе шаљу на лабораторијску анализу;

2) Министарство обавештава Европску комисију о свим случајевима ензоотске леукозе говеда који се појављују у њеном региону;

3) се сва говеда која реагују позитивно на било који тест из члана 6. овог правилника, закољу, а њихова стада подлежу ограничењима све до поновног враћања статуса, у складу са чланом 20. овог правилника;

4) све животиње старије од две године су тестиране или једном у првих пет година након добијања статуса, према дијагностичким испитивањима из чл. 6. до 9. овог правилника, или током првих пет година након добијања статуса према процедурама које са сигурношћу од 99 % потврђују да је мање од 0,2 % стада заражено. Ако ниједан случај ензоотске леукозе говеда у земљи или њеном одређеном подручју није забележен у пропорцији једно стадо на 10000 стада у последње три године, може се донети одлука, у складу са прописаним поступком, да се број рутинских серолошких тестова може смањити, под условом да се сва говеда старија од 12 месеци у најмање 1% стада, одабрана случајним узорком сваке године, подвргну тесту који се спроводи у складу са чл. 6. до 9. овог правилника.

#### Члан 23.

Статус подручја или државе службено слободне од ензоотске леукозе говеда укинуће се у складу са прописаним поступком, ако, као резултат испитивања, обављених у складу са чланом 22. овог правилника, постоји доказ о значајној промени ситуације с обзиром на ензоотску леукозу говеда у подручју или држави, која је призната као службено слободна од ензоотске леукозе говеда.

Статус подручја или државе службено слободне од ензоотске леукозе говеда може се обновити у складу са прописаним поступком из члана 21. овог правилника.

#### Члан 24.

Сматра се да је ензоотска леукоза говеда на газдинству престала, после успешно спроведених мера из чл. 5. и 12. овог правилника.

#### IV. ЗАВРШНЕ ОДРЕДБЕ

##### Члан 25.

Даном ступања на снагу овог правилника престају да важе одредбе Правилника о мерама за сузбијање и искорењивање ензоотске леукозе говеда („Службени лист СФРЈ”, број 39/88).

##### Члан 26.

Овај правилник ступа на снагу осмог дана од дана објављивања у „Службеном гласнику Републике Србије”, а одредбе чл. 17. до 23. примењиваће се од 1. јануара 2010. године.

Број: 110-00-00140/2009-09  
У Београду, 3. јула 2009. године

МИНИСТАР  
др Саша Драгин