



**UNIVERZITET U NOVOM SADU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET
DEPARTMAN ZA VETERINARSKU
MEDICINU**



**EPIZOOTIOLOŠKI MODELI KONTROLE I MOGUĆNOSTI
PRIMENE MOLEKULARNE DIJAGNOSTIKE U CILJU
UNAPREĐENJA AKTIVNOG NADZORA ENZOOTSKE
LEUKOZE GOVEDA**

- doktorska disetracija -

Mentor :
Prof. dr Stanko Boboš

Kandidat:
mr sc Slobodan Stanojević *vet.spec.*

Novi Sad, 2016. godine

ČLANOVI KOMISIJE :

Prof. dr Stanko Boboš, redovni profesor, mentor

Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

Uža naučna oblast : Bolesti životinja higijena animalnih proizvoda

dr. sc. Sava Lazić, naučni savetnik

Naučni institut za veterinarstvo "Novi Sad"- Novi Sad

Uža naučna oblast : Mikrobiologija i zarazne bolesti

dr. sc. Vojin Ivetić, viši naučni saradnik

Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd

Uža naučna oblast: Klinička patologija i patološka morfologija

**UNIVERZITET U NOVOM SADA
POLJOPRIVREDNI FAKULTET**

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

Redni broj:

RRB

Identifikacioni broj:

IBR

Tip dokumentacije:

TD

Monografska dokumentacija

Tip zapisa:

TZ

Tekstualni štampani materijal

Vrsta rada (dipl., mag., dokt.):

VR

Doktorska disertacija

Ime i prezime autora:

AU

Slobodan Stanojević

Mentor (titula, ime, prezime, zvanje):

MN

Prof.dr Stanko Boboš

Naslov rada:

NR

Epizootiološki modeli kontrole i mogućnosti primene molekularne dijagnostike u cilju unapređenja aktivnog nadzora enzootske leukoze goveda

Jezik publikacije:

JP

Srpski latinica

Jezik izvoda:

JI

srp. / eng.

Zemlja publikovanja:

ZP

Srbija

Uže geografsko područje:

UGP

AP Vojvodina

Godina:

GO

2016.

Izdavač:

IZ

autorski reprint

Mesto i adresa:

MA

Novi Sad, Dositeja Obradovića 8

Fizički opis rada:
FO (8 poglavlja / 175 stranice / 21 tabele/ 26 slika / 13 grafikona-histiograma/ 2 kartograma /2 dendrograma/ 261 referenci/ 2 priloga distanci i 1 prilog nukleotidnih sekvenci)

Naučna oblast:
NO Veterinarska medicina

Naučna disciplina:
ND Epizootiologija

Predmetna odrednica, ključne reči:
PO Enzootska leukoza goveda, seroprevalenca, modeli kontrole, aktivni nadzor
UDK 616.079:599.735.5 (043.3)

Čuva se:
ČU Biblioteka poljoprivrednog fakulteta , Trg Dositeja Obradovića 8, Novi Sad

Važna napomena:

VN

Izvod:

IZ

Enzootska leukoza goveda je maligna virusna neoplazma retikulohistiocitarnog sistema progresivnog karaktera, koja se karakteriše intenzivnim razmnožavanjem limfocita. Ova bolest govedarstvu nanosi velike materijalne štete dovodeći do visokog nivoa mortaliteta, pojave učestalijih oportunističkih infekcija, smanjenja produktivnosti i reprodukcije na leukoznim farmama. Imajući u vidu, da govedarstvo predstavlja stratešku granu u stočarstvu Srbije i učestvuje u stvaranju znatnog dela nacionalnog dohotka od 1999. godine, preduzimana su sistematska dijagnostička ispitivanja raširenosti ELG na farmama goveda kako u intenzivnoj tako i od 2000. godine i u ekstenzivnoj proizvodnji goveda. Korišćene su savremene metode dijagnostike ELG najpre agargel-imunodifuzioni test (AGID), a potom i indirektna imunoenzimska metoda (ELISA) kao dijagnostički test izbora. Na osnovu dobijenih epizootioloških podataka sprovođene su mere za suzbijanje i iskorenjivanje EGL na farmama goveda. U zavisnosti od tehnološkog procesa proizvodnje, kao i od ekonomskih mogućnosti farmi sprovođeni su različiti modeli kontrole i eradicacije.

ELG predstavlja veoma ozbiljan zdravstveni i ekonomski problem za govedarsku proizvodnju posebno za zapate mlečnih goveda, a pošto se i pored sprovođenja mera za eradicaciju, leukoza još uvek zadržala u nekim našim stadima i zapatima goveda smatrali smo da bi trebalo preispitati dosadašnju strategiju kontrole ELG.

Razmatrane su poteškoće u sprovođenju mera za suzbijanje i iskorenjivanje leukoze goveda kao i potreba za izučavanjem epizootiologije, odnosno kontrole kretanja leukoze u trakozvanim leukoznim zapatima koji predstavljaju potencijalne izvore širenja leukoze.

Imajući u vidu navedeno, cilj ovog ispitivanja je bio ustanoviti stepen raširenosti ELG i ispitati do sada korišćeni programi kontrole i eradicacije oboljenja. Zadaci ovog istraživanja su bili da se ispitaju pogodnosti pojedinih dijagnostičkih metoda u cilju postavljanja rane dijagnoze oboljenja, istražiti incidenciju i prevalenciju bolesti, proceniti značaj pojedinih puteva prenošenja u okviru farmi i u regionu, izvršiti analizu dosadašnjih rezultata borbe i evaluaciju pojedinih modela, predložiti najpogodnije modele kontrole bolesti u cilju potpune eradicacije bolesti, a takođe razviti i adekvatan model nadzora bolesti kako bi se sprečila njena ponovna pojava i širenje.

Rezultati seroloških ispitivanja pokazuju da je otkriveno 10.181 pozitivnih životinja, odnosno 8,1% posto životinja u zapatima goveda na velikim farmama. Epizootiološka situacija na farmama goveda individualnog sektora zahtevala je posebnu pažnju i tu je ispitano 281.369 uzoraka krvi goveda i otkriveno je 567 pozitivnih grla ili 0,4% posto na području 12 opština. Rezultati seroprevalencije predstavljali su ključnu informaciju od značaja za izbor modela kotrole ELG. Odnosno istraživanje efikasnosti pojedinih modela u postizanju rezultata i zadatih ciljeva. Značajnih za izradu komparativne analize korišćenih modela, njihove primene i evaluacije. Epizootiološki modeli su analizirani, izvršena je njihova evaluacija i preporuka za primenu u epizootiološkoj praksi.

Datum prihvatanja teme od strane 02.02.2009.

NN veća :

DP

Datum odbrane:

DO

Članovi komisije:

(ime i prezime / titula / zvanje /
naziv organizacije / status)

KO

Mentor: _____

Prof. dr Stanko Boboš, redovni profesor
Pljoprivredni fakultet, Novi Sad

član: _____

dr Sava Lazić, naučni savetnik
Naučni institut za veterinarstvo, Novi Sad

član: _____

dr Vojin Ivetić, naučni savetnik
Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd

University of Novi Sad
Faculty of Agriculture,
Key word documentation

Accession number:
ANO

Identification number:
INO

Document type: Monograph documentation
DT

Type of record: Textual printed material
TR

Contents code: Ph.D.Thesis
CC

Author: Slobodan Stanojević
AU

Mentor: Prof.dr Stanko Boboš
MN

Title: Epizootic control models and possibilities of
application of molecular diagnostics to improve
the active surveillance of enzootic bovine
leukosis
TI

Language of text: Serbian (latinic)
LT

Language of abstract: eng. / srp.
LA

Country of publication: Republic of Serbia
CP

Locality of publication: AP of Vojvodina
LP

Publication year: 2016.
PY

Publisher: Author reprint
PU

Publication place: Novi Sad, Dositeja Obradovića 8
PP

Physical description:	8 chapter, 175 pages, 21 tables, 26 pictures , 13 graphs, 2 cartograms, 2 denodograms , 261
PD	references, 2 contributions distance, 1 contributions nucleotide sequences
Scientific field	Veterinary medicine
SF	
Scientific discipline	Epizootiology
SD	
Subject, Key words	Enzootic bovine leukosis, seroprevalence, models of control, active surveillance.
SKW	
UDC	616.079:599.735.5 (043.3)
Holding data:	Library of The Faculty of Agriculture , Dositeja
HD	Obradovića 8, Novi Sad
Note:	
N	

Abstract:

AB

Enzootic bovine leucosis is viral malignant neoplasm reticulohistiocytic system and has progressive character, which is characterized by intensive multiplication of lymphocytes. This disease is causing a great material damage to cattle farming, leading to high level of mortality, with the emergence of more frequent infections and a reduction in productivity and reproduction in farms in which the leukosis appeared. Having in mind that the cattle farming is a strategic branch of the Serbian livestock and participates in the creation of a significant part of the national income since 1999, systematic diagnostic tests of the prevalence of EBL were undertaken on cattle farms, both in the intensive cattle production and from 2000 extensive production. Modern diagnostics methods of EBL were used, firstly the agar-gel-immunodiffusion test (AGID), followed by an indirect enzyme immunoassay method (ELISA) as well as a diagnostic test of choice. Based on the obtained epizootic data, the measures for the control and eradication of EBL were carried out on cattle farms. Depending on the technological process of production, as well as the economic farm opportunities, different models of control and eradication were implemented.

EBL is a very serious health and economic problem for cattle farming, especially for dairy cattle herds, and despite the implementation of the measures for the eradication of the disease, leucosis is still held in some of our flocks and herds of cattle. Because of that we thought that the current control strategy EBL should be examined.

The difficulties in implementing measures to suppress and eradicate bovine leukosis were discussed and the requirement to study the epizootiology , as well as to control the movement of leukosis in so-called leukostic herds, that represent potential source of spreading the leukosis.

Taking into account, the purpose of this study was to establish the degree of prevalence of EBL to examine the programs that were used so far to control and eradicate the diseases. The task of this study was to examine the benefits of specific diagnostic

methods in order to establish early diagnosis of the diseases, to see into the incidence and prevalence of the leukosis, to estimate the significance of some routes of transmission within the farm and in the region, and to carry out an analysis of recent results in fighting and evaluation of individual models, to suggest the most appropriate models of disease control in order to complete the eradication of leukosis, but also to develop an adequate model of disease control to prevent its re-emergence and spread.

The results of serological tests indicate that 10.181 the positive animals were detected, or 8.1 % percent of the animals in cattle herds in large farms. Epizootiological situation in the cattle farms of individual sectors required special attention and 281.369 blood samples of cattle were examined and the 567 positive cases were discovered, or 0.4 % percent in 12 communities.

Results of seroprevalence were a key information for the choice of models to control ELG, or to investigate the efficiency of some models to achieve results and goals, and important for the production of comparative analysis of models that were used, their implementation and evaluation. Epizootic models were analyzed, their evaluation was made and recommendations for their implementation in the epizootic practice.

Accepted on Senate on: 02.02.2009.
AS

Defended:
DE

Thesis Defend Board:
DB

Mentor: _____
Prof.dr Stanko Boboš , full professor
Faculti of Agriculture, Novi Sad

Memeber: _____
dr Sava Lazić , principal researshe fellow
Scientific Veterinary Institute "Novi Sad" N.Sad

član: _____
dr Vojin Ivetić , scientific advisor
Scientific Veterinary Institute Serbia Belgrade

**EPIZOOTIOLOŠKI MODELI KONTROLE I MOGUĆNOSTI PRIMENE
MOLEKULARNE DIJAGNOSTIKE U CILJU UNAPREĐENJA AKTIVNOG
NADZORA ENZOOTSKE LEUKOZE GOVEDA**

Kratki sadržaj

Enzootskoj leukozi u patologiji goveda pridaje se veliki značaj, s obzirom na njen enzootsko pojavljivanje i rastuću opasnost koju ova maligna hemopatija predstavlja posebno za intenzivni način govedarske proizvodnje. Oboljenje je prošireno u mnogim zemljama na svim kontinentima, po podacima FAO i OIE prisutna je u 59 država sveta i predstavlja značajan svetski zdravstveni problem, jer prouzrokuje velike ekonomski šetete. U našoj zemlji je prisutna više od četiri decenije i gotovo isto toliko traje borba za kontrolu i njen iskorenjivanje.

Poznavanje epizootiološkog statusa stada i njegovo definisanje je od prvorazredanog značaja i direktno utiče na koncepciju modela kontrole bolesti i izbor metode borbe protiv ove bolesti, izradu programa mera za kontrolu i eradicaciju bolesti. Vrednovanje dijagnostičkih metoda i njihov pravilan izbor u kontroli bolesti imaju značajan uticaj na efikasnost primjenjenog modela kontrole bolesti i rezultate njegove primene. Efikasni modeli za kontrolu i eradicaciju bolesti kao svoj krajnji cilj imaju iskorenjivanje bolesti uz najmanje ekonomski gubitki u što kraćem vremenskom periodu.

Cilj ove doktorske disertacije bio je ustanoviti stepen raširenosti enzootske leukoze goveda, utvrditi najvažnije puteve prenošenja na osnovu rezultata istraživanja, definisati najoptimalnije mere za kontrolu i eradicaciju enzootske leukoze goveda. U skladu sa utvrđenim stanjem kreirati određene modele kontrole bolesti i primeniti ih u praksi. Prema rezultatima primene određenog modela izvršiti komparativnu analizu i evaluaciju primjenjenih modela. Osim toga bilo je potrebno ispitati mogućnosti korišćenja molekularne dijagnostike u cilju unapređenja aktivnog nadzora ELG radi efikasnijeg očuvanja "leukosis free" stečenog statausa.

Ispitano je 281.369 uzoraka krvi goveda u individualnim domaćinstvima i otkriveno je 567 pozitivnih grla ili 0,4% posto na području 12 opština. Na velikim farmama serološki je ispitano 182.713 uzoraka i otkriveno 10.181 pozitivnih životinja, odnosno 8,1% posto. Rezultati seroprevalencije bili su od ključnog značaja za izbor modela kontrole ELG. Dalje u disertaciji su ispitana četri korišćena epizootiološka modela i njihove mogućnosti. Rezultate njihove primene smo uporedili i istakli njihove komparativne prednosti koje su u disertaciji izložene. Takođe, za potrebe ovog istraživanja izvršeno je skvencioniranje dela env genoma virusa BLV te ga uporedili sa srodnim skvencama iz Gen Bank, radi određivanja porekla naših izolata virusa i mogućnosti njihove distinkcije od drugih izolata. Ustanovili smo da naš izolat pripada **belgijskom** soju virusa ELG. Korišćenjem molekularnih metoda mogu se dobiti značajne informacije o biologiji i poreklu virusa kao i svakog izolata. Ovi podaci imaju važnu primenu u molekularnoj epizootiologiji i ističu njen potencijal i velike mogućnosti molekularne epizootiologije. Tako smo korišćenjem ovih tehnika uspeli da razlikujemo naše domaće sojeve od uvezanih, što nam je bilo od značaja za trasiranje puta unosa virusa i razlikovanje izolata po srodnosti.

Ključne reči: Bovina enzootska leukoza, epizootiološki modeli, distance, filogenetska analiza.

**UNIVERSITY OF NOVI SAD
FACULTY OF AGRICULTURE
NOVI SAD SERBIA**

Ph. D. Thesis

Submitted 2016.

UDK: 616 079: 599.735.5 (043.3)

**EPIZOOTIC CONTROL MODELS AND POSSIBILITIES OF APPLICATION OF
MOLECULAR DIAGNOSTICS TO IMPROVE THE ACTIVE SURVEILLANCE OF
ENZOOTIC BOVINE LEUKOSIS**

Abstract

Enzootic leukosis in cattle pathology has great importance due to its enzootic emergence and this malignant disease is a growing danger to intensive cattle farming. This disease has spread in many countries on all continents, according to data of FAO and OIE exists in 59 the states of the world and represents a significant global health problem, because it causes great economic damage. In our country bovine leukosis exists for more than four decades almost as the struggle to control and eradicate it. Knowledge of the epizootic herd status and its definition is of first class importance and directly affects the selection models of disease control and choice of the eradication methods and also affects the development of the programs for the control and eradication of the disease. Evaluation of diagnostic methods and their correct choice in controlling the disease have a significant impact on the efficiency of the applied model of disease control and the results of its application. Effective models for the control and eradication of the disease have as their final goal the eradication of this disease with minimum economic losses in the shortest period of time. The aim of this doctoral thesis was to determine the degree of enzootic bovine leukosis outspread, to determine the most important way of transmission on the basis of research results, and define the optimal measures for the control and eradication of enzootic bovine leukosis. In accordance with the established situation, models of disease control were created and applied in practice. According to the results of the application of a certain model, comparative analysis should be carried out and evaluation of the applied models. In addition, it was necessary to examine the possibility of molecular diagnostics usage ,to improve active surveillance of EBL for more efficient conservation of "leukosis free 'acquired status. The study included 281,369 blood samples from cattle in individual homesteads and the 567 positive cases, or 0.4% percent were discovered in 12 communities. On large farms 182,713 samples were serologically tested and 10,181-positive animals, or 8.1% percent were uncovered. Results of seroprevalence were crucial for the choice of models to control EBL. Further in the thesis , four epizootiological models and their features were tested. The results of their application we compared and highlighted their advantages , that are displayed in the dissertation. Also, for the purpose of this research env BLV virus genome sequencing was carried out , and compared with similar sequences from Gen Bank, for the sake of determining the origin of our isolates viruses and the possibility of their distinction from other isolates. We have established that our isolate belongs to Belgian EBL virus strain. Using molecular methods significant information can be obtained about the biology and the origin of the virus and each isolate. These data have important application in the molecular epizootiology and they highlight her potential and her great possibilities. So with the usage of these techniques we were able to distinguish between our domestic strains from the imported ones, and that was important for finding the right way for the entry of the virus and differentiating isolates by their similarity.

Keywords: Bovine enzootic leukosis, epizootiological models, distance, phylogenetic analysis.

1. UVOD.....	1
2. PREGLED LITERATURA.....	3
2.1. Enzootska leukoza goveda (ELG).....	3
2.2. Istorijat bolesti.....	4
2.3. Geografska raširenost.....	6
2.3.1. <i>Raširenost u svetu</i>	6
2.3.2. <i>Raširenost ELG u Srbiji</i>	11
2.4. Etiologija	13
2.4.1. <i>Osobine uzročnika</i>	16
2.4.2. <i>Patogenost i virulencija</i>	19
2.4.3. <i>Tropizam virusa</i>	20
2.5. Epizootiologija	20
2.5.1. <i>Infektivna doza</i>	22
2.5.2. <i>Putevi prenošenja</i>	22
2.6. Patogeneza	28
2.7. Klinička slika	32
2.8. Patoanatomske promene	37
2.9. Dijagnostika ELG	51
2.9.1 <i>Klinička i hematološka dijagnostika</i>	51
2.9.2. <i>Imunološka dijagnostika</i>	54
2.9.3. <i>Molekularna dijagnostika</i>	57
2.9.3.1 <i>Lančana reakcija polimetaze PCR nested PCR</i>	57
2.9.3.2 <i>Sekvenciranje PCR produkata</i>	59
2.10. Imunoprofilaksa	61
2. CILJ I ZADACI ISTRAŽIVANJA	63
3. MATERIJAL I METODE	66
4.1. Materijali za ispitivanje	66
4.2. Metode rada	66
4.2.1. <i>Laboratorijske metode</i>	66
▪ <i>Agar- gelimunodifuzioni test AGID</i>	67

▪ <i>Adsorpcioni imunoenzimski test ELISA</i>	68
▪ <i>Molekularne metode PCR</i>	74
▪ <i>Filogenetska analiza</i>	83
4.2. 2. Epizootiološke metode	83
4.2.2.1. Kontrola i eradicacija	85
4.2.2.1.1. Nadzor i kontrola ELG.....	85
4.2.2.1.2. Suzbijanje i iskorenjivanje ELG.....	86
4.2.2.1.3. Epizootiološki model kontrole i eradicacije.....	90
4.2.2.1.4 Mere za sprečavanje širenja i iskorenjivanje.....	90
4. REZULTATI	92
5.1. Epizootiološka situacija na farmama	92
5.2. Prevalencija i incidencija.....	97
5.3. Molekularna detekcija i identifikacija - nested PCR	115
5.4. Sekvenciranje	117
5.4..1. Nukleotidne skvence.....	117
5.4.2. Distance između nukleotodnih sekvenci.....	122
5.4.3. Filogenetska stabla.....	124
5. DISKUSIJA	127
6.1. Modeli kontrole i eradicacije ELG-a	129
6.1.1 Tipovi i karakteristike modela	129
6.1.2 Uporedna analiza rezultata primene modela	136
6.2. Nadzor i kontrola	147
6.2.1. Aktivni nadzor i mogućnosti njegovog unapređenja....	147
6.2.1.1 Unapređeni aktivni nadzor.....	148
6.2.2. Filogenetska analiza	150
6. ZAKLJUČCI	154
7. SPISAK LITERATURE	156

1. UVOD

Enzootska leukoza goveda je maligna virusna neoplazma retikulohistiocitarnog odnosno hematopoetskog sistema progresivnog karaktera, koja se karakteriše intenzivnim razmnožavanjem limfocita. Ova bolest govedarstvu nanosi velike materijalne štete dovodeći do visokog morbiditeta i mortaliteta, pojavom učestalijih oportunističkih infekcija, kao i smanjenja produktivnosti i reprodukcije na leukoznim farmama (Sandev N. 2000.; Radostis O.M. 2006.; Erskine R.J 2012).

Pored promena koje se javljaju u vidu promene broja ćelijskih elemenata, nastaju i promene u samom leukoznom tkivu, međućelijskim membranama, elastičnim kolagenima i u argirofilnim vlaknima gde se zapažaju proliferacije i destruktivne promene. Osim toga u organizmu je kvalitativno i kvantitativno poremećen metabolizam belančevina, masti, ugljenih hidrata i nukleinskih kiselina.

Leukoze goveda uopšteno predstavljaju kompleks bolesti koje se međusobno razlikuju po patoanatomskim i patohistološkim promenama. Leukoze goveda se javljaju u sledećim oblicima: a) **limfatična enzootska leukoza odraslih goveda** (*Leucosis lymphatica enzootica bovis adulti*), b) **limfatična leukoza timusa i limfnih čvorova junadi** (*Leucosis lymphatica thymi bovis*), c) **limfatična sporadična leukoza teladi i junadi** (*Leucosis lymphatica sporadica bovis juvenilis*) i kao d) **retka limfatična kožna leukoza** (*Leucosis lymphatica cutanea bovis*) (Cvetnić S., 1987).

Enzootska leukoza goveda se razlikuje od sporadične leukoze koja se uglavnom javlja kod mlađih životinja teladi i junadi, najčešće starosti od 6 meseci do dve godine. Sporadična leukoza nije kontagiozna bolest, a uzrok njenog nastajanja još nije poznat. Samo neoplazme izazvane infekcijom virusom ELG trebaju se nazivati **enzootskom leukozom goveda** (Gileet N., 2007).

Enzootska leukoza (ELG) odraslih goveda je neoplazma, hroničnog toka, najčešće praćena limfocitozom, a prouzrokovana infekcijom onkogenim RNK delta retrovirusom.

Bolest se odlikuje dugom inkubacijom i veoma složenom kliničkom i patomorfološkom slikom (Stamatović S.,1983).

Nanosi velike direktne i još veće indirektne štete govedarstvu, posebno velikim govedarskim farmama gde se nalaze velike aglomeracije mlečnih goveda sa velikom gustinom životinja, čime se i povećava i mogućnost širenja EGL. Raširena je gotovo po celom svetu pa se može smatrati kosmopolitskom zarazom u razvijenim govedarstvima.

Imajući u vidu, da govedarstvo predstavlja stratešku granu u stočarstvu Srbije i učestvuje u stvaranju znatnog dela nacionalnog dohotka od 1999. godine, preduzeta su sistemska dijagnostička ispitivanja raširenosti ELG na farmama goveda kako u intenzivnoj tako i od 2000. godine i u ekstenzivnoj proizvodnji goveda. Korišćeni su savremeni metodi dijagnostike EGL najpre agargel-imunodifuzioni test (AGID), a potom i indirektna imunoenzimska metoda (ELISA) kao dijagnostički test izbora.

Na osnovu dobijenih epizootioloških podataka vršeno je suzbijanje, iskorenjivanje EGL na farmama goveda u zavisnosti od tehnološkog procesa proizvodnje, kao i od ekonomskih mogućnosti farmi pri čemu se model kontrole i eradicacije razlikovao na pojedinim farmama.

Imajući u vidu navedeno, cilj ovih ispitivanja je ustanoviti stepen raširenosti ELG –a i ispitati do sada korišćene programe kontrole i eradicacije oboljenja. Zadaci ovog istraživanja su ispitati pogodnosti pojedinih dijagnostičkih metoda u cilju postavljanja rane dijagnoze oboljenja, istražiti incidenciju i prevalenciju bolesti, proceniti značaj pojedinih puteva prenošenja u okviru farmi i u regionu, izvršiti analizu dosadašnjih rezultata borbe i evaluaciju pojedinih modela, predložiti najpogodniji model kontrole bolesti u cilju potpune eradicacije bolesti, a takođe razviti i adekvatan model nadzora bolesti kako bi se sprečila njena ponovna pojava i širenje.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. ENZOOTSKA LEUKOZA GOVEDA (ELG)

Enzootska leukoza goveda (ELG) je zarazna maligna neoplazma, prouzrokovana virusom goveđe leukoze, hroničnog je toka i odlikuje se bujanjem limfatičnog i retikulohistocitarnog tkiva.

U patologiji goveda enzootskoj leukozi se pridaje veliki značaj, s obzirom na enzootsko pojavljivanje i rastuću opasnost koju ova maligna hemopatija predstavlja za intenzivnu proizvodnju goveda, (Gregorović i sr.1962; Iliev 1964; Jazbec i sr. 1982; Rosenberger, 1963, 1977; Stamatović i sr. 1969, 1983; Straub, 1971, 1982). Oboljenje je prošireno u mnogim zemljama na svim kontinentima, i predstavlja značajan svetski epizootiološki problem prouzrokujući zнатне ekonomske gubitke. Oni proizilaze iz gubitaka nastalih kod obolelih odraslih goveda zbog prevremenog isključivanja iz proizvodnje i reprodukcije, smanjenja proizvodnje mleka i mesa i negativnog uticaja na njihov kvalitet, smetnji u reprodukciji i sterilitet, poremećaja u uzgoju, selekciji i prometu priplodnih goveda, zbog iznenadnih uginuća, češćih obolevanja od infektivnih bolesti različite etiologije, ali i iz gubitaka nastalih na podmladku koji je pogoden na leukoznim farmama (Straub 1978, Stamatović i sr.1983, Romero i sr.1983, Klintevall i sr.1994).

Goveda mogu biti inficirana u bilo kom uzrastu uključujući i period embrionalnog razvića. Većina infekcija protiče u subkliničkom obliku, s tim što bolesna goveda starija od tri godine (u oko 30% slučajeva) ispoljavaju limfocitozu ili sa manjom učestalošću limfosarkomatozu u raznim organima. Prirodno inficiranje je registrovano i kod bufala, ovaca i kapibara. Klinički simptomi, ako su prisutni najviše zavise od toga koji su organi zahvaćeni i pogoden patološkim procesom. Goveda sa limfosarkomima gotovo bez izuzetaka uginjavaju iznenada, odnosno posle nekoliko nedelja ili meseci od pojavljivanja simptoma bolesti.

Izraz **leukoza** prvi su uveli Ellermann i Bang 1908. za "leukozu živine", Ellermann 1921. Dobberstein ga je 1934. preporučio za odgovarajuće promene i u hematopoezi goveda.

Leukoza goveda se često još i naziva leukemijom, limfosarkomatozom, limfoidnom leukozom, limfatičnom leukemijom, limfomom, limfoblastomatozom, limfadenozom, limfocitomatozom i limforetikulozom. To je sistemsko oboljenje za koje je karakteristično maligno razmnožavanje zrelih i nezrelih ćelija limfatičnog tkiva i retikulohistocitarnog sistema u pojedinim limfnim čvorovima i organima. U njima se jedno za drugim razvijaju dve ili tri faze, i to *inaparentni* inkubacioni period, asimptomatski stadijum *atumorozne preleukoze* sa subkliničkim ili limfolekemičnim promenama u krvi, zatim klinički *manifestna tumorozna leukoza* sa letalnim ishodom.

2.2. ISTORIJAT BOLESTI

Prva istraživanja leukemije bila su od strane Wirchow-a (1845), on je utvrdio da je leukemija ljudi maligna bolest, uočivši kod jedne umrle žene uvećanje slezine i povećanje broja belih krvnih zrnaca. Wirchow je ovu bolest nazvao leukemija. Široko prihvaćen naziv leukemija u vreme Wirchow-a nije odgovrao nađenim patološkim procesima u organizmu. Kasnije, od strane Leisering-a (1858.) u Nemačkoj je predloženo da se ovo oboljenje zove leukoza kod konja, a potom je Siedamgrotzky (1876.) opisao leukozu kod goveda .

Leukozom se označavala bolest konja kod koje nastaju promene u hematopoetskim organima, ali ne uvek, i promene nastale u sastavu periferne krvi. Knuth, Du Toit i Volkmann 1916. su otkrili leukozu kod klinički zdravih goveda, iz leukoznih stada koja su pokazivala snažno bujanje nezrelih limfocita u krvi u stadima goveda u više oblasti u Nemačkoj.

Francuski virusolog Borell 1903. prvi je prepostavio da je uzročnik nastajanja neoplastičnih oboljenja virus. Ovu hipotezu su potvrdili nemački istraživači Ellermann i Bang koji su 1908. godine opisali bezćelijski prenos leukoze kod kokoši i zaključili da postoji agens koji izaziva avijarnu leukozu. Rous je 1911. opisao bezćelijski prenos kokošjeg sarkoma.

Prenos enzootske leukoze goveda sa goveda na govedo, eksperimentalno su izvršili Dobberstein i Pening 1935. i zaključili da je uzročnik živi agens. Da je leukoza zarazna bolest, dokazao je Schottler 1935. godine.

Kasnije je utvrđeno da se kod enzootske limfatične leukoze odraslih goveda tok bolesti odvija u dve faze: a) stadijum bez kliničkih simptoma, ali sa izraženom limfocitozom i b) klinički ispoljen tumorozni stadijum koji se javlja posle 2,5-4,5 godine (Götze, Rosenberger i Ziegenhagen 1954). Gece je od 1950. do 1956. eksperimentalno preneo leukozu na zdravu telad, junice i odrasla goveda inokulacijom zdravim govedima krvi, urina, fekalija i suspenzije organa od obolelih životinja. Za 2,5 do 4,5 godina kod eksperimentalnih životinja javili su se tumori.

Wiesner je 1966. godine leukozna goveda uveo u zdravo stado u kome su se posle 2,5 godine pojavila pojedinačna oboljenja zdravih životinja (Calafat J., 1977).

Bendixen je 1963. ustanovio da se leukoza goveda javlja u enzootskoj i sporadičnoj formi, dok je Ressang 1976. je opisao sličnosti i razlike između ove dve bolesti.

Sorensen i Theilen 1963. godine su dokazali prisustvo virusa u tkivima leukoznih goveda u tovu. Dutcher i sar. 1964. i Lange 1965. godine su ustanovili virus u tkivima i u mleku leukoznih krava. Anderwes i Pereira 1987. tvrde da je virus limfosarkoma goveda sličan virusu koji izaziva leukemiju kod miševa. Miller-ova i sar. 1969. godine su u kulturama limfocita leukoznih goveda dokazali partikule virusa tipa C, koje su bile slične onima kod avijarne, mišje i mačje leukoze. Do sličnih rezultata dolazi i Dutta i sar. 1970. godine, Kawakami 1970, Schmid 1970, Ferrer 1972, Witmann i Solische 1972, Weiland 1974, Guilleman 1975, Mammerickx i Decegel 1975, Valikhov 1977, koji su potvrdili da je uzročnik ELG oncornavirus.

Miller-ova M. i Olson C., 1979. godine uveli su dijagnostiku ELG serološku metodu agar-gel imunodifuzioni AGID test. Komisija Evropske ekonomске zajednice je 1977. godine za dijagnostiku ELG svojim članicama preporučila izvođenje AGID testa sa virusnim glikoproteinskim antigenom.

2.3. GEOGRAFSKA RAŠIRENOST

2.3.1. Raširenost u svetu

ELG je bolest raširena u celom svetu. Serološki je dokazana u mnogim zemljama sveta na svim kontinentima .

Uvođenjem u dijagnostiku ELG-a seroloških testova (AGID) procenat otkrivenih leukoznih goveda se gotovo udvostručio u odnosu na podatke dobijene hematološkim pregledima (Stamatović S. 1983). Pregled podataka u svetu je zbog različitih metodoloških postupaka i dijagnostičih pregleda vrlo raznolik i nepotpun. Poteškoće proističu od različitih dijagnostičkih postupaka kao i nedoslednog prijavljivanja utvrđene bolesti. Većina epizootioloških podataka o ELG odnosi se na epizootiološka izviđanja odnosno otkrivanje prisustva virusa u pojedinim stadima goveda na nekoj teritoriji, a ne sistematskim pregledima svih stada .

BLV je verovatno bio prisutan u Evropi još tokom 19. veka, odakle je prenet u SAD da bi se tokom prve polovine 20. veka ponovo vratio nazad u Evropu i druge zemlje uvozom Kanadskog Holštajna iz Severne Amerike (Lorenz J.R.1987).

ELG je raširena skoro u celom svetu: Evropi, Americi, Aziji, Africi i Australiji. Neke od evropskih zemalja kao što su Danska, Švedska, Nemačka, Poljska, Litvanija, Letonija i Estonija smatrane su za tipično "leukozne zemlje" . Iz ovih zemalja uvozom priplodne stoke, ELG se raširila na veliki broj zamalja Evrope tako da njihov status nije više bio tako ekskluzivan. Neke od njih su uspešno sprovele programe eradikacije tako da sada imaju status zemalja slobodnih od ELG-a. Rasprostranjenost ELG po podacima organizacije FAO-WHO-OIE, pokazuje da je ELG bilo moguće pouzdano utvrditi u 59 (34,3%) država i regionala sveta od 172 države i regionala. U međuvremenu u nekim zemljama Evrope došlo do promena u njihovom statusu, posebno u većini zemalja članica EU (HENDISTSTUS II Multiannual animal disease status 2015).

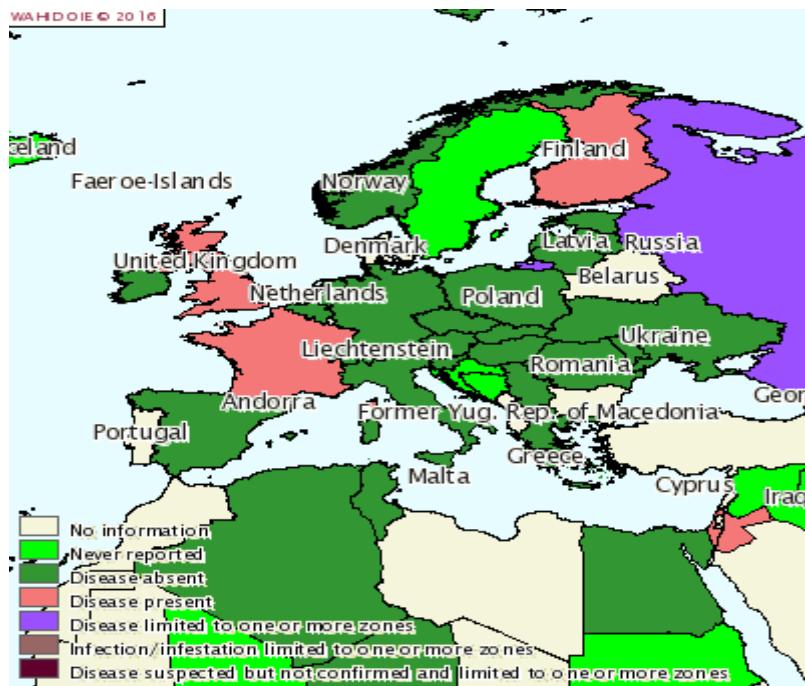
ELG je u Evropi registrovana u 18 država (47%) i to u: Albaniji, Belorusiji, Bugarskoj, Bosni i Hercegovini, Hrvatskoj, Estoniji, BRJ Makedoniji, Grčkoj, Mađarskoj, Italiji,

Moldaviji, Poljskoj, Portugaliji, Rumuniji, Rusiji, Srbiji, Crnoj Gori i Ukrajini (HENDISTSTUS II Multiannual animal disease status 2015).

Tabela 1.Epizootiološki status u nekim evropskim zemljama

	Država	ELG Status		Država	ELG Status
1.	Austrija	zemlja službeno slobodna	17	Španija	zemlja službeno slobodna
2.	Luksemburg	zemlja službeno slobodna	18	Kipar	zemlja službeno slobodna
3.	Belgija	zemlja službeno slobodna	19	Litvanija	zemlja službeno slobodna
4.	Holandija	zemlja službeno slobodna	20	Letonija	zemlja službeno slobodna
5.	Češka	zemlja službeno slobodna	21	Malta	zemlja službeno slobodna
6.	Norveška	zemlja službeno slobodna	22	Estonija	stada službeno slobodna
7.	Danska	zemlja službeno slobodna	23	Poljska	regije službeno slobodne
8.	Slovačka	zemlja službeno slobodna	24	Italija	regije službeno slobodne
9.	Finska	zemlja službeno slobodna	25	Portugalja	regije službeno slobodne
10.	Slovenija	zemlja službeno slobodna	26	Rumunija	stada službeno slobodna
11	Francuska	zemlja službeno slobodna	27	Bugarska	stada službeno slobodna
12	Švedska	zemlja službeno slobodna	28	Mađarska	stada službeno slobodna
13	Nemačka	zemlja službeno slobodna	29	Grčka	stada službeno slobodna
14	Švajcarska	zemlja službeno slobodna	30	Hrvatska	nema slobodni status
15	UK	zemlja službeno slobodna	31	Srbija	nema slobodni status
16	Irska	zemlja službeno slobodna			

Zemlje Evrope koje su slobodne od ELG (**Tabela 1.**) : Austrija, Luksemburg, Belgija, Holandija, Češka, Norveška, Danska, Slovačka, Finska, Slovenija, Francuska, Švedska, Nemačka, Švajcarska, Velika Britanija, Irska, Severna Irska, Španija, Kipar, Litvanija, Malta. Dok u sledećim evropskim zemljama status nije poznat ili nije potvrđen: Luksemburg, Kanarska ostrva, Grenland, Island, Andora, Turska, Gruzija, Jermenija, Azerbejdžan, Epizootiološka situacija u Evropi i Mediteranu može se videti na **Kartogramu 1.**



Kartogram 1. Situacija ELG u Evropi i Mediteranu 2016.

U zemljama Severne i Centralne Amerike ELG je registrovana u 12 država od 20 - (60%), i to u : SAD-u, Barbadosu, Kanadi, Kostariki, Kubi, Dominikanskoj Republici, Hondurasu, Jamajci, Meksiku, Nikaragvi, Panami i Martiniku (HENDISTSTUS II Multiannual animal disease status O.I.E.).

Od zemalja Južne Amerike ELG je registrovana u 10 država od 13 (76%), i to u: Argentini, Brazilu, Čileu, Kolumbiji, Ekvadoru, Peruu, Paragvaju, Francuskoj Gvajani, Urugvaju i Venecueli (HENDISTSTUS II Multiannual animal disease status O.I.E.)..

U Africi ELG je registrovana u 1 državi i to u Južnoj Africi (69), status ostalih država ovog kontinenta nije jasan, jer nema podataka o ezootskoj leukozi goveda (HENDISTSTUS II Multiannual animal disease status O.I.E .).

U Aziji ELG je prisutna u 5 država i to u: Iranu, Japanu, Južnoj Koreji, Mongoliji i Izraelu. U Okeaniji ELG je prisutna u 4 države, i to u Australiji, Novom Zelandu, Francuskoj Polineziji i Indoneziji (HENDISTSTUS II Multiannual animal disease status O.I.E.). Epizootiološka situacija ELG u svetu prikazana je na **Kartogramu 2.**

U Japanu je prisutna čak u 79% mlečnih stada u kojima su rađena ispitivanja (Murakami. K i sr., 2011). Iz najnovijih saopštenja japanskih autora (Matsumura i sar. 2011.) saznajemo da broj zaraženih goveda u Japanu raste.

Od posebne važnosti je stanje prisutnosti ELG u pojedinim državama Evropske unije. Prema Jazbecu i sr. 1989. članice EEZ-a, osim Danske, istraživale su prisustvo enzootske leukoze goveda na osnovu određenog broja uzoraka krvi, a ne na osnovu sistematskog pregleda cele populacije goveda .

ELG se od 1959. godine u Danskoj suzbija po zakonu. Na ostrvima Selland i Llland bila je najraširenija, ovde je hematološki dijagnostikovano 40 pozitivnih reaktora na 100.000 goveda (Bendixen H. 1963; Flensburg C.J. 1982). Primenom radikalnih mera Danska je ELG iskorenila, a od 1990. godine ima status zemlje slobodne od ELG-a.

U Nemačkoj ELG je bila visoko zastupljena, 100-500 pozitivnih reaktora na 100.000 goveda. Hematološkim ispitivanjima goveda u Šlezig-Holštajnu po Nojmanu i sr. 1964. nađeno je 4,44%, dok je Zelemanu bilo 19,1% leukoznih i 8,5% na leukozu sumnjivih životinja. U jednom okrugu Donje Saksonije 1963. pronađeno je 7,44% leukoznih stada, u kojima je prevalencija iznosila oko 2,45% (Tolle i sr. 1965). Dok je Ludgen 1967. ustanovio leukozu kod 13,1% goveda crno-bele rase, 2,65% kod crveno-bele rase i samo 0,75% kod životinja simentalske rase.

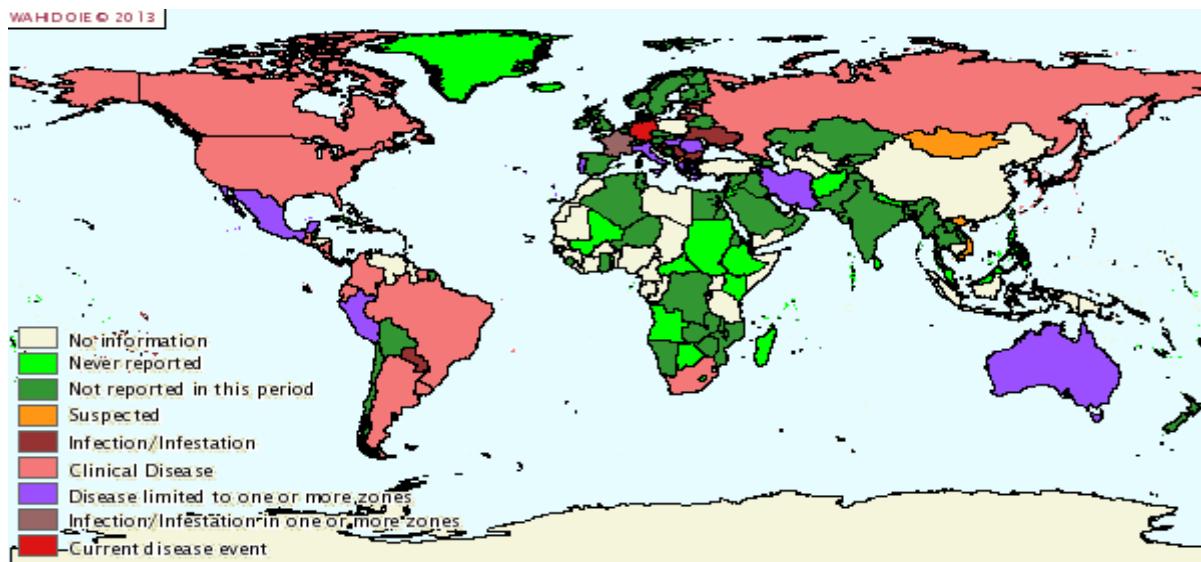
U nekim područjima Donje Saksonije u periodu od 1965-1969. godine ispitano je 137.684 stada pri čemu je dijagnostički pregledano 1.380.866 uzoraka krvi. Rezultati su pokazali da je broj uzoraka sa izrazitom limfocitozom opao za 50%, broj leukoznih stada se smanjio za 25%, a broj sumnjivih stada za 40% (Eife i sr. 1969). Međutim, Frank i sar. pozivajući se na oficijalnE izveštajE o ELG u Donjoj Saksoniji 1980. godine su tvrdili da nije bilo značajnijeg smanjenja pojave ove bolesti i da tek uvođenjem imunodifuzionog testa broj pozitivnih reagenata je smanjen za 92%, a broj inficiranih grla za 88%.

Nemačka je danas zemlja slobodna od ELG-a, 2005. god. leukoza je bila prisutna u ograničenim i definisanim zonama. U Švedskoj je bilo na 100.000 krava 35-40 slučajeva ELG. (Burny A. Henricson, 1982), na severu Švedske ELG je zastupljena sa 1,1%, a na jugu zemlje sa 27,1% (Hagsonu i sr.), danas je ova zemlja slobodna od ELG. Belgija od 1997. godine, imaju status zemalje slobodnih od ELG, a Holandija od 1999. godine.

U Francuskoj i Italiji ELG se javljala u nešto većem obimu prema (Crespeau F.J. 1978), Francuska je danas zvanično slobodna od ELG, dok je u Italiji ELG prisutna u ograničenim i definisanim zonama. U Velikoj Britaniji bolest je bila uneta uvozom krava Holštajn rase iz Kanade i USA, ali je brzo iskorenjena (Markson M.L. 1976; Roberts H.D. 1977) kao i u Republici Irskoj (Kavanagh J.P. 1979).

Švajcarska od 1996. godine ima status zemlje slobodne od ELG, Austrija i Norveška od 2001. odnosno od 2002. godine. Španija je takođe slobodna dok je u Grčkoj ELG i danas prisutna u ograničenim područjima. Tako je 2004. godine u Bugarskoj bilo registrovano 509 lokacija pojave ELG kod goveda sa 15.757 obolelih grla dok je danas u ovoj zemlji kao i u Mađarskoj ELG prisutna u ograničenim zonama. Tokom 2004.godine i u Poljskoj je registrovano 42.921 slučajva pojave ELG, što je ukazivalo da je Poljska tada bila evropska zemlja sa najvećim brojem zvanično registrovanih slučajeva ove bolesti. Danas u Poljskoj postoje regije službeno slobodne kao i u Rumuniji u kojoj je bilo registrovano 151 lokacija ELG-a sa 14.163 obolele životinje, bolest je prvi put ustanovljena kod uvezenih goveda rase Crvenog danskog govečeta (HENDISTSTUS II Multiannual animal disease status O.I.E.).

U Rusiji je registrovano 258 lokacija pojave ELG-a sa 67.511 obolelih goveda, u Ukrajini je bolest prisutna u ograničenim zonama u kojima je registrovano 83 slučaja pojave ELG-a sa 100.576 obolelih goveda. Status ovih zemalja u proteklom periodu se nije značajno izmenio, odnosno u epizootiološkom smislu popravio.



Kartogram 2. Epizootiološka situacija ELG u svetu 2013. godine

2.3.2. Raširenost ELG u Srbiji

U našu zemlju ELG je unesena uvozom u SFRJ priplodnih junica crveno-danske rase sa kojim se počelo 1955.godine i trajao je sve do 1960.godine. Priplodna goveda su uvezena za potrebe poljoprivrednih kombinata. Nedostatak odgovarajućih propisa za kontrolu uvoza goveda sve do juna 1981.godine, stvorio je mogućnost da se enzootska leukoza goveda u našu zemlju nesmetano unosi. ELG u našu zemlju unesena je pretežno uvozom Crveno-danske, Istočno-frizijske i Holštajnske rase goveda.

1). Uvoz je vršen iz zemalja u kojima je ELG bila raširena u relativno visokom procentu dnosno iz Nemačke, Danske, Holandije, Izraela, SAD, Kanade i dr.

U vezi sa uvozom visokoproduktivnih rasa goveda u Jugoslaviju iz zemalja u kojima je leukoza bila zastupljena, uvidevši značaj tog problema i moguće posledice po naše govedarstvo, Bratanović i sr. 1959. godine su istakli potrebu hitnog ispitivanja uvezenih goveda na leukozu i primenu odgovarajućih mera za sprečavanje unošenja ove bolesti u našu zemlju, kao i sprečavnje njenog daljeg širenja .

Na ozbiljnost ovog problema u našoj zemlji prvi put je ukazano 1959. godine kada je Bratanović sa svojim saradnicima istakao da je hitno potrebno da se ispitaju zapati uvezenih goveda i da se definisu odgovarajuće mere za suzbijanje ove bolesti. U skladu sa ovim

Stamatović je hematološki ispitao dva zapata Crveno danskog govečeta i ustanovio u 7,6 posto slučajeva limfatičnu leukemiju u subkliničkoj netumoroznoj formi. Ovo je prvo saopštenje o pojavi leukoze na epizootiološkom području Beograda i u Jugoslaviji (Stamatović, 1969). Nakon ovog prvog saopštenja o pojavi leukoze slede izveštaji domaćih autora sa raznih strana o nalazima leukoze goveda limforetikularnog tipa (Jazbec i sr. 1979, 1982; Bošnjakovski, 1984; Cvetlić-Čabrillo Vesna i sr. 1984; Cvetnić 1987; Jovanović i sr. 1972).

Stamatović je 1960. hematološki ispitao 223 krave iz dva zapata u Srbiji i ustanovio 7,6% slučajeva sa limfocitnom leukozom u subkliničkom, netumorskom obliku.

Petrović i sr. 1960. i 1965.godine opisuju slučajeve leukoze kod jedne krave Crveno-danske rase i daju prikaz patoanatomskih promena kod 60 Crveno-danskih krava koje su bile hematološki pozitivne na leukuzu. Gregorović i sr.1961. godine su opisali pet slučajeva leukoze u Sloveniji. Audi i sr. 1968.godine ukazuju na postojanje pojave ELG u Hrvatskoj.

Nikolić je 1968. god. hematološkim ispitivanjima našao limfocitnu leukozu kod goveda u Vojvodini. Stamatović i Jovanović 1969. godine su hematološkim ispitivanjima kod 7.793 krava Crveno-danske i Istočno frizijske rase našli leukozu kod 23,22%.

Serološku dijagnostiku AGID testom u našu zemlju prvi put su uveli Jazbec i sr. u Sloveniji 1979. godine. Oni su 1982. i 1984.godine su ovim testom ispitali 14.287 priplodnih goveda na svim društvenim farmama u Sloveniji. Leukozne životinje su dijagnostikovane u 10 (26,3%) od 38 ispitanih kombinata, i u 11 (18,3%) od 60 opština. Pavlović i sar. 1982. god. su izneli rezultate ispitivanja AGID testom o raširenosti enzootske leukoze goveda u SAP Vojvodini. Od 38 ispitanih zapata u društvenom sektoru, 16 je bilo slobodno od enzootske leukoze, a u 22 zapata je nađeno 0,82-74,4% inficiranih životinja. Kod poljoprivrednih proizvođača iz 6 sela našli su 0,75-11,3% životinja inficiranih virusom enzootske leukoze (Pavlović i sr 1985, 1986.). Na području opštine Subotice, Šinković i Savić 1982. godine su kod individualnih gazdinstava dijagnostikovali 53 (0,97%) pozitivna grla na enzootsku leukozu od 5.448 ispitanih grla, a na društvenom sektoru od 785 životinja, 108 je bilo pozitivno (13,75%).

Dugalić N. i sar. 1983. i 1984. godine su izvestili o nalazu ELG kod krava na području opštine Čačak. Od 7.660 pregledanih goveda na leukozu, 8 grla (0,91%) je bilo pozitivno.

U Bosni i Hercegovini Cvelić-Čabrilović i sar. 1984. godine i Nevjestačić i sar. 1985. godine su AGID testom ispitivali 8.225 goveda na 14 velikih farmi goveda. U 5 farmi su ustanovili prisustvo virusa ELG, od 4,7 do 11,55% ispitanih goveda.

Rusov i sar. 1985. godine su saopštili da su od 154 priplodna bika, koji su korišćeni za proizvodnju semena za veštačko osemenjavanje krava u Srbiji, AGID probom otkrili 13 inficiranih virusom ELG. Mandić i sar. su 1985. godine opisali slučaj limfocitne leukoze teladi i junadi u Crnoj Gori. Bošnjakovski je u 1982. i 1983. godini ispitao raširenost ELG u Makedoniji i ustanovio ELG 1985. godine i u SAP Kosovo i Metohija.

U Srbiji tokom 1997. godine zvanično je zabeleženo 14 slučajeva pojave sa 2.859 obolelih grla, u 1998. godini 37 slučajeva sa 717 obolelih životinja, 1999. godine registrovano je 40 slučajeva sa 900 obolelih životinja u 2000. godini 401 slučaj sa 6.379 obolelih životinja, u 2001. godini zabeleženo 365 slučajeva sa 826 obolelih životinja, u 2002. godini 234 slučajeva pojave sa 489 obolelih životinja. 2003. godine registrovano je 84 slučajeva pojave sa 1.192 obolela grla, 2004. godine je zabeleženo 708 slučajeva pojave ELG sa 1.034 obolele životinje. Tokom 2006. registrovano je 553 slučajeva sa 2.516 obolelih goveda sa 10.883 ugroženih, 2007. je registrovano 752 slučajeva sa 2.012 obolelih goveda 2008. je registrovano 383 slučajeva sa 799 obolelih goveda i 6.294 ugroženih i 12.168 ugroženih, 2009. je registrovano 262 slučajeva sa 499 obolelih goveda i 4.304 ugroženih, 2010. je registrovano 188 slučajeva sa 344 obolelih goveda i 2.197 ugroženih, u toku 2011. godini registrovano 196 slučajeva ELG sa 386 obolelih životinja i 3.500 ugroženih (Godišnji epizootiološki izveštaji min.polj.RS i SRJ).

2.4. ETIOLOGIJA

Enzootsku leukozu goveda izaziva posebna vrsta goveđeg retrovirusa, koji se širi od inficiranih životinja na zdrave horizontalnom i vertikalnom transmisijom infektivnog agensa (Miller i sr. 1972, 1976, 1979; Rosenberger 1977; Straub i sr. 1978, 1981, 1982, 1984; Stamatović i sr. 1983). Premda su i pre otkrivanja virusa kao etiološkog agensa nastanka ove bolesti postojali dokazi da je bolest infektivne prirode, putevi infekcije nisu mogli da budu objektivno izučavani sve do rezultata dobijenih primenom elektronske mikroskopije, gajenjem

virusa u kulturi tkiva, otkrivanjem specifičnih antitela u krvi inficiranih i obolelih životinja primenom specifičnog antigena u serološkim testovima, posebno agar-gel-imunodifuzionog testa (AGID-ELG).

Virus **enzootske bovine leukoze** je onkogeni RNK virus iz porodice *Retroviridae* koji pripada podporodici *Orthoretrovirinusa* i rodu *Deltaretrovirus*. (Bikovskij A.F.1975; Buridge J.M. 1982). Porodica je ime dobila po enzimu revertazi - reverznoj transkriptazi koji poseduju svi članovi ove porodice i koja im omogućuje prepisivanje virusne (RNK) nukleinske kiseline i u obrnutom smeru u komplementarnu DNK (Stoye, 2012).

Koju potom enzim integraza ugrađuje u DNK domaćina. Virus ELG-a je izolovan kultivisanjem leukocita inficiranih goveda, zajedno sa ćelijama bubrega ili u ćelijama jagnjećeg fetusa. Morfološki i biohemski je ispitana i utvrđena su njegova antigena svojstva, o čemu je pisali brojni istraživači: (Ferrer i sar. 1972. godine , Kettmann i sar. 1975.godine , Mihalović i sar. 1976.godine, Calafat i Resaang 1977.godine , Musgay i Kaaden 1978.godine, Straub 1981.godine , Buxton 1982.godine i Stoye i sr. 2012).

Porodica Retrovirida podeljena je u 7 rodova:

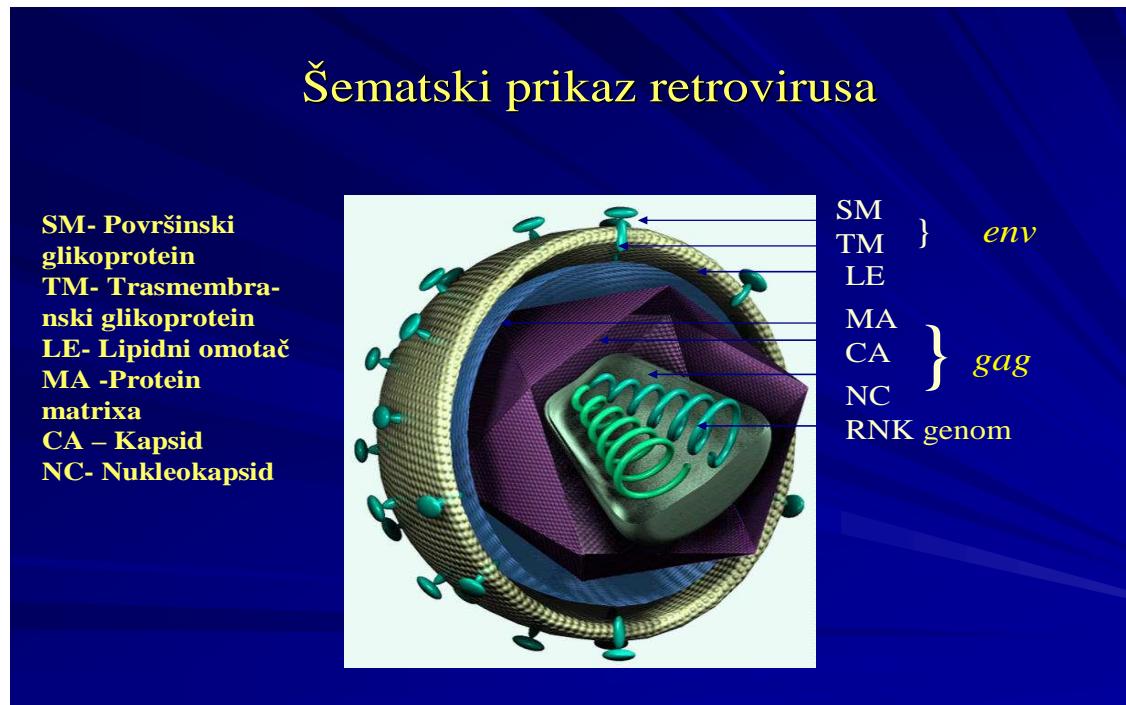
1. Rod *Alpharetrovirus*: virusi slični virusu leukoze peradi;
2. *Betaretrovirus*: virusi slični virusu tumoru mlečne žlezde miša;
3. Rod *Gammaretrovirus*: virusi slični virusu mišje leukemije i virusu mačje leukemije;
4. Rod *Deltaretrovirus*: virus ELG, HTLV-1 i HTLV-2 i virusu leukemije majmuna;
5. Rod *Epsilonretrovirus*: virusi slični virusu sarkoma "Walleye dermal";
6. Rod *Lentivirus*: virusi slični virusu ljudske imunodeficiencije HIV1 i virusu imunodeficiencije mačaka i majmuna;
7. Rod *Spumavirus*: virusi slični penastom virusu šimpanze.

Bolesti koje izazivaju virusi ove porodice su leukemije, limfomi i sarkomi kod različitih vrsta životinja i ljudi, ali i imunodeficiencija kod ljudi (AIDS) i životinja (FAIDS-feline AIDS i SAIDS-simian AIDS, BIV).

Svi virusi iz ovih rodova imaju zajedničke karakteristike: 1) sličnu strukturnu građu, 2) svi poseduju revertazu odnosno virusnu **RNK - zavisnu DNK - polimerazi** (*raverznu transkriptazu*), 3) sličnost u antigenoj građi svakog virusa određenog roda, međutim postoje i specifični antigeni svakog virusa posebno (Stoye J. 2012).

Po hemijskom sastavu svi članovi familije Retroviridae su vrlo slični jedni drugima i sadrže 60-70% belančevina, 20-30% lipida, 2-3% ugljenih hidrata, oko 1% RNK i vrlo malu količinu DNK (Shultz A.M. 1984). Na slikama **Sl.1.** i **Sl.2.** šematski je prikazan izgled virusa.

Sl.1. Šematski prikaz građa virusa ELG



Virus ELG poseduje omotač prečnika 80-100 nm u sredini virusne partikule se nalazi dva molekula jednolančane, linearne pozitivno orijentisane RNK i nukleoproteina. (Gileet 2007; Roić.B. 2013). Kompleks poseduje heilikoidnu simetriju uronjen u ikozedarni kapsid. Genom retrovirusa sposoban je da kodira sintezu belančevina veličine 3×10^5 D.

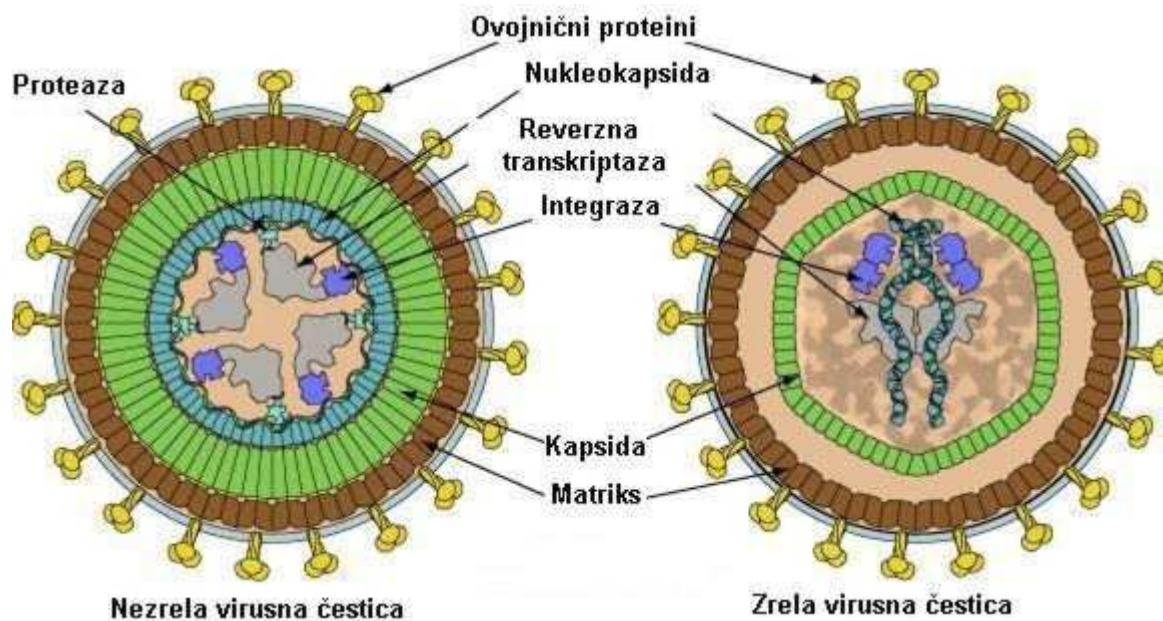
Svi nedefektni retrovirusi sadrže tri različita gena označena kao gag, pol i env i X regiju koja reguliše replikaciju virusa. Gen **gag** (grupni), je kodirajući predvesnik za nastajanje četiri strukturne belančevine viriona, gen **pol** je kodirajući za reverznu transkriptazu

(polimerazu), i **env** gen je kodirajući za glikoprotein virusnog omotača. Ova tri gena su dovoljna da obezbede replikaciju virusa.

Virus ELG je svrstavan u podporodicu Oncovirinae - C tip. Podfamiliji Oncovirinae pripadali su i virus tumora mlečne žlezde miša, leukoze ptica, virus mišje leukoze i virus leukoze mačaka. Međutim, nisu dokazane antigene determinante koje bi unakrsno reagovale sa virusom ELG, izuzev u slučaju ovčijeg virusa tipa C, koji je antigeno vrlo srođan sa virusom ELG (Andrews C., 1978, Bause.I.,1978, Behrens, F.,1979, Bikovskij A.,1975,Buxton.A.,1977, Hoff R., 1977, Libermann H. 1981, Mc Donald H.C. 1976, Mihjlović.B. 1976, Pauli G. 1976, Straub.C.O. 1978).

2.4.1. OSOBINE UZROČNIKA I NJEGOVA GRAĐA

Virus ELG je egzogeni *Deltaretrovirus* čiji prečnik viriona u proseku iznosi oko 100 nm (80-145 nm). Strukturno i funkcionalno srođan je humanom T-limfotropnom virusu 1 i 2 (HTLV-1 i HTLV-2). Genom virusa ELG sastoji se od dva identična makromolekula jednostrukih +RNK u vidu pozitivnog lanca (Pantić 1995.) međusobno povezane vodonikovim vezama. Molekulske mase od 7 do 10×10^6 daltona, flotacione gustine 1,15 - 1,17 g/ml i sedimentacionog koeficijenta od 60 do 70 S. Reverznu transkriptazu razvija samo u prisustvu Mg jona i ima onkogeni citopatogeni efekat (Mijović A. 1988).



Sl.2 Prikaz građe virusa ELG

Unutrašnja struktura virusne pertikule obavijena je dvostrukim omotačem koji sadrži lipide i delove membrane ćelije domaćina. U omotač radijalno su raspoređeni izraštaji koji prominiraju i sa tankim šiljcima su povezani sa unutrašnjom proteinskom membranom omotača virusa videti **Sl.2**. Spoljašnji omotač je uvek glikolizovan što je važno za apsorpciju virusa na ciljne ćelije i receptivnost za antitela. Unutrašnjost virusa je obavijena kapsidom koga čini proteinski omotač sa heksagonalno raspoređenim kapsomama u obliku ikozedra i ima heličnu simetriju (Gileet N. 2007; 204 Roić.B. 2013).

Deshayes i sr. 1977. su analizom virusa, elektroforeze u gelu otkrili prisustvo 8 virusnih komponenti koje se međusobno razlikuju po molekulskoj masi koja varira od 11.000 do 80.000 daltona. Unutrašnjost se sastoji od protein molekulske mase od 24.000 daltona (Bex F. 1979; Mc Donald H.1976; Musggy M.1976; Levy D.1982. Iz omotača virusa izdvojena su tri teška polipeptida, od kojih jedan predstavlja glikoprotein gp 60 (High C.1976; Levy D.1982). Pored navedenog izolovana su još 4 manja polipeptida sa molekulskom težinom 11.000, 13.000, 16.000 i 19.000 daltona. Detaljnija analiza virusnih komponenti potvrđuje identifikaciju 8 proteina koji su označeni sa p11, p13, p16, p19, p24, gp35, gp60 i gp80. Četiri komponente virusa (p16, p24, gp35 i gp60) reaguju sa antitelima iz seruma leukoznih krava (Deshayes I. 1977).

Brucki i sar. 1984. (39) ispitivali su sa više stanovišta odnos između domaćina i virusa ELG. Ispitivanjem 15 monoklonskih antitela prema gp51, autori su utvrdili **8** nezavisnih antigenskih područja (**epitopa**) molekula gp51 virusa ELG. Očigledno je, da 3 (F, G i H) antitela od ukupno 8 epitopa neutrališu infektivnost i aktivnost virusa u formiranju sincicija. Dobro poznavanje različitih antigenskih područja molekula gp51 biće neophodno za dalji razvitak i proizvodnju vakcine protiv ELG.

Kod goveda zaraženih virusom ELG dokazano je prisustvo antitela protiv dva antigena. Antitela protiv polipeptida molekulske mase od 21.000 daltona (p21), i drugog čija je molekulska masa 25.000 (p24) daltona ovi polipeptidi su otporni na etar i nalaze se unutar virusa i čine strukturu nukleokapsida (Gilden R.V. 1975; Miller J.M.1976; Pailsen J. 1976).

Druga antigena komponenta je glikoprotein (gp 60-70) osjetljiv na etar, koji se nalazi na spoljašnjem omotaču virusa (Onuma M. 1975; Frenzel B. 1978; Portetelle D. 1976, 1982).

Portetell-u- i sar. navode da prirodna ili veštačka infekcija goveda, ovaca i koza sa virusom ELG indukuje kod domaćina humoralni imuni odgovor i stvaranje antitela protiv strukturnih proteina virusa. Ispitivanja su pokazala da se antitela protiv glikoproteina virusnog omotača gp51 u omotaču formiraju u većem titru nego antitela protiv unutrašnjeg proteina kapsida p24 proteina. Oba titra stalno se povećavaju od nastanka infekcije do uginuća životinja u tumorskoj fazi bolesti (Portetelle D. 1982).

Liporoteinski omotač virusa sadrži dva proteina površinski gp51 i transmembranski gp30 i oba su najčešće glikolizovana. Ugljenohidratna struktura omotača virusa, je jedinstvena i pripada gp51 koji je karakterističan imunogen za goveda, inficirana virusom ELG (Portetelle D. 1982). Prema Suneya i sar. kod eksperimentalno inficiranih ovaca virusom ELG sa starim limfosarkomatoznim ćelijama posle 22 meseca nije zabeležena pojava leukemije ili limfosarkoma. Međutim, zabeležena je pojava humoralnog i celularnog odgovora protiv određenih antigena. Antitela protiv virusnog glikoproteina (gp), javljaju se u krvi ranije i u većem titru nego antitela protiv p24 (Suneya M.1982). Glikoproteinski omotač virusa je kompleks grupe proteina i baza sa dva strukturna teška lanca gp60 i dva laka lanca gp30, ili je jedan težak, a jedan laki lanac. Peptidne sekvene gp30 su prisutne u gp60, što delimično sugerise homolognost lakog lanca sa teškim u virusnom glikoproteinskom kompleksu. Strukturna sličnost molekula virusnih glikoproteina ELG sa imunoglobulinima ima funkcionalnu povezanost ovih proteina u patogenezi ELG (Dietzeschold B. 1978).

Virus se može izolovati kultivisanjem leukocita obolelih inficiranih goveda zajedno sa ćelijama bubrega ili slezine jagnjećeg fetusa. Virus iz inficiranih leukocita uzrokuje stapanje ćelija jagnjećeg fetusa u sincicij (multinuklearne ćelije). Za izolaciju virusa upotrebljavaju se i mnoge druge ćeljske kulture različitog porekla (Cvetnić S. 1995).

Veštački se mogu inficirati goveda, ovce, koze, bivoli, jeleni, kunići, svinje, mačke i šimpanze, a prirodna infekcija je registrovana kod goveda, bivola, bufala, ovaca i kapibara.

Infekcija izazvana veštačkim putem, prouzrokuje stvaranje antitela u serumu goveda za 4-12 nedelja nakon infekcije, dok precipitinska antitela persistiraju doživotno (Cvetnić S. 1995). Smatra se da za tumorogenezu nije dovoljan samo virus, nego i drugi faktori kao što su jonizirajuće zračenje, kancerogene hemijske supstance, poremećaji unutrašnje sekrecije hormona kao i genetski faktori.

Virus ELG-a je relativno neotporan virus, temperatura pasterizacije inaktivise virus. Grejanjem na 74°C za 16 sekundi mleko gubi infektivnost za jagnjad. Aktivnost stvaranja sincicija razaraju UV-zraci, smrzavanje, odmrzavanje i grejanje na 56°C 30 min. (Cvetnić S. 1995). Zbog prisustva lipida u omotaču osetljiv je na rastvarače masti, etar, fenol, formalin i deterdžente koji deluju na masti. Osetljiv je i brzo se inaktivise na pH 5 i Ph 9. Od svih proteina ovoga virusa treba istaknuti dva koja su značajna za serološku dijagnostiku: **gp51** (na samoj površini lipoproteinskog omotača) i protein **p24** (protein nukleokapsida).

2.4.2 PATOGENOST I VIRULENCIJA

Pasažama među prijemčivim jedinkama virulencija virusa koji izazivaju zarazne bolesti životinja i ljudi najčešće se pojačavaju. Eksperimentalno je tokom 1982. godine ispitivano imalo virus ELG takvih sposobnosti i može li se pasažom velikih količina pune krvi i/ili limfocita iz leukoznog goveda na novooteljenu telad povećati virulencija virusa ELG. Kao rezultat ovih istraživanja otkriveno je da je trajanje inkubacije bilo znantno skraćeno u odnosu na podatke iz drugih ogleda. Isto tako je istraženo da imunosupresivni lekovi mogu ubrzati tok infekcije virusom ELG i pojačati kliničke simptome.

Deltaretrovirus nemaju veliku genetsku raznolikost po čemu se razlikuju od drugih virusa iz porodice *Retrovirida*, koji imaju značajno izrežen genetski diverzitet. Ipak je do sada izdvojeno i opisana su četiri soja virusa ELG : *belgijski, japanski, australijski i argentinski* i 8 različitih genotipova (Matsumura K. 2011, Balić D. 2012). Do sada nije utvrđeno da postoji razlika u patogenosti među različitim sojevima ili genotipovima ovog virusa (Balić D.2012) Virus ELG izvan ćelije domaćina je osetljiv i lako ga uništava UV-zračenje, temperatura pasterizacije od 63 °C uništava ga za 15 minuta kao i zamrzavanje i odmrzavanje.

Zbog jasnih dokaza da pasterizacija inaktivise virus mleko obolelih goveda se može koristiti za ishranu. Na temperaturi od 4 °C virus preživi 14 dana. Virus se jedino razmnožava i živi u limfocitima domaćina. Ova osobina virusa je bila vrlo važna prilikom razmatranja mera za sprečavanje širenja leukoze goveda i njihovu primenu. One se zasnivaju na uništavanju limfocita, odnosno kontrolu krvnih zahvata na životnjama i sprečavanje kontakta zdravih životinja s predmetima koji su zagađeni krvlju, a nisu predhodno dezinfikovani.

2.4.3 TROPIZAM VIRUSA

Virus ELG pokazuje izraziti tropizam prema limfnom tkivu i beloj krvnoj lozi, a u uznapredovaloj kliničkoj slici izaziva trajnu limfocitozu i limfomatozu. Eksperimentalno je proučavano da li postoji unutar ovih tkiva i ćelija neki poseban „subtropizam“, pa je potvrđeno da je ipak najveći procenat virusa ELG izolovan iz B-limfocita, ali je virus ustanovljen i u T-limfocitima (CD8+), monocitima i granulocitima. Unutar B-limfocita virus je utvrđen u CD5+ i u CD5- B-limfocita i to u znantno većim koncentracijama kod krava s trajnom limfocitozom, nego kod krava bez limfocitoze. Primenom molekularnih tehnika došlo se do novih saznanja o virusu i interakciji sa domaćinom. PCR metodom je dokazana prisutnost virusa ELG već 7. dan nakon infekcije u perifernim limfocitima, ali je dokazano i prisustvo virusa i u raznim drugim organima, kao što je slezina, bubreg, jetra, materica, listavac i limfni čvorovi. Dokazan je nalaz virusa u slezini teleta kod kog su svi ostali ispitivani organi drugim raspoloživim metodama ostali negativni do kraja ogleda. *Ovo ukazuje na to da životinje mogu biti inficirane virusom ELG, bez mogućnosti izolacije provirusa ELG iz perifernih limfocita i bez imunološkog odgovora koji se može dijagnostički dokazati.* Mnogi istraživači su pokazali da je moguće naći seronegativne životinje uprkos tipičnom toku infekcije sa stalnom produkcijom antitela (Mammerix M. 1985; Reichel M. 1989; Rulka J. 2001). Ne stvaraju sve permanentno inficirane životinje antitela u krvnom serumu (Eves F. 1994; Kubis P. 1996).

2.5. EPIZOOTIOLOGIJA ELG

Na epizootiološke karakteristike ELG, pored osobina samog uzročnika, veliki značaj ima struktura i gustina populacije kao i karakteristike i struktura naselja odnosno područja u kome je bolest prisutna. U razvijenim zemljama sveta, sa intenzivnom govedarskom proizvodnjom koncentracija goveda u pojedinim oblastima je velika, što podrazumeva postojanje velikog broja malih, srednjih i velikih farmi na relativno ograničenom prostoru. Česte su farme sa izuzetno velikim uzgojnim kapacitetima, što je stvorilo povoljne uslove za širenje virusa ELG. Mogućnosti izbjivanja i brzina širenje ELG u ovakvim regijama je mnogo veća u odnosu na područja u kojima se uzgoj goveda vrši u ekstenzivnim uslovima sa znatno manjim brojem jedinki i manjom relativnom gustinom farmi u geopodručju. Mogućnosti za kontrolu, suzbijanje i iskorenjivanje ELG-a su veće u zemljama sa intenzivno govedarskom

proizvodnjom, ali su povezane i sa velikim početnim troškovima pogotovo u zapatima sa visokom prevalencijom bolesti.

Većina zemalja u svetu poseduje zakonsku regulativu koja definiše kontrolne i opšte mere u odnosu na ELG, mada je efikasnost ovih mera u velikoj zavisnosti od razvijenosti nacionalne ekonomije, veterinarske i laboratorijske infrastrukture.

Izvor zaraze su obolela goveda i životinje latentno inficirane virusom ELG-a kod kojih je virus pronađen u celularnim frakcijama raznih telesnih tečnosti krvi, mleku, bronhijalnom i nosnom sekretu, pljuvački, kolostrumu i spermii sa inficiranim limfocitima (Lukas H.M.1980; Manz D. 1985; Burhing G. 1994). U zaraženom govedu virus ELG se nalazi u limfocitima, prirodna transmisija je uslovljena prenosom inficiranih krvnih ćelija (Coetzer 2004). Jednom inficirana životinja predstavlja izvor zaraze celog života.

Najčešće su to životinje bez izraženih kliničkih simptoma koje se prodaju radi priploda i uvode u nezaražene zapate. Infekcija može biti preneta hranom, vodom, kontaktom, preko prostirke kontaminirane krvlju, mlekom, fecesom, mokraćom i plodovim vodama inficiranih životinja. Da bi se virus mogao dalje preneti sa zaražene životinje na zdravu, sekreti i ekskreti zaražene životinje moraju sadržati dovoljnu količinu virusa. Nakon što je utvrđena minimalna količina krvi (0,0005mL) manje od (1 µl) odnosno minimalni broj zaraženih limfocita (2500) u brojnim ogledima je dokazano da je upravo krv najčešći izvor zaraze, jer drugi izvori u kojima je izolovan virus ELG kao mleko i kolostrum, bronhoalveolarni iscedak, urin, ejakulat, sadržaj brisa nosne sluzokože i feces, u prirodnim uslovima, najčešće ne sadrže dovoljnu količinu virusa kojom bi se bolest mogla preneti.

Enzootska leukoza goveda je slabo kontagiozna bolest, prenosi se vertikalno i horizontalno, odnosno prenatalno i postnatalno (Zaharija I. 1978). Obolevaju sve vrste domaćih goveda (*Bos taurus* i *Bos indicus*). Prirodno još mogu da se inficiraju bufalo, ovca i kapibare. Ovce su vrlo osjetljive na infekciju i razvijaju tumorozne promene u mnogo mlađem uzrastu nego goveda. Serokonverzija posle veštačke infekcije dokazana je kod jelena, zamorca, zečeva, pacova, mačaka, pasa, koza, majmuna, antolopa, svinja, zebu govečeta i bivola.

2.5.1. INFEKTIVNA DOZA

Ogledima je još 1978.godine ustanovljeno da je minimalna infektivna doza 2.500 limfocita Maaten Van Der odnosno oko 0,0005ml zaražene krvi, a Straub-u je 1984. utvrdio minimalnu infektivnu dozu od 1.000 zaraženih limfocita. Kasnije su korišćene i druge infektivne doze za eksperimentalne infekcije ovaca pri čemu su utvrđene slične minimalne infektivne doze od 2.000 limfocita. Takođe je utvrđeno da veličina infektivne doze znatno utiče i na brzinu imunološkog odgovora. Eksperimentalno su zaražene četiri grupe šestomesečne jagnjadi inokulacijom limfocita od 250, 2.500, 25.000 i 250.000. Zatim su posle 3, 7 i 12 meseci od infekcije sprovedene laboratorijske provere zaražene jagnjadi sa dve serološke i dve virusološke metode. Inficiranu jagnjad velikim dozama zaraženih limfocita (250.000) bilo je moguće otkriti već nakon tri nedelje serološki i virusološki. Kod jagnjadi inficiranih dozom od 25.000 i 2.500 limfocita imunološki odgovor bio je otkriven nakon sedam nedelja od veštačke infekcije, a u grupi jagnjića zaraženih niskom infektivnom dozom od **250** zaraženih limfocita, pozitivne serološke reakcije kao i virusološke metode otkrivene su testiranjima tek **12** meseci nakon infekcije.

2.5.2 PUTEVI PRENOŠENJA

Vertikalno prenošenje virusa

Vertikalni prenos virusa ELG proučen je kao mogućnost prenosa infekcije sa majke na plod translentalno tokom intrauterinog razvoja i hranjenjem novorođene teladi kolostrumom ili mlekom. Nekada se smatralo da je vertikalno (kongenitalno) prenošenje virusa najvažniji put širenja enzootske leukoze. Pri ovom načinu prenošenja bolesti patogeni se prenosi sa životinja jedne generacije na drugu generaciju (Baumgartner L.E. 1978). Rezultati istraživanja su pokazali da se u embrionima uzrasta 6-7 dana, uzetim od krava inficiranih virusom ELG, ne nalazi virus (Gilden R. 1975). Što ukazuje da se telad ne inficiraju preko gameta prelaskom virusa u embrion, već preko placente (Eaglesome D. 1982; Valikhov F.A. 1982). Pošto se virus ne prenosi preko gameta i embriona, do infekcije fetusa može doći u poslednjih 6 meseci graviditeta. Smatra se da se ELG češće prenosi horizontalno nego vertikalno (Rusov Č. 1981; Stamatović S. 1969). Do infekcije fetusa dolazi preko

placente ili sperme. Imunološki odgovor teleta nastaje posle tri meseca (Straub C.O. 1978). Mala je mogućnost da antitela iz organizma majke pasiraju placentarnu barijeru (Jacobsen J.L.1982). Smatra se, da infekcija fetusa teleta preko placente nastaje prenosom limfocita leukoznih krava na plod . Potvrđeno je i da se embriotransferom ne može preneti virus ELG.

Transplacentarnu pasažu virusa utvrdili su Straub i Weinhold , koji su našli da je 12 od 18 teladi, dobijenih carskim rezom od inficiranih krava, bilo inficirano virusom ELG. Kod vertikalnog prenosa procenat inficirane teladi je različit, a može se kretati čak i do 35%, međutim najčešće je na nivou od 3-4% (Ferrer J.F. 1975; Fischer W. 1980; Maaten M.J 1981; Stamatović S. 1983). Mogućnost prenosa enzootske leukoze preko semena leukoznih bikova, veštačkim osemenjavanjem ili pripustom bikova dosta je istraživana. Međutim, samo mali broj autora je kao što su Bendixen 1963.godine i Dun 1970.godine na osnovu hematoloških ispitivanja ukazivao na mogućnost prenošenja bolesti i na ovaj način (Bendixen H. 1963; Dun A.E. 1988). Kako se krave mogu eksperimentalno inficirati virusom ELG intrauterinim inokulisanjem inficiranih limfocita, Miller-ova i Van Der Maaten su smatrali mogućim da se limfociti inficirani virusom nađu u semenu bikova sa leukoznim promenama u genitalnom traktu (Malquist W.A. 1969), do sličnih rezultata došao je i Rusov Č. 1982.

Lukas i sr. 1980. godine su izolovali virus ELG iz semena bika i izveli uspešan biološki ogled na ovcama, inokulirajući spermu intraperitonealno, nakon čega su se u serumu pojavila precipitirajuća antitela. Olson-u 1982, smatra da je rizik od ELG infekcije kod prenošenja embriona embriotransferom isključen .

Pošto se virus enzootske leukoze goveda ne prenosi preko gameta i embriona, fetus može da se inficira (transplacentarno) preko placente u poslednjih šest meseci intrauterinog života. Infekcija se odigrava putem limfocita koji nose virus enzootske leukoze goveda. Osim intrauterine infekcije, virus može da se prenese od inficirane majke na tele za vreme ili odmah posle partusa (Baumgartner i sr. 1978; Eaglesome i sr. 1982; Jacobsen i sr. 1982; Lukas i Roberts 1982; Maaten i sr. 1981; Stamatović i sr. 1983; Straub 1974, 1984).

Iako je u prošlosti dokazano da se ELG može preneti transplentalno (kod krava kojima su tokom graviditeta dijagnostikovani maligni limfomi ili visoka limfocitoza) u novijim istraživanjima gdje su rezultati proveravani molekularnim tehnikama, zaključeno je da se transplentalni prenos virusa ELG može smatrati retkim. Često da bi se takav prenos

ostvario potrebno je da krava tokom graviditeta osim virusom leukoze bude inficirana i virusom goveđe imunodeficijencije BIV. Sličan rezultat dobijen je i u ogledima prenosa infekcije kolostrumom. Udružene BIV i BLV infekcije omogućuju transplacentarni prenos virusa ELG na embrion dok je samostalana transplacentarana infekcija teladi BIV dokazana (Sothy Meas 2002).

Infekcija teladi kolostrumom i mlekom moguća je u prvih 24 do 36 časova života, kada su creva u stanju da resorbuju limfocite kao makromolekule. Posle tog vremena, osim u slučajevima povećane propustljivosti sluzokože creva usled oštećenja, resorpcija inficiranih limfocita je znatno smanjena ili potpuno onemogućena. Osim virusa u kolostrumu i mleku leukoznih krava se nalaze i specifična antitela protiv virusa enzootske leukoze goveda koja se pasivno prenose na telad. Titar ovih antitela u mleku se brzo smanjuje u toku prva tri dana laktacije. Visoka koncentracija specifičnih antitela u kolostrumu može da zaštitи telad od infekcije virusom enzootske leukoze goveda. Ako tele u prvim časovima života, umesto kolostruma, uzima mleko leukoznih krava sa velikim brojem limfocita, lako može da se inficira. Nalaz antitela u krvnom serumu teladi pre uzimanja kolostruma ukazuje na intrauterinu infekciju. Kolostralna antitela protiv virusa enzootske leukoze u krvnom serumu teladi progresivno se smanjuju do nestanka za oko 5 do 6 meseci. Diferenciranje pasivnih od aktivnih antitela obavlja se pomoću krive smanjenja titra pasivnih antitela.

U istraživanjima u kojima je proučavan prenos virusa preko kolostruma i mleka dobjeni su rezultati koji govore o malom značaju ovog načina prenosa infekcije. Čak se može zaključiti da antitela iz kolostruma mogu služiti i kao zaštita teladima od nastanka infekcije virusom ELG kao i da treba razmisiliti o mogućnosti primene kolostruma, njegovom obradom zagrevanjem ili hlađenjem, pre napajanja teladi.

Horizontalno prenošnje

Horizontalni način prenošenja virusa ELG danas se smatra najvažnijim načinom prenošenja virusa i podrazumeva prenos bolesti na zdravu životinju iste populacije. Kod ovakvog načina prenošenja potreban je direktni kontakt bolesnih i zdravih životinja. Učestali kontakti među životnjama povećavaju rizik od prenošenja infekcije sa bolesnih na zdrava goveda.

Eksperimentalno je moguć prenos parenteralnom aplikacijom ćelijskog materijala leukoznih životinja (krv, leukociti, suspenzija tumora) i besćelijskog materijala (plazma, serum). Sekreti i ekskreti su potencijalni nosioci infektivnih agensa (Mamemerix M. 1978; Straub.C.O. 1982). Visok nivo infektivnosti virusa zapažen je kod životinja posle intravenske, intramuskularne, intradermalne, oralne i rektalne infekcije (Rulka J. 2001).

Jedan od značajnih puteva horizontalnog prenošenja može biti i jatrogeni prenos infekcije upotrebom nesterilnih instrumenata, ali i antropogeni upotrebom zagađenog pribora bez njegove prethodne sterilizacije ili dezinfekcije. Najčešći postupci koji mogu biti način prenošenja infekcije na zdrave životinje, a uzrokovani su greškama veterinarskog ili drugog personala su:

1. vađenje krvi;
2. infuzije i intravenske aplikacije lekova;
3. intramuskularana i subkutana aplikacija lekova;
4. tuberkulinizacija;
5. izvođenje alergoloških reakcija;
6. vakcinacija ;
7. hiruško uklanjanje rogova;
8. sondiranje i uzimanje želudačnog sadržaja;
9. laparoskopia životinja;
10. hiruške obrade papaka;
11. rektalna eksploracija i veštačko osemenjavanje;
12. carski rez i druge hiruške intervencije vrštene upotrebom nesterilnih instrumenata i prljavim rukama akušera i pomoćnika;
13. hemoterapija i transfuzija, upotreba nesterilnih igala, instrumenata, porodiljske užadi, upotreba šireta i rukavica za višekratne pregledе rektalnom eksploracijom, probang testiranje, zahvati obeležavanja životinja (npr. tetoviranja, postavljanje ušnih markica)

(Hotvath Z. 1984; Lukas M.1982; Maaten M.J. 1977; Miler M.J.1976; Straub C.O. 1978, Zaharija I.1978.) kao i drugi zootehnički zahvati, napajanje i ishrana iz istih posuda i dr.

Van Der Maaten smatra, da je za prenošenje infekcije potrebno 2.500 limfocita ili 0,0005 ml krvi, a po Straub-u oko 1.000 limfocita.

Uloga kolostruma i mleka u prenošenju ELG na telad još nije dovoljno razjašnjena (Kenyon S.J. 1982; Mammerickx M. 1977; Srtaub C.O. 1982). Smatra se, da se inficirani limfociti ne mogu resorbovati kroz zid crevne sluzokože teleta, osim u prvih 24-36 časova, kada mogu da prolaze kao makromolekuli. Posle tog vremena resorpcija je moguća samo kod oštećenja crevne sluzokože. Dosadašnja ispitivanja pokazuju da materialna antitela povećavaju otpornost teleta prema infekciji virusom ELG, ukoliko se drže odvojeno dovoljno udaljena od inficiranih krava. Životinje starosti preko 12 meseci, posle potpunog nestanka pasivno prenetih majčinskih antitela inficiraju se virusom ELG u većem stepenu nego mlađe životinje (Ferrer J.F. 1972; Romero C. 1983). Držanje leukoznih i zdravih životinja zajedno povećava mogućnost širenja ELG zbog čega način držanja životinja može imati uticaja na porast incidencije bolesti u stadu (Kobayashi 2010).

Mehaničko širenje infekcije moguće je preko raznih insekata koji sišu krv (Tabanidae, Ixodidae) posebno u slučajevima velike gustine ovih insekata (Kobayashi.S. i sr 2010). Kod njih lako mogu da se nađu limfociti inficirani virusom ELG (Bartlett D.E. 1979; Besh-Nilsen 1978; Buxton B.A.1982,1985; Kaden O.R.1978; Turmand M.C.1983; Welesmith J.W. 1980).

Sa ovim načinom prenosa infekcije sprovedeni su brojni ogledi sa različitim vrstama insekata. Eksperimentalno je dokazano da se ELG može preneti komarcima, krpeljima i obadima **Sl.3**. Ogledi su prilagođeni i izvođeni tako da bi se postigli najpogodni uslovi za prenos infekcije (insekti su se hranili krvlju životinja u stadijumu viremije, a u periodu pre izlaganja nezaraženih životinja insektima oni su najpre podvrgavani „gladovanju“. Za infekciju su korišćeni odstranjeni usni aparati insekata, ispitivanja su rađena na mladim životnjama i dr.). I pored tako postavljenih uslova infekcija nije uvijek bila uspešno potvrđena.

1. komaraci
2. štalske muve (*Stomoxys calcitrans*)
3. krpelji (*Ixodes ricinus*)
4. goveđi obadi (*Tabanus bovinus*)
5. konjske muve (*Tabanus fusicostatus*)



Sl.3. Govedi obad

Zbog toga se hematofagni insekti mogu smatrati kao moguć način širenje ELG. Posebno u letnim mesecima postoje pogodni uslovi za širenje infekcije na ovaj način. Ispaša i boravak na otvorenom prostoru i mnoštvo tabanida koje se hrane krvlju goveda predstavljaju najvažnije uslove za ovaj način širenja ELG. Međutim, ovaj način prenošenja u svakodnevnoj kliničkoj praksi nema toliki uticaja na povećanje incidence bolesti. Prenošenja infekcije na ovaj način mnogo je značajniji za njeno održavanje u prirodi kod prijemčivih divljih životinja i opstanak virusa u prirodi. Na primer u Kolumbiji gde imamo veliki broj obolelih životinja i prisustvo velikog broja hematofagnih insekata.

Virus ELG veštački uspešno je prenesen na telad, ovce, koze i bivole (Mammerickx M. 1981; Marin C. 1982). Zapaženo je da su ovce prijemčljivije i osjetljivije na virus ELG od samih goveda, i da se i kod njih javljaju neoplastične promene u većem procentu (Wittmann W. 1969; Mammerickx M.1981; Onuma M.1982; Straub C.O. 1982; Severini M. 1985; Ohishi K. 1991; Kuzman J. 1999.) i u ranijem uzrastu nego kod goveda. Životinje uginu za nekoliko meseci do 6 godina. Perzistentna limfocitoza se javlja pred uginuće, obično 8-10 dana (Blood D.C. 1979; Caldwell G.G. 1975; Kenyon S.J. 1981; Olson C. 1978). Na infekciju virusom ELG koze reaguju stvaranjem antitela dok se neoplazme retko javljaju (Liebermann H. 1981).

Na nastanak bolesti utiču i drugi faktori genetski, imunološki status, način držanja životinja, broj zaraženih grla u stadu i stanje okolne sredine. Dosadašnja istraživanja epidemiološke povezanost između ELG i leukoze čoveka ne potvrđuju da postoji veza

(Donham K. 1980). Nemogućnost dokazivanja antitela protiv virusa ELG u ljudskom serumu može biti povezano sa korišćenjem nedovoljno osetljive (virusološke i imunoloških) tehnike za dokazivanje delovanja imunostimulacije virusa ili čovek ne može da razvije imunološki odgovor na virus ELG. Interesantno je, da šimpanza, inficirana virusom ELG, reaguje stvaranjem antitela protiv virusa leukoze. Takođe, u kulturi ćelija virus ELG stvara sincicijum, između ostalih i u kulturi ćelija pluća čoveka (Martin J. 1976; Cvetnić S. 1995).

2.6. PATOGENEZA

Ulagana vrata za unos virusa u organizam su povrede na koži i ozlede na sluzokožama.

Glavna ciljna ćelija za virus ELG su B limfociti međutim, virus je ustanovljen i u T-limfocitima (CD8+), monocitima i granulocitima. Unutar B- loze limfocita virus je utvrđen u CD5+ i u CD5- B-limfocita i to u znatno većim koncentracijama kod krava s trajnom limfocitozom, nego kod krava bez limfocitoze. U DNK B-limfocita goveda inficiranih virusom ELG nalazi se nasumično ugrađena provirusna DNK nastala posredstvom aktivnosti reverzne transkriptaze na oba oslobođena lanca virusne RNK. Nalazimo je kod goveda sa perzistentnom limfocitozom, ali ne i u tumorima.

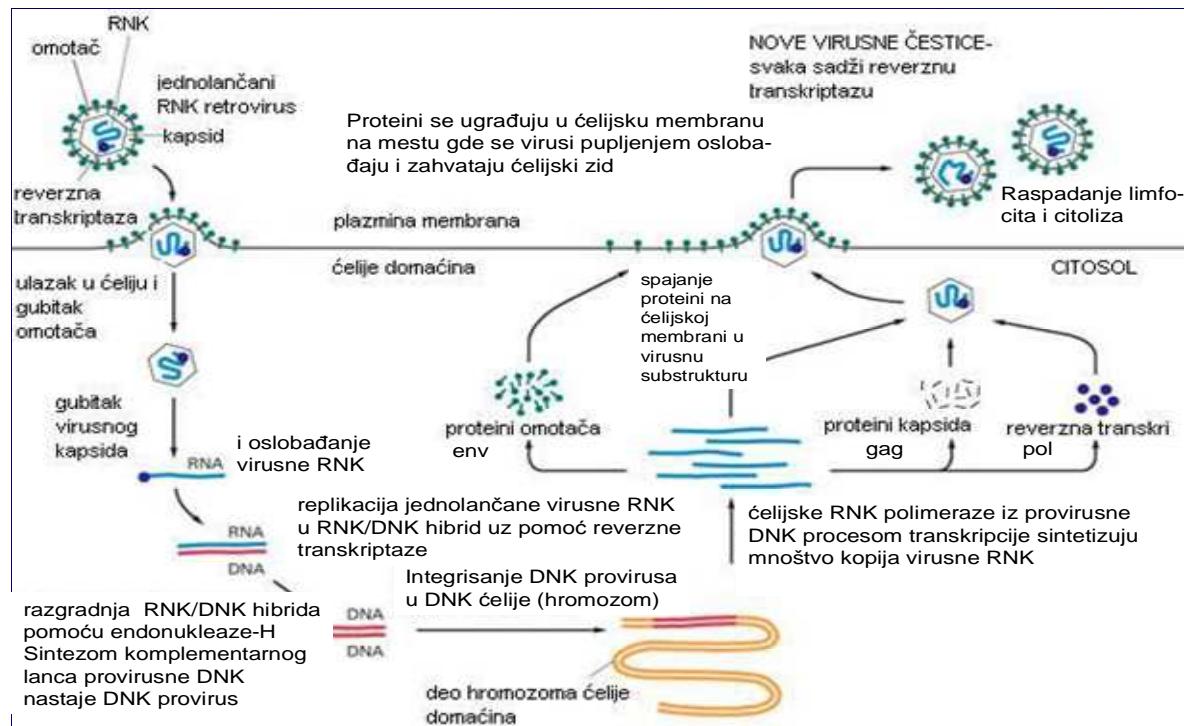
U procesu replikacije virusa najpre jednolančana RNK prelazi u hibrid RNK-DNK, zatim pod uticajem ribonukleaze H razgrađuje se hibrid RNK-DNK, potom dolazi do udvostručavanja jednolančanih DNK u dvolančanu DNK. Kao rezultat transkripcije nastaje DNK provirus. Ugrađeni provirusni genom u DNK ćelije prenosi se na čerke ćelije u procesu ćelijske replikacije. Tokom dugog perioda latence prisutna provirusna DNK ugrađena u čelisku DNK ne prouzrokuje umnožavanje virusnog progena (Beyer i sr.2002; Roić B.2013).

Ćelijske RNK polimeraze pretvaraju ćelijsku i provirusne DNK u RNK. Procesom transkripcije ponovo se sintetizuje više kopija virusne RNK od kojih se jedan deo koristi kao virusni genom za novostvoreni virus, a drugi deo odlazi do ribozoma i služi kao informaciona mRNA za sintezu virusnih proteina. Na ribozomima se sintetišu ***gag-, pol-, env- proteini*** koji se na ćeliskoj membrani spajaju u virusnu substrukturu. One se ugrađuju u ćelijsku membranu gde virusi popunjnjem izlaze iz ćelije. Već unutar ćelije diferenciraju se različiti proteini kore kao prvi stepen u sazrevanju u obliku A-, B-, C- i D- tipa koje se nastavlja i posle popunjnjena (Portetelle D .1991).

Promene koje nastaju u organizmu životinja inficiranih virusom ELG nastaju kao posledica integracije pro-virusnog *v-onc* gena sa DNK ćelije. Onkogeni su molekulske strukture koje imaju više funkcija, deluju na razvitak tumora i transformaciju ćelije, imaju važnu ulogu u metabolizmu ćelije, kontrolišu rast i razmnožavanje ćelija. Normalno se mogu naći u ćelijama sisara, ptica i insekata (Weinberg R. 1987).

C-onkogeni se normalno nalaze u ćeliji i imaju ulogu regulatora deobe ćelije. U odraslih organizama ovi geni se minimalno eksprimiraju, nekontrolisana eksprimacija dovodi do transformacije ćelije neograničenog rasta i smrti. Prema svojoj genezi dejstvu i ekspresiji razlikuju se **c-onkogeni** i **v-onkogeni** oba onkogena su srodnici i potiču od ćelija i filogenetski su stari oko 600 miliona godina (Weinberg R. 1987). Važan način aktivisanja protoonkogena u ćelijama je infekcija retrovirusima. Tokom replikacije u ćelijama retrovirusi mogu primiti deo DNK koji sadrži protoonkogen i ugraditi ga u sopstveni genom, koji se može aktivirati u v-onkogen koji posle integracije u ćelijsku DNK izaziva transformaciju ćelije i rast tumora.

Slika 3. Razvojni ciklus virusa ELG



Goveda kod kojih su izražene tumorozne promene provirus se nalazi u limfocitima nakupljenim u tumorima i organima. Tumori se sastoje od B limfocita koji sa stanovišta mesta

ugradnje provirusa predstavljaju klon i sadrže 2-3 kopije provirusa. Genom virusa u ćelijama neoplazmi je miran i ne sadrži bilo koji poznati onkogen, što ukazuje na značaj mesta ugradnje virusa ELG na proces leukogeneze (Rusov Č.1981,1982). Virus se razmnožava u B-limfocitima i zapaža se na površini, unutar citoplazme i u vakuolama *Sl.3*. Iz limfocita se oslobađa pupljenjem, pri čemu zahvata deo ćelijske membrane, usled čega dolazi do citolize i raspadanja limfocita, odnosno degeneracijom ćelija (Calafat J. 1976; Valikhov F.A. 1977). Sazrevanje virusa se odvija izvan ćelija (Dekegel D. 1976).

Nasledni faktori ili genetska predispozicija mogu imati važnu ulogu u patogenezi ELG-a. Pozicija BoLA (MHC) na osmom hromozomu pokazuje predispoziciju za enzootsku leukozu i virusne bolesti (Knežević M. Jovanović M. 1999).

ELG se pojavljuje uglavnom kao limfadenozna, a veoma retko kao mijeloza. Obično se javlja kod krava u starosti od 4-8 godine. Kod limfadenoze, zahvata one organe i sisteme gde se stvaraju limfociti, tj. limfne čvorove i limfne folikule u slezini, stomačni zid, crevni zid i druge organe, dok kod mijeloze hiperplazija zahvata kostnu srž. Kod goveda bolest neminovno protiče u formi limfadenopatije. Nastajanje tumora u organima koji ne pripadaju hematopoetskom sistemu ne treba smatrati metastaziranjem nego autonomnom tumorogenezom (Cvetnić S. 1995). Ovi tumori verovatno kao i ostali limfomi, osteosarkomi i proces leukemogeneze podložni su uticajima hormona (Henderson B. 1982; Danforth 1993).

Cvetić i Rosenberger i sr.dele razvoj goveđe leukoze na dva stadijuma: 1) preleukotični i 2) tumorozni stadijum, tj. prava leukoza.

Preleukotičnom stadijumu prethodi inkubacija koja u eksperimentalnom vertikalnom prenošenju traje oko 100-750 dana. Ta se faza karakteriše kraćom ili dužom vrlo izraženom limfocitozom, prosečno u 10-30% manifestnih slučajeva leukoze.

Manifestna leukoza razvija se u limfocitozu, ali može postojati i bez nje. Broj limfocita u krvi može, ali ne mora biti povišen. Manifestna leukoza završava letalno. Krvna se slika karakteriše sa velikim povećanjem absolutnog broja limfocita, neznatnim porastom nediferenciranih limfnih ćelija, samo limfocita ili samo povećanim brojem nezrelnih limfnih ćelija i parablasta. Pravidno normalne ćelije krvi, bez obzira na tip leukoze, funkcionalno su nešto manje aktivne, a biohemski su promenjene u odnosu na normalne ćelije. Kod limfocitne leukoze postoji više ili manje smanjen broj granulocita, trombocita i eritrocita,

verovatno nastaje kao posledica smanjenja broja pluripotentnih matičnih ćelija (Rusov Č. 1991).

Sadauskas 1979. je pomoću H-3 timidina i C-14 utvrdio da dužina trajanja S perioda u limfocitima periferne krvi zdravih životinja iznosi u proseku 26, a kod leukoznih 47 časova. Što ukazuje na to da se leukozne ćelije sporije razmnožavaju i imaju duži vek .

Nastanak perzistentne limfocitoze povezan je sa odloženom ćelijskom apoptozom inficiranih B limfocita, a koja je povezana sa povećanom produkcijom IL2 i pojačanom ekspresijom IL 2 alfa receptora. IL2 kao medijator stimuliše limfocitnu proliferaciju.

Više istraživača je utvrdilo prisustvo inhibitora u sekretima i ekskretima životinja bolesnih od ELG (Lukas H.M. 1972). Takođe su dokazani inhibitori virusa u kolostrumu, mleku, serumu, mokraći i plazmi leukoznih goveda. Ovaj inhibitor je protein molekulske mase 150.000, a koji nije imunoglobulin niti interferon. On je odgovoran za represiju virusnog genoma na nivou transkripcije. Ovaj inhibitor ima glavnu ulogu u kontroli infekcije goveda virusom ELG i virusne leukozogeneze (Rusov Č.1991).

Smrt životinja obolelih od leukoze nastaje kada tumori dostignu određenu veličinu (autointoksikacija), rupture slezine, sekundarne anemije i drugih patoloških promena i obično nastupa u 6-7 godini života. Međutim, često se leukozne životinje ranije kolju zbog smanjenja mlečnosti, plodnosti ili zbog kaheksije, godišnji remont stada u ovim zapatima je veći za oko 5-10% u odnosu na stada slobodna od ELG-a.

Postoje kontradiktorni dokazi o ulozi virusa kao uzročnika imunodeficijencije i povećanih gubitaka stada. Emanulso je dokazao da stada zaražena ELG imaju smanjenu produkciju mleka (2,5-3% na nivou stada) i povećane gubitke stada kao i veću osjetljivost na druge bolesti kao na primer mastitis, proliv i pneumonije, ali efekti uticaja na fertilnost su neznatni. Jedan broj autora ukazuje da prisustvo koinfekcije sa BIV virusom olakšava razvoj BLV infekcije u inficiranim govedima i omogućava transplacentarni prenos infekcije na plod (Sothy Meas 2002). Genetska varijabilnost BLV u uslovima prirodne infekcije može imati uticaja na patogenezu bolesti (Willems L.1993; Markewicz L. 2004).

2.7. KLINIČKA SLIKA

ELG je hronična bolest koja se najčešće javlja kod odraslih goveda uzrasta 3-6 godina. Većina infekcija protiče u subkliničkom toku, kod odraslih goveda starijih od tri godine u oko 30% slučajeva ispoljavaju limfocitozu ili u manjem stepenu limfosarkomatozu i limfadenopatije. Klinički simptomi ako su prisutni zavise od organa i organskih sistema koji su zahvaćeni odnosno pogodjeni patološkim procesom. Goveda sa lomfosarkomozom gotovo po pravilu uginjavaju posle pojave simptoma bolesti. Nakon pojave simptoma za nekoliko nedelja ili meseci životinje uginjavaju sa izraženim simptomima specifičnim za pogodjeni organski sistem. Bolest je klinički vrlo teško prepoznati, jer je klinička slika bolesti jako heterogena. Inkubacioni period traje od 200 dana pa sve do 7 godina (Cvetnić S. 1995).

Sa dijagnostičkog stanovišta ELG može da ima akutni, subaktuni i hronični tok, kao i subklinički i klinički stadijum bolesti (Rusov Č. 1991).

Akutni oblik javlja se vrlo retko. On traje od nekoliko časova (usled rupture slezine ili drugih unutrašnjih krvarenja) do nekoliko nedelja. Javlja se kod mladih, vrlo retko kod starijih životinja.

Subakutni oblik protiče sa manje burnim tokom uz pojavu kliničkih znakova ELG.

Hronični oblik ELG traje mesecima i godinama, sa izraženim kliničkim znacima.

Subklinički (latentni) stadijum ELG obično traje 2-6 godina i bez vidljivih promena opšteg stanja životinje. Ponekad protiče sa slabo povišenom telesnom temperaturom (do $41,6^{\circ}\text{C}$). Promenom ćelijskog sastava periferne krvi, povećanjem broja limfocita i pojmom nezrelih ćelijskih elemenata: prolimfocita, limfoblasta, mijelocita, promijelocita, mijeloblasta, histocita i retikulocita. Kod većine slučajeva broj leukocita u perifernoj krvi ne prelazi $20 \times 10^9/\text{l}$; ređe dostiže $10 \times 10^9/\text{l}$ - $200 \times 10^9/\text{l}$.

Sa razvojem bolesti broj leukocita obično se uvećava, ali za vreme kliničkog (tumorskog) oblika kod nekih krava se i smanjuje (Iliev T. 1964). Limfocitoza je izražena kod

10-30% slučajeva, a ponekad može dostići i do 90%. Ovaj stadijum je poznat kao preleukotični ili hiperplastični (Rusov Č.1991).

Izvestan broj slučajeva (8-40%) ELG prolazi bez limfocitoze, tj. broj leukocita je ispod $10 \times 10^9/1$ (aleukemična forma). Ova forma najčešće je primećena kod teladi (Iliev T.1964). Proizvodnja mleka u ovom stadijumu i plodnost nisu poremećeni (73). Na prelaz iz subkliničkog u klinički manifestan stadijum bolesti, utiču različiti faktori stres, slabljenje imunološkog statusa, partus i intoksikacije (Rusov Č.1991).

Klinički (tumorzni) stadijum

Manifestna leukoza razvija se sa limfocitozom, ali i bez nje uvek se završava letalno. U ovoj fazi ELG otkrivaju se tumori klinički i patoanatomski. Klinički se zapaža uvećanje površinskih limfnih čvorova, unilateralno ili bilateralno, najčešće preskapularnih, aksilarnih, subiličnih, mandibularnih, a ređe parotidnih, paralumbalnih, ingvinalnih i supramamarnih. Limfni čvorovi su obično ravnomerno povećani i elastični, mogu dostići težinu 1-2 kg. Zahvaćeni limfni čvorovi srastaju sa okolnim tkivom i drugim organima i imaju najčešće glatku površinu u ređim slučajevima kod limfosarkomatoze imaju neravnu površinu. Limfadenopatija je jasno izražena i uočljiva na palpaciju limfni čvorovi obično nisu bolni i temperirani, zbog čega životinje dozvoljavaju palpaciju bez otpora (**Sl.4.-9**).

Goveda mogu biti afebrilna ili sa povremenim stanjima febre bez jasne specifične infektivne osnove za nastanak groznicice. Dominiraju klinički sptomci nastali zbog promena na organizmu ili organskim sistemima koji su najviše pogodjeni leukoznim promenama.

Moguće su pojave srčane ili bubrežene slabosti, a česta je pojava infekcija oportunističkog karaktera. Goveda obolela od manifestne ELG znatno češće inkliniraju pojavi infekcija uzgojne etiologije koja su karakteristične za zapat u kome se životinje nalaze od zdravih neinficiranih goveda ili goveda koja se nalaze u ranom stadijumu bolesti odnosno infekcije.

Sl.4. Uvećeni preskapilarni limfni čvor (org.)

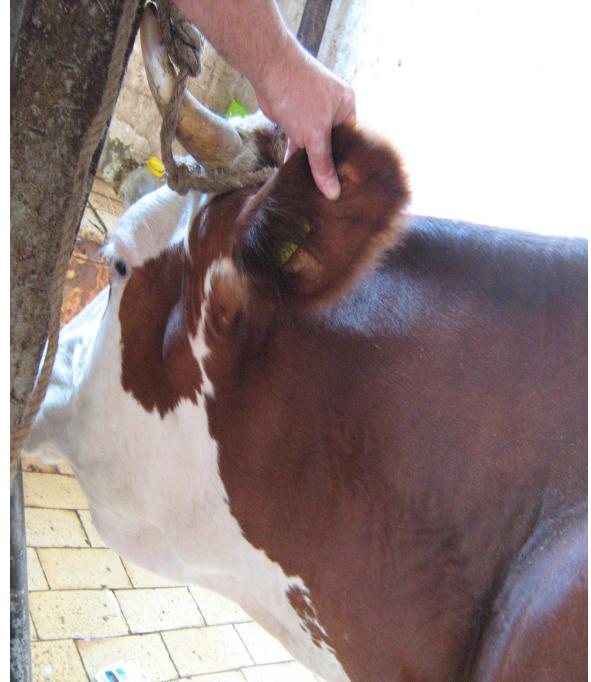


Leukozne neoplazme (tumori) mogu se naći i na drugim mestima van limfnih čvorova u oblasti plećke i trupa, glave na korenju repa u vimenu, vulvi i dr.

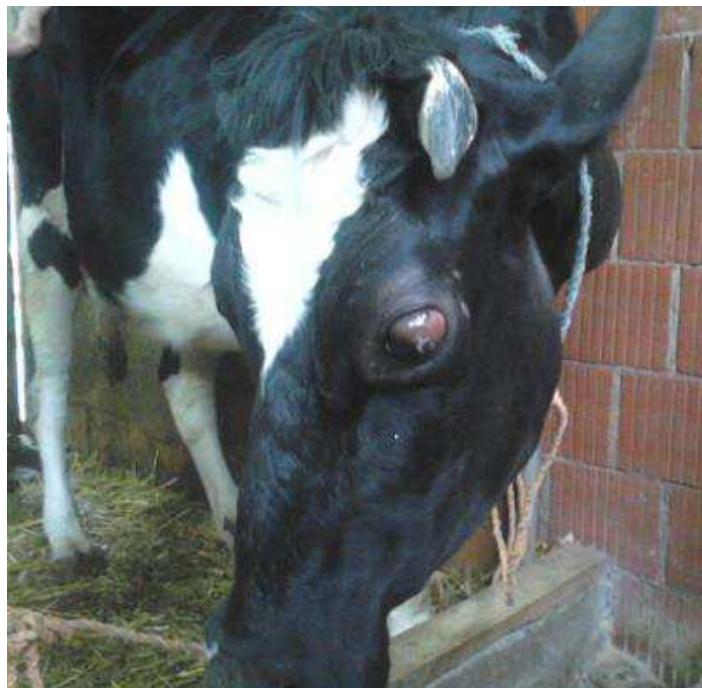
Sl.5. Uvećani subilijačni limfni čvor (org.)



Sl.6. Uvećani parotidni limfni čvor (org.)



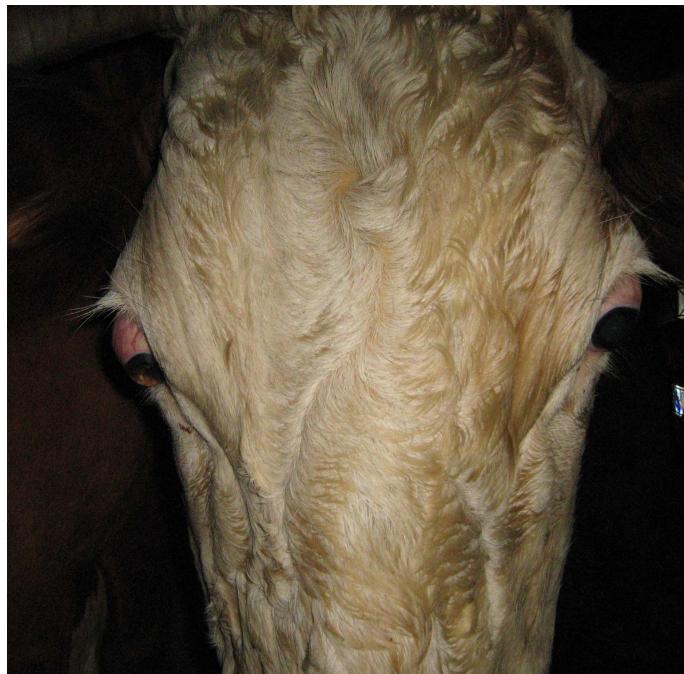
Sl.7 *Exophthalmus unilateralis* (org.)



1963. Rosenberger G. 1970; Đukić B. 1975,1983.) uvek su posledica meha-ničkog pritiska koji na očnu jabučicu vrše tumori ili difuzni limfocitni infiltrati u retrobulbarnom mišićnom tkivu i nije posledica patološkog procesa u samom oku.

Stamatović i sar. (Stamatović S. 1975.) tvrde da postoji visok stepen korelacije između pojave egzoftalmusa i limfatične leukoze, ali ne i između egzoftalmusa i povećanja limfnih

čvorova. Kod goveda obolelih od ELG našli smo egzoftalmus sa retrobulbarnim proliferatom i infiltracijom očnih mišića limfoidnim elementima uzrokovanim infekcijom virusom enzootske leukoze goveda. Na fotografijama u prilogu mogu se videti navedene promene Sl.7-8 (S.Stanojević).



Sl.8 *Exophthalmus bilateralis*(org.)

Leukozni tumori zahvataju često i limfne čvorove u unutrašnjosti tela kao i organe (slezinu, jetru, creva, bubrege i dr). Ove promene se ne mogu ustanoviti kliničkim pregledom . Telesna temperatura je u granicama normalne, ponekad neznatno povećana, a na kraju bolesti je subnormalna.

U zavisnosti od lokacije zahvaćenih limfnih čvorova i pojave tumora i infiltracija u raznim organima mogu se pojaviti i drugi klinički simptomi: dijareja i opstipacija, jaka mršavost praćena bledilom sluzokože, gubljenjem sjaja i glatkosti dlake, hladni edemi po grudima i abdomenu, ponekad hromost zadnjih nogu (pritisak od povećanih lilmnih čvorova na kičmenu moždinu), otežano gutanje i disanje, preživanje i ruktus (otok retrofaringijalnih i mandibularni limfnih čvorova), otežan porodaj (zahvaćeni karlični limfni čvorovi), tahikardija, kardijalni šumovi i aritmije (leukozne promene na srcu). Ponekad mogu da se nađu i promene na sirištu sa posledičnom indigestija (Jazbec I.1972). Apetit i mlečnost afektiranog grla opadaju. Urološki poremećaji su teški. Usled zadebljanja uretera može doći do staze urina i uremije.



Sl.9. Uvećani suporamamrni limfni čvorovi(org)

Nekoliko nedelja nakon pojave tumora ređe posle nekoliko meseci, životinja ugine ili bude prinudno zaklana.

Prema mišljenju mnogih autora klinički stadijum se javlja u starosti od 4-5 pa do 8-9 godina . Bikovi ređe obolevaju od ELG ona kod njih utiče na smanjenje libida i plodnosti, a može se razviti i sterilitet (Rusov Č. 1985).

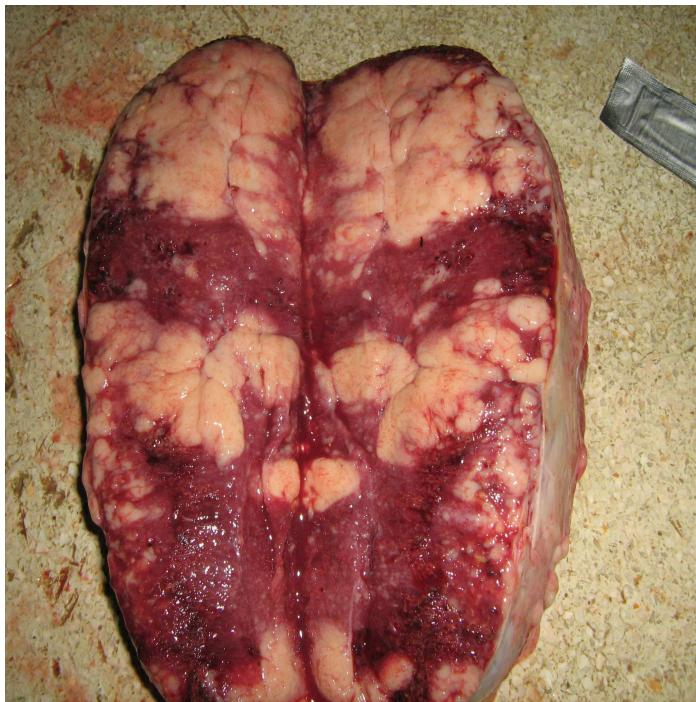
Kod oko 10% životinja ispoljavaju se uočljive tumorozne promene. Pojava limfatične leukemije (broj leukocita preko $18 \times 10^9/1$) i procenat limfocitarnih elemenata preko 75% nije u korelaciji sa poremećajima zdravstvenog stanja životinja (Stamatović S. 1983).

2.8. PATOANATOMSKE PROMENE

Patomorfološke promene kod leukoze karakteriše nekontrolisano bujanje hematopoeznog i retikulohistocitnog tkiva koje se proširilo po čitavom organizmu. Patoanatomske promene su vrlo raznolike (Đukić. B.1969; Cvetnić S. 1995). Bolest se karakteriše sarkomatoznim žarištima koja mogu biti difuzno-infiltracijskog ili čvornovatog nodoznog tipa. Tumori su često mekani ili krhke konstitucije (Cvetnić S. 1995).

Marshak (1962), je izneo podatke o učestalosti pojavljivanja leukoznih promena kod ELG u pojedinim organima goveda obolelih od limfocitne leukoze: limfnii čvorovi 95%, srce 89%, bubrezi i ureteri 59%, abomazus 57%, uterus i cerviks 51%, kičmena moždina 49%, creva 46%, jetra 37%, slezina 27%, mokraćna bešika, 21%, rumen, retikulum, omazus 19%, žučna bešika 11%, pluća 8%, ovarijumi 5% i srž nadbubrežnih žlezda 3%.

L i m f n i č v o r o v i su povećani, neki mogu biti teški čak 1000-1500 g. Na preseku se teško razlikuje kora od srži, a parenhim je meke do kašaste konzistencije. Površina preseka je vlažna, prljavosivkaste boje (Cvetnić S. 1995). Česte su regresivno-nekrotične promene, koje dovode do delimičnog razmekšanja limfnog čvora ili do karakterističnih žarišnih promena žuto-sirastog izgleda. Te su promene lokalizirane u dubini parenhima, a vide se u obliku pojasa ili razasutih žarišta. Mogu se naći manja ili krvarenja.



Sl.10. Limfni čvor je povećan, a na preseku se vide nodozno tumorozne promene sa tendencijom konfluisanja (org.)

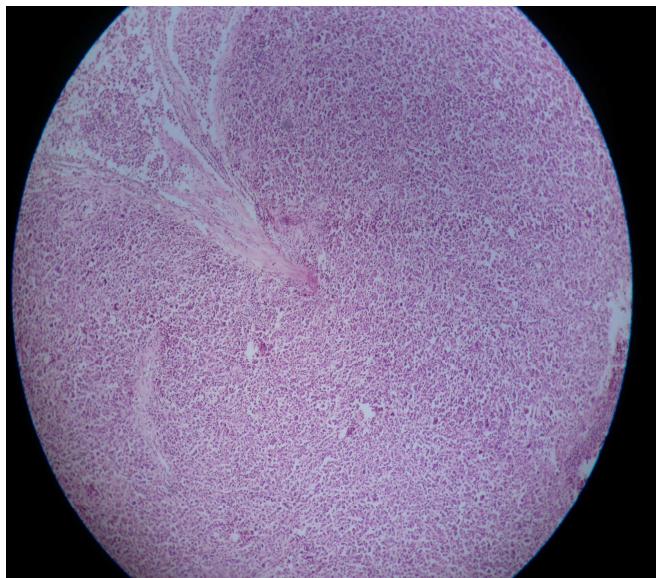
Na fotografiji *Sl.10.* preseka uvećanih submandibularnih lnn se uočavaju se nodozno tumorozne promene koje konfliuraju. Usled intenzivne proliferacije gubi se struktura lnn i nastaju regresivno nekrotične promene. Limfni čvorovi uvećani mase od (1500g-2000g) veličine preko 20 cm. fotografija u prilogu *Sl.11.* Limfadenozu se može javljati i u čvorastom tumoroznom obliku sa oštro ograničenim čvorovima i sa mestimičnom tendencijom konfluiranja u veća žarišta. Pri tome su povećani čvorovi krvrgavi (Đukić. B.1969; Cvetnić S. 1995).



Sl.11 Ispod kapsule limfnog čvora prosijavaju multiple nodozne tvorevine, što mu daje čvorasto-krvagav izgled (org.)

Histološke promene su različite, zavisno o kojem stadiju promena se radi. U početnim promenama zapaža se infiltraciono bujanje ćelija u srži limfnoga čvora. Proliferisane ćelije pokazuju sve prelazne oblike od nezrelih okruglih hematopoeznih ćelija do zrelih limfocita. Kasnije, usled intenzivnog proliferisanja i nakupljanja ćelija, gubi se normalan izgled limfnog čvora i struktura mu se ne raspoznaće.

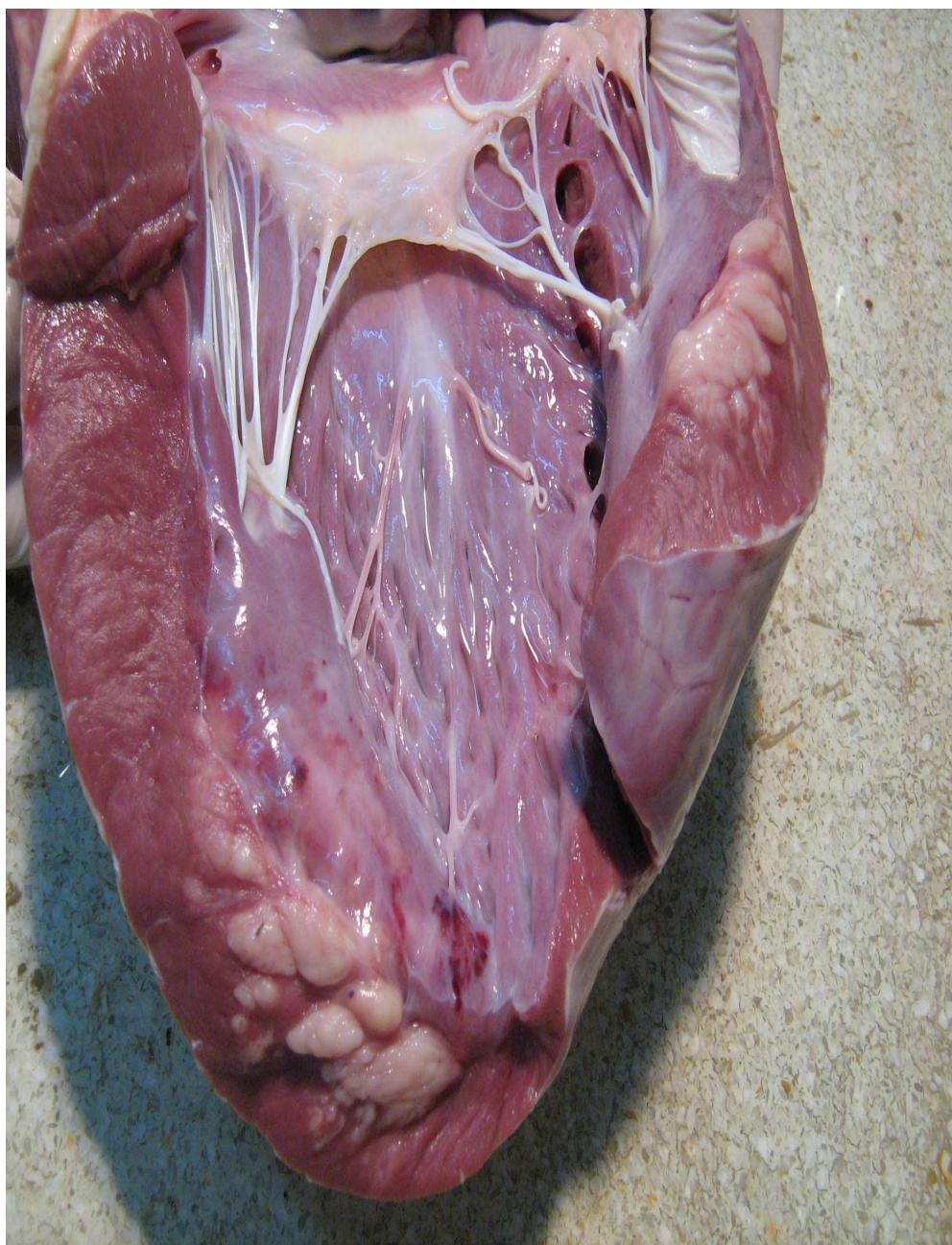
Proliferisane limfocitne ćelije ispunjavaju sinusne prostore, probijaju kapsulu i infiltriraju se u susedna tkiva sl.12. Makroskopski ustanovljena žuto-sivkasta žarišta u limfnim čvorovima mikroskopski odgovaraju anemičnoj nekrozi sa karakterističnim raspadanjem ćelija (Đukić. B.1969; Cvetnić S. 1995).



Sl. 12. Tkivo limfnog čvora infiltrovano je proliferisanim limfocitima, HE (org.)

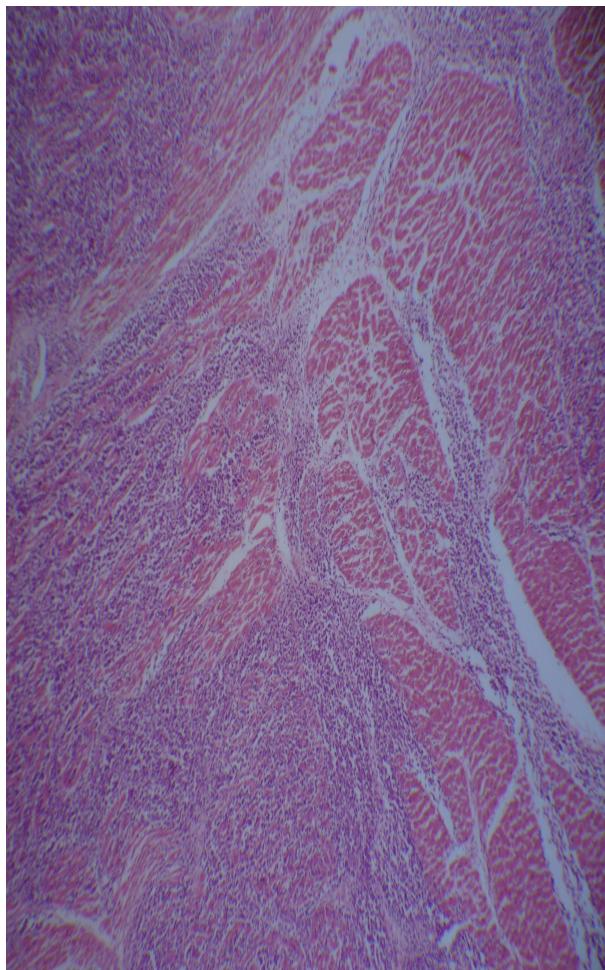
S r c e ima čvoraste ili difuzno infiltrirajuće promene. Kod čvoričaste infiltracije nalaze se žarišta različite veličine. Svojim izgledom podsećaju na sarkom, a mogu biti situirani u zidu komora i pretkomora, delom se nalaze u zidu, a delom prominiraju u lumen srčane šupline. Prekrivene su endokardom i glatka su. Mogu se naći i promene režnjevitog izgleda

koje podseća na karfiol i mogu u potpunosti ispuniti srčane šupljine. Meke su kozistencije na preseku slaninastog izgleda (Milosavljević P. 1988). U drugom slučaju zid pretkomore bude jako zadebljan, veliki limfocitni infiltrati prouzrokuju deformaciju i zadebljanje trabekula.



Sl.13. U zidu komore bliže apeksu miokard je protkan nodusima koji delom štrče u čupli proctor komore, međusobno su slbo disocirani (orginal)

Sl.14 Proliferacije limfocita u miokaedu HE (original)

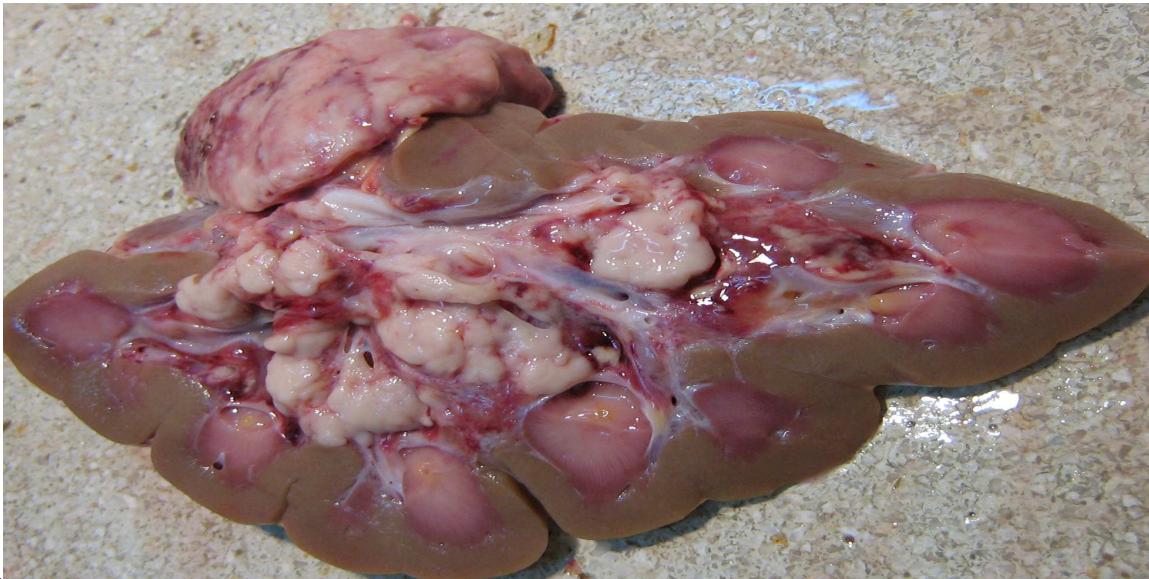


U subendokardijalnom tkivu između srčanih mišićnih vlakana nalaze se infiltrowane limfocitne ćelije videti **Sl.14**. Srčana mišićna vlakna često usled kompresivne atrofije nestaju (Rusov Č. 1991; Cvetnić S. 1995).

Kao posledica ovih promena na srcu razvija se srčana slabost (insuficiecia cordis) koja se ispoljava pojavom različitih kliničkih simptoma najčešće pojavom edema na distalnim delovima nogu, đerdanu i abdomenu.

Usled oštećenja autonomnih srčanih centara javljaju se poremećaji srčanog ritma i rada srca koji rezultiraju zamaranjem otežanim disanjem i usporenim kretanjem sa pojavom srčanog bloka posledičnom sinkopom i smrću životinje.

B u b r e z i su u difuznom obliku znatno povećani, svetlo-smeđe-sivkasti, na preseku se teško raspoznaju granice između kore i srži. Parenhim je krte konzistencije, slaninastog izgleda, a ponekad se nađu i krvarenja. Češće se promene odlikuju čvorićastim proliferatima veličine graška do oraha (**Sl.15 u prilogu**). Ognjišta su sivo-beličaste boje, slaninastog izgleda, oštro ograničena, lokalizovana u površinskim delovima kore, ali i dublje. Često prominiraju iznad površine bubrega i nisu srasla sa kapsulom. U nekim slučajevima u makroskopski neizmenjenim bubrezima, nalaze se inicijalne leukozne promene. Usled staze mokraće izazvane okluzijom uretera, razvija se hidronefroza.



Sl.15 Na preseku bubrega jasno se ističu ograničeni, dublje situirani čvorovi sivo-beličaste boje(orginal)

Između glomerula i bubrežnih kanalića nalaze se difuzni ili ograničeni proliferati limfoidnih ćelija i limfocita. Proliferisane limfatične i mezenhimske ćelije intersticijuma izazivaju kompresivnu atrofiju bubrežnih kanalića koji potpuno nestaju (Rusov Č.1991; Cvetnić S.1995).

Slezina može biti promenjena u difuznom ili čvoričastom obliku. U difuznom obliku je povećana zbog čega je zaobljenih rubova, na preseku pulpa je plavo-crvenkaste boje, meke kašaste konzistencije. Može težiti od 11 - 25 kg i dostići dužinu i do 1 m, a širinu od 25-30 cm (Mammerickx M. 1976. Rusov Č.1991; Cvetnić S.1995). Ispod kapsule se nalaze mnogobrojna krvarenja, a u dubini veći hematoi. Kod ovakvih promena smrt životinje često nastupi usled rupture slezine i iskrvarenja. Splenomegalija je često praćena rupturom slezine i iskrvarenjem životinje (Joest E. 1970; Jakšić L.Sofrenović Đ. 1987; Milosavljević P.1996).

Kod čvoričaste limfadenoze slezina nije upadljivo povećana, a na preseku se vide sivo-beličasta Malpighijeva telašca, koja se bojom i veličinom izdvajaju od tamno-crvene pulpe. Slezina je povećana, a granica između crvene i bele pulpe je povećana usled hiperplazije

folikula (Tadžibaev A 1983). U pulpi mogu da se vide slaninasti čvorići veličine 0,5 - 1 cm. (*Sl.16* u prilogu)



Sl.16. Leukozne promene na preseku slezine

Kod većine seropozitivnih životinja slezina je nepromenjena, a u njoj se histološki mogu naći leukozne promene.

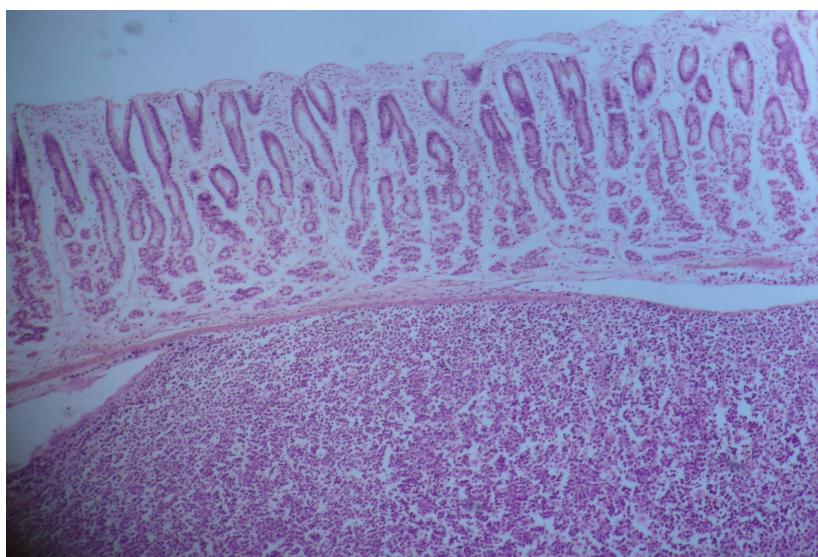
Patohistološki nalaz u nekim slučajevima može biti negativan (Cvetnić S. 1995). Histološke promene se odlikuju gustim prožimanjem folikula limfoidnim ćelijama i limfoidnom metaplasijom retikuluma crevne pulpe. Limfoidne infiltracije zapažaju se i u kapsuli, a veća ili manja krvarenja u subkapsularnim prostorima. U krvnim sudovima nađu se izbočenja, prekrivena endotelom koja prominiraju u lumen krvnog suda. Tako kod difuzne limfadenoze nestaje struktura bele i crvene pulpe, jer je retikulum prožet proliferiranim limfoidnim ćelijama (Cvetnić S. 1995; Milosavljević P 1988). U mnogim slučajevima slezina ne pokazuje nikakve promene (Želev V. 1974).

Digestivni trakt - Prema literaturnim podacima promene u predželucima goveda tumorozne promene se vrlo retko nalaze one se češće mogu naći u sirištu.

Abomazus Odlikuju se zadebljanjem zida i plika spiralis sirišta (*Sl.17*). Na sluzokoži sirišta često se mogu pronaći erozije i ulaceracije koje nastaju usled poremećaja cirkulacije - ishemije izazavne bujanjem i infiltracijom limfoidnog tkiva. Kod životinje sa slike klinički je bila izražena hronična indigestija godinu dana pre dijagnostikovanja leukoze.



Sl.17 Plike spiralis sirišta su zadebljale, a kao posledica ovakvih zbivanja dolazi do ulceracije sluzokože(orginal).



U predelu pilorusa i u kranijalnim partijama zid može da bude veoma zadebljan, 2-7 cm . U zidu sirišta i creva nalazi se infiltracija velikog broja limfocitnih ćelija, atrofija žlezdanih elemenata i mišićnih vlakana (*Sl.18*).

Sl.18.U zidu sisrišta vide se proliferisani limfociti i atrofija žlezdanih elemenata,HE(orginal)

O m a z u s Iako retke, promene se mogu naći i na listavcu koje najčešće zahvataju spoljni zid omazusa **Sl.19**, kada su zahvaćeni i njegovi limfni čvorovi (**Sl.20**)



Sl.19 Lukozne promene na omazusu (original)

Promene na listavcu zahvataju spoljašnji zid listavca dok su lamine omazi nepromenjene.



Sl.20 U kortikalnim zonama limfnih čvorova listavca vide se nodozni proliferati(original)

Nodozne ili difuzne tumorske promene mogu se naći i u tankim, a ređe i u debelim crevima. Iako retko, neleze se povećani i tumorski izmenjeni mezenterički limfni čvorovi videti **Sl.21** u prilogu (Đukić B. Stamatović S. 1975).



Sl.21 Povećani mezenterijalnih limfnih čvorova(original)

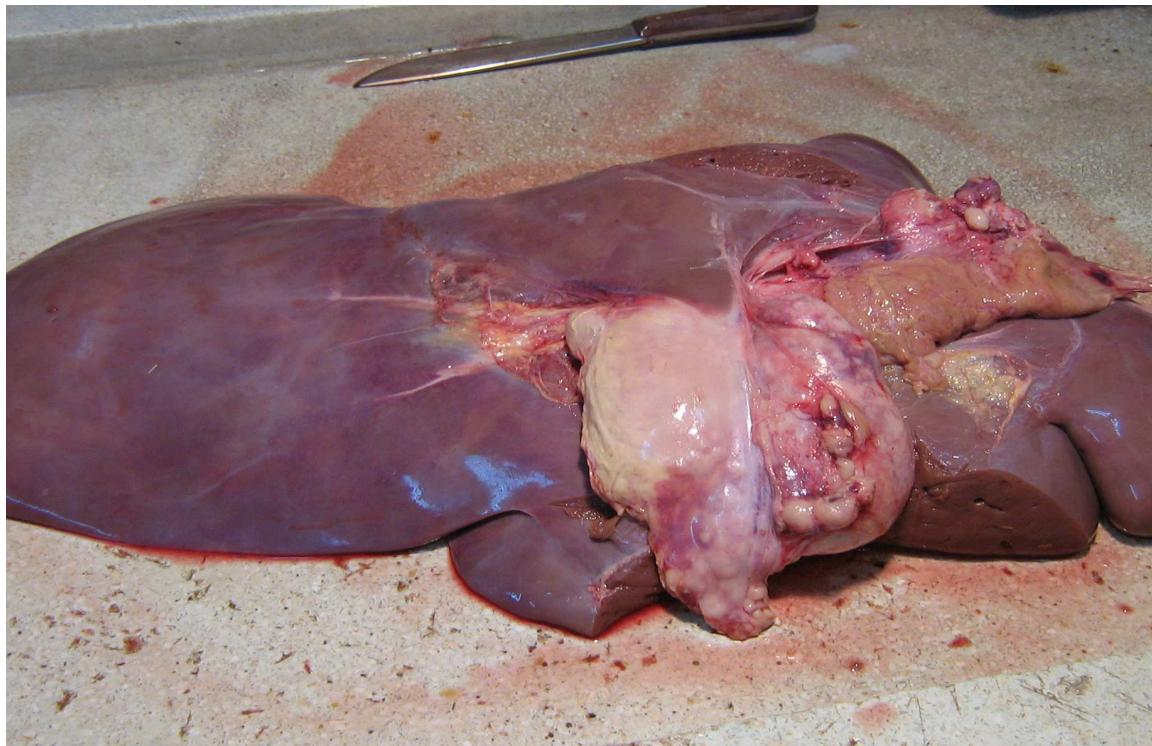
S k e l e t n a m u s k u l a t u r a. Makroskopske promene u odnosu na srčani mišić su ređe. Promene su difuzno infiltracijske prirode. Između mišićnih snopića i vlakana koja su atrofirana, primećuju se brojni limfoidni elementi. Te su promene najčešće na dijafragmi i u interkostalnoj muskulaturi.

K o š t a n a s r ž je retko zahvaćena, zapažene su metaplazije ćelija parenhima i to limfoidnog tipa, gde preovladavaju limfociti, prolimfociti i limfoblasti (Tadžibaev I. 1983). Primećuju se žućkasto-zelena ognjišta meke konzistencije, sačinjene od proliferisanih ćelija. Veoma retko, prolifercija leukoznih ćelija potiskuje ćelije eritrocitne loze i dovodi do atrofije koštane srži i istanjenja koštanog zida (Rusov Č.1991; Cvetnić S.1995).

J e t r a je u difuznom obliku bolesti manje ili više povećana, režnjevi su zaobljenih rubova sivo-smeđe boje, a kapsula je napeta. Jetra može imati masu i do 25 kg pa i više (Cvetnić S.1995). Na preseku se uočava građa, ali je konzistencija parenhima uglavnom trošna i krta (Rusov Č.1991; Milosavljević P. 1996).

U jetri sa nodoznim promenama ispod kapsule i u dubini parenhima nalaze se sivo-beličasti čvorovi veličine zrna proса, graška ili lešnika, koji delimično prominiraju iznad površine jetre presvučeni su kapsulom, a nađu se i u dubini režnjeva (Rusov Č.1991; Cvetnić S.1995).

Portalni limfni čvorovi uglavnom su povećani **Sl.22.** U difuznom obliku se nalaze infiltrati limfocitnih ćelija u portobilijarnom i interlobularnom tkivu.



Sl.22.Povećani portalnih imfni čvor(original)

Proliferati ponekad konfluiraju i dovode do nestajanja pojedinih gredica pa i čitavih lobulusa. U okolini ovih infiltrata izražena je atrofija i masna degeneracija hepatocita.

U čvorićastom obliku limfadenoze jetre nalaze se ograničena, ognjišta limfocitnih ćelija i vlakana različitih veličina. U sinusoidnim prostorima nalaze se pojedinačno ili u manjim skupinama zreli limfociti ili limfoidociti. Tako kod nodozne forme limfadenoze uprkos histološkim promenama jetra je retko povećana (Rusov Č.1991; Cvetnić S.1995).

Mlečna žlezda

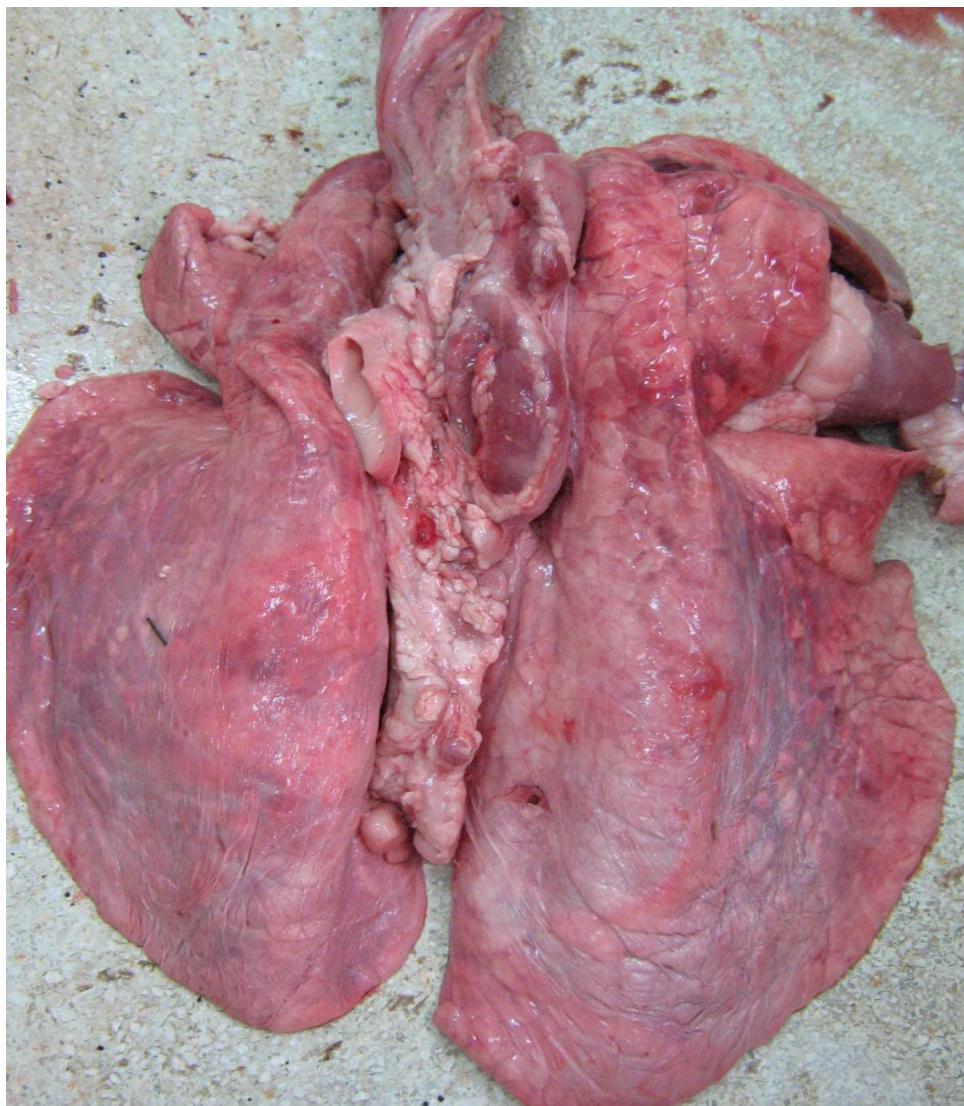
Često je zahvaćena leukoznim promenama u dubini parenhima mogu se naći oštro ograničeni meki, sivkasti čvorici razne veličine.



Sl.23. Povećani supramamarnih limfnih čvorovi (orginal)

U supramamarnim limfnim čvorovima se nalaze tumorske promene *Sl.23.* čak i u slučajevima kada se u mlečnoj žlezdi ni mikroskopskim pregledom ne mogu naći leukozni proliferati. U intersticijalnom tkivu i oko mlečnih acinusa, koji su potisnuti i atrofirani nalaze se manje grupe limfnih ćelija (Rusov Č.1991; Cvetnić S.1995).

P l u č a su retko promenjena, a promene mogu biti u vidu zadebljanja interlobularnih pregrada. Mikroskopski se primećuju peribronhijalni, perivaskularni, interlobularni i subpleuralni infiltrati (Cvetnić S.1995). U plućima često se ne mogu naći makroskopski i mikroskopski vidljive promene, iako su medijastinalni limfni čvorovi izrazito leukozno promjenjeni *Sl.24* . u prilogu (Đukić B. Stamatović S. 1975).

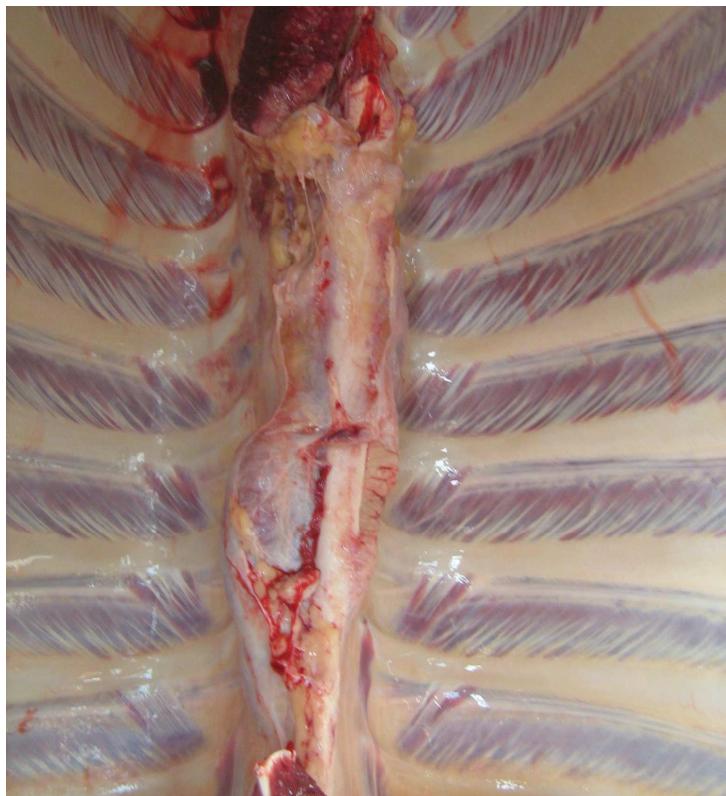


Sl.24 Povećani medijastinalnih limfni čvorovi(original)

K o ž a je u odraslih životinja retko promenjena. Leukozni infiltrat javlja se u obliku urtikarije, koja se sve više širi. Na preseku su promene kao i u unutrašnjim organima.

Kičmena moždina i mozak.

Leukozne promene su vrlo retke, a nalaze se u epiduralnim prostorima, tvrdoj moždanoj opni mozga i kičmene moždine. U kičmenoj moždini promene su vrlo česte u grudnom **Sl.25.** i lumbosakralnom delu, a izraženije promene dovode do atrofije nervnih ćelija (Cvetnić S.1995). Ćelijska infiltracija se nalazi u epiduralnim prostorima, subdura-lno, kao i perivaskularno oko epiduralnih krvnih sudova (Rusov Č.1991; Cvetnić S.1995).



Sl.25 Proliferacija limfnog tkiva u ovojnicama k.moždine

Endokrine žlezde mogu biti zahvaćene leukoznom infiltracijom, međutim, veoma retko (tireoidea, nadbubrežne žlezde, a kod mladih životinja i timus).

Testis i mogu biti zahvaćeni leukoznim procesom, a promene se ispoljavaju u nodoznom i difuznom obliku. Disemnинovani sivo-beli tumori mogu biti veličine trešnje do oraha (Todorović D. 1985). Tumori su slaninaste kozistencije, nejasno ograničeni od okoline. U centru ognjišta mogu se stvoriti kalcifikati. Limfoblastični proliferat je difuzno rasprostranjen, a dolazi i do propadanja germinativnog epitela. Ponekada je zahvaćena prostate, a ređe i druge genitalne žlezde.

2.9. DIJAGNOSTIKA ELG

Skoro tri decenije dijagnoza enzootske leukoze goveda se zasnivala na kliničkoj slici, patološko-anatomskim, patološko-histološkim promenama i hematološkom utvrđivanju leukocitoze i perzistentne limfocitoze na osnovu takozvanog "leukoznog ključa".

Danas se u dijagnostici ELG već dugo godina se koriste razne dijagnostičke metode: epizootiološke, kliničke, patomorfološke, patohistološke, biohemiske, hematološke, imunološke, molekularne i virusološke. Međutim, serološka dijagnostika je već duže vremena najznačajnija dijagnostička metoda i često metoda izbora kada je u pitanju većina zaraznih bolesti pa tako i ELG.

Za sprečavanje pojave, suzbijanje i iskorenjivanje ELG važna je blagovremena brza, tačna i jeftina dijagnostika. Serološka dijagnostika ispunjava većinu ovih zahteva te njena primena zauzima dominantno mesto.

2.9.1. KLINIČKA I HEMATOLOŠKA DIJAGNOSTIKA ELG

Enzootska leukoza goveda daje kliničku vrlo heterogenu sliku bolesti koja zavisi prevashodno od organa i orgaskih sistema koji su zahvaćeni. Opšta klinička karakteristika bolesti mogu biti smanjeni proizvodni rezultati odnosno proizvodnje mleka i učestala pojava infektivnih bolesti različite etiologije. Pojava mastitsa, pododermatitisa, retencije posteljice, subklinički endometriti i bronhopneumonije dr. Ovakvi nalazi mogu ukazati na postojanje virusne infekcije u stadu koja ima imunosupresvni karakter, a koja se kod inficiranih krava ispoljava bez jasnih kliničkih simptoma, ali one čeće inkliniraju pojavi navedenih oboljenja nego zdrava grla.

Klinički možemo jasno posumnjati na leukozu, kada se ona manifestuje u tumoroznom obliku, ili kada je bolest u završnom stadijumu.

Promena hematoloških parametara ne prati razvoj leukoznih procesa kod goveda odnosno ne razvijaju se paralelno sa razvojem leukoznog procesa. Hematološka dijagnostika se prvenstveno zasniva na nalazu povećanog broja leukocita i nezrelih hematopoetskih ćelija u perifernoj krvi.

Radi preciznije dijagnostike ELG kod subleukemičih i leukemičnih formi na osnovu krvne slike napravljeni su "leukozni ključevi". Ključevi su imena dobili prema autorima Götzeov, Bendixenov, Göttingenski, Winquistov, Sovjetski, Stamatovićev i dr.

Ključ zemalja članica Evropske ekonomске zajednice (Rosenberger G. 1977.) pokazao se kao naj-pogodniji za primenu u praksi .

Hanoverski ključ (Geceov) izrađen je 1954. godine od strane Gecea, Rozenbergera i Cigenhagena (**Tabela.2.**). Po tom ključu goveda su razvrstana na osnovu apsolutnog broja leukocita u $10^9/l$ krvi i procenta limfocita na negativne, sumnjive i pozitivne životinje. Goveda su podeljena na dve starosne grupe do 2 godine i preko 3 godine starosti.

Danski leukozni ključ (Bendixenov) i Toleov (Tolleov) ili zapadnonemački leukozni ključ baziraju svoje dijagnostičke pokazatelje na apsolutnom broju limfocita u $10^9/l$ krvi, a životinje su razvrstane u 5 starosnih grupa.

Ključ Evropske ekonomске zajednice predložen je 1976. godine, **Tabela.3.** i ima 7 starosnih grupa dijagnostičke pokazatelje određuje na apsolutnom broju limfocita u $10^9/l$ krvi (Rozenberger G. 1997).

Bendixen je 1967.godine preporučio da svaka država odredi kvantitativne i kvalitativne vrednosti limfocita za zdrava goveda prema starosnim grupama, kako bi se mogle odrediti referentne vrednosti za goveda sumnjiva na leukozu i leukozna grla (Zaharija I. 1978), jer je krvna slika leukoznih goveda različito promenjena i zavisi od oblika i tipa leukoze, kao i od intenziteta leukoznih promena (Rusov Č.1991).

Međutim, hematološke promene u goveda ne idu uvek paralelno sa razvojem leukoznog procesa, tako da svi slučajevi leukoze ne pokazuju uvek leukemične promene. Mnogobrojni autori su ustanovili da samo u jednoj trećini leukoznih goveda, nastaju promene u krvnoj slici. Po Stamatoviću (1969.) kod leukoze je često izražena samo relativna limfocitoza i ona je konstantnija promena u krvi od apsolutne limfocitoze. Osim toga, kod pojave kliničkih simptoma bolesti leukemična krvna slika može naglo da pređe u aleukemičnu. Rosenberger (1963, 1977.) je tvrdio da je leukoza u zapatu obično više raširena nego što može da se otkrije hematološkim pregledom, jer se kod svih leukoznih goveda ne nalaze u datom momentu promene u krvi.

Ispitivanje diferencijalne krvne slike sumnjivih i obolelih životinja od ELG pokazalo se kao nepouzdana i nepraktična dijagnostička metoda. Broj krvnih elemenata kod zdravih životinja različite starosti i rasa, a pod uticajem različitih klimatskih faktora je bitno različit. Osim toga, potrebno je životinje ispitati tri puta u toku 6 meseci, da bi se utvrdilo nastajanje eventualne perzistetne limfocitoze.

Drugi važan limitirajući faktor za primenu ovog dijagnostičkog metoda je i to što je period od infekcije do nastajanja patoloških promena u krvnoj slici dug i može trajati od 2 do 4 godine i duže. Pored toga kod velikog broja obolelih životinja (20-70%) ne razvija se leukemična faza bolesti tako da tok bolesti prelazi direktno u tumoroznu fazu. U periodu leukemične faze kvalitet bele krvne slike često se menja i tada stalno prelazi u subleukemičnu i aleukemičnu fazu, i obrnuto (Liliy F. 1966; Forshehner E. 1978; Baumgartner L.E 1978; Straub C.o. 1974; Klinkon-Ogrinec M.1986). To praktično znači da negativan hematološki nalaz ne isključuje prisustvo virusa ELG u stadu. Iz tog razloga pomenuti autori su ukazivali na značaj redovnih i ponavljanih hematoloških ispitivanja, koja omogućuju da se u prvobitno aleukemičnih životinja kasnije otkrivaju pozitivna grla. Pri tome se broj aleukemičnih slučajeva svodi na najviše 10 posto životinja. Iz iznetog se može zaključiti da hematološka dijagnostika ezootske leukoze nije jednostavna, a posebno u uslovima kontrole većeg broja grla u velikim aglomeracijama goveda.

Duži niz godina to je bio jedini metod korišćen u cilju otkrivanja inficiranih grla. Pošto nije postojao pouzdaniji dijagnostički postupak za otkrivanje preleukemične i pretumorozne faze bolesti, leukoza se raširila u populacijama goveda kako u velikim aglomeracijama, tako i u malim porodičnim farmama goveda. Hematološka dijagnostika i pregledi bazirani na njoj danas imaju svoj dijagnostički značaj prvenstveno u dijagnostici pojave juvenilne leukoze goveda i leukoza neinfektivne etiologije koje se javljaju kod različitih vrsta životinja.

Tabela 2. Leukozni ključ po Geceu (Götzeu 1953.)

Starost goveda	Broj leukocita x 10 ⁹ /l	% Limfocita	Prosudjivanje
	do 12,0	do 65 %	normalna
Do 3 godine	12,0 - 18,0	65-75 %	sumnjiva
	preko 18,0	preko 75 %	leukozna
	do 10,0	do 60 %	normalna
Preko 3 godine	10,0 - 18,	60-75 %	sumnjiva
	preko 18,0	preko 75 %	leukozna

U našoj zemlji hematološka dijagnostika se zasnivala na osnovu kriterijuma Hanoveranskog i Kopenhagenskog "leukoznog ključa". Na osnovu višegodišnjeg ispitivanja hematološka dijagnostika je doprinela značajnom otkrivanju i delimičnom suzbijanju leukoze, naročito u velikim aglomeracijama goveda.

Tabela 3. Leukozni ključ za članice Evropske ekonomске zajednice (1978.)

Starost goveda (u godinama)	Broj limfocita x 10 ⁹ /L periferne krvi		
	Normalna	Sumnjiva	Leukozna
0-1	do 11,0	11,0-13,0	preko 13,0
1-2	do 10,0	10,0-12,0	preko 12,0
2-3	do 8,5	8,5-10,5	preko 10,5
3-4	do 7,5	7,5-9,5	preko 9,5
4-5	do 6,5	6,5-8,5	preko 8,5
5-6	do 6,0	6,0-8,0	preko 8,0
6-7	do 5,5	5,5-7,5	preko 7,5

Rezultati primene ove metode u praksi su se svodili na suzbijanje ELG ona danas ima samo istorijski značaj sa aspekta kontrole i eradikacije bolesti zato je ovde u tom kontekstu i pominjemo.

2.9.2. IMUNOLOŠKA DIJAGNOSTIKA

Uvodenjem seroloških testova u dijagnostici ELG-a po prvi put stvoreni su uslovi za rano otkrivanje ove opasne bolesti, njeno stavljanje pod kontrolu, prevencija širenja i što je najvažnije mogućnosti za njenu eradikaciju

Goveda, inficirana virusom ELG, stvaraju antitela protiv više virusnih proteina i glikoproteina na osnovu čega je izrađeno više seroloških dijagnostičkih testova kojim sa može ustanoviti imunološki odgovor (Kaaden O.R. 1978; Miler M.J.1976; Mussgay M. 1978; Burny

A.1987). Kod većine seroloških testova korišćen je glikoprotein (gp 60-70), koji potiče od virusnog omotača ili neglikozirani polipeptid (p24) koji potiče iz centralnog dela viriona.

U dijagnostici ELG, može se upotrebiti više dijagnostičkih testova: Agar-gel-imunodifuzioni (AGID) test (Miler M.J.1976; Schmidt W.F.1977; Frenzel B. 1987; Kono Y. 1981; Mammerickx M. 1980). Imunoenzimski (Enzime-Linked Immunosorbent Assay - ELISA) test (Behrens F. 1979; Ferrer J. 1975; Vujuć G.A 1980; Biancifiori F. 1982; Poli G. 1982; Portetelle D. 1984; Mammerickx M. 1985; Ivačić Z. 1987; Jazbec I. 1986), radioimuni (Radioimmuno Assay - RIA) test (Devare S.G.1976; Gupta D.1978; Gauthier T.1982; Tarassishini L.A.1980; Zajac V.1980; Budakov A.V.1990; Marsolais G.1994), imunofluorescentna (IF) metoda (Tolle A. 1961; Malmqvist W.A. 1969; Frenzel B. 1977; Mammerickx M. 1976), reakcija vezivanja komplementa (RVK) (Miler M.J. 1969; Levy D. 1977; Cvetnić S.1987.) i virus neutralizacioni (VN) test (Diglio C.A. 1976; Hofirek B. 1978; Stoye J.P.2012). Pored ovih testova postoje i drugi testovi: proba inhibicije povratne transkriptaze, proba inhibicije rane i kasne polikariocitoze (Bause I. 1980; Guillemain B. 1978.) proba hemaglutinacije i inhibicije hemaglutinacije. Molekularne metode PCR danas predstavljaju sam vrh dijagnostike mnogih bolesti pa tako i ELG .

Za nas u ovim istraživanjima i u praksi najveću važnost su imali ELISA test kao rutinski test visoke osetljivosti i AGID test sa kojim se prvo krenulo u eradikaciju ELG kod nas. Za izvođenje AGID testa mogu biti upotrebljena oba antiga gp 51 i p24 (Samagh S.B. 1977), ali je većina inficiranih goveda otkrivena sa gp 51 antigenom, a manji broj sa p24 (Kettmann R. 1978; Mammerickx M. 1977; Miller M.J. 1976; Onuma M. 1977).

Prema podacima većine autora serološkim metodama, RIA, VN i ELISA otkriva se veći broj ELG pozitivnih grla, nego sa AGID testom (Behrens F.1979; Bex F.1979; Biacifiori F. 1982; Devare S.1977; Gupta D.1978; Levy D.1980,1984; Maaten M.J. 1980; Pavlović R.1984).

Matthaeus navodi da antitela protiv virusa ELG u goveđem serumu u AGID testu pripadaju subklasi IgG₁ i IgA. Trainin i sar.su našli, da serumi pozitivni u ELISI, nisu pozitivno reagovali sa glikoproteinskim antigenom u AGID testu.

Prema Gauthier-u oko 10% seruma ne mogu se detektovati AGID testom zato, što sadrže nizak nivo antitela protiv p24 i gp51 virus ELG: AGID test izvođen sa gp51 antigenom daleko je senzitivniji od onog koji je obavljen p24 antigenom (Kettmann R. 1978). Može se reći,

da je p24 antigen potreban za otkrivanje ograničenog broja pozitivnih seruma (oko 2%). Prema Ressang-u slabo pozitivni serumi koji se otkrivaju ELISA testom, daju AGID testom negativne rezultate. Isti autor tvrdi da ELISA metoda može biti u serološkoj dijagnostici ELG potpuna zamena za RIA test.

Prema Bex-u RIA titri od 300 do 400 su najniži, koji se mogu detektovati AGID testom. Prema Miller-ovoj titar je veći od 175. Ona navodi dva razloga za jako nizak titar antitela kod ELG inficiranih goveda i to: da su goveda inficirana kratko vreme pre uzimanja uzoraka krvi, a druga je mogućnost da su rezultati AGID testa lažno pozitivni, kada je titar antitela permanentno nizak, a ponavljanje agid-testa ne daje uvek pozitivne rezultate.

Bause i sar. ukazuju, da krave sa niskim titrom antitela protiv virusa ELG pokazuju u vreme telenja negativan AGID test.

Matthaeus i Straüb tvrde, da je titar antitela u krvi kod nekih krava veći pre porođaja nego posle njega. Izuzetno visoke titre antitela su otkrili kod krava u kolostrumu posle porođaja, pri čemu ne postoji, velike razlike između pojedinih četvrti vimena. Nakon sledećih nekoliko dana, titri antitela brzo opadaju.

Kod eksperimentalnih infekcija goveda virusom ELG pomoću RIA i VN-testova otkrivaju se antitela pre nego što je AGID testom to moguće (Miler J.M. 1979). Zavada i sar. opisali su za pseudo tip virusa VN-test, koji sadrži nukelokapsid rabdovirusa, a koji je sadržan u omotaču virusa ELG. Autori tvrde, da je ovaj test ekstremno senzitivan. Prema Miller-ovoj, glavni nedostatak ovog testa je, što on predstavlja povećani rizik za laboratorijski personal.

Zbog svojih kvaliteta i prednosti AGID test bio je od strane Ressanga preporučen kao zvanični test za zemlje članice Evropske ekonomске zajednice. Mammerickx kao i Jazbec i sar. dokazali su da je AGID test senzitivan, lak za izvođenje, pogodan za široku upotrebu i da ne iziskuje mnogo rada u laboratoriji i relativno je jeftin.

Nedostatak AGID-test prema Miller-ovoj je u tome, što je interpretacija rezultata subjektivna. Verodostojnost ovog testa zavisi od iskustva personala i od standardizacije reagensa i nedovoljno su osetljivi za slabo pozitivne serume.

Lorenz (1979.) smatra da za otkrivanje životinja sa slabo pozitivnom imunološkom reakcijom treba koristiti senzitivniji dijagnostički ELISA test.

Kao serološka metoda ELISA je prvi put primenjena od Engvau-a i Perlmauma 1971. Korišćenje ELISE kao dijagnostičkog testa za serološku dijagnostiku ELG uveo je Behrens i sar.1979. god.. Ona je 100 puta osetljivija od AGID testa i pokazuje kod 50% prirodno inficiranih goveda antitela protiv BLV virusa do 14 nedelja ranije, a kod pojedinačnih slučajeva i ranije (Malqvist W.A 1969).

Direktnim poređenjem oba metoda ustanovljeno je 85% pozitivnih ELISA iz mleka u odnosu na 76% AGID iz krvnog seruma. Na taj način u poređenju na pojedinačnoj životinji sigurnost utvrđivanja sa ELISA mlečnim testom je veća za 9% u odnosu AGID (Manz 1981).

Upotreba ELISA testa sa monoklonalnim antitelima prema gp 51 je naročito podesna za uzorke sa niskim titrovima antitela (Portetelle D. 1989).

Međutim ELISA test se danas preporučuje zbog drugih prednosti u odnosu na ostale dijagnostičke testove: relativno jednostavna procedura testa, niska cena, pogodnost za masovnu primenu, korišćenje krvnog seruma i mleka kao supstrata za pregled, mogućnost pregleda većeg broja uzoraka i mogućnost izbegavanja subjektivne interpretacije rezultata (očitavanje optičkih gustina automatski).

Sve ove karakteristike ELISE danas su je nametnule kao test izbora za državne programe eradicacije ove bolesti kao i kontrole ELG-a u svetu.

Mada je ELISA vrlo osetljiv serološki test on ipak ne otkriva sve inficirane reakto- re. Prema nekim autorima antitela protiv BLV mogu biti eliminisana iz cirkulacije ili su u tako niskim titrovima koji nisu detektibilni pa inficirane životinje mogu biti izvor daljeg izlučivanja virusa i širenja bolesti.

Svakako ni jedan serološki test ne može do kraja osigurati brzu i egzaktnu identifikaciju životinja inficiranih sa BLV. Ovo može imati značajnog uticaja na sprečavanje unošenja i profilaksu bolesti (Rulka J. 2001).

2.9.3 MOLEKULARNA DIJAGNOSTIKA

Dijagnostika infekcije sa bovinim virusom leukemije pomoću PCR se sistematski razvijala više godina (Knapen Mratina 1994; Marsolais G.; Naif H. 1990; Xie B. 1997). DNK BLV

integrисана са ћелијом генома инфицираних животиња садржи од једну до четири копије провируса (Furuta Y. 1990; Jacobsen J.L. 1982; Moliteni E. 1996; Naif H. 1990; Xie B. 1997).

PCR метода је врло осетљива, специфична и нуди бруту дијагнозу са могућношћу специфичне амплификације ретких и pojedinačних селекционисаних секвеници ДНК BLV међу изабраним олигонуклеотидама као стартерима реакција (прајмери). J.Rulka и сарадници окрили су 2,5 пута више pozитивних говеда користећи nested-PCR него са ELISA тестом (Rulka J. 2001).

2.9.3.1 Lančana reakcija polimeraze (*Polymerase chain reaction, PCR*)

Lанчану реакцију полимеразе (PCR) осмислио је Keri Malis-a (Kary Mullis) 1983. године за чије је откриће 1993. године добио Нобелову награду за хемију. PCR је метода селективног *in vitro* умноžавања-амплификације специфичних фрагмената ДНК. Реакција користи два олигонуклеотида (прајмера) који су комплементарни крајевима секвенце која се умноžава и међусобно су упротивно оријентисани. Захваљујући овој примени постигнута су изузетна открића у области молекуларне биологије. Zahvaljujući томе је молекуларна биологија данас постала једна од најпрогресивнијих биомедицинских наука (McPherson i sr. 2000).

Бројни аутори су нагласили вредност PCR за практична испитивања (Ferer J.F 1972; Knapen K. 1994; Kuzman J. 1999; Marsolais G. 1994; Moliteini E. 1996). Zahvaljujući осетљивости ове методе можемо детектовати веома мале количине генетског материјала BLV.

Коришћењем nested-PCR на узорцима пурификоване ДНК, провирусни BLV је детектова недељу дана посle инфекције животиња (Klintevall-u i sar. 1994). Поставља разлику између pozитивних резултата методе nested-PCR и ELISA објашњава раним настаником инфекције, малим инокулумом BLV, продолжијаним латентним периодом или коинфекцијом са другим вирусима (Jacobs E. 1992).

Детекцијом BLV из 1pg ДНК из ћелија инфициране животиње, односно, амплификацијом и детекцијом провирусних секвениција ДНК BLV помоћу методе PCR обезбеђује осетљиву методу за директну дијагноzu virusne инфекције (Naif i sar. 1990).

Ови тестови произведени за детекцију РНК BLV или провирусне ДНК, користе секвенце прајмера-почетница из различитих региона вирусног генома као што су **env**, **gag**, **pol** или **pX** (Naif H. 1990; Fechner H. 1996; Marsolais G. 1994).

Ланчана реакција полимеразе је процес умноžавања (амплификације) одређених региона ДНК у *in vitro* условима, што се постиже цикличном replikацијом одређених фрагмената ДНК који

su od interesa. Umnožavanje određenih delova DNK se postiže iniciranjem njihove amplifikacije putem komplementarnih oligonukleotida (prajmera). Reakcija amplifikacije se odvija pod katalitičkim dejstvom DNK polimeraze, enzima kojim se postiže ugrađivanje nukleotida na odgovarajuća mesta u procesu amplifikacije regije DNK (Molekularna biologija II G.Brajušković 2012).

Kako je DNK dvolančani heliks, reakcija se započinje denaturacijom i razdvajanjim komplementarnih lanaca što se postiže zagravanjem na temperaturi od 92-96°C. Ovim se omogućava oligonukleotidnim prajmerima da se vežu (anelizacija) za komplementarna mesta u lancu, a na temperaturi od 45-70°C. Potom se u prisustvu nukleotida (dNTP) vrši, termostabilnom *Taq* DNK polimerazom, katalizuje ekstenzija (istezanje-širenje) oligonukleotidnih prajmera na temperaturi od oko 72°C. U vremenski određenim i optimalnim uslovima reakcije, sa cikličnim ponavljanjem reakcija denaturacije, vezivanja (anelizacije) i širenja (ekstenzije) (30-35 ciklusa), postiže se amplifikacija segmenta DNK koja je od interesa (100-400bp) od početne koncentracije od oko 10^{-6} µg do koncentracije od oko 1µg, koja je dovoljna za uspešnu vizuelizaciju amplifikovanog fragmenta putem gel elektroforeze u prisustvu etidium-bromida, sekvenciranja, ili RFLP analize.

RT-PCR (reverzna transkriptaza PCR) je modifikovana PCR reakcija, koja se primenjuje kod ispitivanja koja su usmerena na amplifikaciji određenog fragmenta RNK (ispitivanja RNK virusa, itd.), kada je pre izvodjenja PCR reakcije neophodno izvršiti reakciju reverzne transkripcije (RT). Kako *Taq* DNK polimeraza specifično katalizuje amplifikaciju DNK u tom slučaju reakcija nije moguća, jer RNK nije pogodna matrica za PCR amplifikaciju katalizovanu ovim enzimom. Zbog toga je prethodno neophodno izvršiti prevođenje RNK u komplementarnu DNK (cDNA), čime se dobija neophodna matrica i omogućava izvodjenje klasične PCR reakcije.

2.9.3.2. Sekvenciranje PCR produkata

Jedana od metoda sekvenciranja PCR produkata nakon izvršene amplifikacije u PCR reakciji zasniva se na kloniranju regije genoma od interesa putem određenog vektora, sa ciljem sekvencijalne analize insertovanog genetskog materijala. Direktni pristup predstavlja direktna sekvencijalna analiza PCR produkta (Wong i sar. 1987, Wrischnik i sar.1987), koji je danas dominantan metod sekvenciranja PCR produkata, što je omogućeno razvojem automatizacije i tehnologije sekvenciranja.

Pored brzine i jednostavnijeg metodološkog pristupa, direktno sekvenciranje omogućava dobijanje validnijih podataka o sekvenci od interesa, koji prikazuju raspored molekula dobijenim PCR produktima. Greške koje se dešavaju prilikom ugradnje nukleotida tokom PCR reakcije su moguće i prisutne prilikom izvođenja reakcije. Tako da jedan jedini klon PCR produkta ne mora uvek verodostojno prikazivati sekvencu u uzorku koji se ispituje. Zato se direktnim sekvenciranjem više klonova PCR produkta omogućava dobijanje tzv. "konsenzus" sekvence regije od interesa. Ovakvim pristupom se dobija realnija slika od sekvenciranja pojedinačnog kloga PCR produkta, koje može biti realno prisutno i u direktnom sekvenciranju posebno kada se postupak sprovodi sa jako niskim početnim koncentracijama nukleinske kiseline. Tada greška u početnim stadijumima reakcije vodi ka nastanku kvalitativne greške prisutne u krajnjoj populaciji amplifikovanih PCR produkata. Razvojem i upotrebom enzima i hemijskih jedinjanja nove generacije koja se koriste u reakciji, kao i softverskih algoritama za očitavanje fluorescentnih signala, doprinose da se prevaziđu problemi sa nastankom grešaka koje nastaju pri ugradnji nukleotida u toku izvođenja reakcije.

Postoje dva postupka koji se mogu koristiti pri direktnom sekvenciranju PCR produkata, "dideoxy terminator" postupak terminacije sinterze lanaca (Frederik Sanger i sar. 1977.) i postupak hemijske degradacije "hemijskog sečenja" (Maxam i sar. 1977). Prvi postupak je danas u najširoj upotrebi. Zasniva se na mogućnosti da se jednolančani DNK molekul koji se razlikuje u dužini za samo jedan nukleotid može razdvojiti elektroforezom u denaturišućem pliakrilamidnom gelu. Segerova metoda podrazumeva terminaciju *invitro* sinteze DNK ugradnjom 2',3' dideoksi-nukleotid trifosfata "terminatora" (ddNTP) u lance DNK.

Specifični oligonukleotid koplementaran DNK matrici služi kao prajmer-početnica za *invitro* sintezu DNK. Tokom sinteze enzim DNK polimeraza ne pravi razliku između deoksi-nukleotid trifosfata (dNTP) i dideoksi-nukleotid trifosfata (ddNTP). Ugradnjom ddNTP u rastući lanac DNK vezivanjem svoje 5' trifosfatne grupe za 3' slobodnu hidroksilnu grupu poslednjeg nukleotida u lancu. Odsustvo 3' hidroksilne grupe na ddNTP onemogućava formiranje fosfodiestarske veze sa sledećim nukleotidom, tako da dolazi do terminacije sinteze DNK.

Postupak sekvenciranje se odvija uz katalitičku aktivnost DNK zavisne polimeraze (T7 DNK polimeraza, Taq, AmpliTaq.) koja katalizuje amplifikaciju novosintetisane DNK ugrađivanjem nukleotida tokom reakcije, koja je započeta vezivanjem specifičnih prajmera za korespondentna mesta u pojedinačnim lancima denaturisane DNK. Polimeraza u sintezi nove DNK koristi četri različita nukleotida (dNTP): dNTA, dNTT, dNTG, dNTC, vršeći ekstenziju sa 3' kraja

prajmera pri čemu se *in-vitro* sintetišu četri familije jednolančanih DNK fragmenata na čijim se krajevima nalazi po jedan ddNTP. Prisustvo dideoks-nukleotid trifosfata (ddNTP) i njihova ugradnja u rastući novosintetisani lanac DNK, omogućava zaustavljanje reakcije sinteze zbog odsustvom OH grupe u ovom molekulu što blokira dalje stvaranje fosfodiestarskog mosta, odnosno, dalje ugradjivanje nukleotida od mesta vezivanja ddNTP. Tokom reakcije ddNTP se sukcesivno ugradjuju na odgovarajuća mesta u rastućem lancu novosintetisane DNK, tako da reakcija u pojedinim molekulima DNK biva zaustavljena na korespondentnim mestima u lancu. U procesu sinteze nastaju fragmenti jednolančane DNK različite dužine, koji tokom razdvajanja-separacije u poliakrilamidnom gelu visoke rezolucije ili kapilarnom sistemu, migriraju u zavisnosti od svoje dužine. Kombinacijom i uporednom analizom rezultata separacije iz pojedinačnih reakcija (za svaki dNTP-A,T,G,C posebno) omogućeno je definisanje amplifikovane sekvene, a počevši od segmenta koji je u gelu ostvario najdužu migraciju odnosno, koji je samim tim poziciono najbliži prajmeru.

Na osnovu dobijenog uzorka (šare) migracije pojedinih fragmenata, odnosno dobijanjem nukleotidne sekvene amplifikovanog fragmenta DNK, korišćenjem specijalnih računarskih programa moguće je poređenjem sa publikovanim sekvencama iz baza podataka, izvršiti genotipsku analizu sekvene amplifikovanog fragmenta. Kompletne nukleotidne sekvene genoma različitih organizamna nalaze se u Bioinformatičkim centrima odnosno specijalnim bazama. Tako se nukletidne sekvene genoma virusa enzootske leukoze goveda nalaze u genomskim bazama GenBank, NCI dostupnim putem Interneta .

Analiza sekvenci BLV env regiona izolata virusa poreklom iz različitih područja u svetu otkrivene su različite genetske grupe ovog virusa (Camargos M.F.2002; Zhao 2007). RFPL analizom identifikovano je sedam genotipova (Moratorio G. 2010; Rodriguez S.M. 2009). Matsumura K. je 2011. u svojim studijama ukazao da se virus ELG može svrstati u osam genotipova mada to nije konačna podela.

2.10. IMUNOPROFILAKSA

Pokušaji terapije ove bolesti su neracionalni i skupi bez adekvatnih terapijskih rezultata. Svi dosadašnji naporci u terapiji ove bolesti nisu dali neke ozbiljnije rezultate.

Rezultati dosadašnjih eksperimentalnih ispitivanja na izradi i primeni vakcine od virusa ELG, pokazali su da vakcinacija može sprečiti primarnu infekciju ili neoplazme izazvane onkorna-virusom. Glikoproteinski antigen (gp51), je visokoimunogen i antitela prema ovom antigenu sprečavaju infekciju virusom ELG. Sa stanovišta dijagnostike i suzbijanja bolesti upotreba vakcine sa antigenom gp51 je nepraktična, pošto dovodi do stvaranja antitela koja isključuju serološku dijagnostiku ELG iz primene.

Sve vakcine koje su do sada eksperimentalno proizvedene ne ispunjavaju opšte uslove koji se od vakcina zahtevaju. Atenuirani živi onkornavirusi izazivaju perzistentnu infekciju usled ugradnje genske informacije virusa u genom ćelija i ne sprečavaju prirodnu infekciju onkornavirusom (Lorenz J.R. 1987; Schmidt W.E. 1982).

Antitela protiv gp 51 su značajna u zaštiti od BLV infekcije. Eksperimenti zasnovani na upotrebi inaktivisanog virusa BL , fiksiranih FLK ćelija, prečišćenog gp 51 ukazuju na to da se dobija samo kratkotrajna zaštita. Takođe i goveda vakcinisana živim ćelijama sa ćelijske linije BL3 osnovane od životinja sa sporadičnom bovinom leukozom su razvila kratkotrajni imunitet.

Priroda antigenom prouzrokovanih - posredovanog imunog odgovora verovatno je povezana sa tumorom udruženim transplantacionim antigenom (Theile G. 1982). Ovcije ćelije sintetišu samo *env*-gen proizvode: gp 51 i gp 30 i glavni strukturalni protein p 24. Ove ćelije podstiču imuni odgovor kod goveda, tako da mogu biti zaštićena posle ponovljenih vakcinacija ovim ćelijama (Altaner C.1991).

Vakcinacija ovaca rekombinantim vaccinia-virusom koji ispoljava BLV gp 51 stvara zaštitu (Ohishi K. 1991).

Ponekad, zaštita se postigne bez proizvodnje registrujućeg nivoa neutrališućih antitela.

Takođe, Portetelle je ustanovio da rekombinantna VACCINIA virus štiti ovce čak i kad anti gp 51 antitela isčeznu (Portetelle D.1991). Zbog toga se smatra da ćelijski posredovani imunitet može imati ulogu u zaštiti od BLV. Ekspresija gp 51 je dobijena uz pomoć rekombinantnog VACCINIA virusa i kvasaca koji sadrže kodirajuću sekvencu za BLV *env* gen. Ovo je uslovilo stvaranje imuniteta kod ovaca (Danile R.C. 1993).

Iako je bilo napretka u otkrivanju prirode imuniteta na virus ELG komercijalna vakcina i dalje ne postoji, a vakcinacija za sada nije dala očekivane rezultate što otežava suzbijanje ELG (Miller J.M. 1982; Schmidt 1982).

Tax gen kodira protein koji djeluje kao trans activator od BLV promotora i potreban je za virusnu replikaciju, djeluje na ćeliske promotore, i odgovoran je za razvoj tumora i onkogenezu. **Rex** gen olakšava izlazak virusne mRNA iz jedra i reguliše transkripciju. Tax i Rex gen BLV možemo podeliti na 420 baza (K. M. McGirr1, i G. C. Buehring. 2005). Znatno više nukleotidnih promena je proizvelo predvidive aminokiselinske promene u rex genu nego u tax genu. Tajima i Aida (2000.) su postavili hipotezu po kojoj područje između aminokiseline 240 i 265 može da djeluje kao negativni regulator transaktivacije koji se temelji na klonu čije su se mutacije povećavale transaktivacijski. Ovo može biti osnova strategije koju virus koristi za opstanak kako bi se izbegao imuni sistem. Mutacija između aminokiseline 95 i 147 ne uništava transaktivacijsku aktivnost tax gena i vjeruje se da je strukturalni integritet u toj regiji manje značajan za ovu funkciju (Sakurai 1991).

Zanimljivo je da ovo područje između aminokiselina 95 i 147 (Sakurai et al. 1991.) koje zahteva manje strukturne zaštite, gotovo u potpunosti obuhvata područje koje može poslužiti kao T-ćeliski epitop. Ova otkrića podržavaju ideju "strategije bekstva virusnih mutanata" citotoksičnim limfocitima. Za ovaj virus je važno, da je manje verovatno da će mutacija u ovoj regiji poremetiti transaktivacijsku funkciju tax gena. Razumevanje razlike u ovom području može pomoći razvoju vakcine i otvara mogućnost stvaranja vakcine za različite izolate iz različitih geografskih područja.

Tax geni sadrže i nekoliko citotoksičnih T-limfocita (CTL) sa epitopima za koje je utvrđeno da mogu biti kandidati za buduću vakcinu. (Usui i sar. 2003.) je sa epitopima mapirao ceo tax gen. Istraživanja obavljena s ljudskim T-limfocitima leukemije virusa tipa 1 (HTLV-I), vrlo bliskog srodnika BLV, pokazuju da je tax gen važna meta za ćelijski posredovan imunološku reakciju (Kannagi et al, 1992, Hanabuchi et al, 2001). Istraživanja Usui i sr. (2003.) su pokazala da je BLV vakcina bazirana na Tax izazva ćeliski posredovan imunološki odgovor kod ovaca, početni rezultati na ovoj vakcini su pokazali zaštitu protiv razvoja infekcije.

3. CILJ I ZADACI ISTRAŽIVANJA

Ciljevi istraživanja

Cilj istraživanja je da se laboratorijskim i epizootiološkim metodama istraži i stekne uvid u raširenost i epizootiološke karakteristike enzootske leukoze goveda, da se prema definisnom stanju kreiraju epizootiološki modeli kontrole i prouče rezultati njihove primene u praksi kontrole i iskorenjivanja enzootske leukoze, te da se izvrši komparativna analiza istih. Kao i da se prouče mogućnosti korišćenja molekularne dijagnostike i filogenetske analize u cilju unapređenja kontrole i aktivnog nadzora enzootske leukoze goveda.

Zadaci ispitivanja

Za realizaciju postavljenih ciljeva neophodno je bilo rešiti sledeće zadatke:

- odrediti demografske karakteristike ispitivane populacije goveda;
- odabratи najpogodniji dijagnostički metod za rano otkrivanje infekcije ;
- na osnovu obavljenih ispitivanja utvrditi stepen raširenosti, definisati epizootiološki status opština, mesta i najznačajnijih farmi u regionu;
- istražiti prevalenciju i incidenciju enzootske leukoze goveda;
- proceniti značaj pojedinih puteva prenošenja enzootske leukoze goveda kako u stadima - zapatima tako i u regionu;
- opisati važnije epizootiološke faktore i analizirati njihov uticaj na pojavu i širenje oboljenja kod nas;
- proceniti uticaj najznačajnijih epizootioloških faktora na rizik od pojave, širenja i održavanja infekcije ELG kod nas;
- definisati epizootiološke modele kontrole ELG i odabratи najpogodnije za primenu u praksi;
- izvršiti uporednu analizu dobijenih rezultata primene pojedinih epizootioloških modela kontrole ;

- na osnovu dobijenih rezultata komparativne analize prema epizootiološkoj situaciji definisti najpogodniji model kontrole i eradicacije bolesti;
- izvršiti procenu vremena neophodnog za primenu programa radi sticanja statusa slobodnog od enzootske leukoze goveda i potencijalne prednosti određenih modela;
- izvršiti amplifikaciju i sekvenciranje regiona genoma domaćih izolata virusa ELG;
- na osnovu dobijenih nukleotidnih sekvenci odrediti filogenetsku srodnost naših domaćih izolata;
- ispitati mogućnosti molekularne epizootiologije u cilju distinkcije izolata virusa u retrospektivnoj analizi trasiranja puta nastanka infekcije;
- proceniti mogućnosti primene molekularne dijagnostike u unapređenju aktivnog nadzora u funkciji kontrole ELG.

4. MATERIJAL I METODE RADA

4.1. MATERIJAL ZA ISPITIVANJE

Za naša ispitivanja koristili smo:

- krv i krvne serume goveda sa velikih farmi goveda iz okoline Beograda;
- krv i krvne serume goveda prikupljenih sa farmi goveda iz poljoprivrednih domaćinstava sa područja beogradskih opština i
- puna krv goveda sa antikoagulansom EDTA korišćena je za molekularna ispitivanja.

Uzorci krvi i krvnog seruma potiču od priplodnih junica, priplodne ženske teladi i odraslih priplodnih goveda na području svih naselja prigradskih opština grada Beograda:

Krv je uzorkovana od goveda sterilnom punkcijom vene jugularis ili vene subcutanee abdominalis. Uz poštovanje principa asepse i antisepse krv je životinjama uzorkovana u sterilne vakum epruvete u količini od 5-10 ml. Boćice su označavane identifikacionim brojevima životinja sa ušnih markica ili tetovir brojeva sa ušiju životinja. Podaci o životinjama, kategoriji, mestu i vlasnicima vođeni su na uputu koji je pratio svaku pošiljku uzorka.

Nakon uzorkovanja krv je čuvana na sobnoj temperaturi 4-6 časova radi boljeg izdvajanja krvnog seruma. Nakon odlivanja krvnog seruma uzorci su čuvani u frižideru na +4°C do +8°C, do početka laboratorijskog pregleda ili su duboko smrzavani i čuvani i bankama seruma

4.2. METODE RADA

4.2.1. Laboratorijske metode

U laboratorijskoj dijagnostici ELG korišćeno je više dijagnostičkih metoda. Od seroloških metoda korišćen je AGID test i ELISA test, a od molekularnih PCR i sekvenciranje.

Laboratorijska dijagnostika ELG u okviru ovih ispitivanja izvođena je u laboratoriji za virusologiju Naučnog instituta za veterinarstvo Srbije u Beogradu.

1) Imunološke metode

a) agar-gel imunodifuzioni test (AGID)

Princip izvođenja agar-gel imunodifuzije je precipitacija antitela u agaru u duploj difuziji, a nastala je modifikacijom Ouchterlony-jevog testa (Ouchterlony O.1968). Ovaj test se zasniva na sposobnosti antitela protiv virusa ELG i glikoproteinskog (gp) antigena da difunduju u agarnom-gelu. Na mestu gde se susretnu formira se vidljiva precipitaciska linija .

U radu su korišćeni reagensi za izvođenje AGID testa firme Behringwerke. Navedeni proizvod se sastoji od: 1) liofiliziranog antigaena goveđe leukoze, dobijenog iz supernatanta permanentno inficiranih kultura ćelija prečišćen i koncentrisan; 2) liofiliziranog kontrolnog pozitivnog goveđeg seruma, dobijenog od goveda, inficiranih virusom ELG; 3) Mešavine agarra za imunodifuziju (ID) soli i konzervansa dovoljnih za pripremu 650 ml agar-gela.

Agar je pripremljen u laboratoriji od: 8,0 g Nobl agarra, 85,0 g NaCl, 15,0 g PEG (polietilen glikol) u 100 ml, 0,05M tris pufera (Ph 7,2).

Postupak izvođenja:

- rastvori se antigen goveđe leukoze u 5 ml sterilne destilovane vode;
- rastvori se pozitivni kontrolni serum u 24 ml sterilne destilovane vode;
- smeša agarra prebací se u pogodan sud i pomešamo sa 100 ml destilovane vode.

Dodaje se 31 ml 1 N HCl i dopuni destilovanom vodom do 650 ml (Ph mora biti 7,2). U slučaju odstupanja, korekcija se vrši sa 1 N NaOH i 1 N HCl. Agar se kuva 15 min i duže, u vreloj vodi sve dok se ne otopi i postane providan. Potom se čuva u vodenom kupatilu na temperaturi +60°C do +70°C do razlivanja i sa ciljem da se izbegne zgrudvanje. Agar se potom razliva u plastične Petrijeve ploče veličine 9 cm, a debljina sloja agarra iznosi 2,5 mm. Agar se hlađi sa otvorenim poklopцима na horizontalnoj površini. Pomoću specijalnog metalnog perforatora u obliku rozete agar se izbuši i obeleži se 7 krugova, pomoću vakuma pravimo rupe u agaru, jedna je centralno postavljena, a šest periferno. Preporučuje se da se razlivene ploče sa agarom pre perforiranja čuvaju 24 časa u frižideru na +4°C, a potom se nakon pravljenja rupica odmah upotrebe.

Centralna rupica se puni sa oko 25-30 mikrolitara rastvorenog antiga. Gornje i donje suprotne rupice pune se sa 50-60 mikrolitara kontrolnog pozitivnog seruma, a ostale četiri rupice sa ispitivanim serumom. U svaku rupicu ulije se 50-60 mikrolitara ispitivanog seruma. Inkubiranje se vrši na sobnoj temperaturi u vlažnoj komori. Čitanje rezultata se izvodi posle 24, 48 i 72 časa na crnoj podlozi i pod bočno usmerenim svetlom, određenog intenziteta. Ukoliko je neophodno čitanje se može vršiti i do 96 časova.

Pozitivnim se smatraju oni rezultati kod kojih je dobijena precizna precipitacijska linija, koja se spaja sa linijom pozitivnog kontrolnog seruma i ispitivanim serumom. Ostale precipitacijske linije smatraju se nespecifičnim. Sumnjiv test između dva jako pozitivna seruma se upoređuje sa negativnim serumom i treba ga ponoviti. Pregledano je 10.657 seruma krava i priplodnih junica.

2) adsorpciona imunoenzimska proba (ELISA)

ELISA test je korišćen za detekciju specifičnih antitela protiv virusa ELG u uzorcima ispitivanih krvnih serumi kao pokazatelja infekcije. Kao zvanična metoda odobrena je direktivom 88/408 zemalja članica EEZ (O.I.E Manual of Diagnostic test). U našu zemlju u dijagnostici ELG prvi put je uvedena i korišćena 1999. godine, Odlukom o sprovođenju Programa mera i Naredbom Ministarstva poljoprivrede Republike Srbije. Promenom zakona i pratećih propisima njegova primena u našoj veterinarskoj praksi je potvrđena i nastavljena je da se primenjuje do danas.

Metoda ELISA je oko 100 puta osjetljivija od AGID i pokazuje kod oko 50% prirodno inficiranih goveda antitela prema virusu ELG do 14 nedelja ranije u pojedinim slučajevima još i ranije (Manz D. 1981). Neki autori kao Ziegelmaier su imali slučajeve dokazivanja infekcije virusom leukoze goveda ELISA testom čak 37 nedelja pre AGID testa.

Za izvođenje dijagnostičkog testa koristili smo komercijalni ELISA set kita "CHEKIT-LEUKOTEST", proizvođača "Idexx" i "Bommeli-Intervet" i to dva njegova oblika, serum skrining i serum verifikacioni set kit.

Serum skrining:

Bazenčići mikrotitar ploče su obloženi inaktivisanim antigenom virusa ELG-a koji će sa specifičnim antitelima iz test uzorka formirati imune komplekse. Za formirane imune komplekse

vezaće se anti govedi IgG koji su konjugovani enzimom peroksidazom. Dodatkom substrata specifičnog za peroksidazu, sadržaj bazenčića mikrotitar ploča će se obojiti. Intenzitet obojenosti (OD-optička gustina) je proporcionalan koncentraciji specifičnih antitela u test uzorku i poređenjem sa OD dobijenim kod pozitivnog, kontrolnog seruma postavlja se dijagnoza. Merenje OD vrši se upotrebom ELISA čitača pri talasnoj dužini od 405 ili 492 nm.

Serum verifikacija:

Radi utvrđivanja specifičnih, odnosno nespecifičnih imunoenzimskih reakcija u cilju postavljanja definitivne dijagnoze koristi se serum verifikacioni ELISA set kit. Ovaj set kit sadrži mikrotitar ploče gde su bazečići parnih redova 2, 4, 6, 8, 10 i 12 obloženi inaktivisanim antigenom virusa ELG-a (+Ag), dok su bazečići neparnih redova 1, 3, 5, 7, 9 i 11 obloženi kontrolnim negativnim antigenom (-Ag). Specifična antitela za virus ELG formiraće imuni kompleks samo sa +Ag. Eventualno nespecifično vezivanje javiće se u bazečićima i sa +Ag kao i sa -Ag. Za formirani imuni kompleks vezaće se anti goveđi IgG, konjugovan peroksidazom, enzimom specifičnim za substrat. Intenzitet obojenosti (OD) predstavlja vrednost neto ekstinkcije (NE) koja se dobija oduzimanjem (OD) vrednosti dobijene u bazečiću sa -Ag od OD vrednosti bazečića sa +Ag istog test uzorka. Poređenjem NE test uzorka sa NE kontrolnog pozitivnog seruma postavlja se definitivna dijagnoza.

Uzorci za ispitivanje

Ovlašćena veterinarska služba dostavlja obeležene uzorke krvi goveda uz propratni akt-Zahetv za ispitivanje. Dostavljeni uzorci se evidentiraju u Protokol laboratorijskog ispitivanja i radni list. Iz uzoraka krvi spontanom koagulacijom izdvajaju se uzorci krvnih seruma, koji se odmah koriste za ispitivanje ili se propisno skladiše do ispitivanja. Ispitano je 281.365 uzoraka krvnih seruma u ekstenzivnom uzgoju u kategorijama ženskih priplodnih goveda starijih od 12 i 24 meseca.

Oprema za izvođenje testa

1. Laboratorijski pribor:

- menzura (od 1000 ml);
 - pipete (2; 5 i 10 ml);
 - laboratorijske čaše ili Elermajer boce (100; 500 i 1000 ml);
 - nastavci za mikropipete (200 i 300 μ l);

- ELISA čančići;
- vlažna komora (veća petri ploča sa papirnom vatom natopljenom vodom);
- papirna vata.

2. Aparati:

- jednokanalna mikropipeta (10-50 μl);
- višekanalna mikropipeta (8 kanala, 50-300 μl);
- laboratorijski sat;
- Ispirač mikrotitar ploča;
- ELISA čitač;
- šeiker (ako je moguće);
- softver za obračunavanje i interpretaciju rezultata ispitivanja (ako je moguće).

3) Reagensi

- destilovana voda (neutralne pH vrednosti i provodljivosti ispod 10 μS);
- komercijalni ELISA set kit.

Komercijalni ELISA set kit "CHEKIT-LEUKOTEST" (Serum-skrining) sadrži:

- mikrotitar ploče obložene inaktivisanim antigenima virusa ELG (5 ili 10 komada);
- monoklonska antitela protiv IgG goveda konjugovana peroksidazom (konjugat, bočica 1,2 ml);
 - kontrolni negativni serum, dobijen od goveda, konzervisan 0,1% natrijum azidom (bočica 2 ml);
 - kontrolni pozitivni serum, dobijen od goveda, razređen 1:10, konzervisan 0,1% natrijum azidom (bočica 2 ml);
 - koncentrovani rastvor za ispiranje (4 boce od 100 ml rastvora koncentrovanog 10 puta);
 - substrat (Hromogen solution-obojeni rastvor, 2 boce od 100 ml) pripremljen za upotrebu i
 - rastvor za zaustavljanje reakcije (Stoping solution-STOP rastvor, jedna boca od 60 ml) pripremljen za upotrebu.

Postupak izvođenja ispitivanja

Priprema za rad

- Prema broju uzoraka koji se ispituju uzma se jedna ili više mikrotitar ploča i reagenasa iz set kit-a koji se zagrevanjem (držanjem na sobnoj temperaturi 30 minuta) ekvilibriraju.

- Na šemi mikrotitar ploče napravi se plan nanošenja i pozicije kontrolnih i ispitujućih test seruma prema datom primeru:

	1	2	3
A	K-	5	13
B	K-	6	14
C	K+	7	15
D	K+	8	16
E	1	9	17
F	2	10	18
G	3	11	19
H	4	12	20

K - = kontrolni, negativni serum

K+ = kontrolni, pozitivni serum

1; 2; 3; 4; = ispitujući serumi

Napraviti potrebnu količinu rastvora za ispiranje (za rad na jednoj mikrotitar ploči potrebno je da se napravi 250 ml rastvora za ispiranje).

U set kitu rastvor za ispiranje je u koncentrovanom stanju i razređuje se destilovanom vodom u odnosu 1:10. (za 250 ml rastvora potrebno je uzeti 225 ml destilovane vode i dodati 25 ml koncentrovanog rastvora za ispiranje).

Izvođenje postupka ispitivanja

U svaki bazenčić mikrotitar ploče dodati 180 µl rastvora za ispiranje (Napomena: *Kada se koristi deo mikrotitar ploče, a da bi se sprecila eventualna kontaminacija preostalog dela ploče, prekrva se ostatak ploče lepljivom folijom pre dodavanja rastvora za ispiranje*);

Prema planu nanošenja i poziciji u šemi mikrotitar ploče, dodaje se po 20 µl kontrolnih, pozitivnih i negativnih seruma u dva primerka i po 20 µl ispitujućih test uzoraka. (Napomena: Posle nanošenja kontrolnih i ispitujućih seruma blago protresti ploču rukama ili upotrebiti šeiker);

Mikrotitar ploča se inkubira u vlažnoj komori 90 minuta na sobnoj temperaturi ili 14 do 18 sati na temperaturi od 2 do 8°C;

Pripremiti rastvor konjugata razređivanjem sa rastvrom za ispiranje u odnosu 1:400 (Primer: od 53 µl koncentrovanog konjugata i 21 ml rastvora za ispiranje, dobija se količina radnog rastvora konjugata koja je sasvim dovoljna za jednu mikrotitar ploču);

- Posle inkubacije isprati svaki bazenčić mikrotitar ploče rastvorom za ispiranje. Ispiranje se vrši trokratno aparatom za ispiranje ili višekanalnom mikropipetom sa 300 µl rastvora za ispiranje po bazenčiću;

Posle ispiranja dobro iscediti tečnost iz svakog bazenčića, blagim otresanjem ploče o deblji sloj papirne vate (Napomena: u bazečićima ne sme biti ni najmanja vidljiva kap tečnosti);

U svaki bazečić dodati po 200 µl radnog rastvora konjugata, a zatim ploču inkibirati u vlažnoj komori 30 minuta na sobnoj temperaturi;

Posle inkubacije ponoviti proces ispiranja kao u tački 7.2.5;

U svaki bazečić dodati po 200 µl substrata, koji je prethodno zagrejan na temperaturi 25⁰C, a zatim ploču inkibirati 10 do 30 minuta na sobnoj temperaturi.

Očitavanje rezultata

Očitavanje rezultata se vrši kada se utvrdi da je razlika OD vrednosti pozitivne i negativne kontrole jednaka ili veća 0,4. Očitavanje OD vrednosti vrši se na ELISA čitaču pri talasnoj dužini 405 ili 492, obično 10 do 30 minuta posle dodavanja substrata;

Kada se utvrdi odgovarajuća razlika OD pozitivne i negativne kontrole, zaustaviti reakciju dodavanjem po 50µl STOP rastvora prethodno zagrejanog na sobnoj temperaturi;

Na ELISA čitaču očitati OD vrednosti svakog ispitujućeg test uzorka kao i pozitivne i negativne kontrole, a zapis o OD vrednostima sa čitača priložiti uz šemu mikrotitar ploče.

Interpretacija rezultata

Za interpretaciju rezultata koristi se softver ili utvrđene OD vrednosti obračunaju po sledećoj formuli:

$$\text{Nivo vrednosti OD (\%)} = \frac{\text{OD ispitujućeg uzorka} - \text{OD negativne kontrole}}{\text{OD pozitivne kontrole} - \text{OD negativne kontrole}} \times 100$$

Utvrđene nivoje OD uporediti sa kriterijumima navedenim u tabeli i odrediti rezultat.

OD %	< 30%	30 – 50%	> 50%
Interpretacija	Negativno	Sumnjivo	Pozitivno

Definitivno postavljanje dijagnoze vrši se ispitivanjem test uzorka sa verifikacionim ELISA set kitom po istom postupku rada kao što je navedeno u prethodnim tačkama, osim što se kontrolni

pozitivni, negativni serumi i ispitujući test uzorci nanose u bazenčice mikrotitar ploče u po dva primerka kao što je dato na šemi:

1 2 3 4

A	K-	K-	7	7
B	K+	K+	8	8
C	1	1	9	9
D	2	2	10	10
E	3	3	11	11
F	4	4	12	12
G	5	5	13	13
H	6	6	14	14
	-	+	-	+

K - = kontrolni, negativni serum

K+ = kontrolni, pozitivni serum

1; 2; 3; 4; = ispitujući serumi

- = bazečići sa kontrolnim negativnim antigenom (-Ag)

+ = bazečići sa inaktivisan. antigenom virusa ELG (+Ag)

Za interpretaciju rezultata koristi softver ili izvršiti izračunavanje nivoa OD vrednosti prema sledećim obračunima:

- Izračunavanje neto ekstincije (NE)

$$NE = OD_{+Ag} - OD_{-Ag}$$

- Prema navedenoj formuli izračunti NE kontrolnih seruma (pozitivnog i negativnog) i NE ispitujućih test seruma.

- Izvršiti korekciju prosečne NE kontrolnog pozitivnog seruma i ispitujućih test seruma sa prosečnom vrednošću NE kontrolnog negativnog seruma na sledeći način:

$$\text{Kontrolni pozitivni serum} = NE_{\text{pozit. seruma}} - NE_{\text{negativ. seruma}}$$

$$\text{Test, ispitujući, serum} = NE_{\text{ispitujućeg seruma}} - NE_{\text{negativ. seruma}}$$

$$NE \text{ ispitujućeg uzorka} - NE \text{ negativne kontrole}$$

$$\frac{\text{Nivo vrednosti OD} (\%) = \dots}{NE \text{ pozitivne kontrole} - NE \text{ negativne kontrole}} \times 100$$

- Utvrđene nivoe OD uporedi sa kriterijumima navedenim u tabeli i odredi rezultat.

OD %	< 30%	30 – 50%	> 50%
Interpretacija	Negativno	Sumnjivo	Pozitivno

Verifikacija rezultata ispitivanja

Mere predostrožnosti:

- očigledno izmenjeni uzorci (intenzivna hemoliza, zamućenje, kontaminirani mikroorganizmima, odnosno neprijatnog mirisa i drugo) nisu se uzimali u postupak ispitivanja;
- pažljivim pipetiranjem ne dozvoliti formiranje pene, čak i najmanjeg mehurića vazduha;
- ispitujuće test serume, kontrolne serume i konjugat razrediti neposredno pre upotrebe;
- onemogućiti hemijsku i mikrobiološku kontaminaciju regenasa, laboratorijskog pribora i opreme;
- destilovana voda koja se koristi za razređivanje reagenasa mora biti standardnog kvaliteta za hemijska ispitivanja (neutralne pH vrednosti i niske provodljivosti);
- neupotrebljive OD vrednosti ili visoki "background" reakcije najčešće nastaje zbog neadekvatnog protresanja kod homogenizacije sadržaja mikrotitar ploča rukom ili šeikerom, hemijske i mikrobiološke kontaminacije, upotrebe nedovoljno zagrejanih reagenasa i grešaka prilikom pipetiranja.

Validnost rezultata ispitivanja:

- validnost dobijenih rezultata ispitivanja je uslovljena odnosom dobijenih OD vrednosti pozitivnih i negativnih kontrolnih seruma,
- razlika OD vrednosti pozitivnih i negativnih kontrolnih seruma mora biti jednaka ili veća od 0,4.

Šema mikrotitar ploče za obeležavanje pozicije kontrolnih i ispitujućih test seruma.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Zapis ELISA čitača i/ili zapis SOFTVER-a o očitanim OD vrednostima

3) Molekularna detekcija i identifikacija virusa ELG

Metodologija molekularnih istraživanja koja su primenjenih u ovom radu podeljena su u više segmenata i oni čine standardni postupak kojim se dolazi do saznanja o strukturi genetskih determinanti virusa ELG. Proces obuhvata: 1) ekstrakciju nukleinskih kiselina iz bioloških materijala, 2) umnožavanje određenih genomskih sekvenci od interesa upotreboru specifičnih oligonukleotidnih prajmera, 3) vizuelizaciju dobijenih produkata, 4) prečišćavanje produkata, 5) sekvenciranje sa fluorescentno obojenim nukleotidima, 6) prečišćavanje proizvoda sekvenciranja, 7) očitavanje dobijenih produkata sekvenciranja u genetskom analizatoru, 8) analiza dobijenih sekvenca primenom specijalo modeliranih softverskih programa za ove namene.

EKSTRAKCIJA DNK

Priprema bafi kout-a (buffy coat)

Bafi kout je frakcija izvodojena iz pune krvi bogata leukocitima. Priprema bafi kuta-a je jednostavna, a količina na ovaj način dobijene DNK je 5 – 10 puta veća od DNK dobijene direktnom ekstrakcijom iz iste količine krvi.

1. Limfocit separacioni medijum je separacioni rastvor koji je baziran na prisustvu Ficoll 400 hidrifilnog polimera molekularne težine 400.000 Da. Koristi se za formiranje gradijenta gustine u cilju separacije ćelija i subcelularnih komponenti koji zbog uticaja sile gravitacije, prilikom centrifugiranja formiraju sediment.

U epruvete od 15 ml u koje je sipano 7 ml limfocit separacionog medijuma uliti 7 ml pune krvi. Proces separacije izvodi se centrifugiranjem na 1200 g 20 minuta. Limfociti se koncentrišu u međufazi (beli sloj, buffy coat) između plazme i separacionog rastvora i ekstrahuju pomoću pasterove pipete.

Alternativno

2. Nakon centrifugiranja krvi na 2500 x g tokom 10 minuta, izdvajaju se tri sloja, gornji, bistri sloj krvne plazme, srednji, buffy cout sloj bogat leukocitima i donji koji sadrži eritrocite.

Protokol: DNA izolacija iz buffy cout-a (Spin Protokol)

Za ekstrakciju DNA korišćen je QIApm DNA Mini Kit, Qiagen.

QIAamp procedura je pogodna za ekstrakciju DNK iz sveže ili zamrznute pune krvi koja je tretirana citratom, ili EDTA. Ekstrahovana DNK ne sadarži proteine, nukleaze i druge kontaminete ili inhibitore.

Upotrebom QIAamp Kita izolovana DNK je do 50 kb veličine, najčešće 20–30 kb, kompletno se denaturiše tokom reakcije lančane polimeraze i veoma dobro amplifikuje.

Adsorpcija na QIAamp membranu

DNK se adsorbuje na QIAamp silica membranu za vreme centrifugiranja. Koncentracija soli i pH lizata obezbeđuje da se proteini i drugi kontaminenti koji mogu inhibirati PCR i druge enzimske reakcije ne zadržavaju na membrani.

Uklanjanje rezidualnih kontaminenata

DNK vezana za QIAamp membranu ispira se tokom dva koraka centrifugiranja upotrebom dva pufera AW1 I AW2 koji značajno utiču na čistoću izolovane nukleinske kiseline.

Potrebno uraditi pre početka rada:

- Zagrejati uzorke na sobnu temperaturu;
- Zagrejati vodeno kupatilo na 56°C;
- Zagrejati AE na sobnu temperaturu;
- Pripremiti AW1 I AW2 pufera dodavanjem 96 - 100% etanola kao što je označeno na pakovanju. Pripremljeni puferi su stabilni 1 godinu na sobnoj temperaturi;
- Ukoliko u puferu AL postoje precipitati, rastvoriti ih grejanjem na 56°C.

Procedura

1. Sipati 20 µl QIAGEN Protease na dno tubice od 1.5 ml;
2. Dodati 200 µl buffy coat uzorka u tubicu;
3. Dodati 200 µl pufera AL u uzorak i dobro izmešati vorteksovanjem tokom 15 sekundi. (Da bi liza bila što potpunija, veoma je važno da se pufer AL dobro izmeša sa uzorkom i dobije homogen rastvor);
4. Inkubirati tubicu na 56°C tokom 10 min.;
5. Pažljivo centrifugirati tubicu da bi se slike kapi sa poklopca;
6. Dodati 200 µl etanola (96–100%) u uzorak i promešati sadržaj vorteksovanjem tokom 15 sekundi i pažljivo centrifugirati da bi se slike kapi sa poklopca;

7. Pažljivo prebaciti mešavinu iz koraka 6. u QIAamp Mini spin column (u 2 ml sabirnoj tubi) tako da se ne pokvasi obod tube. Zatvoriti tubu i centrifugirati je na 13000 rpm, 1 min. Prebaciti QIAamp Mini spin column u čistu 2 ml sabirnu tubu, a filtrat odbaciti;
8. Pažljivo otvoriti QIAamp Mini spin kolonu i dodati 500 µl pufera AW1 tako da se ne pokvasi obod tube. Zatvoriti tubu i centrifugirati je na 8000 rpm 1 minut. Prebaciti QIAamp Mini spin column u čistu 2 ml sabirnu tubu, a filtrat odbaciti;
9. Pažljivo otvoriti QIAamp Mini spin kolonu i dodati 500 µl pufera AW2 tako da se ne pokvasi obod tube. Zatvoriti tubu i centrifugirati je na 13000 rpm 3 minuta. Prebaciti QIAamp Mini spin column u čistu 2 ml sabirnu tubu, a filtrat odbaciti;
10. Prebaciti QIAamp Mini spin kolonu u čistu 1.5 ml tubu, a filtrat odbaciti. Pažljivo otvoriti QIAamp Mini spin kolonu i dodati 200 µl pufera AE. Inkubirati tubu na sobnoj temperaturi (15–25°C) 1 minut i potom je centrifugirati na 8000 rpm 1 minut. Ekstrahovana DNK se čuva u AE puferu na -20°C.

LANČANA REAKCIJA POLIMERAZE (PCR - POLIMERASE CHAIN REACTION)

Prajmeri koji su korišćeni, preporučeni su kao referentni od strane O.I.E Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals Chapter 2.3.4. sintetisani su u Applied Biosystems i amplifikuju deo *env* gena koji kodira gp 51. Ovaj gen je visoko konzerviran. Dok su i gen i antigen prisutni u svim inficiranim životinjama.

Za lančanu reakciju polimeraze korišćen je HotStarTaq Master Mix Kit, proizvođača Qiagen, koji sadrži HotStarTaq DNA polimerazu, PCR pufer sa 3 mM MgCl₂ i 400 mM svakog nukleotida (dNTP).

HotStarTaq DNA polimeraza je modifikovana forma rekombinantne 94 kDa DNK polimeraze izolovane iz *Thermus aquaticus* (vrste ekstermofilnih Archaea) i klonirane u *E. coli*.

HotStarTaq DNK polimeraza je neaktivna na sobnoj temperaturi što sprečava stvaranje prajmer-dimera i pogrešno sparivanje na nižim temperatutama. HotStarTaq DNK polimeraza se aktivira na 95°C tokom 15 minuta.

Protokol HotStarTaq Master Mix

1. Otopiti radne rastvore prajmera i dobro ih pomešati;
2. Pomešati HotStarTaq Master Mix vorteksovanjem;

3. Napraviti smeš komponenata u skladu sa brojem uzoraka:

Komponenta	Volumen/reakcija	Krajnja konc.
HotStarMasterMix	25 µl	2.5 U HotStarTaq DNA Polimerase 1x pcr pufer (15mM MgCl ₂) 200 µM svakog dNTP
Prajmer A (10 pmol/µl)	1.5 µl	0.3 µM
Prajmer B (10 pmol/µl)	1.5 µl	0.3 µM
Rnase free voda	17 µl	-
DNK	5 µl	< 1µg/50 µl
Krajnji volumen	50 µl	

Protokol za 413 bp env gena:

OBLV1A – 5'CTT TGT GTG CCA AGT CTC CCA GAT ACA3' (5029)

OBLV6A – 5'CCA ACA TAT AGC ACA GTC TGG GAA GGC3' (5442)

Aktivacija polimeraze		15 min	95 C°
5 ciklusa	Denaturacija	45 sec	94 C°
	Anilizacija	60 sec	60 C°
	Ekstenzija	90 sec	72 C°
30 cikluca	Denaturacija	45 sec	94 C°
	Anilizacija	60 sec	55 C°
	Ekstenzija	90 sec	72 C°
Krajnja ekstenzija		7 min	72 C°

Protokol za nested PCR, 341 bp:

OBLV3 – 5'CTG TAA ATG GCT ATC CTA AGA TCT ACT GGC3' (5065)

OBLV5 – 5'GAC AGA GGG AAC CCA GTC ACT GTT CAA CTG3' (5376)

Aktivacija polimeraze		15 min	95 C°
5 ciklusa	Denaturacija	45 sec	94 C°
	Anilizacija	60 sec	58 C°
	Ekstenzija	90 sec	72 C°

30 ciklusa	Denaturacija	45 sec	94 C°
	Anilizacija	60 sec	53 C°
	Ekstenzija	90 sec	72 C°
	Krajnja ekstenzija	7 min	72 C°

Gelelektrforeza

Vizuelizacija reakcije je vršena gel elektroforezom, u agaroznom gelu koncentracije 2 %, u 1x TAE puferu (1M Tris, 1M Boric Acid, 20mM EDTA, pH 8.3) sa dodatkom etidium bromida, 1mg/ml, kao fluorescentnog indikatora. Proces elektroforeze je obavljen u Hoeffer submarine aparatu za elektroforezu, pri naponu od 60V i jačini struje od 10mA, tokom 30 minuta.

Radi određivanja karakteristične dužine amplifikovanog segmenta korišćen je molekularni marker Fast Ruler DNA ladder, low range, Fermentas.

Prečišćavanje PCR produkata

QIAquick PCR Purification Kitom, Qiagen, prečišćeni su PCR proizvodi. Ovaj kit se koristi za prečišćavanje ds ili ss DNK dužine 100 bp – 10 kb. DNK se vezuje za silica membranu u prisustvu visoke koncentracije halotropnih soli koje menjaju strukturu vode dok kontaminenti, nevezani nukleotidi, enzimi, prajmeri prolaze kroz nju u sabirnu tubicu. Adsorpcija, takođe zavisi i od pH, pri čemu se 95% DNK veže za membranu pri pH 7.5 dok se ovaj procenat drastično smanjuje pri višim vrednostima pH.

Rastvaranje DNK zavisi od koncentracije soli i pH rastvarača. Rastvaranje je najefikasnije pri baznim uslovima i niskim koncentracijama soli (10 mM Tris·Cl, pH 8.5). Prečišćena DNK se čuva na -20°C.

Protokol:

1. Dodati 5 volumena PBI pufera na 1 volumen PCR produkta i pomešati;
2. Postaviti kolonu u sabirnu tubu;
3. Centrifugirati 30-60 sec na 13000 rpm;
4. Odbaciti filtrat i vratiti kolonu u istu sabirnu tubu;
5. Dodati 0.75 ml PE pufera i centrifugirati 30-60 sec na 13000 rpm;
6. Odbaciti filtrat i vratiti kolonu u istu sabirnu tubu i centrifugirati 1 min na 13000 rpm;

7. Prebaciti kolonu u novu mikrotubu;
8. Dodati 50 µl EB pufera ili vode, centrifugirati 1 min na 13000 rpm;
9. Prečišćene PCR proizvode čuvati na -20°C.

Sekvenciranje PCR produkata

Nakon izvršene purifikacije PCR produkata izvršeno je sekvenciranjem prečišćenih produkata PCR reakcije. Izvršeno je ugrađivanje fluorescentno obojenih nukleotida korišćenjem *BigDye Terminator v.1.1 CycleSequencing* kita prema protokolu proizvođača. Priprema PCR produkata za sekvenciranje izvršena je u Eppendorf termoprocesoru sa termalnim porastom (rampingom) od 1°C/sec.

Napravi se smeša komponenti za potreban broj reakcija:

Komponenta	Koncentracija	Volumen
1. Ready reaction premix	2.5 x	4 µl
2. BigDye Sequencing pufer	5 x	2 µl
3. Prajmer (10µM)	3.2 pmol	0.32 µl
4. PCR produkt	-	2 µl
5. Voda	-	11.68 µl

Protokol:

1. 95 C° 5 min
2. 30 ciklusa Rapid termal ramping (1°C/sec) do 95 C° (Brzima zagrevanja)
95°C, 30 sec

Rapid termal ramping (1°C/sec) do 50 C°
50°C 10 sec

Rapid termal ramping (1°C/sec) do 60 C°
60°C, 4 min.
4. Rapid termal ramping (1°C/sec) do 4 C°, držati do purifikacije

Prečišćavanje sekvenciranog pcr proizvoda

Etanol/EDTA precipitacioni protokol:

- 1.** Dodati 5 µl 125Mm EDTA na dno tubice;
- 2.** Dodati 60 µl 100% etanola;
- 3.** Inkubirati na sobnoj temperaturi 15 min;
- 4.** Centrifugirati 30 min na 5000 rpm (4 C°);
- 5.** Okrenuti tube i spinovati par sekundi na 1500 rpm;
- 6.** Dodati 60 µl 70% etanola;
- 7.** Centrifugirati 1 min na 1500 rpm (4 C°);
- 8.** Sušiti na sobnoj temperaturi 15 min;
- 9.** Resuspendovati peletu u injekcionom puferu (HiDi formamid);
- 10.** Sekvencirati u genetskom analajzeru.

Očitavanje nukleotidnih nizova

Očitavanje nukleotidnog nizova sekvenciranih segmenata je obavljeno u genetskom analizatoru ABI Prism 310, upotrebom kratke kapilare i POP6 polimera. Sekvenciranje je vršeno upotrebom KB 310 POP6 BDTv 36 rapid.mob dye/primer set-a i SeqPOP6Rapid (1ml) E.md4. modula.

Genetske sekvence

Sekvence korišćene u ovom ispitivanju su preuzete iz NCBI (National Center for Biotechnology Information Rockville Pike, Bethesda MD, USA) genetske baze podataka za enzootsku leukozu goveda. U tabeli 4. su prikazani pristupni brojevi svih sekvenci *ENV* regona genomskega segmenta virusa bovine leukoze koje su korišćeni u istraživanju.

Tabela 4. Genetske sekvene preuzete iz genetske baze

	Oznaka sekvene u bazi					
No	NCBI AccNo	Izolat	Zemlja	Region	nt	
1	d00647	Australian isolate	Australija	full lenght	7937	puna dužina
2	eu266066	Iran	Iran	env(gp51)	747	
3	eu266065	Zanjan	Iran	env(gp51)	747	
1	eu266064	Varamin	Iran	env(gp51)	747	
5	eu266063	Tehran	Iran	env(gp51)	747	
6	eu266062	Kurdistan	Iran	env(gp51)	747	
7	eu266061	Ishafan	Iran	env(gp51)	747	
8	eu266060	Shahrekord	Iran	env(gp51)	747	
9	eu262584	tip256	Belgija	env(gp51)	400	
10	eu262583	tip237	Belgija	env(gp51)	400	
11	eu262582	tip147	Belgija	env(gp51)	400	
12	eu262581	tip112	Belgija	env(gp51)	400	
13	eu262580	tip105	Belgija	env(gp51)	400	
14	eu262579	tip58	Belgija	env(gp51)	400	
15	eu262578	tip54	Belgija	env(gp51)	400	
16	eu262577	tip9	Belgija	env(gp51)	400	
17	eu262576	tip8	Belgija	env(gp51)	400	
18	eu262575	tip301	Belgija	env(gp51)	400	
19	eu262557	tip103	Australija	env(gp51)	398	
20	eu262556	tip154	Australija	env(gp51)	388	
21	eu262555	tip151	Australija	env(gp51)	400	
22	eu262554	tip146	Australija	env(gp51)	400	
23	nc001414	BLV gp01+gag-pro-pol..		full lenght	8419	puna dužina
24	ef065662	jpmi-3		partial	1548	
25	ef065661	jpmi-2		partial	1548	
26	ef065660	jpmi-1		partial	1548	
27	ef065659	jpk-a-2		partial	1548	
28	ef065658	jpk-a-1		partial	1548	
29	ef065656	uspa		partial	1548	
30	ef065655	crcl-1		partial	1548	
31	ef065645	crcl-2		partial	1548	
32	ef600699	FLK-BLV subclone pBLV913(G4+gag+pol+rex)		full lenght	8720	puna dužina
33	k02120	gag+pol+env		full lenght	8714	puna dužina

4) Filogenetska analiza

Filogenetska analiza se bavi rekonstrukcijom evolucionih stabala. Filogenetska analiza 335 bp fragmenta *env* sekvence BLV kao i analiza genetskih distanci između nukleotidnih i aminokiselinskih sekvenci i obračun broja nukleotidnih razlika između nukleotidnih sekvenci i njihova kvalitativna komparacija sprovedena je korišćenjem MEGA 3.1 programa (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) verzija 3.1. Za uporednu analizu korišćen je i softverski paket koji uključuje Clustal X, Puzzle 4.02, Phylip, Seqboot, DnaDist, Neighbor, Consense, Treeview kompjuterske programe. Svi dobijeni rezultati su prezentovani u MEGA formatu.

Kako postoji stalna potreba za bržom i efikasnijom komparacijom i analizom DNK sekvenci koje su pohranjene u različitim genomskim bazama, a čiji se broj svakodnevno povećava zbog čega postoji stalna potreba za razvojem i unapređanjem softvera koji se koriste u ove svrhe. Softverski paket MEGA obezbeđuje alate kojima se uspešno vrši manipulacija, istraživanje i analiza DNK i aminokiselinskih sekvenci, uključujući i njihovu evolucionu perspektivu. MEGA uključuje programe koje karakteriše izuzetno visok stepen softverske snage i grafičkog prikaza. U paketu su uključeni alati kojima je omogućena procena evolucionih distanci, prikaz i komparacija molekularnih sekvenci i genetskog diverziteta, kao i testovi (bootstrap test, test verovatnoće pouzdanosti, indeksni test dispariteta za ispitivanje heterogenosti substitucionog paterna između pojedinih linija) kojima se stiče uvid u validnost softversko-manipulativnih genetskih operacija.

4.2.2. EPIZOOTILOŠKE METODE

Osnovni cilj epizootiologije je da veterinarima omogući ili olakša kontrolisanje bolesti, kao i njihovo iskorenjivanje na određenim područjima, oblastima ili farmama. Savremena epizootiologija kao naučna disciplina bavi se proučavanjem uzroka nastanka, razvoja i širenja zaraznih bolesti kao i metodama ugušivanja sprečavanja širenja, suzbijanja i iskorenjivanja zaraznih i drugih bolesti.

Osnovni zadatak epizootiologije je da izuči faktore koji mogu uticati na učestalost pojave i održavanje bolesti u životinjskim populacijama i biotopu, kao i njihovu međuzavisnost i

transmisiju između uzročnika – domaćina – okoline, upozori na moguće posledice i preporuči mere.

U skladu sa ciljevima i zadacima obavljenih istraživanja pored laboratorijskih u radu su korišćene i epizootiološke metode.

Za izučavanje pomenutih procesa epizootiologija se koristi dvema metodama: posmatranjem i analiziranjem koje su korišćene sprovedenim u istraživanjima.

Ostvarivanje zadataka u epizootiologiji se postiže kontinuiranim praćenjem epizootiološke situacije na terenu pri čemu se mogu koristiti različite epizootiološke metode rada (Cvetnić S.1987).

Postoje četri osnovne metode epizootioloških istraživanja- ispitivanja (Valčić M. 1998):

1) **Deskriptivni metod** ili deskriptivna epizootiologija koji obuhvata posmatranje i

beleženje oboljenja i uzroka nastanka bolesti. On nam pruža osnovna saznanja o vremenu pojave, prirodi bolesti, prijemčljivoj populaciji, lokalizaciji, karakteristikama područja, ekološkim faktorima, prostornoj i vremenskoj distribuciji bolesti i dr. Posmatranje je subjektivno, ali može voditi postavljanju hipoteze koja će se kasnije kontrolisati ;

2) **Analitički metod** ili analitička epizootiologija podrazumeva da iz zbira zabeleženih i utvrđenih činjenica posmatranjem i korišćenjem odgovarajućih dijagnostičkih metoda i statističkih modela izvrši analizu i proveri hipotezu. Ona nas upućuje na definisanje ugrožene populacije;

3) **Eksperimentalni metod** se bavi posmatranjem i analizom podataka iz odabarte eksperimentalne grupe životinja upoređenjem sa kontrolnom grupom pri čemu se pojedini faktori promenljivi na osnovu kojih se mogu ekstrapolacijom izvesti važni zaključci koji se mogu primeniti u praksi;

4) **Teorijski metod** ili teorijska epizootiologija koristi matematičke modele i izraze da bi prikazala odnose između uzročnika i domaćina i okoline.

U izučavanju epizootioloških pojava i praćenja značajno mesto ima statistika odnosno statističko proučavanje pojave zaraznih bolesti. Prikaz statističkih prikupljenih podataka po određenoj metodologiji veoma je važan za sagledavanje svih aspekata određene pojave.

Prikazivanje je najčešće numerički iskazano, ali ono može biti iskazano i grafički u vidu dijagrama i histiograma što olakšava uporednu analizu podataka.

Podaci mogu biti i kartografski prikazani u vremenskom toku čime se omogućava prostorno praćenje bolesti i olakšava retrospektivnu analizu podataka i utvrđuju pravci kretanja bolesti odnosno, trasiranju puta bolesti .

Za savremeno statističko praćenje i proučavanje neophodno je koristiti informacioni sistem i prednosti savremene informatike i digitalizacije usled čega se razvila savremena epizootiološka informatika (Sassidou E. 1996) .

Kako je osnovna uloga epizootiologije da smanji i svede na najnižu moguću meru opasnost od pojave bolesti i umanji potencijalne moguće štete izazvane pojavom bolesti savremena epizootiologija se danas sve više zapravo bavi *epizootiološkim predviđanjima i analizom rizika*. Što zapravo čini osnovu savremene profilakse zaraznih bolesti kao i kontrole i iskornjivanja zaraza.

4.2.2.1 KONTROLA I ERADIKACIJA

4.2.2.1.1 Nadzor i kontrola ELG

Nadzor predstavlja sistem administrativnih i zdravstvenih postupaka, mera i aktivnosti čiji je cilj sprečavanje pojave, kontrola i rano otkrivanje bolesti ili pojave u populaciji životinja na nekom prostoru. Nadzor po svojoj prirodi može biti *Pasivni* ili *Aktivni* .

Pasivni nadzor je baziran na sistematskom praćenju pojava, njihovoj evidenciji i saopštavanju prikupljenih informacija od strane različitih izvora i vlasnika nadležnoj službi, u sistemu praćenja određene zdravstvene pojave odnosno nadležnoj veterinarskoj službi. Sistem je u tom smislu pasivan, jer ne zahteva posebne aktivnosti i specijalna znanja. Međutim, on je vrlo aktivran u praćenju različitih pojava. Široko je postavljen tako da obuhvata veliki broj posmatrača koji svakodnevno vrše nadzor zdravstvenog stanja životinja posmatrajući ponašanje populacije pod rizikom. Pasivni nadzor je sastavni deo sistema zdravstvene zaštite i dobrobiti životinja, ugrađen je u zakonsku legislativu odnosno predstavlja pravnu tekovinu. Ovaj sistem je nezamenljiv za uzbunjivanje, postavljanje sumnje, rano otkrivanje, suzbijanje i iskorenjivanje zaraznih bolesti. Po svojoj prirodi i mestu on predstavlja predstražu u sistemu zdravstvene zaštite. Njegova osnovna uloga je da primeti određenu pojavu i o tome na vreme obavesti nadležnu veterinarsku službu

(alarmira prvu stručnu službu u sistemu). U tom smislu postoji i obaveza vlasnika da prijavi promenu ponašanja ili pojavu sličnih simptoma kod više životinja.

Za dobro funkcionisanje ovog sistema od velike je važnosti podizanje svesti vlasnika o značaju posedovanja osnovnih znanja o zdravlju životinja koje drži ili gaji. Ova aktivnost je od velikog značaja za podizanje efikasnosti sistema Pasivnog nadzora.

Aktivni nadzor se nastavlja na ovaj deo sistema nadzora i on predstavlja plansku aktivnost veterinarske službe i države u cilju ranog otkrivanja i kontrole bolesti ELG. On može biti baziran na jednom ili više specijalističkih pregleda "skriniga" ili ispitivanja.

4.2.2.1.2 Suzbijanje i iskorenjivanje ELG

ELG danas ima svetski epizootiološki značaj, još je Fortner 1937. godine Međunarodnom Offisu za epizootije ukazano na značaj ove bolesti. OIE je 1953. godine, istakao potrebu za uspostavljanjem kontrole nad ovom bolešću i značajem isključivanja životinja obolelih od leukoze iz zapata. Na 32. i 35. Konferenciji Komiteta OIE održanim 1964. i 1967. godine, predlagano je da se ELG proglaši zaraznom bolešću i da sve zemlje članice preduzmu mere kontrole svojih zapata goveda, posebno životinja koje se izvoze kao priplodna goveda. Da osposobe svoje dijagnostičke laboratorije za hematološka ispitivanja i utvrde gornje fiziološke granice apsolutnog broja limfocita u odnosu na rasu, starost i regionalnost. U kasnijim zasedanjima razmatrane su i nove serološke dijagnostičke metode (AGID, RIA, ELISA), dok konačno leukoza nije svrstana u zarazne bolesti obavezne za suzbijanje i iskorenjivanje (Stamatović S. 1983).

U skladu sa ovim, u našoj zemlji leukoza je stavljena na listu zaraznih bolesti 1976. godine usvajanjem novog Zakona o zaštiti životinja od zaraznih bolesti koje ugrožavaju celu zemlju (Sl.list SFRJ,br. 43/76). Donošenjem Pravilnika o merama za suzbijanje i iskorenjivanje leukemije goveda (Sl.list SFRJ,br. 34/81), juna 1981. godine predložene su mere za suzbijanje i iskorenjivanje ELG. Pravilnik je inoviran 08.02.1988. godine donošenjem novog Pravilnika o merama za suzbijanje i iskorenjivanje enzootske leukoze goveda (Sl.list SFRJ,br.39/88), koji je bi u primeni do donošenja najnovijeg "Pravilnika o utvrđivanju mera za rano otkrivanje ,dijagnostiku, sprečavanje širenja , suzbijanje i iskorenjivanje zarazne bolesti enzootske leukoze goveda, načinu njihovog sprovođenja, kao i načinu utvrđivanja statusa gazdinstva slobodnog od enzootske leukoze goveda" 2009. godine .

Prilikom definisanja i predlaganja mera za suzbijanje i iskorenjivanje ELG prevashodno se moraju imati u vidu putevi prenošenja odnosno mogućnost horizontalne i vertikalne transmisije virusa, osetljivost i pouzdanost dijagnostičkih metoda koje se koriste u otkrivanju infekcije. Od presudne važnosti za izbor modela kontrole bolesti ima prevalencija bolesti u zaraženom stаду i ekonomski značaj zapata. Način držanja životinja i skup standardnih zootehničkih i veterinarskih mera i zahvata koji se sprovode na životnjama, a mogu uticati na prenos bolesti unutar stada .

Načini suzbijanja i iskorenjivanja ELG razlikuju se među evropskim zemljama, ali i u drugim zemljama u svetu. U osnovi zapravo postoje tri moguća načina suzbijanja ELG, (Digiocomo 1992; Ott S.I. 2013; Murakami K.2011; Balić.D 2013; Bartel P.C. 2014.) :

- 1.Dijagnostikovanje i sprečavanje horizontalnog širenja,
- 2.Dijagnostikovanje i uvođenje mera poboljšanja,
- 3.Dijagnostikovanje i uklanjanje pozitivnih životinja.

Svaki od ovih načina može imati više modela koji su uz manje ili više modifikacija prilagođeni određenom programu. Programi se koncipiraju na osnovu utvrđene ili procenjene prevalencije i broja obolelih životinja i zaraženih stada kao i na osnovu procena troškova. Programima se daju smernice i definišu potrebne mere.

Uspeh i vreme potrebno za sprovođenje mera zavise pre svega od početne trenutne prevalencije oboljenja na početku primene mera (Valčić M. 1998), kao i broja životinja u stаду i načina držanja goveda (ekstenzivni ili intenzivni uzgoj).

Nedostaci hematološke dijagnostike kojom nije bilo moguće otkriti atumorozne, odnosno aleukemične forme bolesti ograničavale su i mogućnosti da se bolesti iskoreni, već se ona sa praktičnog aspekta samo suzbijala. Odstranjivanjem grla sa perzistentnom limfocitozom, odstranjivana su grla najopasnija za širenje ELG, odnosno grla koja su izlučivala velike količine virusa. Ova grla češće prenose bolest vertikalno na potomstvo. Hematološka dijagnostika je doprinela da mnoge zemlje Zapadne Evrope koje su pristupile suzbijanju leukoze svedu ELG na niži nivo, a kasnije uvođenjem osetljivijih dijagnostičkih testova i iskorenjene ELG (Straub C.O. 1982).

Pravilnik o merama za suzbijanje i iskorenjivanje enzootske leukoze goveda predviđao je podvrgavanje dijagnostičkom pregledu na ELG su svih goveda starija od 6 meseci. Osim steonih

goveda, dve nedelje pred i posle partusa, kao i sva goveda mesec dana posle alergoloških reakcija i vakcina. Programom mera predviđeni su dijagostički pregledi goveda starijih od 12 meseci kasnijim izmenama programa pregledana su goveda starija od 24 meseca.

U zapatima u kojima je ustanovljena ELG, leukozne životinje su popisivane i obeležene, a zatim izdvajane od zdravih životinja. Zabranjeno je otuđivati životinje do upućivanja na klanje. U velikim zapatima koji imaju visoku seroprevalenciju bolesti odnosno veliki broj obolelih goveda, obelele životinje su izolovane u posebne leukozne zapate u koliko je za to bilo tehničkih uslova gde su krave boravile do ekonomskog iskorišćavanja i klanja .

Kada se utvrdi ELG ili se postavi sumnja sve sumnjive i ostale životinje iz stada ispituju se u razmaku svaka 4 meseca (ELISA testom) sve dok dva puta uzastopno rezultat ne bude negativan. U zaraženim dvorištima sprovodi se tekuća i završna dezinfekcija po uklanjanju obolelih životinja sa 3% NaOH ili drugim pogodnim dezinficijensom.

Pomenuta metodologija pregleda i frekvencija kao i širina obuhvatanja pojedinih kategorija menjala se u nazad više godina u zavisnosti od materijalnih mogućnosti.

Na zaraženim farmama suzbijanje se obavlja u zavisnosti od broja pozitivnih životinja i tehnologije uzgoja. Serološki pozitivne steone krave su nakon tri do četiri meseca posle teljenja upućivane na klanje. Po mogućnosti odvajaju se na dve farme, jedna sa "zdravim" i jedna "leukoznim" krvama ili su životinje gde nije bilo ovih uslova razdvajane po objektima u skladu sa tehničkim mogućnostima farme.

Ukoliko i to nije moguće, životinje se raspoređuju u posebnom redu ili u istom redu u štali, gde su "zdrave" i "leukozne" međusobno odvojene sa praznim ležišima.

Na farmi gde je ustanovljena ELG, pored mera izdvajanja, korišćena je posebna oprema za negu, ishranu i mužu leukoznih grla. Uz primenu dezinfekcionih barijera sprovedena je dezinfekcija, kao i dezinsekcija i deratizacija. Prilikom izvođenju veterinarskih intervencija insistirali smo na primeni mera asepse i antisepse koliko god je to bilo moguće. Posebna pažnja posvećivana je sprečavanju nastanka **jatrogenih infekcija** za koje se pouzdano zna da su ranije bile čest uzrok širenja ELG-a. Korišćeni su isključivo sterilisani instrumenti ili instrumenti za jednokratnu upotrebu. Širete za pregled su korišćene za pregled samo jedne životinje

Ženska telad od leukoznih majki su držana posebno i napajana kolostrumom od "zdravih" majki, uvek kada je to bilo moguće, ukoliko ovo nije bilo moguće, telad su napajana običnim ili obrađenim kolostrumom ostalih krava, a kasnije mlekom zdravih krava.

Muška telad su upućivana u tovnu grupu potom na klanje.

Ženska telad su serološki pregledana (ELISA testom) kada navrše 6 meseci života. Sva pozitivna telad upućivana su u tovnu grupu, a zdrava (negativna) telad koja su vodila poreklo od pozitivnih kao i telad od negativnih majki, držana su zajedno i uključivana su u reprodukciju. Drugi pregled ženske priplodne teladi vršen je u uzrastu sa navršenih 10-12 meseci, dok je treći vršen u starosti od 14-16 meseci odnosno pred osemenjavanje.

Pozitivna grla su obeležavana vrelim žigom oznakom "L" i upućivana sa uverenjem o zdravstvenom stanju u kome je upisano da je životinja oboliela od ELG –a na klanje.

Od ove mere žigosanja se često i odstupalo kako se ne koža životinje oštetila i time smanjila njena vrednost već su životinje upućivane na klanicu koja se nalazila u blizini farme uz odobrenje i po nalogu veterinarske inspekcije. Ranijih godina se od ove mere obeležavanja leukoznih goveda često odstuplo. Ovo je ostavljalo mogućnost za zloupotrebu i preprodaju leukoznih krava posebno kada su životinje upućivane na klanje u klanice koje nisu bile pod neposrednom kontolom inspekcije. Sa ovom praksom se moralo prekinuti zbog čega su životinje upućivane samo u klanice koje su bile posebno određene za klanje leukoznih goveda. Na ovaj način prekinuti su putevi širenja leukoze sa farmi na individualni sektor.

Sledeći pregled kod junica vršen je u starosti od 24 meseca, odnosno pred slanje grla iz reprocentra u porodilište. Pozitivna grla u koliko ih je bilo u ovoj grupi upućivana su posle porođaja u grupu leukoznih krava.

Odrasla goveda u produkciji testirana su ELISA testom svaka 4 meseca, a u završnici u vremenskom razmaku od 4 meseca dok nisu dobijena uzastopno dva negativna pregleda.

Na ovaj način na farmama sa velikom aglomeracijom goveda formirani su ELG slobodni reprocentri. U ove centre farmi mogla su biti uvedena samo serološki testirana negativna grla i grla koja vode poreklo sa farmi slobodnih od ELG-a .

Pozitivna grla su ekonomski iskorišćavana, osemenjavana su i od njih je dobijan zdrav podmladak primenom mera nekog od nevedenih epizootioloških modela kontrole ELG. Kada se broj pozitivnih krava smanjio, krave nisu više osemenjivane, već su nakon telenja držane u

proizvodnji mleka 3-5 meseca, a zatim su upućivane na klanje ili su uklanjane iz stada nekim drugim načinom- kafilerija.

4.2.2.1.3. Epizootiološki Modeli kontrole i eradicacije ELG-a primenjivani na farmama goveda u ekstenzivnom i intenzivnom uzgoju

1. Testiraj i reaktora ukloni.
2. Izolacije i izdvajanja obolelih i eliminacija kroz pojačani godišnji remont stada.
3. Izolacija i izdvajanje obolelih i njihova eliminacija kroz pojačani godišnji remont stada za
farme prihvratne centre za leukozna grla
4. Pregled i eliminacije kroz redovni godišnji remont stada

4.2.2.1.4. Mere za srečavanje širenja i unošenja ELG

I. Karantin

Karantin je protiv epidemija mera kojom se na određeno vreme odvajaju i nadziru životinje njihovi proizvodi i životinjska tkiva za koje se sumnja da su zaraženi zaraznim bolestima ili potiču iz zaraženih područja

Kao mera na našim prostorima prvi put je uveden u Dubrovniku 1377. godine.

Za vreme vladavine kneza Miloša Obrenovića 1829. godine je uveden i u propise.

Vrste karantina

Apsolutni

- karantin - za životinje iz uvoza koje potiču iz zemalja koje nisu slobodne od ELG-a;
- karantin - za embrione i duboko smrznutu spermu za veštačko osemenjavanje.

Modifikovani

- karantin - izolator za obolele životinje na farmama ili nabavljenje iz unutrašnjeg prometa;
- karantin - za smeštaj privremeno oduzete stoke u unutrašnjem prometu.

Stanje u našoj zemlji

- ne postoji dovoljan broj izgrađenih karantinskih objekata za karantiniranje uvezenih životinja.

Nedoslednosti pri sprovodenju karantina

1. Organizovanje karantina na farmama za uzgoj životinja uz prisustvo životinja iz odgoja;

2. Izdvajanje i izolacija životinja sumnjivih i bolesnih goveda u domaćinstvima vlasnika.

Moguće posledice

1. Pojava ELG i njeno širenje sa posledičnim nastankom prateće veće materijalne štete;
2. Unošenje enzootske leukoze goveda u našu zemlju iz zaraženih zemalja koje ne sprovode sistemske mere eradikacije i kontrolu ELG;
3. Izlaganje povećanom epizootiološkom riziku šire populacije životinja.

Značaj i uloga karantina

1. Karantin ulazi u skup mera primarne prevencije od zaraznih bolesti i obuhvata postupke koji se preduzimaju kako ne bi došlo do širenja bolesti;
2. Ukoliko se bolest pojavi, preduzimaju se mere radi sprečavanja njenog širenja na druge prijemčive životinje;
3. Znatno utiče na smanjenje troškova zdravstvene zaštite koja su potrebna za suzbijanje i iskorenjivanje bolesti;
4. Primenom zdravstvenih mera i postupaka u karantinu, rizik od prenošenja bolesti svodi se na najnižu moguću meru;
5. Pravilnim organizovanjem karantina i stručnim postupanjem kao i primenom mera prevencije snižava se stopa incidence bolesti.

II. Kontrola kretanja životinja u prometu

Nesmetan promet životinja treba biti omogućen samo životnjama čije je poreklo i zdravstveni status jasan i koje mogu biti pouzdano identifikovane. Koje osim toga poseduju odgovarajuće potvrde i garancije da su slobodne od ELG i da vode poreklo iz stada koja su slobodna od ELG. Ostale životinje koje se nađu u prometu moraju biti stavljene u izolaciju gde ih treba ispitati u koliko za to postoje uslovi ili ih uputiti na ekonomsko iskorišćenje, odnosno klanje.

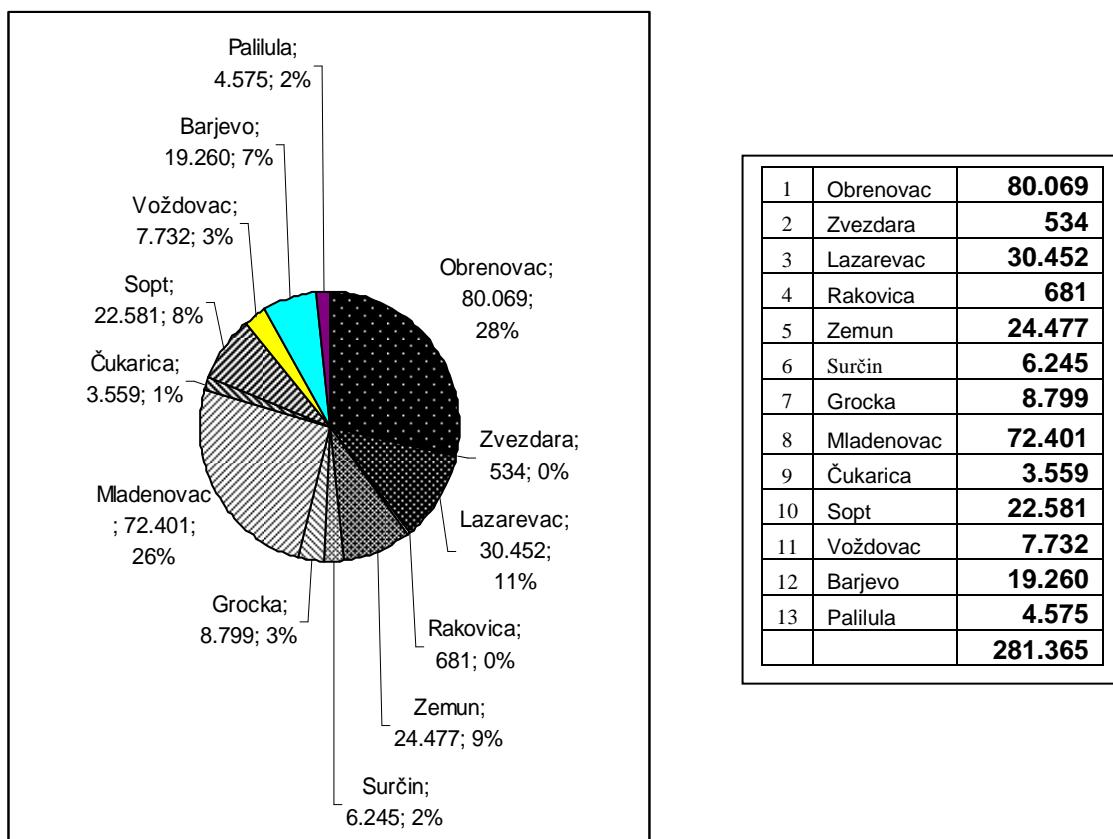
5. REZULTATI

Serološka ispitivanja na enzootsku leukozu sprovedena su u periodu od 2000. godine do 2014. godine na području 13 beogradskih opština. Ispitivanja su zbog složenosti organizacije uzorkovanja i nadzora celog posla, u zavisnosti od načina stočarske proizvodnje realizovana u različitom obimu obuhvata populacije goveda. Obuhvat je prvenstveno zavisio od načina držanja goveda i dominacije određene stočarske proizvodnje tako da se razlikuje stepen obuhvata populacije goveda po opštinama. Zbog čega smo odvojeno prikazali rezultate ispitivanja i primene mera i određenih modela na farmskom i individualnom sektoru odnosno poljoprivrednim domaćinstvima.

5.2 Epizootiološka situacija ELG-a na farmama goveda u ekstenzivnom i intenzivnom uzgoju

U proteklom periodu ispitano je 281.365 uzoraka krvi goveda i otkriveno je 687 pozitivnih grla ili 0,2 posto na području 13 prigradskih opština Beograda.

Histogram 1. Grafički prikaz seroloških ispitivanja goveda u ekstenzivnom uzgoju

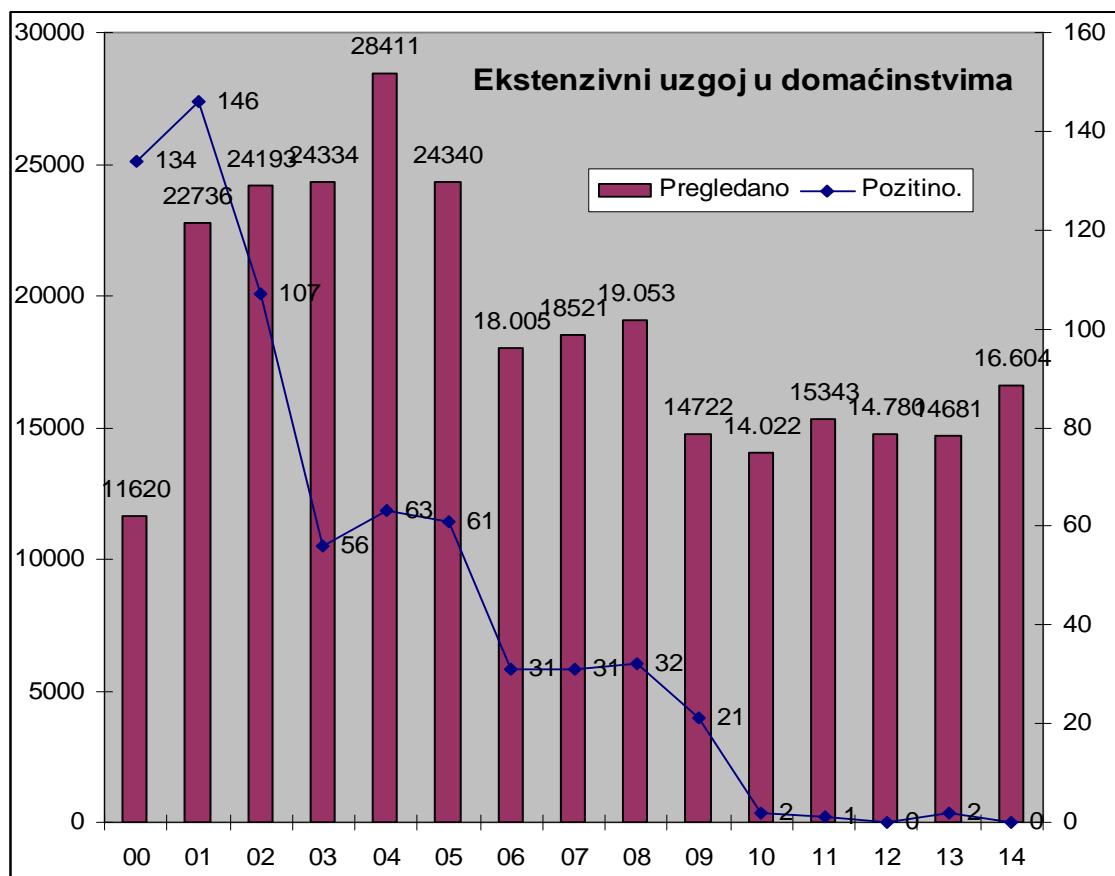


Dobijeni podaci ukazuju na zanačajne oscilacije u broju ispitanih životinja, ali broj pozitivnih reaktora je u stalnom opadanju što se posebno odnosi na period od 2002 do 2006.godine (histogram 1 i 2).

Na problem raširenosti leukoze u zapatima goveda na individualnom sektoru u Vojvodini su ukazivali Pavlović R. i sr.(1984, 1985). Posebno su istakli potrebu da se izradi plan izučavanja epizootiologije, odnosno kontrole kretanja leukoze u trakozvanim leukoznim zapatima koji predstavljaju potencijalne izvore širenja leukoze na celom području pokrajine.

Histogram 2. Grafički prikaz odnosa broja pregledanih goveda i kretanja stope novoinficiranih goveda virusom ELG i godišnje prevalencije u funkciji vremena za period 2000-2014. u ekstenzivnom uzgoju na epizootiološkom području Beograda

NIVS	00	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14
Pregledano	11620	22736	24193	24334	28411	24340	18.005	18521	19.053	14722	14.022	15343	14.780	14681	16.604
Pozitino.	134	146	107	56	63	61	31	31	32	21	2	1	0	2	0
Prevalecija	1,15	0,64	0,44	0,23	0,22	0,25	0,17	0,17	0,17	0,14	0,01	0,01	0,00	0,01	0,00



Na većini velikih farmi goveda na kojima je ispitivana populacija mlečnih priplodnih goveda ispitivanja su prihvaćena od strane vlasnika i obuhvat populace je bio visok. Mada i tu

postoje izvesne razlike posebno na početku sprovođenja programa kad još nije postojalo poverenje vlasnika u sprovođenje mera i rešenost da se sa programom istraje do kraja, odnosno do postizanja konačnog statusa ovih farmi. Pregledi su sprovođeni u više navrata u toku kalendarske godine. Za razliku od velikih farmi, na mini farmama individualnih vlasnika životinje su pregledane jedanput godišnje i sa nešto slabijim obuhvatom populacije posebno kada su mlađe kategorije goveda u pitanju. Goveda u individualnom sektoru se pretežno drže na vezu kako odrasle tako i mlađe kategorije i telad, ovakvim načinom držanja su ograničeni kontakti između životinja i mogućnosti povređivanja obzirom da se kod nas tradicionalno goveda ne obezrožavaju.

Nakon tri godine sprovođenja programa u ekstenzivnom uzgoju godišnja prevalencija je sa 1,1% smanjena na 0,4%. Tada je od 2002. godine i promenjena strategija u sprovođenju dijagnostičkih. Naime od tada su serološkim pregledom o državnom trošku ispitivana samo goveda starija od 24 meseca.

Na velikim farmama seroprevalencija je još uvek bila relativno visoka uprkos činjenici da je na farmama kombinata ukupna godišnja prevalencija značajno smanjena sa 23,5 % samnjena je na 0,5% smatrali smo da je to još uvek relativno visoko. Te da je zbog visoke stope incidence bolesti u stadima goveda na farmama još uvek rano da bi se prekinulo sa dijagnostičkim pregledima priplodnih junica. Osim toga postojala je još uvek stalna potreba za proizvodnjom priplodnih junica za čiju proizvodnju još uvek nije bilo zapata slobodnih od ELG koji bi zadovoljili potrebe svih gazdinstava u kombinatu. *Osim toga odrasla priplodna goveda (krave i junice) su držana na vezu dok su mlađe kategorije bile u grupnim biksevima gde su postojali česti kontakti između životinja zbog čega je i mogućnost prenosa kontaktom između životinja bila izraženija nego kod odraslih (Kobayashi 2010).* Tako da smo nastavili sa ispitivanjima mlađih kategorija goveda.

Nakon šest godina od početka sprovođenja programa broj inficiranih goveda je značajno smanjen odnosno smanjena je prevalencija i incidencija bolesti. Većina stada na farmama kombinata PKB nisu imale ni jednu serološki pozitivnu životinju prilikom pregleda.

Postizanjem statusa promenjena je i strategija kontrole bolesti na farmama tako da su pregledima od 2006. godine obuhvaćena samo priplodna goveda starija od 24 meseca. Velike

farme koje su poslovale izvan sistema PKB kombinata sprovodile su programe kontrole odnosno modele prilagođene njihovim zahtevima i potrebama.

Serološka ispitivanja goveda na ELG sprovedena su u sklopu realizacije programa mera zdravstvene zaštite životinja. Takođe i u postupku suzbijanja i iskorenjivanja ELG-a u zaraženim dvorištima, kada se postupalo prema Pravilniku o merama za suzbijanje i iskorenjivanje enzootske leukoze goveda. U toku sprovođenja programa kontrole i eradicacije više puta je menjana strategije, odnosno menjane su starosne kategorije obuhvaćene skrinigom. Promene su vršene u skladu sa izvršenom analizom rizka, odnosno sa opadanjem stepena epizootiološkog rizika. Zbog promene strategije sprovedene skriniga ugroženih kategorija, pregled je prvenstveno bio usmeren na krave starije od dve godine. Ove odluke su imale uticaja na dinamiku bolesti i efikasnost primena mera prevashodno na farmama individualnih poljoprivrednih domaćinstava.

Kada je u pitanju iskorenjivanje ELG na farma PKB najpre je prethodilo donošenje odluke menadžmenta kompanije o promeni poslovne politike i primeni strategije iskorenjivanja ELG kao i da se ova politika sproveđe do kraja. Mi smo se sa naše strane trudili da modele koje smo predložili, prilagodimo zahtevima i ekonomskim mogućnostima farmi korporacije. Korporacija je shvatila koje su prednosti sprovođenja ove politike i ovog programa tako da promene odluka državne uprave nisu previše uticale na tok realizacije posebnih programa koje smo izradili za velike farme. Ovi programi su sprovedeni po predviđenom planu i dinamici u kontinuitetu. Prateće troškove i gubitke farme su sufinsansirale same i uz pomoć države. Farme koje nisu bile u sistemu PKB korporacije od samog početka sprovođenja programa nisu podržale istu politiku i ovi strategiju zbog čega su rezultati u primeni mera na njima izostali. Kasnije su bile prinuđene da promene svoju poslovnu politiku i prihvate strategiju koju smo im predložili. Kao posledica ovih odluka došlo je do promene i postizanja očekivanih dobrih rezulta.

U **tabelama 1-75** sadržanih u prilogu, prikazan je obim seroloških ispitivanja u poljoprivrednim gazdinstvima sa ekstenzivnim načinom uzgoja goveda u posmatranom vremenskom periodu od 2000-2014. godine. Prikaz je sistematizovan po godinama istraživanja sa prostornom distribucijom za svaku opštinu po naseljenim mestima gde ima goveda i gde su ispitivanja vršena.

Iz prikazanih podataka u tabelama može se zapaziti da je najslabiji odaziv i obim obuhvata ispitivanjima bio u prvoj godini sprovođenja programa ispitivanja, kada je obuhvaćeno

tek nešto oko polovine ciljane populacije priplodnih goveda starijih od 12 meseci. U kasnijim godinama ispitivanja taj je procenat znatno porastao, tako da je u 2004. godini dostigao gotovo idealan nivo. U ovom periodu može se smatrati, da se započelo sa sitematskim ispitivanjima raširenosti ELG-a kod nas, a pri tome je najveći deo rizične populacije i bio obuhvaćen pregledom odnosno nadzorom.

Do ovog perioda kada je kontrola na ELG postala sistemska mera finansirana od strane države pregledi na ELG su sprovedeni uglavnom na farmama goveda u društvenoj svojini dok je u individualnom ekstenzivnom držanju goveda propisima bila predviđena kontrola svake 5. godine, potom svake 3. godine, odnosno planirani su pregledi 30% populacije goveda svake godine. Međutim pregledi nisu sprovedeni, a zakonskih konsekvensi za to nije bilo.

Ovi projekti u poslednjoj deceniji prošlog veka uglavnom nisu sprovedeni što je najčešće pravdano nedostatkom materijalnih sredstava. Glavni razlog zbog čega nisu sprovedene mere predviđene pravilnikom i programom, bilo je nepoznavanje prave prirode bolesti i epizootiološke situacije kod nas od strane stručne javnosti. Odnosno nepoznavanje uticaja enzotske leukoze na govedarstvo i značaj njenog iskorenjivanja za stočarsku proizvodnju od strane šire stručne javnosti vlasnika farmi i stočara. Zahvaljujući ovakvom stanju ELG je nastavila da se širi najpre na velikim farmama kasnije prodajom njihovih priplodnih junica i krava, a sa njih i na ekstenzivan i polu intenzivan uzgoj goveda što je u radu i pokazano.

Obe posmatrane populacije goveda se razlikuju po svojoj strukturi bez obzira što pripadaju istoj vrsti. Populacija goveda u ekstenzivnom uzgoju ima karakteristike *odvojene populacije*, jer kao i farmska goveda egzistiraju u stadima odnosno u odvojenim jedinicama, ali se dosta i razlikuju. Ona poseduju i neke osobine koje nisu karakteristične za farmski način držanja životinja, već su karakteristične za *kontinualne populacije*. Pa tako imaju česte kontakte sa drugim vrstama životinja, takođe česti su kontakti između stada (domaćinstava), česta su uvodenja novih životinja u stada i dr.

Prilikom rada i obrade podataka, naselja su predstavljala osnovne epizootiološke jedinice. Stado su činila sva goveda u jednom naseljenom mestu što je sa epizootiološkog aspekta jedino bilo ispravno imajući u vidu uređenje naselja, način držanja životinja, običaje i navike stanovništva. Ova populacija goveda poseduje osobine koje su karakteristične za *kontinualne populacije*, a ona preovlađuje u ovim epizootiološkim jedinicama. Odvojene populacije goveda

farmskog tipa bile su retke njihov broj je zanemarljiv u poljoprivrednim domaćinstvima, ali čak i tamo gde su prisutne one imaju određene karakteristike kontinualne populacije.

Većina naselja u području gde su vršena ispitivanja su ušorena sa jakim socijalnim vezama između domaćinstava. Česti su međusobni kontakti stanovnika između domaćinstava, sa takođe izraženim mogućnostima čestih direktnih i indirektnih kontakata između životinja. Često se obavlja promet životinja između domaćinstava kao i razmena proizvoda i dobara. Takođe, česte su intervencije na životnjama i međusobno pomaganje između domaćinstava prilikom teljenja, lečenja, ali i prilikom drugih aktivnosti. Prisutna je i široko raširena praksa prirodnog pripusta bikova na krave koje teže koncipiraju odnosno ostaju steone što predstavlja posebnu vrstu epizootiološkog rizika. Posebno zbog činjenice da bikovi ne podležu redovim kontrolnim pregledima na ELG već posebnim kao priplodne životinje. Ovi dodatni pregledi gotovo nikada nisu inicirani od strane vlasnika životinja. Ove životinje odnosno bikovi su zapravo tovne životinje koje se povremeno koriste iz nužde kao priplodne zbog čega vlasnici nisu motivisani da ih pregledaju posebno, jer se pregledi za ovu kategoriju životinja naplaćuju od vlasnika. Zbog čega postoji u izvesnoj meri i nepoverenje i strah kod vlasnika da se nešto ne otkrije. Ova okolnost predstavljala dodatni epizootiološki rizik koji nije moguće isključiti.

Iz navedinih razloga podaci o broju pregledanih goveda i domaćinstava kao i broju pozitivnih goveda i domaćinstvima prikazani su posebno za svako naseljeno mesto i opštinu zbirno.

5.2. Prevalencija i incidencija

Jedan od najčešće korišćenih pokazatelja poremećaja zdravlja je prevalencija. *U ovom radu je prevalencija korišćena da bi se istražio prirodni tok bolesti i uticaj primenjenih mera kontrole ELG na gradijent infekcije i dinamiku bolesti u stadima. Godišnja prevalencija (P)* bolesti je praćena i iskazivana u funkciji vremena posebno za svako naseljeno mesto i stado goveda u njemu.

$$P = \frac{\text{Broj novo obolelih X}}{\text{Populacija pod rizikom (X+Y)}} \times 100$$

Prevalencija se iskazuje kao broj novoobolelih životinja u odnosu na posmatranu ispitivanu populaciju, a pošto je u ovom slučaju brojilac uključen u imanilac to je *proporcija* brojeva ove dve grupe životinja i njihov odnos u funkciji vremena.

Tabelama u prostornoj distribuciji prikazani su podaci za svaku opštinu sa naseljima u njenom satavu kao i celo epizootiološko područje Beograda u funkciji vremena posmatranog petnaestogodišnjeg perioda ispitivanja. Prikazan je obim ispitivanja, broj serološki ispitanih i broj pozitivnih goveda kao i broj uklonjenih pozitivnih reaktora izvora infekcije u postupku iskorenjivanja enzootske leukoze goveda.

Osim u prvoj godini ispitivanja kada je ispitano za ovu vrstu i cilj ispitivanja nezadovoljavajući broj goveda, u svim ostalim godinama ispitivanja su bila uspešna, a oscilacije koje su nastajale izazavane su fluktuacijama u proizvodnji goveda i promeni državne strategije finasiranja obuhvata mlađih kategorija goveda čime je povećavan ili smanjivan broj pregledanih goveda na individualnom sektoru.

Pri ispitivanjima u nekim područjima nastale su promene u definisanju kategorije starosti životinja za pregled. Prag starosti spušten je ispod 12 meseci, za 1-2 meseca, što nije imalo većeg uticaja na rezultate kvaliteta obuhvata , već je proširilo ispitivanu populaciju.

Tabela 5. Serološka ispitivanja goveda AGID testom na ELG u intenzivnom uzgoju goveda u 1997. godini prikazana prema kategorijama goveda

1997	KRAVE			JUNICE			TELAD			UKUPNO		
	ukupno	+	%	ukupno	+	%	ukupno	+	%	ukupno	+	%
DUNAVAC	1147	30	2,61	314	8	2,54	260	11	4,23	1721	49	2,8
KOVILOVO	1444	20	1,38	518	7	1,35	268	12	4,47	2230	39	1,7
LEPUŠNICA	1386	75	5,41	1399	44	3,14				2785	119	4,2
J.RIT	1901	47	2,47	340	8	2,35	184	5	2,71	2425	60	2,4
P.PRELAZ	1683	191	11,34	961	42	4,37				2644	233	8,8
PIONIR	1863	260	13,95	746	36	4,82				2609	296	11,3
P.SKELA	1070	26	2,42	730	22	3,01	319	8	2,50	2119	56	2,6
OBRENOVAC	416	71	17,06	437	26	5,94				853	97	11,3
	10910	720	6,59	5445	193	3,5	1031	36	3,5	17386	949	5,4

Tabela 6. Serološka ispitivanja goveda AGID testom na ELG u intenzivnom uzgoju goveda u 1998. godini prikazana prema kategorijama goveda

1998	KRAVE			JUNICE			TELAD			UKUPNO		
	ukupno	+	%	ukupno	+	%	ukupno	+	%	ukupno	+	%
DUNAVAC										1078	122	11,3
KOVILOVO										1291	20	1,55
LEPUŠNICA										1279	122	9,53
J.RIT										1826	84	4,6
P.PRELAZ	1638	191	11,66	246	10	4,06				1929	201	10,4
PIONIR										854	13	1,5
P.SKELA										2400	26	1,0
BUDUĆNOST												
7. JULI												
STUBLINE												
MLADOST OBRENOVAC												
										10657	588	5,5

Tabela 7. Serološka ispitivanja goveda na ELG u intenzivnom uzgoju goveda u 1999. godini prikazana prema kategorijama goveda

1999	KRAVE			JUNICE			TELAD			UKUPNO		
	ukupno	+	%	ukupno	+	%	ukupno	+	%	ukupno	+	%
DUNAVAC	1287	380	29,5	674	60	8,9	377	14	3,7	2338	454	19,4
KOVILOVO	1452	544	37,4	662	91	13,7	/	/	/	2114	635	30
LEPUŠNICA	1508	726	48,1	833	11	13,2	/	/	/	2341	837	35,7
J.RIT	1824	430	23,5	355	50	14	181	8	4,4	2360	488	20,6
P.PRELAZ	1916	632	32,9	1716	150	9,6	/	/	/	3632	782	21,5
PIONIR	1872	772	41,2	1388	207	14,9	163	12	7,36	3423	991	28,9
P.SKELA	1117	186	16,6	1586	61	3,8	/	/	/	2703	247	9,1
BUDUĆNOST	/	/	/	/	/	/	/	/	/	2467	789	31,9
7. JULI	/	/	/	/	/	/	/	/	/	930	187	20
STUBLINE	/	/	/	/	/	/	/	/	/	310	135	43,5
MLADOST OBRENOVAC	/	/	/	/	/	/	/	/	/	472	164	34,7
	10976	3670	33,4	7214	630	8,7	721	34	4,7	24617	5709	23,2

Tabela 8. Serološka ispitivanja goveda na ELG u intenzivnom uzgoju goveda u 2000. godini prikazana prema kategorijama goveda

2000	KRAVE			JUNICE			TELAD			UKUPNO		
	ukupno	+	%	ukupno	+	%	Ukupno	+	%	ukupno	+	%
DUNAVAC	878	96	10,9	200	19	9,5	309	42	13,6	1387	157	11,3
KOVILOVO	857	89	10,4	439	23	5,2	275	41	14,9	1571	153	9,7
LEPUŠNICA	928	139	15	763	25	3,3	/	/		1691	164	9,7
J.RIT	1564	88	5,6	683	36	5,3	117	1	0,9	2364	125	5,3
P.PRELAZ	1334	115	8,6	728	129	17,7	171	41	24	2233	285	12,8
PIONIR	1298	221	17	136	13	9,6	430	43	10	1864	277	14,9
P.SKELA	1215	17	1,4	985	3	0,3	200	1	0,5	2400	21	0,9
BUDUĆNOST	896	398	44,4	742	189	25,4	/	/		1638	587	35,8
7. JULI	/	/		880	94	10,6	39	10	25,6	919	104	11,3
STUBLINE	/	/		/	/		/	/		/		
MLADOST OBRENOVAC	/	/		/	/		/	/		/		

Tabela 9. Serološka ispitivanja goveda na ELG u intenzivnom uzgoju goveda u 2001. godini prikazana prema kategorijama goveda

2001	KRAVE			JUNICE			TELAD			UKUPNO		
	ukupno	+	%									
DUNAVAC	1614	18	1,0	666	8	1,2	186	12	6,4	2466	38	1,5
KOVILOVO	1997	32	1,6	571	28	4,9	/	/	/	2568	60	2,3
LEPUŠNICA	2568	57	2,2	365	2	0,5	/	/	/	2933	59	2,0
J.RIT	2540	28	1,1	340	2	0,5	/	/	/	2880	30	1,0
P.PRELAZ	3480	73	2,0	361	6	1,6	154	11	7,1	3995	90	2,2
PIONIR	2153	69	3,2	136	8	5,8	150	3	2	2439	80	3,2
P.SKELA	2713	4	0,1	1022	0		/	/	/	3735	4	0,1
BUDUĆNOST	/	/		/	/		/	/	/	/	/	/
7. JULI	/	/		/	/		/	/	/	403	13	3,2
STUBLINE	/	/		/	/		/	/	/	/	/	/
MLADOST OBRENOVAC	/	/		/	/		/	/	/	/	/	/

Tabela 10. Serološka ispitivanja goveda na ELG u intenzivnom uzgoju goveda u 2002. godini prikazana prema kategorijama goveda

2002	KRAVE			JUNICE			TELAD			UKUPNO		
	ukupno	+	%	ukupno	+	%	Ukupno	+	%	ukupno	+	%
DUNAVAC	1720	5	0,29	578	13	2,2	65	0	/	2363	18	0,7
KOVILOVO	2146	12	0,5	527	1	0,18	/	/	/	2673	13	0,4
LEPUŠNICA	2775	22	0,8	462	3	0,64	/	/	/	3237	25	0,7
J.RIT	3439	20	0,58	/	/	/	78	0	/	3517	20	0,5
P.PRELAZ	3779	8	0,2	707	3	0,42	/	/	/	4486	11	0,2
PIONIR	1913	13	0,6	146	0	/	197	0	/	2256	13	0,5
P.SKELA	1033	0		626	/	/	68	0	/	1637	0	0
BUDUĆNOST	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
7.JULI	799	17	2,1	/	/	/	/	/	/	799	17	2,1
STUBLINE	204	61	30	/	/	/	/	/	/	204	61	29,9
MLADOST OBRENOVAC	324	38	11,7	/	/	/	/	/	/	324	38	11,7

Tabela 11. Serološka ispitivanja goveda na ELG u intenzivnom uzgoju goveda u 2003. godini prikazana prema kategorijama goveda

2003	KRAVE			JUNICE			TELAD			UKUPNO		
	ukupno	+	%	ukupno	+	%	Ukupno	+	%	ukupno	+	%
DUNAVAC	1001	0	0	469	0	0	/	/	/	1470	0	0
KOVILOVO	776	0	0	558	1	0,17	/	/	/	1334	1	0,07
LEPUŠNICA	1425	5	0,35	373	0	0	/	/	/	1798	5	0,27
J.RIT	3045	8	0,26	69	0	0	84	0	0	3198	8	0,25
P.PRELAZ	1796	0	0	378	0	0	/	/	/	2174	0	0
PIONIR	997	2	0,2	552	0	0	/	/	/	1549	2	0,12
P.SKELA	1124	0	0	852	0	0	/	/	/	1976	0	0
BUDUĆNOST	1090	749	68,7	/	/	/	/	/	/	1090	749	68,7
7. JULI	406	2	0,5	/	/	/	/	/	/	406	2	0,49
STUBLINE	116	47	40,5	/	/	/	/	/	/	116	47	40,5
MLADOST OBRENOVAC	308	129	41,8	/	/	/	/	/	/	308	129	41,8
13 MAJ												

Tabela 12. Serološka ispitivanja goveda na ELG u intenzivnom uzgoju goveda u 2004. godini prikazana prema kategorijama goveda

2004	KRAVE			JUNICE			TELAD			UKUPNO		
	ukupno	+	%	ukupno	+	%	Ukupno	+	%	ukupno	+	%
DUNAVAC	985	0	0	772	0	0	/	/	/	1757	0	0
KOVILOVO	1315	0	0	390	0	0	/	/	/	1705	0	0
LEPUŠNICA	2506	0	0	377	0	0	/	/	/	2883	0	0
J.RIT	1838	0	0	48	0	0	/	/	/	1886	0	0
P.PRELAZ	1427	0	0	103	0		/	/	/	1530	0	0
PIONIR	2248	9	0,4	1056	2	0,18	/	/	/	3304	11	0,33
P.SKELA	1756	0	0	222	0	0	/	/	/	1978	0	0
BUDUĆNOST	807	295	36,5	/	/	/	/	/	/	807	295	36,5
7. JULI	446	0	0	416	1	0,2	/	/	/	862	1	0,11
STUBLINE	116	56	48	/	/	/	/	/	/	116	56	48,2
MLADOST OBRENOVAC	214	98	45,7	/	/	/	/	/	/	214	98	45,7
13 MAJ	421	/	/	219	/	/				640	/	/

Tabela 13. Serološka ispitivanja goveda na ELG u intenzivnom uzgoju goveda u 2005. godini prikazana prema kategorijama goveda

2005	KRAVE			JUNICE			TELAD			UKUPNO		
	ukupno	+	%	ukupno	+	%	Ukupno	+	%	ukupno	+	%
DUNAVAC	1.103									1.103		
KOVILOVO	1.350									1.350		
LEPUŠNICA	2.455	1	0,04							2.455	1	
J.RIT	1.754									1.754		
P.PRELAZ	1.453									1.453		
PIONIR	2.154	2	0,09							2.154	2	
P.SKELA	1.552									1.552		
Ukupno	11.821									11.821	3	0,02
BUDUĆNOST	1734	1125	64,8							2270	1125	49,5
7. JULI	/	/										
STUBLINE	386	116		30	6					416	122	29,3
MLADOST OBRENOVAC	93	14										
13 MAJ	807	/	/	/	/	/				807	/	/

Tabela 14. Serološka ispitivanja goveda na ELG u intenzivnom uzgoju goveda u periodu od 1998 – 2004. godine

Farme	1998*			1999			2000			2001			2002			2003			2004		
	Σ	+	%	Σ	+	%	Σ	+	%	Σ	+	%	Σ	+	%	Σ	+	%	Σ	+	%
DUNAVAC	1078	122	11,3	2338	454	19,4	1387	157	11,3	2466	38	1,5	2363	18	0,7	1470	0	0	1757	0	0
KOVILOVO	1291	20	1,55	2114	635	30,0	1571	153	9,7	2568	60	2,3	2673	13	0,4	1334	1	0,07	1705	0	0
LEPUŠNICA	1279	122	9,5	2341	837	35,7	1691	164	9,6	2933	59	2,0	3237	25	0,7	1798	5	0,27	2883	0	0
J.RIT	1826	84	4,6	2360	488	20,6	2364	125	5,3	2880	30	1,0	3517	20	0,5	3198	8	0,25	1886	0	0
P.PRELAZ	1929	201	10,4	3632	782	21,5	2233	258	12,8	3995	90	2,2	4486	11	0,2	2174	0	0	1530	0	0
PIONIR	854	13	1,5	3423	991	28,9	1864	277	14,9	2439	80	3,2	2256	13	0,5	1549	2	0,12	3304	11	0,3
P.SKELA	2400	26	1,0	2703	247	9,1	2400	21	0,9	3735	4	0,1	1637	0	/	1976	0	0	1978	0	0
Ukupno	10.657	588	5,5	18.911	4434	23,5	13.510	1155	8,5	21.016	361	1,7	20.169	100	0,5	13.499	16	0,1	15.043	11	0,07
7 JULI	/	/	/	930	187	20	919	104	11,3	660	13	3,2	799	17	2,14	406	2	0,46	862	1	0,1
BUDUĆNOST	/	/	/	2467	789	31,9	1638	587	35,8	0	0	/	0	0	/	1090	749	68,9	807	295	36,5
STUBLINE	/	/	/	310	135	43,5	0	0	/	0	0	/	204	61	29,9	116	47	40,5	116	56	48,2
MLADOST OBRENOVAC	/	/	/	472	164	34,7	0	0	/	331	44	13,3	324	38	11,7	308	129	41,8	214	98	45,7
13 MAJ	/	/	/	/	/	/	1452	0	/	1389	0	/	1379	0	/	150	0	/	1206	0	/
Ukupno:	10657	588	5,5	23090	5709	24,7	17.519	1846	10,5	23.378	418	1,8	22.875	216	1,0	15.569	943	6,0	18.248	461	2,5

*Ispitivanja izvršena AGID testom

Tabela 15. Serološka ispitivanja goveda na ELG u intenzivnom uzgoju goveda u periodu od 2005 – 2009. godine

Farme	2005			2006			2007			2008			2009		
	Ukupno krava	Poz. gov.	Preval-encija	Ukupno krava	Poz. gov.	Preval-encija	Ukupno krava	Poz. gov.	Preval-encija	Ukupno krava	Poz. gov.	Preval-encija	Ukupno krava	Poz. gov.	Preval-encija
Dunavac	1.103			1072			1.051			988			1.213		
Kovilovo	1.350			1153			1.124			1.100			1.306		
Lepušnica Glogonjski rit	2.455	1	0,04	1372			1.417			1.399			1.592		
Jabučki rit	1.754			1615			1.535			1.644			1.711		
Vrbovsko	1.453			1328			1.451			1.377			1.496		
Pionir B. fok	2.154	2	0,09	1125	1	0,09	1.112			1.276			1.408		
P.skela	1.552			1166			1.213			1.231			1.282		
7 juli	323			282			178			288			182		
Ukupno PKB	12.144	3	0,02	9.113	1	0,01	9.081			9.303			10.190		
13 maj	807	0	/	512	0	/	430	0	/	0			0		
Budućnost (BD Agro)	1734	1125	64,88	1.759	1.069	60,77	1370	245	17,74	700***	8	1,14	1.677		
Stubline	416	122	29,32	0	**		0			162***	8*	4,94			
Mladost	93	14	15,05	512	86	16,8	354	6	1,30	383			337		
Ukupno:	15.194	1.187	7,8	11.896	1.156	9,7	11.235	251	2,2	9.848	8*	0,08	12.204		

Ukupno krava starijih od 24 ms.

P- Prevalencija (%)

*** - pozitivna grla iz uvoza u karantinu**

****- ugašena proizvodnja negativna goveda preseljena na farmu Mladost**

*****- ispitivanja izvršena u karantinu uvezenih junica (životinje iz jednog karantinskog turnusa su prikazane crvenim brojkama)**

Tabela 16. Serološka ispitivanja goveda na ELG u intenzivnom uzgoju goveda u periodu od 2010 – 2014. godine

Farme	2010			2011			2012			2013			2014		
	Ukupno krava	Poz. gov.	Preval-encija												
Dunavac	1.306			3.198			1.344	1 s		1.549			1.369		
Kovilovo	1.528			1.950			1.536			1.514			1.597		
Lepušnica Glogonjski rit	1.345			1.413			1.993	2 s		1.753			1.833		
Jabučki rit	1.738			2.091			2.044			1.951			1.844		
Vrbovsko	1.653			1.685			1.590			2.866			2.743		
Pionir B. fok	1.290			1.683			1.609			481			0**		
P.skela	1.480			1.269			1.513			1.612			1.679		
7 juli	184	1s		264			283			157			210		
Ukupno PKB	10.524			13.553			11.912			11.726			11.065		
Budućnost (BD Agro)	1.100			1.533			1.349			884	1	0,11	617		
Mladost	680			598			487			437			381		
Ukupno:	12.304			15.684			13.748			13.047	1	0,007	12.063		

Ukupno krava starijih od 24 ms.

P- Prevalencija (%)

**- Promenjena vrsta proizvodnje - tov priplodna goveda preseljena na novu faramu

S - sumnja koja nije potvrđena

Tabela 17. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u periodu od 2000– 2005. godine

	2000			2001			2002			2003			2004			2005		
	Σ	+	%	Σ	+	%	Σ	+	%	Σ	+	%	Σ	+	%	Σ	+	%
Obrenovac	3994	40	1	6423	39	0,60	6547	35	0,53	6049	15	0,24	6999	9	0,12	7553	15	0,7
Zvezdara	53	3	5,66	49	7	14,28	50	1	2	61	2	3,27	82	1	1,21	70	2	2,86
Rakovica	164	1	0,60	0	0	/	78	6	7,69	67	2	2,98	61	0	/	53	1	1,89
Lazarevac	770	5	0,64	3202	10	0,31	3110	7	0,22	2865	2	0,06	3213	0	/	1981	1	0,05
Čukarica	274	1	0,36	326	0	/	462	1	0,21	333	0	/	380	0	/	401	1	0,25
Zemun	1583	64	4,04	2320	66	2,84	2277	31	1,36	2546	23	0,90	3372	22	0,65	2552	31	1,21
Grocka	788	8	1,01	1036	8	0,77	963	6	0,62	848	2	0,23	819	0	/	645	3	0,46
Mladenovac	3187	5	0,15	6295	7	0,11	7391	11	0,14	7758	2	0,02	7595	1	0,01	5895	4	0,07
Sopot	157	0	0	1325	2	0,15	1181	0	/	1441	4	0,27	2109	0	/	2058	3	0,14
Voždovac	270	4	0,01	385	3	0,77	582	5	0,85	869	1	0,11	844	0	/	944	0	/
Barajevo	294	0	0	1074	3	0,27	1225	2	0,16	1265	1	0,07	2478	0	/	1737	1	0,05
Palilula	86	3	3,48	301	1	0,33	327	2	0,61	232	2	0,43	459	22	4,8	451	4	0,9
Ukupno:	11620	134	1,1	22736	146	0,6	24193	107	0,4	24334	56	0,2	28411	55	0,2	24340	66	0,27

Tabela 18. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u periodu od 2006– 2010. godine

Opština	2006			2007			2008			2009			2010		
	Ukupno krava	Poz. gov.	Preval-encija	Ukupno krava	Poz. gov.	Preval-encija	Ukupno krava	Poz. gov.	Preval-encija	Ukupno krava	Poz. gov.	Preval-encija	Ukupno krava	Poz. gov.	Preval-encija
Obrenovac	5.421	6	0,11	5578	9	0,16	6441	1	0,02	3.443	3	0,09	4.460		
Lazarevac	1.816	1	0,06	2137	0	/	1685	0	/	1.568			1.558		
Zemun	1.109	1	0,09	1159	0	/	1186	3	0,25	1.156	4	0,35	800	2	0,25
Surčin	777	15	1,93	715	14	1,96	664	2	0,30	571	3	0,53	362		
Grocka	525	1	0,19	507	0	/	477	0	/	319			369		
Mladenovac	4.595	2	0,04	4239	0	/	4156	3	0,07	3.801	2	0,05	3.013		
Čukarica	201	0	/	210	0	/	184	0	/	150			294		
Sopot	1.179	1	0,08	1528	1	0,06	1844	0	/	1.544			1.406		
Voždovac	557	1	0,18	539	0	/	572	0	/	433			394		
Rakovica	43	0	/	38	0	/	3	0	/	30			31		
Barajevo	1.365	1	0,07	1445	4	0,22	1437	0	/	1.399			1.087		
Zvezdara	44	0		28	1	3,57	17	0	/	15			16		
Palilula	373	2	0,54	398	2	0,37	387	23	5,94	293	9	3,07	232		
Ukupno:	18.005	31	0,17	18521	31	0,17	19.053	32	0,16	14722	21	0,14	14.022	2	0,01

Ukupno krava starijih od 24 ms.

P- Prevalencija (%)

Tabela 19. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u periodu od 2011– 2014. godine

Naziv mesta	2011			2012			2013			2014		
	Ukupno krava	Poz. gov.	Preval-encija	Ukupno krava	Poz. gov.	Preval-encija	Ukupno krava	Poz. gov.	Preval-encija	Ukupno krava	Poz. gov.	Preval-encija
Obrenovac	4.604			4.266			4.076	1	0,02	4.215		
Lazarevac	1.641			1.657			1.421			1.828		
Zemun	1.052	2	0,19	1.053			1.118			1.194		
Surčin	567			423			425			1.741		
Grocka	381			386			389			347		
Mladenovac	3.542	1	0,03	3.482			3.603			3.849		
Čukarica	85			112			110			37		
Sopot	1.713			1.599			1.791			1.706		
Voždovac	356			356			310	1	0,32	321		
Rakovica	30			37			27			19		
Barajevo	1.069			1.116			1.153			1.116		
Zvezdara	12			11			11			15		
Palilula	291			282			247			216		
Ukupno:	15343	3	0,02	14.780	0	0,00	14681	2	0,01	16.604	0	0,00

Ukupno krava starijih od 24 ms.

P- Prevalencija (%)

U cilju kontrole bolesti serološka ispitivanja na ELG na farmama goveda sa intenzivnim uzgojem sprovedena su od donošenja pravilnika duži niz godina čak više decenija na društvenim i državnim farmama velikih poljoprivrednih kombinata.

Međutim očekivani rezultati od ispitivanja i sprovedenih mera su uglavnom izostali. Ispitivanja uglavnom nisu sprovedena sistematski dok mere za kontrolu i eradicaciju nisu bile dovoljno efikasne, pa su se rezultati njihove primene uglavnom svodili na suzbijanje bolesti, a ne na eradicaciju.

Serološka ispitivanja prikazana u ovom radu odnose se na period od 1999 – 2014. godine kada je na većini farmi na kojima je sproveden program kontrole i eradicacije, leukoza uglavnom svedena na pojedinačne slučajeve ili je iskorenjena.

U tabelama **5-16.** prikazana su ispitivanja sprovedena na farmama goveda, epizootiološkog područja grada Beograda.

Sistem ispitivanja na ovim farmama razlikuje se od opisanog programa ispitivanja u ekstenzivnom uzgoju goveda koji je prikazan u tabelama **17-19.**

Sam program koji se na njima sprovodio do 2000. godine nije se mnogo razlikovao od ispitivanja i programa koji su u to vreme primenjivani u celoj zemlji. Ovaj sistem ispitivanja je više korišćen za kontrolu i suzbijanje bolesti, pri čemu nije pokazao posebnu efikasnost, imajući u vidu da su ove farme zapravo bile glavni izvori daljeg širenja ELG-a na celu zemlju i pored sproveđenja dijagnostičkih ispitivanja i programa kontrole bolesti.

Kako su ove farme bile zaražene enzootskom leukozom goveda na njima su ispitivanja od 2000. godine rađena po posebnom programu koji je za ove potrebe izradio NIVS Beograd pri čemu je on uspešno testiran i prikazan u ovim rezultatima.

U tabelama **5-13.** prikazana su ispitivanja sprovedena na pojedinim farmama kao i rezultati ispitivanja sistematizivani po godinama i mesecima ispitivanja kao i po kategorijama ispitivanih životinja i dobijenim rezultatima.

Našim ispitivanjima na farmama goveda u intenzivnom uzgoju u periodu od 15 godina (od 1999 do 2014. godine) obuhvaćeno je 11 farmi i pregledano je ukupno 125.521 uzoraka krvi. Rezultati serološkog ispitivanja pokazuju da je otkriveno 10.181 pozitivnih reaktora,

odnosno 8,1 posto životinja u ispitivanim zapatima goveda. Kontrolom zapata goveda Crvene danske rase hematološkim pregledom dobijeni su slični rezultati (Stamatović, 1969).

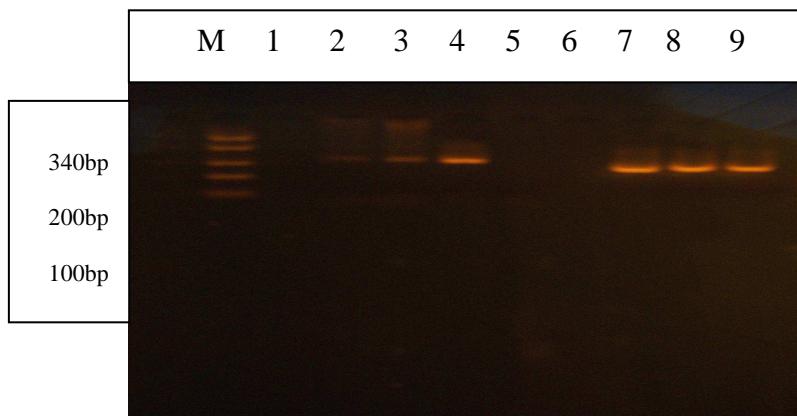
Dinamika ispitivanja se nije uvek odvijala u vremenski predviđenim intervalima-rokovima najčešće iz materijalnih razloga odnosno nabavke dijagnostičkih sredstava i cene koštanja, međutim sva ispitivana grla su kontinuirano pregledana.

Rukovodstva ovih farmi iskazivala su zainteresovanost i motivaciju za uspešno sprovođenje programa. Za razliku od prethodnih decenija kada se tome pružao izvestan otpor usled nerazumevanja prirode bolesti, a što je rezultiralo širenjem ELG uprkos kontroli i primeni mera koje su se pokazale kao neadekvatne ili nedovoljne.

Nakon ispitivanja koja su sprovedena ranijih godina zbog nedovoljne osjetljivosti dijagnostičkih metoda ostajao je veći broj pozitivnih reaktora koji je bio dovoljan za dalje širenje bolesti unutar zapata kao i eksterno širenje bolesti izvan farmi prodajom inficiranih, nepregledanih ili serološki (AGID) negativnih goveda. Posebno u uslovima kada na farmama nisu postojale ili se nisu poštovale mere asepse i antisepse u veterinarskom radu i pružanju usluga kao i sprovođenju nekih zootehničkih mera prilikom gajenja i eksploracije goveda.

5.3. Molekularna detekcija i identifikacija virusa ELG nested -PCR

Nested-PCR reakcijom je izvršena multiplikacija specifičnog genomskog segmenta iz biološkog materijala limfocita poreklom iz krvi dužine 335 nt *env* gena, a njihova vizuelizacija elektroforezom na 2% agaroznom gelu u 1X TAE puferu sa dodatkom etidium bromida kao indikatora. Bendovi određenih dužina su prikazani na slici **Slika 26**.



Slika 26. Elektroforeza na 2% agaroznom gelu umnoženih produkata reakcije "nested" PCR veličine 340bp. **M:** 100bp DNK marker, **2,3,4,7,8:** pozitivni uzorci, **1:** negativna kontrola, **9:** pozitivna kontrola

Prilikom odabira uzorka za molekularnu dijagnostiku i sekvenciranje env regionalnog BLV genoma uzorke smo ispitivali koristeći više dijagnostičkih metoda. Tako smo i jedan broj uzorka krvi goveda ispitivali i hemetološki odredivši njihovu diferencijalnu krvnu sliku. Kod većine ispitivanih goveda bila je izražana leukocitozi što se iz Tabele 20. u kojoj su prikazana uporedna ispitivanja može videti

Tabela. 20. Retultati uporednih analiza

No	ID	Zemlja	Starost meseci	ELISA skrin.	ELISA comf.	Broj limfocita $\times 10^9 / l$	PCR outer	PCR nested	Sekvence
1	7209	Srbija	41	+	+	14,19	poz	poz	
2	3052	Srbija	40	+	+	5,65	poz	poz	poz
3	3050	Srbija	38	+	+	11,47	poz	poz	
4	3069	Srbija	40	+	+	10	poz	poz	
5	7206	Srbija	38	+	+	6,49	poz	poz	
6	3058	Srbija	38	+	+	12,33	poz	poz	
7	3063	Srbija	38	+	+	12,96	poz	poz	poz
8	3057	Srbija	26	+	+	11,85	poz	poz	
9	7200	Srbija	27	+	+	11,36	poz	poz	
10	202	Srbija	27	+	+	11,05	poz	poz	
11	3059	Srbija	37	+	+	7,14	poz	poz	poz
12	7204	Srbija	34	+	+	16,07	poz	poz	poz
13	3051	Srbija	33	+	+	13,85	poz	poz	
14	7208	Srbija	32	+	+	19,5	poz	poz	poz
15	9468294	Canada	20	+	+	5,81	poz	poz	
16	7671602	Canada	18	+	+	9,09	poz	poz	poz
17	7827127	Canada	21	+	+	4,59	poz	poz	
18	7869222	Canada	22	+	+	7,36	poz	poz	
19	7882113	Canada	24	+	+	6,08	poz	poz	
20	7948784	Canada	20	+	+	8,13	poz	poz	
21	7813660	Canada	21	+	+	8,31	poz	poz	poz
22	7997713	Canada	18	+	+	8,57	poz	poz	

5.4. Sekvenciranje

Sekvenciranjem purifikovanih produkata PCR reakcije sprovedeno je korišćenjem *BigDye Terminator v.1.1 CycleSequencing* kita. Dobijene skvence su potom očitavane u genetskom analizatoru *ABI Prism 310* dobijene su sekvene *ENV* fragmenata genoma virusa ELG. Prikazane nukleotidne sekvene u MEGA formatu su poređane upotreboom programa Clustal W iz paketa MEGA v.3.1.

5.4.1. Nukleotidne sekvene

Nukleotidne sekvenci env regionala BLV dužine 335nt

	GGA	GCC	AGG	GCC	ATG	GTC	ACA	TAT	GAT	TGC	GAG	CCC	CGA	TGC	CCT	TAT	[48]
1 B_leukemia_virus_Australian_isolate	...				G..												[48]
2 B_leukemia_virus_env	G..												[48]
3 B_leukemia_virus_Zanjan_env	G..												[48]
4 B_leukemia_virus_Varamin_env	G..												[48]
5 B_leukemia_virus_Tehran_env	G..												[48]
6 B_leukemia_virus_Kurdistan_env	C..	...	G..												[48]
7 B_leukemia_virus_Isfahan_env												[48]
8 B_leukemia_virus_Shahrekhord_env	G..												[48]
9 B_leukemia_virus_Belgian_type_256_env												[48]
10 B_leukemia_virus_Belgian_type_237_env												[48]
11 B_leukemia_virus_Belgian_type_147_envG											[48]
12 B_leukemia_virus_Belgian_type_112_env												[48]
13 B_leukemia_virus_Belgian_type_105_env												[48]
14 B_leukemia_virus_Belgian_type_58_envT.											[48]
15 B_leukemia_virus_Belgian_type_54_envC			[48]
16 B_leukemia_virus_Belgian_type_9_env												[48]
17 B_leukemia_virus_Belgian_type_8_envG											[48]
18 B_leukemia_virus_Belgian_type_301_env												[48]
19 B_leukemia_virus_Australian_type_103												[48]
20 B_leukemia_virus_Australian_type_154												[48]
21 B_leukemia_virus_Australian_type_15.												[48]
22 B_leukemia_virus_Australian_type_146												[48]
23 B_leukemia_virus_BLVgp01+gag-pro-pol												[48]
24 B_leukemia_virus_JPMI-3_envelope_gly												[48]
25 B_leukemia_virus_JPMI-2_envelope_gly	A.	...												[48]
26 B_leukemia_virus_JPMI-1_envelope_gly												[48]
27 B_leukemia_virus_JPKA-2_envelope_gly												[48]
28 B_leukemia_virus_JPKA-1_envelope_gly												[48]
29 B_leukemia_virus_USPA_envelope_glyco												[48]
30 B_leukemia_virus_CRLC-1_envelope_gly	A..												[48]
31 B_leukemia_virus_CRLC-2_envelope_gly												[48]
32 B_leukemia_virus_G4+gag-pro-pol+rex												[48]
33 B_leukemia_virus_gag+pol+env												[48]
34 bomm												[48]
35 32srb												[48]
36 Can35												[48]
37 Can73												[48]

1	B_leukemia_virus_Australian_isolate	...	CTC	AAA	CAA	TGT	CAT	GGA	ATT	TTC	ACT	CTA	ACC	TGG	GAG	ATA	TGG	GGA	[192]
2	B_leukemia_virus_env	AA.	...	[192]		
3	B_leukemia_virus_Zanjan_env	AA.	...	[192]		
4	B_leukemia_virus_Varamin_env	AA.	...	[192]		
5	B_leukemia_virus_Tehran_env	AA.	...	[192]		
6	B_leukemia_virus_Kurdistan_env	AA.	...	[192]		
7	B_leukemia_virus_Isfahan_env	A..	...	[192]		
8	B_leukemia_virus_Shahrekord_env	AA.	...	[192]		
9	B_leukemia_virus_Belgian_type_256_env	A.	...	[192]		
10	B_leukemia_virus_Belgian_type_237_env	A.	...	[192]		
11	B_leukemia_virus_Belgian_type_147_env	A.	...	[192]		
12	B_leukemia_virus_Belgian_type_112_env	A.	...	[192]		
13	B_leukemia_virus_Belgian_type_105_env	A.	...	[192]		
14	B_leukemia_virus_Belgian_type_58_envG	T..	A.	...	[192]		
15	B_leukemia_virus_Belgian_type_54_env	G..	A.	...	[192]		
16	B_leukemia_virus_Belgian_type_9_env	A.	...	[192]		
17	B_leukemia_virus_Belgian_type_8_env	A.	...	[192]		
18	B_leukemia_virus_Belgian_type_301_env	A.	...	[192]		
19	B_leukemia_virus_Australian_type_103G	A.	...	[192]		
20	B_leukemia_virus_Australian_type_154C	A.	...	[192]		
21	B_leukemia_virus_Australian_type_15C	A.	...	[192]		
22	B_leukemia_virus_Australian_type_146C	A.	...	[192]		
23	B_leukemia_virus_BLVgp01+gag+pro-pol	A.	...	[192]		
24	B_leukemia_virus_JPMI-3_envelope_gly	[192]		
25	B_leukemia_virus_JPMI-2_envelope_gly	[192]		
26	B_leukemia_virus_JPMI-1_envelope_gly	[192]		
27	B_leukemia_virus_JPKA-2_envelope_gly	[192]		
28	B_leukemia_virus_JPKA-1_envelope_gly	[192]		
29	B_leukemia_virus_USPA_envelope_glycoT	[192]		
30	B_leukemia_virus_CRLC-1_envelope_glyC	[192]		
31	B_leukemia_virus_CRLC-2_envelope_glyC	[192]		
32	B_leukemia_virus_G4+gag+pro-pol+rexT	[192]		
33	B_leukemia_virus_gag+pol+env	[192]		
34	bommT	[192]		
35	32srb	A.	...	[192]		
36	Can35	[192]		
37	Can73C	[192]		

1	B_leukemia_virus_Australian_isolate	...	TAT	GAT	CCC	CTG	ATC	ACC	TTT	TCT	TTA	CAT	AAG	ATC	CCT	GAT	CCC	CCT	[240]
2	B_leukemia_virus_envT.	...	[240]	
3	B_leukemia_virus_Zanjan_envT.	.T.	[240]	
4	B_leukemia_virus_Varamin_envT.	...	[240]	
5	B_leukemia_virus_Tehran_envT.	...	[240]	
6	B_leukemia_virus_Kurdistan_envC	A..T.	...	[240]	
7	B_leukemia_virus_Isfahan_env	[240]	
8	B_leukemia_virus_Shahrekord_envT.	[240]	
9	B_leukemia_virus_Belgian_type_256_env	[240]	
10	B_leukemia_virus_Belgian_type_237_env	[240]	
11	B_leukemia_virus_Belgian_type_147_env	A.	...	[240]	
12	B_leukemia_virus_Belgian_type_112_env	A.	[240]	
13	B_leukemia_virus_Belgian_type_105_env	A.	[240]	
14	B_leukemia_virus_Belgian_type_58_env	A.	[240]	
15	B_leukemia_virus_Belgian_type_54_env	A.	[240]	
16	B_leukemia_virus_Belgian_type_9_env	A.	T.	...	[240]	
17	B_leukemia_virus_Belgian_type_8_env	A.	[240]	
18	B_leukemia_virus_Belgian_type_301_env	A.	[240]	
19	B_leukemia_virus_Australian_type_103C	A.	[240]	
20	B_leukemia_virus_Australian_type_154C	A.	[240]	
21	B_leukemia_virus_Australian_type_15C	A.	[240]	
22	B_leukemia_virus_Australian_type_146C	A.	[240]	
23	B_leukemia_virus_BLVgp01+gag+pro-pol	A.	[240]	
24	B_leukemia_virus_JPMI-3_envelope_gly	[240]	
25	B_leukemia_virus_JPMI-2_envelope_gly	T..	[240]	
26	B_leukemia_virus_JPMI-1_envelope_gly	[240]	
27	B_leukemia_virus_JPKA-2_envelope_gly	[240]	
28	B_leukemia_virus_JPKA-1_envelope_gly	[240]	
29	B_leukemia_virus_USPA_envelope_glyco	[240]	
30	B_leukemia_virus_CRLC-1_envelope_gly	A.C	[240]	
31	B_leukemia_virus_CRLC-2_envelope_gly	A.	..C	..C	[240]	
32	B_leukemia_virus_G4+gag+pro-pol+rex	[240]	
33	B_leukemia_virus_gag+pol+env	[240]	
34	bomm	[240]	
35	32srb	A.	[240]	
36	Can35	[240]	
37	Can73	[240]	

1	B_leukemia_virus_Australian_isolate	...	CAA	CCC	GAC	TTT	CCC	CAG	TTG	AAC	AGT	GAC	TTG	GTT	CCC	TCT	GTC	AGA	[288]
2	B_leukemia_virus_envTA	[288]
3	B_leukemia_virus_Zanjan_envTA	[288]
4	B_leukemia_virus_Varamin_envTA	[288]
5	B_leukemia_virus_Tehran_envTA	[288]
6	B_leukemia_virus_Kurdistan_envTAA	[288]
7	B_leukemia_virus_Isfahan_env	[288]
8	B_leukemia_virus_Shahrekord_env	..G	.TA	[288]
9	B_leukemia_virus_Belgian_type_256_env	.G.C	.T	G..	[288]
10	B_leukemia_virus_Belgian_type_237_envC	.T	C..	[288]
11	B_leukemia_virus_Belgian_type_147_envC	.T	C..	[288]
12	B_leukemia_virus_Belgian_type_112_envC	.T	C..	[288]
13	B_leukemia_virus_Belgian_type_105_envC	.T	C..	[288]
14	B_leukemia_virus_Belgian_type_58_envC	.T	C..	[288]
15	B_leukemia_virus_Belgian_type_54_envC	.T	C..	[288]
16	B_leukemia_virus_Belgian_type_9_envC	.T	C..	[288]
17	B_leukemia_virus_Belgian_type_8_env	[288]
18	B_leukemia_virus_Belgian_type_301_env	..C	[288]
19	B_leukemia_virus_Australian_type_103	[288]
20	B_leukemia_virus_Australian_type_154	[288]
21	B_leukemia_virus_Australian_type_15	[288]
22	B_leukemia_virus_Australian_type_146	[288]
23	B_leukemia_virus_BLVgp01+gag-pro-pol	[288]
24	B_leukemia_virus_JPMI-3_envelope_gly	[288]
25	B_leukemia_virus_JPMI-2_envelope_gly	[288]
26	B_leukemia_virus_JPMI-1_envelope_gly	[288]
27	B_leukemia_virus_JPKA-2_envelope_gly	..G	[288]
28	B_leukemia_virus_JPKA-1_envelope_gly	[288]
29	B_leukemia_virus_USPA_envelope_glyco	[288]
30	B_leukemia_virus_CRLC-1_envelope_glyC	.T	C..	[288]
31	B_leukemia_virus_CRLC-2_envelope_glyC	.T	C..	[288]
32	B_leukemia_virus_G4+gag-pro-pol+rex	[288]
33	B_leukemia_virus_gag+pol+env	[288]
34	bomm	[288]
35	32srbC	.T	AG	[288]	
36	Can35	AG	[288]
37	Can73	AG	[288]
1	B_leukemia_virus_Australian_isolate	...	TCA	TGG	GCC	STG	CTT	TTA	AAT	CAA	ACA	GCA	CGG	GCC	TTC	CCA	GAC	TG	[335]
2	B_leukemia_virus_env	[335]
3	B_leukemia_virus_Zanjan_env	[335]
4	B_leukemia_virus_Varamin_env	[335]
5	B_leukemia_virus_Tehran_env	[335]
6	B_leukemia_virus_Kurdistan_env	A..	[335]
7	B_leukemia_virus_Isfahan_env	[335]
8	B_leukemia_virus_Shahrekord_env	[335]
9	B_leukemia_virus_Belgian_type_256_envG	[335]
10	B_leukemia_virus_Belgian_type_237_env	..CG	[335]
11	B_leukemia_virus_Belgian_type_147_env	.CG	[335]
12	B_leukemia_virus_Belgian_type_112_envG	[335]
13	B_leukemia_virus_Belgian_type_105_envG	[335]
14	B_leukemia_virus_Belgian_type_58_envG	[335]
15	B_leukemia_virus_Belgian_type_54_envG	[335]
16	B_leukemia_virus_Belgian_type_9_envG	[335]
17	B_leukemia_virus_Belgian_type_8_envG	[335]
18	B_leukemia_virus_Belgian_type_301_env	..CG	T..	[335]
19	B_leukemia_virus_Australian_type_103G	[335]
20	B_leukemia_virus_Australian_type_154G	[335]
21	B_leukemia_virus_Australian_type_15G	[335]
22	B_leukemia_virus_Australian_type_146G	[335]
23	B_leukemia_virus_BLVgp01+gag-pro-polG	[335]
24	B_leukemia_virus_JPMI-3_envelope_gly	[335]
25	B_leukemia_virus_JPMI-2_envelope_gly	[335]
26	B_leukemia_virus_JPMI-1_envelope_gly	[335]
27	B_leukemia_virus_JPKA-2_envelope_gly	[335]
28	B_leukemia_virus_JPKA-1_envelope_gly	[335]
29	B_leukemia_virus_USPA_envelope_glycoC	[335]
30	B_leukemia_virus_CRLC-1_envelope_gly	C..G	[335]
31	B_leukemia_virus_CRLC-2_envelope_gly	C..	.C	.G	[335]	
32	B_leukemia_virus_G4+gag-pro-pol+rexC	[335]
33	B_leukemia_virus_gag+pol+env	[335]
34	bommC	[335]
35	32srb	..CG	T..	[335]
36	Can35	..CG	T..	[335]
37	Can73	..CG	T..	[335]

Nukleotidne sekvene env regiona BLV dužine 335nt

Struktura nukleinskih kiselina i DNK nije konstantna, nego je podložna mutacijama. To je deo procesa prirodne selekcije i način na koji nove prilagođenije vrste organizama nastaju od starijih "roditelja". Neki od tipova mutacija su supstitucija, insercija/delecija i inverzija. U toku procesa mutacije nastaje jedinstven nukleotidni zapis koji se može koristiti za identifikaciju i utvrđivanje srodnosti. Da bismo mogle razmatrati ove mogućnosti i koristiti nukliotidne zapise u određene svrhe potrebno je izvršiti **poravnavanje DNK sekvenci** radi upoređivanja.

Poravnavanje se može izvršiti **globalno** poravnavanjem celokupnih sekvenci ili **lokalno** poravnavanjem regionala visoke sličnosti. Poravnavanjem određujemo koliko su dve skvence DNK "udaljene" jedna od druge. Najjednostavniji algoritam za poravnavanje razmatra samo supstitucije kao moguće mutacije. Udaljenost se onda računa kao Hamming distanca između sekvenci i to je broj mesta na kojima se nukleotidi razlikuju. Za poravnavanje većeg broja sekvenci koristi se CLUSTAL algoritam progresivnog poravnavanja.

UPGMA algoritam koji primenjuje pristup rastojanja, ovaj algoritam koristi matricu udaljenosti koja drži "udaljenosti" između svih parova sekveci. UPGMA algoritam se koristi za izradu *stabala navođenja* za CLUSTAL algoritam. Algoritam je zasnovan na aritmetičkoj sredini svih udaljenosti kao meri za razdaljinu između dva skupa.

5.4.2 Distance između nukleotidnih sekvenci

D1: Distance između nukleotidnih sekvenci env regionala BLV dužine 335nt

Distance	[1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35]
[1] #B_leukemia_virus_Australian_isolate...	[1]
[2] #B_leukemia_virus_env	[2] 6
[3] #B_leukemia_virus_Zanjan_env	[3] 8 2
[4] #B_leukemia_virus_Varamin_env	[4] 6 0 2
[5] #B_leukemia_virus_Tehran_env	[5] 6 0 2 0
[6] #B_leukemia_virus_Kurdistan_env	[6] 14 8 10 8 8
[7] #B_leukemia_virus_Isfahan_env	[7] 1 5 7 5 5 13
[8] #B_leukemia_virus_Shahrekhord_env	[8] 9 3 5 3 3 11 8
[9] #B_leukemia_virus_Belgian_type_256_env	[9] 11 16 18 16 16 24 12 19
[10] #B_leukemia_virus_Belgian_type_237_env	[10] 11 16 18 16 16 24 12 19 5
[11] #B_leukemia_virus_Belgian_type_147_env	[11] 12 17 19 17 17 25 13 20 6 1
[12] #B_leukemia_virus_Belgian_type_112_env	[12] 9 14 16 14 14 22 10 17 3 2 3
[13] #B_leukemia_virus_Belgian_type_105_env	[13] 10 15 17 15 15 23 11 18 4 3 4 1
[14] #B_leukemia_virus_Belgian_type_58_env	[14] 13 18 20 18 18 26 14 21 7 6 7 4 5
[15] #B_leukemia_virus_Belgian_type_54_env	[15] 12 17 19 17 17 25 13 20 4 5 6 3 4 7
[16] #B_leukemia_virus_Belgian_type_9_env	[16] 10 15 17 15 15 23 11 18 4 3 4 1 2 5 4
[17] #B_leukemia_virus_Belgian_type_8_env	[17] 13 18 20 18 18 26 14 21 7 2 1 4 5 8 7 5
[18] #B_leukemia_virus_Belgian_type_301_env	[18] 11 16 18 16 16 24 12 19 5 0 1 2 3 6 5 3 2
[19] #B_leukemia_virus_Australian_type_103...	[19] 9 14 16 14 14 22 10 17 8 8 9 6 7 10 9 7 10 8
[20] #B_leukemia_virus_Australian_type_154...	[20] 10 15 17 15 15 22 11 18 9 9 10 7 8 11 10 8 11 9 3
[21] #B_leukemia_virus_Australian_type_151...	[21] 10 15 17 15 15 22 11 18 9 9 10 7 8 11 10 8 11 9 3 0
[22] #B_leukemia_virus_Australian_type_146...	[22] 10 15 17 15 15 22 11 18 9 9 10 7 8 11 10 8 11 9 3 0 0
[23] #B_leukemia_virus_BLVgp01+gag-pro-pol.	[23] 10 15 17 15 15 23 11 18 4 3 4 1 2 5 4 0 5 3 7 8 8 8
[24] #B_leukemia_virus_JPMI-3_envelope_gly...	[24] 3 9 11 9 9 17 4 12 10 12 13 10 11 14 13 11 14 12 10 11 11 11 11
[25] #B_leukemia_virus_JPMI-2_envelope_gly...	[25] 6 12 14 12 12 20 7 15 15 15 16 13 14 17 16 14 17 15 13 14 14 14 14 5
[26] #B_leukemia_virus_JPMI-1_envelope_gly...	[26] 2 8 10 8 8 16 3 11 11 11 12 9 10 13 12 10 13 11 9 10 10 10 10 1 4
[27] #B_leukemia_virus_JPKA-2_envelope_gly...	[27] 2 8 10 8 8 16 3 11 9 11 12 9 10 13 12 10 13 11 9 10 10 10 10 1 6 2
[28] #B_leukemia_virus_JPKA-1_envelope_gly...	[28] 3 9 11 9 9 17 4 12 12 12 13 10 11 14 13 11 14 12 10 11 11 11 11 4 7 3 3
[29] #B_leukemia_virus_USPA_envelope_glyco...	[29] 4 10 12 10 10 18 5 13 13 13 14 11 12 15 14 12 15 13 11 12 12 12 12 5 8 4 4 5
[30] #B_leukemia_virus_CRLC-1_envelope_gly...	[30] 13 18 20 18 18 26 14 21 13 10 11 10 11 14 13 11 12 10 12 13 13 13 11 14 17 13 13 14 15
[31] #B_leukemia_virus_CRLC-2_envelope_gly...	[31] 13 18 20 18 18 26 14 21 13 12 13 10 11 14 13 11 14 12 12 13 13 13 11 14 17 13 13 14 13 4
[32] #B_leukemia_virus_G4+gag-pro-pol+rex+..	[32] 3 9 11 9 9 17 4 12 12 12 13 10 11 14 13 11 14 12 10 11 11 11 11 4 7 3 3 4 1 14 12
[33] #B_leukemia_virus_gag+pol+env	[33] 3 9 11 9 9 17 4 12 12 12 13 10 11 14 13 11 14 12 10 11 11 11 11 2 5 1 3 2 5 14 14 4
[34] #bomm	[34] 3 9 11 9 9 17 4 12 12 12 13 10 11 14 13 11 14 12 10 11 11 11 11 4 7 3 3 4 1 14 12 0 4
[35] #32srb	[35] 13 18 20 18 18 26 14 21 8 4 5 6 7 10 9 7 6 4 10 11 11 11 7 14 17 13 13 14 15 14 16 14 14 14
[36] #Can35	[36] 6 12 14 12 12 20 7 15 13 9 10 11 12 15 14 12 11 9 11 12 12 12 12 7 10 6 6 7 8 13 15 7 7 7 7 7
[37] #Can73	[37] 7 13 15 13 13 21 8 16 14 10 11 12 13 16 15 13 12 10 12 13 13 13 8 11 7 7 8 9 12 14 8 8 8 8 1

Srednja vrednost distance 10

Poređenjem izolata očigledno je da u izvesnom stepenu postoji homologija upoređivanih izolata. Srednja vrednost distance između upoređivanih predmetnih nukleotidnih sekvenci sa sekvencama iste srodne grupe virusa iznosi 10. Ovo ukazuje na visok stepen varijabilnosti pripadnika srodnih podgrupe virusa BLV. Sa evolutivnog aspekta, ovako izraženi diverzitet je i očekivan, obzirom da se radi o populacijama virusima koje su geografski dosta udaljene, i koje su i u relativno dugom vremenskom periodu odvojene. Upoređivane su skvence belgijskih, australijskih, iranskih, srpskih i kanadskih izolata i radilo se o virusima koji su geografski vrlo udaljeni. Analizom env sekvenci BLV iz različitih

područja sveta otkriva se prisustvo različitih genteskih grupa koje utiču na geografsko poreklo virusa (Camargos M.F. 2002; Zhao X, Buerhing G.C. 2007).

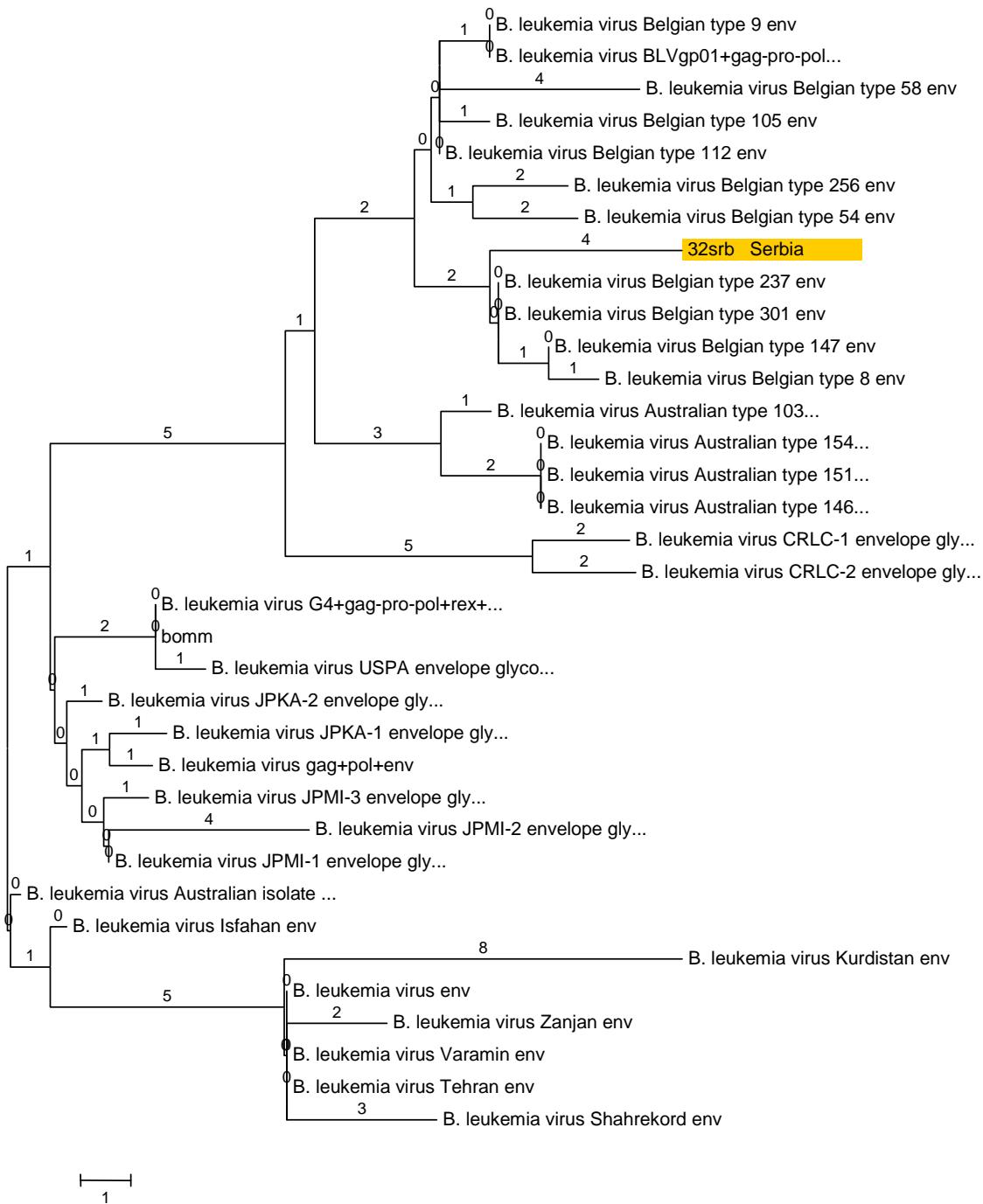
D2: Distance između nukleotidnih sekvenci env regionala BLV dužine 335nt

Distance	[1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12]
[1] #B._leukemia_virus_Australian_isolate_...	[1]
[2] #B._leukemia_virus_Belgian_type_256_env	[2] 0
[3] #B._leukemia_virus_Belgian_type_237_env	[3] 5
[4] #B._leukemia_virus_Belgian_type_147_env	[4] 6 1
[5] #B._leukemia_virus_Belgian_type_112_env	[5] 3 2 3
[6] #B._leukemia_virus_Belgian_type_105_env	[6] 4 3 4 1
[7] #B._leukemia_virus_Belgian_type_58_env	[7] 7 6 7 4 5
[8] #B._leukemia_virus_Belgian_type_54_env	[8] 4 5 6 3 4 7
[9] #B._leukemia_virus_Belgian_type_9_env	[9] 4 3 4 1 2 5 4
[10] #B._leukemia_virus_Belgian_type_8_env	[10] 7 2 1 4 5 8 7 5
[11] #B._leukemia_virus_Belgian_type_301_env	[11] 5 0 1 2 3 6 5 3 2
[12] #32srB	[12] 8 4 5 6 7 10 9 7 6 4

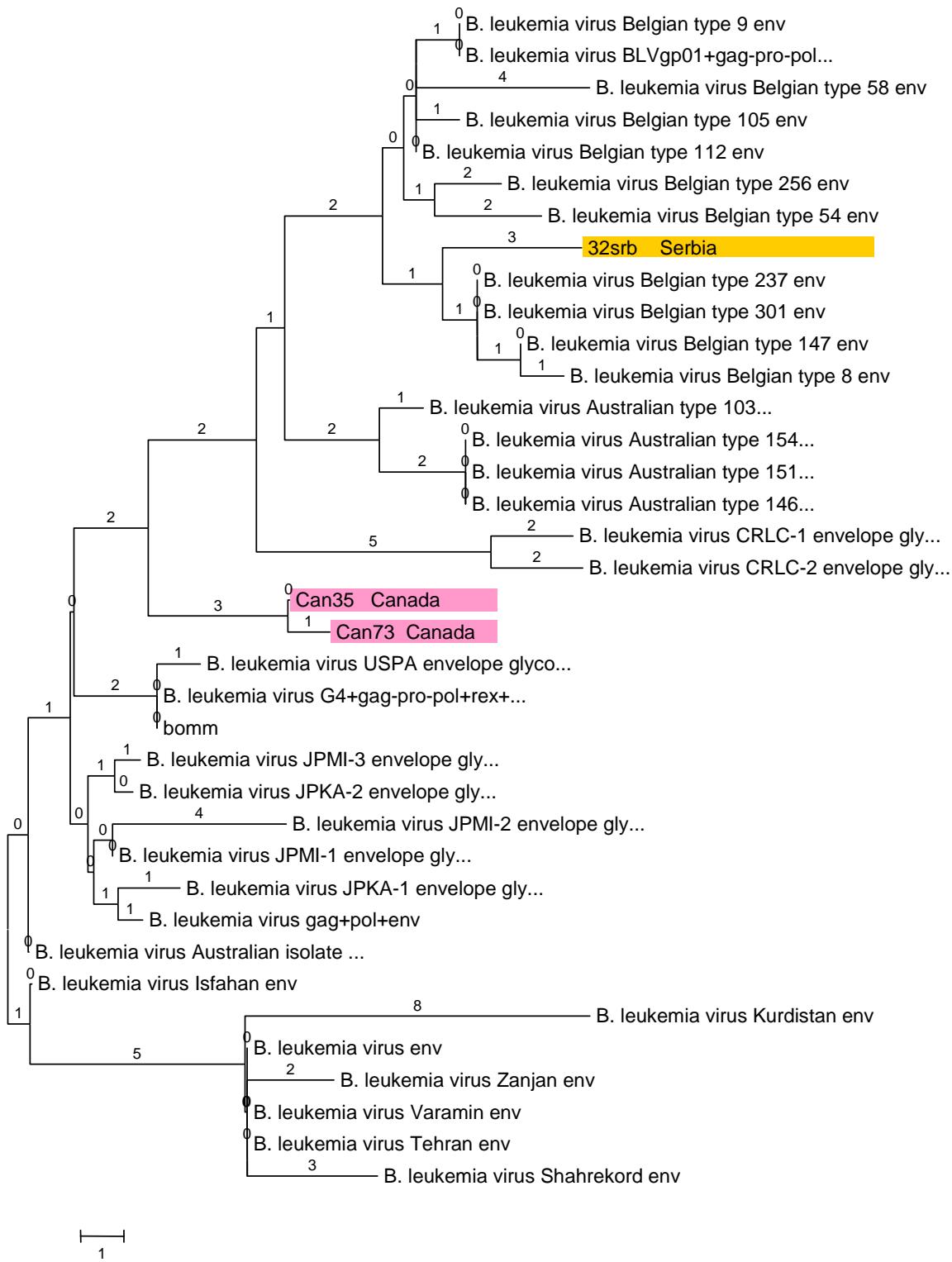
Srednja vrednost distance 4(ne uključujući sekvencu br. 12)

Sa druge strane, analizom pripadnika podgrupe **belgijskih izolata** registrovan je niži stepen varijabilnosti numerički iskazan srednjom vrednosti distance između sekvenci koja iznosi **4**. Uočljiva je i bliska srodnost naših izolata sa ovom grupom sa kojima naš izolat deli i neke iste nukleotidne izmene-supstitucije. Ukoliko se uključi i naš izolat, srednja vrednost distance se menja na oko **5** što je vrednost koje je i dalje za preko 50% manja u odnosu na prethodnu grupu. Odnosno veća je varijabilnost između grupa. Povećanje srednje vrednosti distance sa našim izolatom ukazuje na izvesnu evolucionu udaljenost od ove srodne grupe sa našim izolatima. Podgrupa belgijskih izolata pokazuje viši stepen homologije unutar podgrupe i sa našim sojevima virusa. Što potvrđuje pripadnost domaćih izolata belgiskoj podgrupi. Ovim nalazom su potvrđene i prethodne epizootiološke studije koje su pojavu ELG kod naših goveda povezivale sa uvozom goveda Crveno-danske rase iz Nemačke, Danske, Holandije, SAD, Kanade i Izraela.(Stamatović S. 1983).

5.4.3 Filogenetska stabla



Dendrogram 1: Filogenetsko stablo env regiona BLGV dužine 335nt (Neighbor-Joining, 100rep., random seed 123, bootstrap test)



Neighbor-Joining metodom rekonstruisana su filogenetska stabla prikazana na dendrogramima 1 i 2. Filogenetska stabla pokazuju izdvajanje tri klastera, odnosno grupisanje u tri podgrupe, belgiska, australijska i iranska, grupisanje uglavnom prati geografsko poreklo mada u pojedinim podgrupama postoje subklasteri izolata u koji su svrstani uprkos različitom geografskom poreklu. Kao što je kanadski izolat koji je bliži australiskim izolatima što ukazuje na malu genetičku udaljenost sirkvenci. Procent identičnosti odnosno poklapanja nukleotidnih sekvenca nekih izolata bliskih našem izoletu mogu se vidi se u Tabele 21.

Tabela 21. Procenat identičnosti nukleotidnih sekvenca srodnih izolata iz NCBI baze gena sa ispitivanom sekvencom enve regijona našeg izolata

Izolat N12G8K88014	Belgiski tip 237	Belgiski tip 301	Belgiski tip 147	Belgiski tip 8	Belgiski tip 112	Belgiski tip 58	Belgiski tip 54	Belgiski tip 105	Belgiski tip 256
srb 32	98%	98%	98%	98%	98%	98%	98%	97%	97%

Stepen divergencije našeg izolata sa belgijskim sojevima iznosi 98-97% odnosno 2-3% dok je sa ostalim upoređivanim izolatima ona bila znatno veća.

6. DISKUSIJA

Rezultati naših ispitivanja u proteklom periodu 2000 do 2014. godine, obavljenim na državnim i privatnim farmama kao i u individualnim poljoprivrednim gazdinstvima jasno ukazuju da je enzootska leukoza značajan zdravstveni problem u govedarstvu. Ovaj epizootiološki problem posebno je jako bio izražen na farmama sa velikim aglomeracijama mlečnih goveda i intenzivnim uzgojem goveda. Iz izloženih rezultata može se videti da je na većini velikih farmi goveda leukoza iskorenjena, ali i da se na nekim povremeno pojavljuju pojedinačni slučajevi koji zahtevaju posebnu pažnju i proveru svakog takvog slučaja pojedinačno. Izneti podaci ukazuju na značajne godišnje oscilacije u broju ispitanih životinja, ali je broj pozitivnih reaktora u stalnom opadanju. Što se može videti na histogramima 1 i 2. Posebno je uočljiv pada incidencije u periodu od 2003 do 2006.godine.

Više autora je razmatralo mnogobrojne poteškoće u sprovođenju mera za subzijanje i iskorenjivanje leukoze goveda Pavlović R. i sr. (1984, 1985). Posebno su istakli potrebu da se izradi plan izučavanja epizootiologije, odnosno kontrole kretanja leukoze u trakozvanim leukoznim zapatima koji predstavljaju potencijalne izvore širenja leukoze.

Rezultati ispitivanja pokazuju da je leukoza goveda prisutna kako na državnim farmama tako i na farmama goveda individualnih poljoprivrednih proizvođača. Pri tome je veoma važno da se naglasi da je na individualnom sektoru tek u toku 2004. i 2005. godine pregledom obuhvaćeno više životinja, nego što je pregledano ranijih godina. Problemi vezani za pregledе svih životinja koje predstavljaju mogući izvor infekcije (virusa) su u prvim godinama sprovođenja programa verovatno najvažniji razlog što naša saznanja i podaci o raširenosti leukoze kao i broju obolelih goveda, na individualnom privatnom sektoru na području Beograda nisu bili sasvim precizni.

Neotkrivene nosioce infekcije nazivamo epizootijski "*izgubljen slučaj*" razlozi za nastanak ovakvog slučaja mogu biti različiti od nesavršenosti laboratorijskih metoda koje se koriste, inkubacije, patogeneze bolesti, uzrasta i kategorije životinje, veličine "przora detekcije infekcije", koncepta skrininga i dr. U našem slučaju kao što smo naglasili, problemi sa prihvatanjem pregleda od starane vlasnika odnosno procenat obuhvata ciljane populacije je u prvim godinama primene programa predstavljao najveći problem koji je donosio i odgovarajući epizotiološki rizik.

Stada životinja koja su izbegla preglede u kojima je bilo nepregledanih pozitivnih životinja u znatnoj su meri otežavala sprovođenje mera na suzbijanju i iskorenjivanju leukoze na individualnom sektoru. Kao posledica ovih poteškoće javio se povećani rizik od slobodnog širenja ELG unutar stada i na druga stada zbog čega su sporije postizani povoljni rezultati u otkrivanju i uklanjanju izvora infekcije. Izvesan broj pozitivnih životinja nije otkriven prilikom prvog pregleda, jer nisu ni pregledane u prvoj godini pregleda (2000. god.) već su te životinje prvi put podvrgnute dijagnostičkom ispitivanju 2001. godine, dok su neka stada pregledana tek više godina kasnije. Nailazili smo na izolovana leukozna stada koja su i posle više godina sprovođenja programa kontrole prvi put pregledana tek 2008. godine.

U prilog tome govori i podatak da je pored povećanja broja pregledanih životinja za više od **50** % posto, procenat novootkrivenih pozitivnih grla u 2001. godini porastao samo za 7,5% posto.

Nakon četri godine od početka sprovođenja (2003, 2004. i 2005.god.) redovnih kontrola i sprovođenja mera na suzbijanju i iskorenjivanju procenat pozitivnih grla je opao za **62%** posto u odnosu na procenat obolelih na početku sprovođenja ispitivanja (2000, 2001. i 2002. god).

Za kontrolu i eradikaciju ELG u individualnim poljoprivrednim domaćinstvima sproveden je metod "**Testiraj i ulkoni**" koji se pokazao kao najefikasniji model za stada sa niskom seroprevalencijom. Međutim rezultati njegove primene nisu isti kao što su očekivani posebno ako se uporede sa rezultatima dobijeni na velikim farama što se iz priloženih podataka jasno može videti. Za postizanje istih rezultata u ekstenzivnom uzgoju bilo nam je potrebno 12 godina dok smo te rezultate na faramama postigli za 3-6. Takođe znatno je teže održati odnosno očuvati status slobodne zone ili naselje od statusa farme slobonde od ELG-a

U Finskoj je 30 godina sproveden proces dijagnostike i uklanjanja goveda oboleleih od ELG metodom "testiraj i ukloni" klanjem zaraženih i sumnjivih životinja. Postupak je bio podržavan od strane države finansijskim nadoknadama vlasnicima koji bi pristali da zaražene životinje upute na klanje. Sam proces je bio zasnovan na principu dobrovoljnosti. I pored činjenice da je Finska primenila stroge mere iskorenjivanja leukoze sam proces je bio spor (Nuotio i sr. 2003). Međutim, proces može biti i sporiji, ako se izaberu druge mere

iskorenjivanja. Iskorenjivanje leukoze u Litvaniji koja se smatra "domovinom" trajao je skoro trideset godina (Acaite.J 2007).

Putevi prenošenju virusa širenja infekcije su mnogobrojni. Sa druge strane, period od infekcije do pojave prvih kliničkih znakova je dug i u tom smislu inkubacija može trajati od 200 dana do 7 godina. To su osnovni razlozi što se leukoza lako širi i zahvata sve veći broj zdravih grla u stadima goveda u koliko se ne preduzimaju mere za njeno suzbijanje i iskorenjivanje.

6.1. Epizootiološke metode i modeli kontrole i eradikacije ELG-a

6.1.1 Tipovi i karakteristike modela primenjivanih na farmama goveda u ekstenzivnom i intenzivnom uzgoju

Načini suzbijanja i iskorenjivanja ELG razlikuju se među evropskim zemljama, ali i u drugim zemljama u svetu. Mi smo u ovom radu istraživali mogućnosti i efekte korišćenjem dve osnovne epizootiološke metode borbe protiv ELG-a i četri različita modela kontrole i eradikacije ELG-a.

1. Dijagnostikovanje i uklanjanje pozitivnih životinja:

- Testiraj i reaktore ukloni,
- Izolacije i izdvajanja obolelih i njihova eliminacija kroz pojačani godišnji remont stada,
- Izolacije i izdvajanja obolelih i njihova eliminacija kroz pojačani godišnji remont stada za farme prihvratne centre za leukozna grla,

2. Dijagnostikovanje i sprečavanje horizontalnog širenja;

- Eliminacije kroz redovni godišnji remont stada

Svaki od ispitivanih modela koji su primenjivani modifikovani su i prilagođeni određenom programu i potrbama farme. Programi se koncipiraju na osnovu utvrđene ili procenjene prevalencije i broja obolelih životinja i veličine zaraženih stada kao i na osnovu procena troškova. Programima se daju smernice i definišu potrebne mere.

Prema dobijenim rezultatima u periodu 1999. i 2000. godine, većina farmi goveda na beogradskom epizootiološkom području bila zaražena enzootskom leukozom goveda, odnosno (sve osim jedne). Na nekim farmama broj inficiranih grla je bio vrlo visok i to je bio presudni

razlog zbog čega se moralo pristupi izradi **Posebnog programa suzbijanja i iskorenjivanja** ove bolesti, čija primena ne bi ugrozila proizvodnju i opstanak farmi.

Program je predložen od strane epizootiološke službe Naučnog instituta za veterinarstvo Srbije.

U osnovi je baziran na **modelu "Izdvajanja i izolacije obolelih i njihova eliminacija kroz pojačani godišnji remont stada"** koji je zapravo modifikovani model "**Testiraj i ukloni**" odnosno primene metode uklanjanja obolelih životinja. Ovaj model je izmenjen i prilagođen tako, da se ne bi suviše brzom primenom radikalnih mera isklučivanja i uklanjanja pozitivnih krava ugrozila proizvodnja i opstanak ovih farmi. Odnosno program je omogućavao reprodukciju i obnavljanje stada priplodnim junicama koje su vodile poreklo od leukoznih majki. Zbog velikog broja pozitivnih krava nakon njihovog uklanjanja sa farmi za obnovu proizvodnje na ovim farmama na domaćem tržištu nije bilo dovoljno priplodnih junica, kao ni novčanih sredstava kojima bi se ova složena operacija zamene stada finansirala. Zbog čega smo se opredelili za proizvodnju podmladka i priplodnih junica i od leukoznih majki.

Da bismo obezbedili dovoljno kapaciteta za izdvajanje i eksploraciju pozitivnih goveda dve farme su određene da budu "prihvativni centri" za leukozna goveda. Na ovim farmama je za eliminaciju bolesti korišćen isti epizootiološki model eradikacije leukoze, kao i na ostalim farmama sa kojih su leukozna grla vodila poreklo. Rezultati eliminacije ELG u ovim farmama "prihvativnim centrima" su iz razumljivih razloga ostvarivani sporije. Međutim njihova funkcija je bila od izuzetne važnosti za postizanje dobrih rezultata na ostalim farmama kombinata PKB gde su se sprovodili programi eradikacije bolesti.

Pregledom su obuhvaćena sva grla na farmama goveda, uključujući i najmlađe kategorije. Telad ženskog pola su prvi put pregledana na leukozu kada bi navršila šest meseci starosti. Pozitivna grla su prevođena u kategoriju mlađe tovne junadi i uklanjana su iz stada i posle završenog tova su upućivana na redovno klanje. Zdrava telad (negativna) koja su vodila poreklo od serološki pozitivnih krava držana su i gajena zajedno sa teladima i junadima zdravih životinja.

Međutim, sva telad na zaraženim farmama bez obzira da li vode poreklo od pozitivnih grla serološki su pregledana još dva puta, odnosno ukupno tri puta do veštačkog osemenjavanja. Zbog čega su troškovi dijagnostičkih pregleda bili uvećani, međutim na ovaj način su dobijana kvalitetna priplodna telad i junice čija je vrednost višestruko prevazilazila cenu ovih troškova, a njihov značaj za očuvanje proizvodnje na farmama je bio presudan.

Junice su drugi put pregledane u uzrastu od 10 do 12 meseci, a treći u uzrastu od 14 do 16 meseci, odnosno pred osemenjavanje. Sva pozitivna grla sa farmi su uklonjena iz zapata i upućivana u tov, a potom, na klanje.

Iako je u sprovođenju propisanih mera bilo izvesnih odstupanja, pa ispitivanja nisu uvek sprovedena u predviđenim intervalima, ni jedna priplodna junica nije mogla biti osemenjena, a da pre toga nije najmanje dva puta podvragnuta laboratorijskom pregledu i da je oba puta ustanovljen negativan nalaz. Odrasla grla su takođe pregledana na enzootsku leukozu goveda dva puta godišnje, a od 2001. godine, kada je naglo opao broj pozitivnih grla na farmama odrasla goveda su pregledana jednom godišnje odnosno svakih 12 meseci..

Preduzete mere su u skladu sa preporukama Petog međunarodnog simpozijuma o goveđoj leukozi (Tübingen, 1984, Stamatović i sr. 1983.) koji su isticali da su sa uvođenjem dijagnostike na osnovu otkrivanja humoralnih specifičnih antitela protiv virusa leukoze goveda, objektivizirane mogućnosti za izučavanje horizontalne i vertikalne transmisije ove bolesti i stvorene su mogućnosti za brže uklanjanje pozitivnih reagenata iz zapata goveda. To je pogotovo značajno kada su u pitanju najmlađe kategorije - telad i junad. Još je Straub (1982, 1984.) ukazivao da telad pozitivnih majki mogu da prenose leukozu, iako su zaštićena antitelima majki. On je upozorio da se ova činjenica mora obavezno uzimati u obzir u programu eradikacije leukoze goveda.

Prilikom kreiranja modela kontrole i primene mera za suzbijanje leukoze goveda u stadima visoko mlečnih krava i u seoskim poljoprivrednim domaćinstvima na epizootiološkom području Beograda, uzete su u obzir epizootiološke karakteristike bolesti i uzročnika, najaznačajniji načini transmisija infekcije u našim uslovima i tradicija držanja goveda, ostljivost dijagnostičkih postupaka kao i ekonomski aspekti ove bolesti i njen uticaj na farme i održivost stočarske proizvodnje.

Najpre je istražena i ustanovljena epizootiološka situacija ELG među govedima na državnim farmama i individualnim poljoprivrednim gazdinstvima ovog područja. Epizootiološkim istraživanjem i anketama utvrđeni su mogući putevi unošenja bolesti na gazdinstva i njenog daljeg širenja unutar stada i područja. Istraženi su podaci i informacije o uvozu goveda, posebno iz zemalja u kojima postoji ova bolest.

Ispitivano područje se nalazi u okolini Beograda i ima izuzetan geografski položaj od velikog značaja za saobraćaj i industriju. Ovo područje se karakteriše velikom gustinom naseljenosti stanovništвом, specifičnim mikroklimatskim i geografskim obeležjima, veoma

razvijenom poljoprivrednom proizvodnjom na velikim obradivim kompleksima zemljišta, kao i veoma intenzivnom stočarskom proizvodnjom sa velikim aglomeracijama mlečnih goveda. Glavna grana stočarske proizvodnje je svakako govedarska proizvodnja i obuhvata oko 54.000 grla sa velikim brojem visoko-mlečnih goveda. Pri tome, od posebnog epizootiološkog značaja je gustina populacije životinja, što predstavlja poseban epizootiološki rizik za unos i širenje bolesti, naročito u intenzivnoj stočarskoj proizvodnji. Na području grada Beograda se proizvede preko 8,5 posto od ukupne govedarske proizvodnje u zemlji.

U stadima sa niskom seroprevalencijom ELG odnosno sa malo pozitivnih reagenata preporučili smo kao najpogodniji, a ujedno i najefikasniji model kontrole bolesti model "**Testiraj i reagenta ukloni**". Kao što je već rečeno pregledu ELISA-a testom podvrgnuti su serumi svih kategorija goveda, uključujući i telad stariju od šest meseci. Ovaj postupak je bio primenjivan na farmama visoko-mlečnih krava sa niskom trenutnom sero-prevalencijom bolesti kao i na individualnim poljoprivrednim gazdinstvima.

Subvencije za pokrivanje šteta nastalih sprovođenjem mera pokrivale su deo materijalnih gubitaka nastalih usled razlike u ceni prilodnih krava i njene klanične vrednosti (koja nije visoka i kod zdravih izlučenih krava). Indirektne štete nisu nadoknađivane zbog čega je izvestan broj domaćinstava pružao otpot i nije uklanjanao seropozitivna goveda iz svojih stada zbog straha od gubitaka u proizvodnji i problema u nabavci odgovarajućeg podmlatka u obnovi proizvodnje.

Sagledavanjem epizootiološka situacija u opština na području Beograda, može se uočiti da je bolest bila dijagnostikovana kod goveda na teritoriji osam opština sa prevalencijom koja se kretala od 0,2% do 2,8 %. Pri tome u opština Zemun, Obrenovac, Grocka, Palilula i Surčin enzootska leukoza goveda je bila najzastupljenija u ovim opština se nalazi i glavnina stočnog fonda goveda.

Na područjima opština Zvezdara i Rakovica, sero-prevalencija se kretala od 2,8% do 1,9%. Međutim ova brojka ne prikazuje pravo stanje raširenost bolesti, jer zbog vrlo malog broja goveda u ovim opština kao i malog broja poljoprivrednih gazdinstava iskazana stopa je nerealno visoka u odnosu na ostale opštine i ukupni stočni fond. Ove dve opštine zajedno u ukupnom stočnom fondu goveda učestvuju sa manje od 0,5%. Imajući ovo u vidu jasno je da leukoza u ovim opština ne predstavlja epizootiološki značajn problem pogotovo kada se ima u vidu da se govedarska proizvodnja u njima gasi. Nakon sproveđenja propisanih mera, uklanjanjem pozitivnih grla i sprovodenjem dezinfekcije u zaraženim dvorištima, tek nakon

kontrolnih pregleda stada čiji rezultati su biti negativni, stada su zvanično smatrana slobodnim od ELG. Područja, naselja i opštine na kojima je pregledom obuhvaćeno 99,8 posto zapata sa negativnim nalazom smatrana su slobodnim od enzootske leukoze goveda.

Poslednjih godina sprovođenja programa imamo pojavu pojedinačnih slučajeva leukoze u individualnim domaćinstvima, najčešće kao posledicu kupovine životinja čije poreklo nije poznato. Postoje slučajevi da vlasnici odbijaju da životinje upute na klanje već one završe u nelegalnom prometu. Uprkos činjenici da je za uklonjene bolesne životinje obezbeđena finansijska nadoknada koja je adekvatna tržišnoj vrednosti za priplodnu stoku, postoje domaćinstva koja odbijaju da dozvole slanje na klanje bolesnih goveda i ona ipak završe u nelegalnom prometu.

Od ukupno dvanaest farmi goveda na području Beograda, enzootska leukoza goveda je ustanovljena na jedanaest. Ranije su o ovome izveštavali Stamatović i sr. (1969, 1983.) i Jovanović i Stamatović (1971). Programi kontrole i eradicacije na ovim farmama su se sprovodili u dužem vremenskom periodu, ali bez većeg uspeha. Za preglede je korišćen AGID test koji je jednostavan i pouzdan, ranije najčešće korišćen serološki test. Sa njime se u leukoznom zapatu otkrivalo oko 50 posto više leukoznih grla u odnosu na ranije korišćene hematološke metode (leukozni ključ).

Polazeći od ove činjenice za potrebe dijagnostike leukoze na farmama visoko mlečnih krava predložen je poseban program mera i uveden je u rutinsku dijagnostiku osetljiviji ELISA test koji do sada kod nas nije korišćen u ove svrhe. Mogućnosti ovog testa su veća osetljivost i rano otkrivanje većeg broja pozitivnih goveda na farmama i njihovo blagovremeno isključivanja iz proizvodnje.

Sa razvojem ELISA testa on je postao jeftiniji i dostupniji zbog čega je dobio veću prednost u programu za suzbijanje i iskorenjivanje leukoze goveda. Može se koristiti i za one kategorije kod kojih drugi testovi nisu pouzdani

Na dvanaest farmi visoko-mlečnih krava beogradskog epizootiološkog područja kao u ostalom i u celoj zemlji do 1999. godine otkrivanje leukoznih grla rađeno je korišćenjem AGID testa. Rezultati u primeni ovog testa kao i modela kontrole bolesti koji su primenjivani posle više od dve decenije dali su slabe rezultate. Naime, samo jedna farma što se iz naših ispitivanja može i videti, uspela je da postigne status slobodne od ELG do 1999. godine primenom ove metode.

Postoji više razloga i faktora koji su uticali da izostanu očekivani rezultati, ali se oni mogu svesti na dva osnovna čiji je uticaj bio presudan za izostanak većeg uspeha:

- Prvi je ***izbor lošeg modela kontrole*** i eradicacije bolesti i nedoslednosti prilikom sprovođenja mera;
- Drugi je sadržan u ***nedostacima dijagnostičkih metoda*** koje su tada korišćene za otkrivanje obolelih životinja.

Ovako udruženi doprineli su da uspeh izostane, a infekcija virusom ELG-a nastavi da se širi u stadima ovih farmi uprkos sprovođenju mera za njeno suzbijanje.

Prednost i superiornost nove dijagnostičke metode ELIS-e nad do tada korišćenim metodama i njeno uvođenje u našu epizootiološku i kliničku praksu, može ce videti iz razlike u broju otkrivenih leukoznih goveda u istim stadima goveda na prelazu 1998. godine kada su ispitivanja vršena AGID testom i 1999. godine kada je po prvi put uveden ELISA test.

Godišnja seroprevalencija na farmama PKB korporacije u toku 1998. godine iznosila je **5,5%**, dok je 1999. godine skočila na **23,5%**. Ovaj skok od **400%** prouzrokovana je uvođenjem osetljivijeg dijagnostičkog ELISA testa kojim je zamenjen dotadašnji AGID test. Veća dijagnostička osetljivost je uticala na skok godišnje seroprevalencije i incidencije bolesti, odnosno doprineo je ranijem otkrivanju nastanka infekcije što je imalo veliki uticaj na proces iskorenjivanja ELG.

Ranijim otkrivanjem pozitivnih životinja i usporavanjem širenja infekcije unutar stada, **uspešnim kombinovanjem sa merama za ograničenje širenja infekcije, dinamika bolesti u populacijama goveda stavljena je pod kontrolu.** Što je omogućilo da se potom deluje merama za eliminaciju izvora infekcije. **Ovim je proces eradicacije leukoze na farmama koje su bile dosledne u njegovoj primeni uspešno sprovedio za 3-4 godine.**

Uspešno upravljanje merama od velikog je značaja za prevladavanje infekcije unutara stada (Gutierez i sar. 2011).

ELISA test je svojom osetljivoću značajno doprineo efikasnom ranom otkrivanju bolesti čime je postupak eradicacije leukoze postao znatno brži i efikasniji, a vremenski period potreban za postizanje zadatih ciljeva značajno kraći od dotadašnjeg. Što je naravno uticalo na

smanjenje troškova eradicacije i uopšte imalo je povoljan uticaj na smanjenje gubitaka u govedarskoj proizvodnji.

Iskorenjivanje leukoze postalo je dostižan cilj imajući u vidu naše ekonomske prilike i način proizvodnje (dostižan i moguć). Zbog čega je postavljen zadatak da u **Prvoj fazi** iskorenimo leukozu na našim velikim farmama, a u **Drugoј fazi** da to učinimo i na farmama naših individualnih poljoprivrednih proizvođača odnosno u poljoprivrednim domaćinstvima.

Prilikom izbora najpogodnijeg modela za kontrolu i eradicaciju leukoze najpre smo polazili od ustanovljene prevalencije bolesti, veličine farme, načina držanja kao i od potrebne i postojeće infrastrukture na samoj farmi. Naravno za uspeh u realizaciju presudna je bila podrška menadžmenta farme u sufinsiranju srovođenih mera i širenju svesti o značaju primene mera, ali i podrška države u finsiranju dela mera i aktivnosti. Takođe vrlo važana je bila i podrška veterinarske službe u širenju svesti među zaposlenima o značaju prihvatanja svih mera i njihovom razumevanju. Kao i primeni procedura kojima se smanjuje mogućnost daljeg širenja bolesti unutar stada i između farmi, a radi prekidanja puteva prenošenja infekcije iz potencijalnih neotkrivenih izvora i sve to radi smanjenja infektivnog pritiska bolesti na zdrave životinje sve do otkrivanja i eliminacije kliconoša.

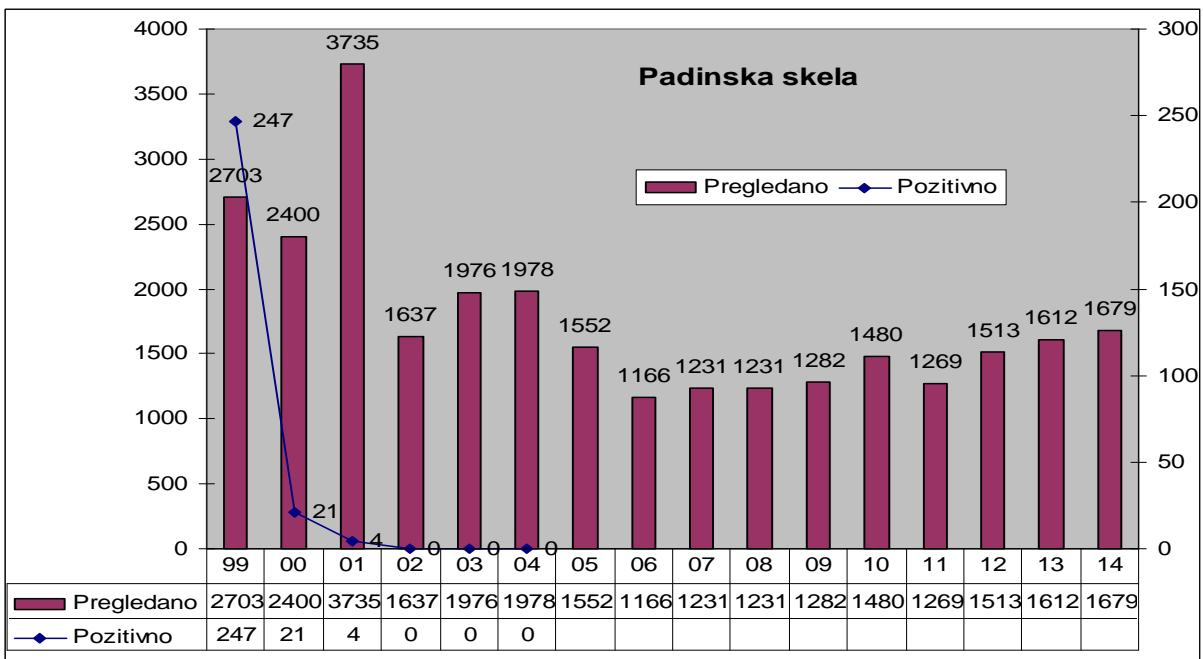
Histogramima su prikazani rezultati primene pojedinih epizootioloških modela kontrole ELG-a na našim farmama. Kao i njihove uporedne analize i kvantifikacija prednosti pojedinih modela nad drugim. Kao što smo i naveli prilikom opredeljenja za određeni model prvenstveno smo se rukovodili prevalencijom bolesti na određenoj farmi. Obzirom da je prevalencija bila neujednačena, na nekim farmama je bila izuzetno visoka, kretala se (9,1%-35,7%) na farmama izvan sistema PKB dostizala je 41,8%, pa čak i 68%.

6.1.2. Uporedna analiza rezultata primne modela

Model 1. Testiraj i reaktore ukloni

Model kontrole ELG **1. Testiraj i reaktore ukloni** pokazao se uopšte kao najefikasniji u kontroli i eradicaciji mnogih zaraznih bolesti tako i u eradicaciji enzootske leukoze goveda. Što se može videti brzinom kojom su postignuti rezultati na gazdinstvu Padinska skela **histogram 3.** u prilogu.

Histogram 3. Grafički prikaz stepena opadanja incidencije ELG-a u intenzivnom uzogju goveda primenom modela "Testiraj i ukloni "



Na farmi Padinska skela već nakon trogodišnje primene ovog modela i programa u četvrtoj godini farma je bila slobodna od ELG-a. Ovaj model je pogodan i vrlo efikasan sa njim se mogu postići odlični rezultati na farmama sa niskom prevalencijom odnosno sa malim brojem obolelih goveda za vrlo kratko vreme. Kako je u našem slučaju samo jedna farma imala takav status za sve ostale smo ovaj model morali modifikovati.

Primenom ovog **modela (Testiraj i ukloni)** odmah na početku postupka eradicacije na ostalim farmama koje su imale visoku prevalenciju ELG ugrozili bismo proizvodnju i opstanak većine farmi. Isključivo primenom ovog modela sa radikalnim uklanjanjem svih pozitivnih goveda u kratkom vremenskom periodu bilo bi dovedeno u pitanje očuvanje proizvodnje od koje se finasirao ceo kombinat. Biološki reproduktivni potencijal preostalih zdravih krava posle uklanjanja pozitivnih goveda ne bi bio dovoljan da servisira potrebne kapacitete za postizanje finansijski i biološki održivog nivoa proizvodnje.

Farme sa jako visokom prevalencijom biološki ne bi mogle da opstanu nakon naglog uklanjanja svih pozitivnih životinja. Pored toga veliki materijalni gubici bi uništili ekonomsku bazu svake pojedinačne farme i njena proizvodnja bi postala finansijski neodrživa. To bi na kraju dovelo u pitanje i svrsishodnost odnosno smisao sprovođenja ovakvih programa upošte.

Posebno kod bolesti kao što je ELG koje nisu zoonoze i nemaju visok mortalitet i letalitet, a životinje dugo imaju dobro očuvane proizvodne sposobnosti. To bi obeshrabriло svakog vlasnika farme i program bi svakako na kraju bio neuspešan ili bi proizveo tolike gubitke koji bi bili pogubni po govedarstvo.

Osim toga na našem tržištu, ali ni uvozom ne bismo mogli da obezbedimo dovoljan broj priplodnih junica kojima bi se mogla zameniti ovako velika proizvodnja u kratkom vremenskom periodu, a da farme pritom ekonomski ne propadnu, pa čak i da poseduju finansijska sredstva za kupovinu priplodne stoke u tom broju. Zbog toga smo morali da pronađemo najpovoljniji model koji bi odgovorio postavljenim zahtevima.

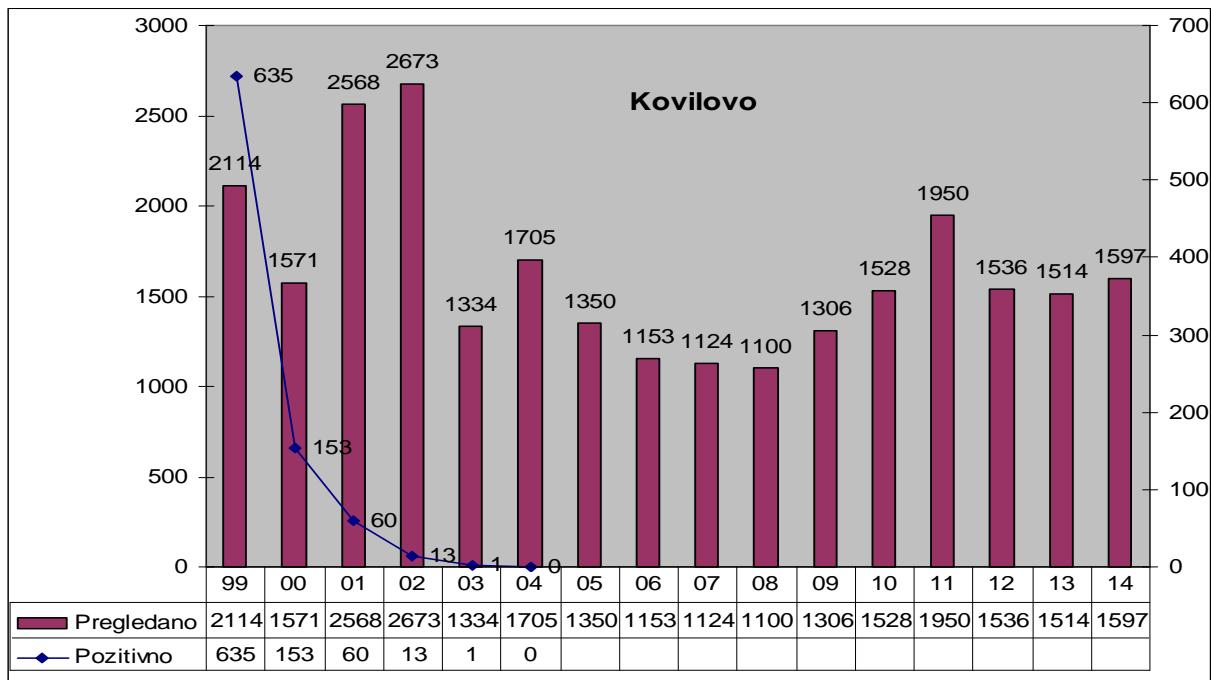
Model 2. Izolacije i izdvajanja obolelih i eliminacija kroz pojačani godišnji remont stada

Opredelili smo se za **model 2.”Izolacije i izdvajanja obolelih” i njhova eliminacija kroz pojačani godišnji remont stada**. Ovaj metod nam je omogućio da od leukoznih majki dobijemo zdrav podmladak kojim ćemo zameniti uklonjena leukozna grla, ali i obezbediti prirodni remont stada.

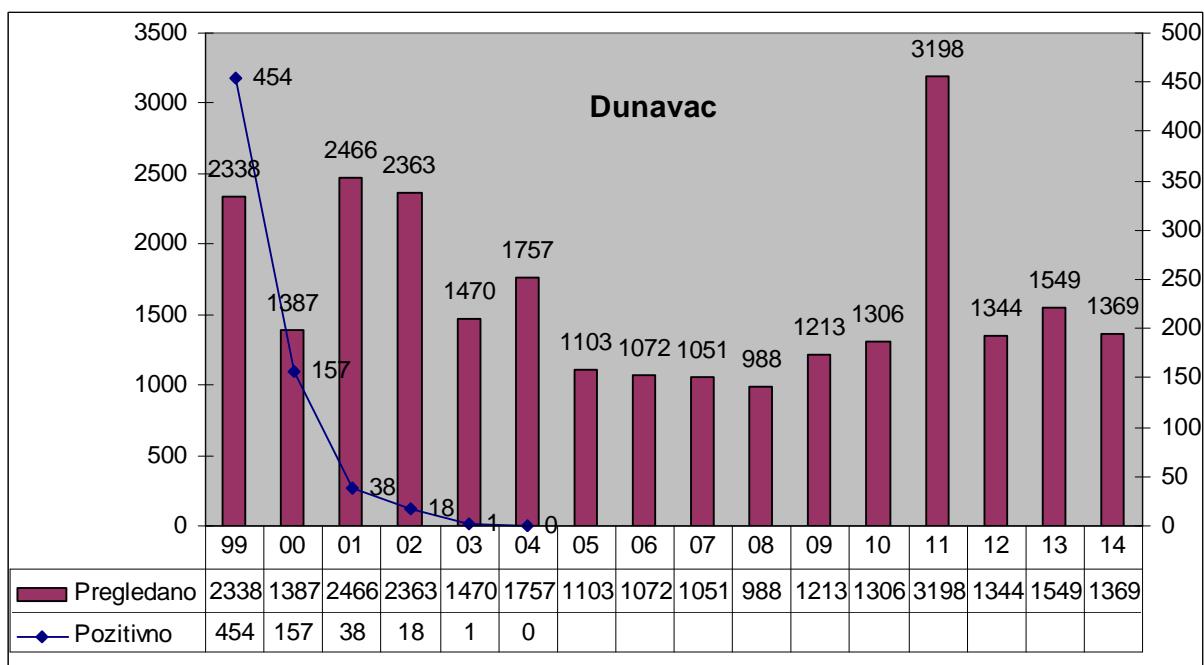
Ovim modelom je predviđeno da se pozitivna grla u početku sprovodenja programa uklanjaju kroz pojačani godišnji remonta stada, a da se postupak kasnije sa smanjenjem broja pozitivnih životinja intenzivira. Životinje koje su na ovaj način uklanjane iz zapata činile su oko 2/3 od ukupnog broja isključenih remontovanih životinja godišnje.

Opravdanost primene ovog programa se vidi iz rezultata postignutih već u drugoj godini. Naime, u drugoj godini procenat pozitivnih grla je opao za 50 posto u odnosu na početne rezultate. Rezultati primene ovom modela prikazani su na **histogramima 4-8**.

Histogram 4. Grafički prikaz stepena opadanja incidencije ELG-a u intenzivnom uzogju goveda primenom modela "Izolacije i izdvajanja obolelih" i njhova eliminacija kroz pojačani godišnji remont stada"



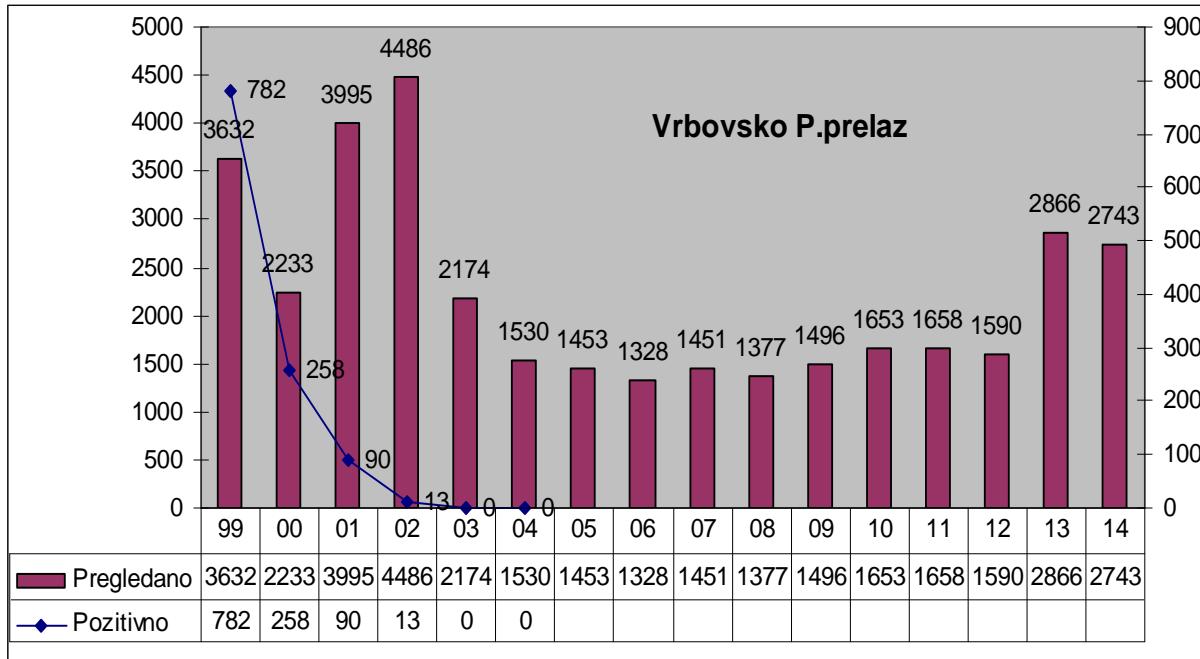
Histogram 5. Grafički prikaz stepena opadanja incidencije ELG-a u intenzivnom uzogju goveda primenom modela "Izolacije i izdvajanja obolelih" i njhova eliminacija kroz pojačani godišnji remont stada"



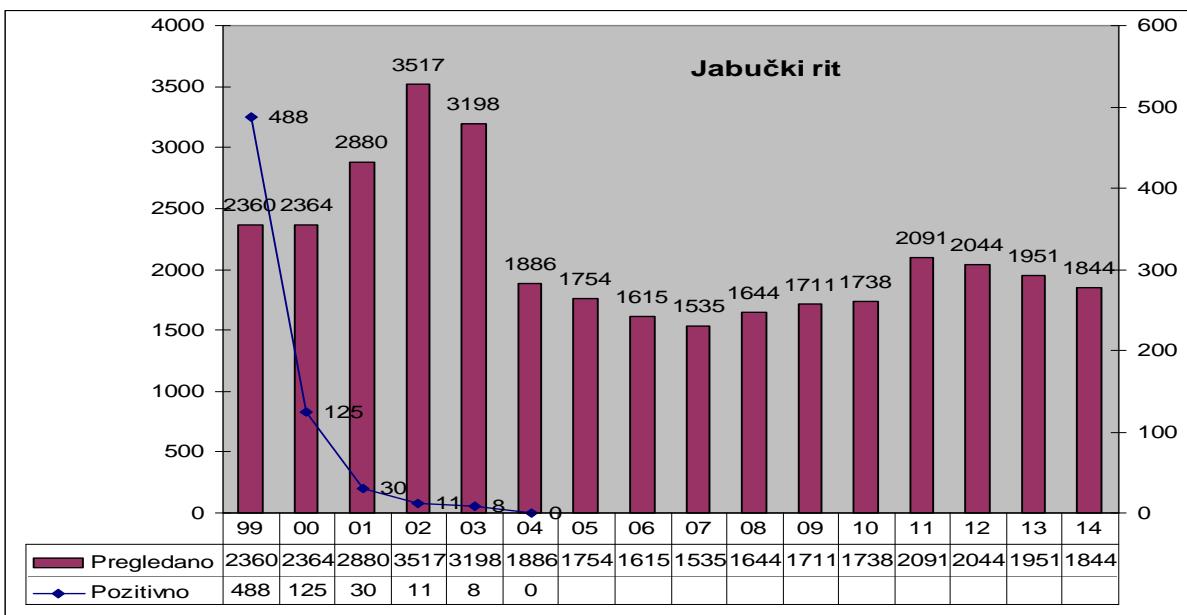
Iz prikazanih histograma može se uočiti da rezultati primene ovog modela ne zaostaju previše za rezultatima primene modela "testiraj i ukloni". Primenom ovog modela za razliku od prethodnog gde je status farme slobodne postignut u četvrtoj godini, od primene mera modela "*Izolacije i izdvajanja obolelih*" i njihova eliminacija kroz pojačani godišnji remont stada" isti status je postignut u šestoj godini. Ovim je očuvana je proizvodnja i matični zapat, bez potrebe za dodatnom kupovinom junica iz uvoza.

Farme su radile sa smanjenim kapacitetom, ali su uprkos tome ostvarivale prihode i zaradu kojom su mogle da finasiraju proizvodnju, nastavak programa kao i zaposlene. Čime je učvršćen socijalni aspek primene mera za iskorenjivanje zaraznih bolesti koji je presudan za prihvatanje i sprovođenje programa od strane neposrednih aktera u proizvodnji i stepen njihove motivacije. Troškovi koji su uloženi u produženje sprovođenja programa u ovom slučaju su se isplatili i daleko su niži od ostvarene koristi. Nakon sticanja slobodnog statusa nastavljeno je sa sprovođenjem programa **aktivnog nadzora** u cilju održavanja slobodnog statusa.

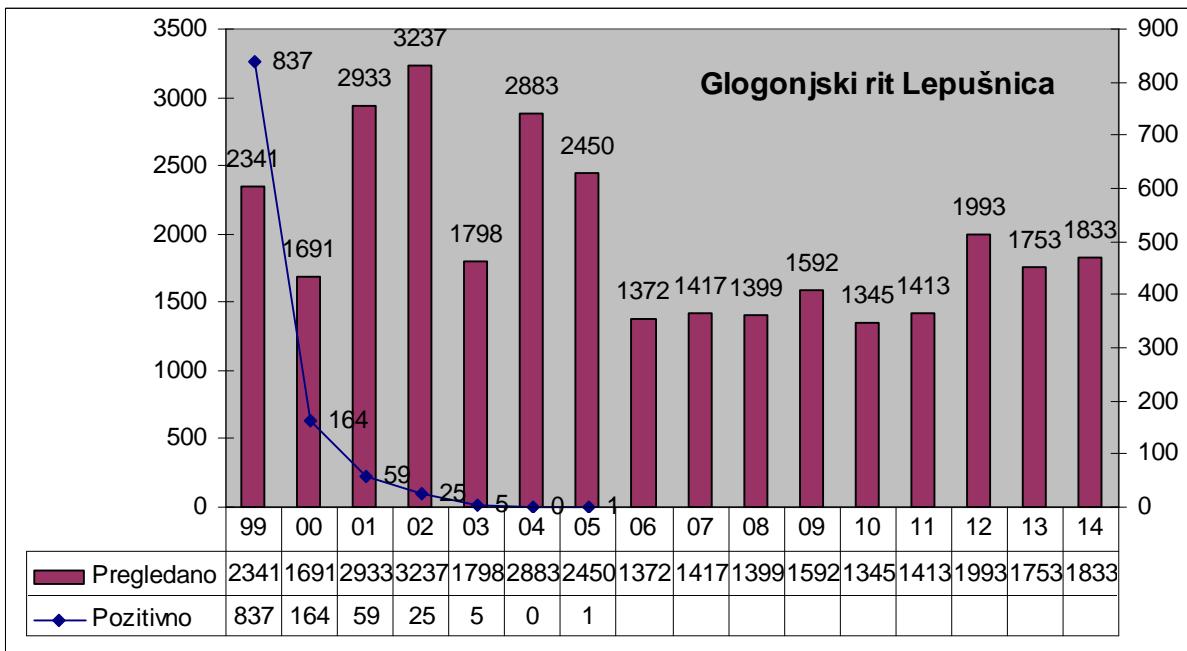
Histogram 6. Grafički prikaz stepena opadanja incidencije ELG-a u intenzivnom uzogju goveda primenom modela "Izolacije i izdvajanja obolelih" i njihova eliminacija kroz pojačani godišnji remont stada"



Histogram 7. Grafički prikaz stepena opadanja incidencije ELG-a u intenzivnom uzogju goveda primenom modela "Izolacije i izdvajanja obolelih" i njhova eliminacija kroz pojačani godišnji remont stada"



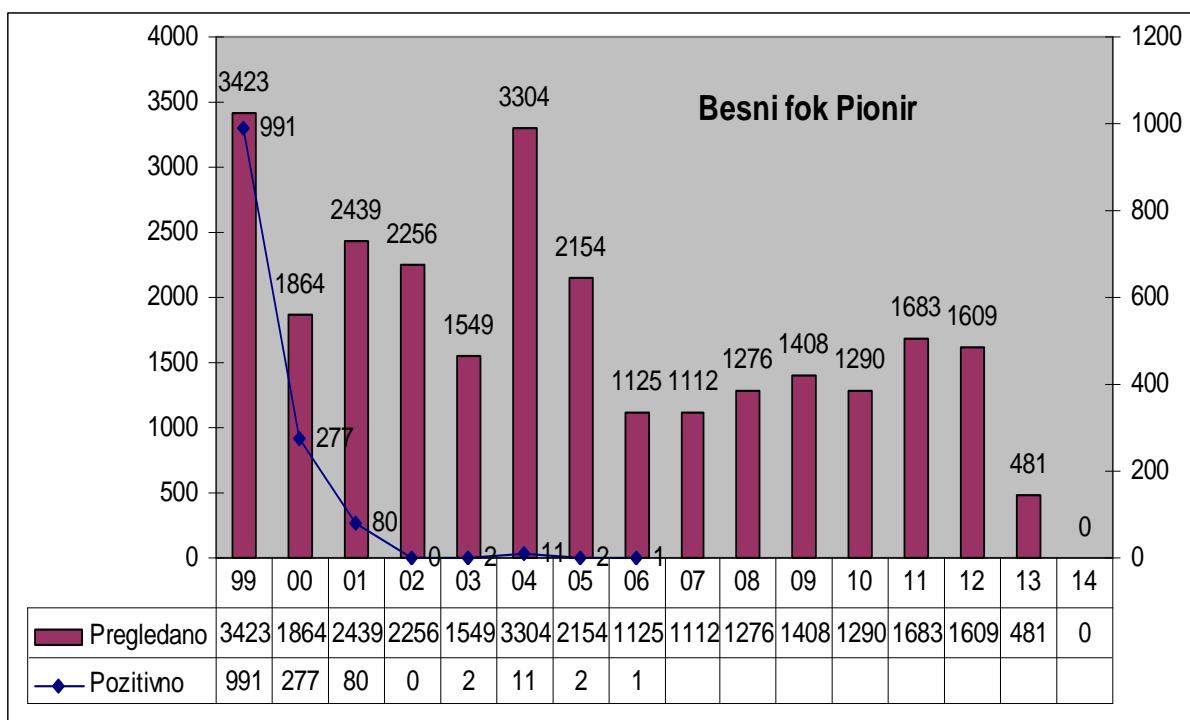
Histogram 8. Grafički prikaz stepena opadanja incidencije ELG-a u intenzivnom uzogju goveda primenom modela "Izolacije i izdvajanja obolelih" i njhova eliminacija kroz pojačani godišnji remont stada"



Model 3. Izolacija i izdvajanje obolelih i njihova eliminacija kroz pojačani godišnji remont stada za farme prihvatne centre za leukozna grla

Međutim da bi se program mogao sprovesti na svim farmama uporedo, zbog ograničenih kapaciteta gazdinstava i limitiranih kapaciteta objekata za smeštaj i eksploataciju goveda, a kako se ne bi usporila i ugrozila realizacija programa bilo je potrebno obezbediti dodatne kapacitete za smeštaj i izolaciju leukoznih goveda. Radi proširenja prostornih kapaciteta za izdvajanje obolelih krava da ne bi dolazi do kontakata i mešanja životinja u izolaciji i zdravih goveda, bilo je potrebno organizovati centar za prihvatanje leukoznih goveda. Dve farme su određene za ovu svrhu u ovim "centrima" je takođe postojala organizovana proizvodnja po istim principima kao i u ostalim farmama. S tom razlikom, što je za njih korišćen modifikovani model kontrole prilagođen specifičnim zahtevima ovakvih farmi-prihvatim centrima. Zbog ovih specifičnosti uveli smo i **Treći model** koji smo nazvali **"model 3."** *Izolacije i izdvajanja obolelih i njihova eliminacija kroz pojačani godišnji remont stada za farme prihvatne centre za leukozna grla".*

Histogram 9. Grafički prikaz stepen opadanja incidencije ELG-a goveda u intenzivnom uzgoju primenom modela "Izolacije i izdvajanja obolelih i eliminacija kroz pojačani godišnji remont stada" na farmama koje su bile prihvatni centri za leukozna grla



Rezultati primene ovog modela prikazani su na ***histogramima 9-10***. Iz prikazanih histograma može se uočiti da rezultati primene ovog modela ne zaostaju za rezultatima primene modela "Izolacije i izdvajanja obolelih i njihova eliminacija kroz pojačani godišnji remont stada". Međutim zbog specifičnosti ovih centara obzirom da su bili otvoreni za prihvat leukoznih goveda sa drugih farmi, potreban je bio nešto duži vremenski period da se na kraju one oslobode leukoznih goveda koja su se nalazila na njima.

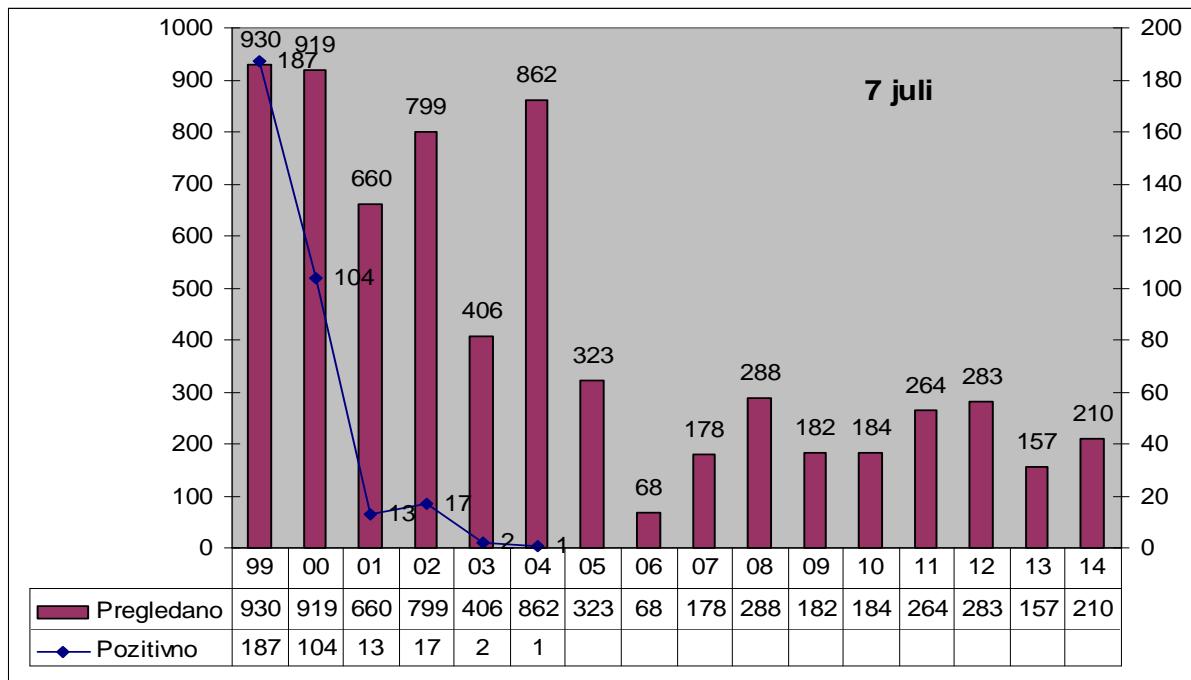
Primenom trećeg modela za razliku od prethodnog gde je status slobodne farme postignut u šestoj godini od primene mera modelom "***Izolacija i izdvajanja obolelih i eliminacija kroz pojačani godišnji remont stada za farme prihvatne centre za leukozna grla***" isti status i rezultati su postignuti u šestoj odnosno osmoj godini. Ovi rezultati svakako jasno pokazuju da je ovaj modifikovani model pokazao svoju efikasanost. Prihvativi centri su omogućili da se program eradikacije ELG odvija na svim farmama PKB korporacije neometano zbog ograničenih smeštajnih i proizvodnih kapaciteta farmi.

Osim te funkcije "centri za prihvat" su uspešno sproveli program eradikacije u svom matičnom stadu čija je veličina fluktuirala sa prihvatom leukoznih goveda sa drugih farmi zbog čega su ove farme bile izložene većem pritisku bolesti sa kojim su se uspešno izborile.

Proizvodnja na ovim farmama je očuvana, a očuvan je i matični zapat goveda. Farme prihvatni-centri su pored očuvanja sopstvene proizvodnje bile od presudnog značaja u skraćenju vremena potrebnog za postizanje statusa i na ostalim farmama korporacije. Sve napred navedeno je imalo uticaja, da jednoj od ovih farmi "Pioniru" bude potrebno osam godina za postizanje slobodnog statusa. To je razumljivo, jer je ova farma prihvatala daleko najveći broj leukoznih životinja sa ostalih gazdinstava.

Na kraju matični zapat ove farme je bio osnova za formiranje stada novo izgrađene farme P. prelaz. Farme prihvatni-centri su opravdale svoju svrhu u postupku iskorenjivanja ELG i uprkos tome uspešno su poslovale i dale svoj doprinos u finasiranju produžetka programa eradikacije do sticanja slobodnog statusa.

Histogram 10. Grafički prikaz stepen opadanja incidencije ELG-a goveda u intenzivnom uzgoju primenom modela " Izolacije i izdvajanja obolelih i pojačani godišnji remont stada" na farmama koje su bile prihvativni centri za leukozna grla



Utrošak finskih sredstava koja su uložena u duže sprovođenje programa u ovom slučaju su se isplatila i daleko su niža od ostvarene koristi (Kost-benefit analiza je to jasno pokazala). Nakon sticanja statusa nastavljeno je sa sprovođenjem programa **aktivnog nadzora** u svrhu očuvanja statusa na svim farma PKB korporacije.

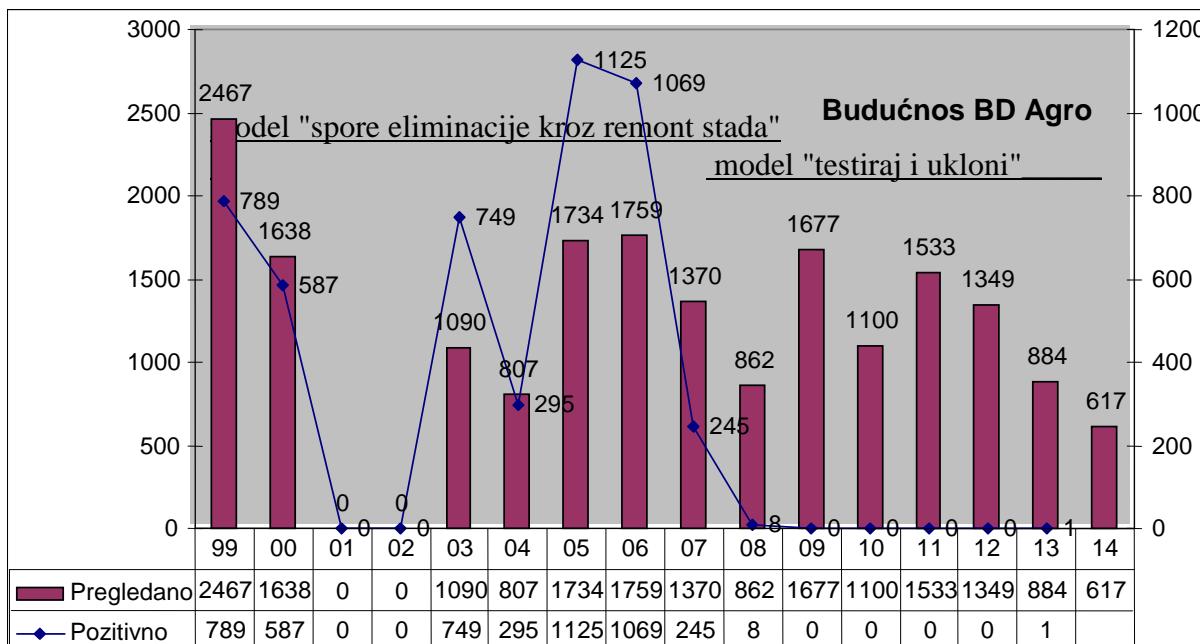
Model 4. Pregled i eliminacije kroz redovni godišnji remont stada

Većina farmi izvan sistema PKB je sprovodila četvrti **model "Eliminacije kroz redovni godišnji remont stada"** to je model izolacije i spore eliminacije pozitivnih grla sa poboljšanjima i sprečavanjem horizontalnog širenja. Primenom ovog modela izostali su pozitivni rezultati odnosno nisu ostvareni bolji rezultati, postignuti su rezultati kao i u prethodnom periodu, što jasno pokazuje da sistem uklanjanja životinja iz zapata kroz godišnji remont nije efikasna mera i u velikoj meri onemogućava iskorenjivanje bolesti iz zapata. Ove farme nisu bile spremne da finsiraju intenzivnije pregledne mlađih priplodnih kategorija (junica i teladi). Zbog toga je izvesan broj pozitivnih grla ostao neotkriven prilikom redovnih godišnjih kontrola.

Kontinuirana ispitivanja i sproviđenje mera je od presudne važnosti za uspeh. Osim toga, treba imati u vidu da je za uspešno suzbijanje i iskorenjivanje enzootske leukoze goveda važno pored ranog otkrivanja zaraženih životinja izdvajanje i njihovo brzo isključivanje-uklanjanje. Može se reći da ove mere imaju presudan uticaj na rezultate eradicacije bolesti.

Rezultati primene ovog modela prikazani su na ***histogramima 11-13.***

Histogram 11. Grafički prikaz kretanja stope incidence na farmi koja je primenjivala dva različita modela kontrole i iskorenjivanja ELG



Rukovodstva ovih farmi nakon više godina odlučila su da promene strategiju u iskorenjivanju enzootske leukoze goveda na svojim farmama. Farma Budućnost je donela odluku da u skladu sa svojom novom poslovnom politikom, nakon privatizacije farme zameni celokupni matični fond goveda uvozom junicica. Naš predlog i za ovu farmu je bio model kao i na za farme PKB korporacije "***Izolacija i izdvajanje obolelih***" i njihova eliminacija kroz pojačani godišnji remont stada smatrali smo da je važno očuvati proizvodnju dok se ne izvrši zamena stada uvoznim junicama. Njihova odluka je bila zamena stada junicama boljih proizvodnih performansi. Naš predlog su ocenili kao previše spor za njihove poslovne planove i otpočinjanje pune proizvodnje. Tako da je i većina zdravih goveda završila na klanici.

Po našoj oceni postupak zamene stada junicama iz uvoza je bio povezan sa mnogim rizicima i problemima kako epizootiološkim tako i poslovnim rizicima. Što će se na kraju pokazati kao tačno, a iz istraživanja se može videti da su za uspostavljanje pune proizvodnje

bile potrebne dve godine. Zbog nedovoljne ponude tolikog broja junica Holštajnfriziske rase u zemljama EU i komplikovanog prikupljanja stoke, junice su uglavnom uvezene iz Kanade. Što je zbog transportnih troškova znatno podiglo cenu osnovnog stada iznad njegove tržišne vrednosti. Sve životinje su prolazile kroz 30-to dnevni karantin, gde smo dijagnostikovali enzootsku leukozu u osam slučajeva. Pošto smo zemlja koja nema status zemlje slobodne od ELG za potrebe uvoznika, sproveli smo postupak identifikacije porekla virusa što se iz priloga istraživanja može videti. Dokazali smo da izolovani virus vodi poreklo iz Kanade odnosno da je stigao sa uvezenim junicama.

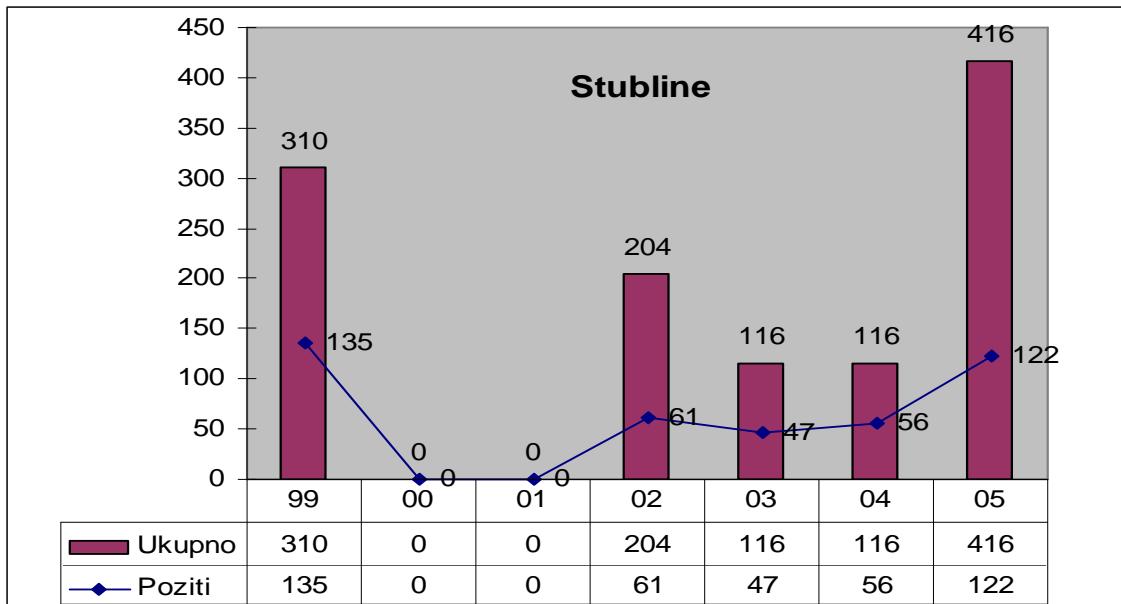
Prelaskom na koncept modela ***Testiraj i ukloni*** rezultati u oslobođanju farme od ELG su zaista postignuti u rekordnom roku međutim kako je većina junica već vodila poreklo iz leukoznih zapata u zemlji porekla bilo je potrebno još izvesno vreme sproveđenja aktivnog nadzora kako bi se postignuti rezultati učvrstili, odnosno kako bi se farma oslobodila od svih prikrivenih pozitivnih reaktora.

Međutim, u procesu aklimatizacije junica zabeleženi su značajni gubici koji su rešavani u toku proizvodnje. Smanjenje broja životinja u reprodukciji smanjilo je proizvodne kapacitete farme koja je imala potrebe za snažnom proizvodnjom kako bi mogla da pokrije sve troškove i gubitke.

Zbog suviše dugog perioda obnavljanja proizvodnje mleka i izostale očekivane finansijske podrške u vidu državnih subvencija, a usled troškova investicija u rekonstrukciju i izgradanju nove farme kao i za nabavku stada po visokoj ceni, farma je ušla u finansijske poteškoće koje nije mogla da servisira, što je rezultiralo finansijskom blokadom sa slabim izgledima za izlazak iz krize. Najveći deo životinja priplodnog stada čije su proizvodne performanse bile izvanredne, dostizale su čak od 9.000 do 11.000 l mleka godišnje u proteklom periodu je izgubljen.

Zbog zdravstvenih problema iz proizvodnje je isključen veliki broj krava, ali i zbog pogrešne poslovne politike preostali broj zdravih životinja je takođe izgubljen. Promenom menadžmenta farma je odustala od sopstvene proizvodnje priplodnih junica i okrenula se uvozu kao konceptu remonta stada. Ovakav vid organizovanja govedarske proizvodnje na farmi ove veličine u našim tržišnim uslovima je bio teško izvodljiv. Posebno, ukoliko to treba da se odvija u kontinuitetu.

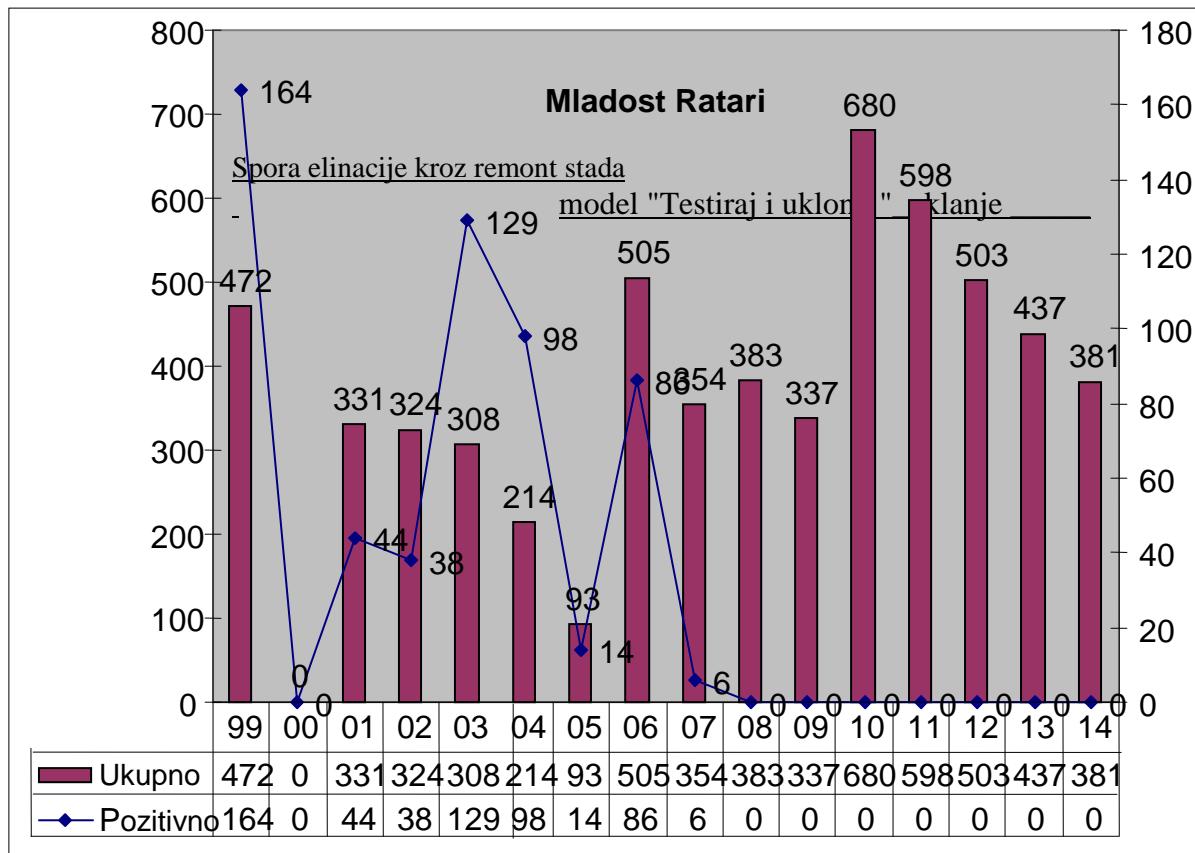
Histogram 12. Grafički prikaz kretanja stope inscidence na farmi koja je primenjivala model Izolacije i sporeliminacije kroz remont stada



Govedarske farme u sistemu kombinata AD "Dragan Marković" koje su takođe u prethodnom periodu sprovodila isti ili sličan **model "eliminacije kroz redovni godišnji remont stada"** koji karakteriše spora eliminacija pozitivnih grla kroz redovni remont stada uz poboljšanja i sprečavanje horizontalnog širenja, ovim modelom nisu postigle očekivane rezultate. Promenom poslovne strategije i prihvatanjem predloženog modela uspele su da se oslobođe problema leukoze u svom stadu, a da ne dovedu u pitanje opstanak farmi i poslovanje.

Rukovodstvo kombinata AD "D.Marković" koje je vlasnik farmi Stubline i Mladost prihvatiло je promenu strategije u eradijaciji ELG. Primenili smo model **Testiraj i ukloni**. Izvršeno je premeštanje svih serološki-negativnih životinja sa farme Stubline i njihovo spajanje sa stadom na farmi Mladost. Sve pozitivne životinje iz oba stada su nakon teljenja uklanjane iz stada, odnosno upućene su na klanje u klanicu kombinata. Pošto je ovo farma sa manjim brojem priplodnih goveda ova mera je mogla biti sprovedena u razumnom vremenskom periodu sa minimalnim gubicima u proizvodnji. Osnovno stado je delimično obnovljeno nabavkom priplodnih goveda sa farmi PKB korporacije.

Histogram 13. Grafički prikaz kretanja stope incidence na farmi koja je primenjivala dva različita modela kontrole i iskorenjivanja ELG



Status farme slobodne od ELG kao što se može videti iz *Histiograma 13.* uspostavljen je nakon tri godine od primene modela kontrole i eradikacije bolesti i od uspostavljanja statusa se uspešno održava.

6.2. Nadzor i kontrola

6.2.1. Aktivni nadzor i mogućnosti za njegovo unapređenje u funkciji očuvanja statusa

Aktivni nadzor se nastavlja na sistema pasivnog nadzora i on predstavlja plansku aktivnost veterinarske službe u cilju ranog otkrivanja i kontrole bolesti ELG. Baziran je na jednom ili više specijalističkih pregleda "skriniga" ili ispitivanja. Kada je ELG u pitanju baziran je na kliničkim, patomorfološkim, histopatološkim, serološkim, virusološkim i molekularnim ispitivanjima, odnosno nadzoru. Međutim i pored velikog broja mugućnosti i

dijagnostičkih metoda koje nam stoje na raspolaganju, vrlo malo metoda se realno i koristi u sproveđenju **Aktivnog nadzora** ELG kod nas.

Zbog činjenice da se u našoj zemlji već 16 godina sprovode godišnji sistematski pregledi goveda u cilju iskorenjivanja ELG, Aktivni nadzor je u izvesnoj meri izgubio na značaju i ne pokazuje svoj puni smisao. Tako da je u trenutnoj situaciji sveden na nadzor i kontrolu životinja iz uvoza u karantinima i kontrolu nalaza tumoroznih promena sa linija klanja u klanicama. Ovaj deo sistema aktivnog nadzora kada su klanice u pitanju ima mnogo nedostataka počev od činjenice da se gotovo ne sprovodi, o čemu govori zanamarljivi broj uzoraka koji je upućen u laboratorije na histopatološke preglede do toga da laboratorije nisu u stanju da klasičnim histopatološkim metodama razlikuju ELG od sporadične leukoze.

U zemljama slobodnim od ELG, a naročito u onima koje se graniče sa zemljama u kojima je ELG još uvek prisutna, aktivni nadzor je usmeren prvenstveno na kontrolu uvoza priplodne stoke iz zemalja sa ELG i ograničenje mogućeg nelegalnog međugraničnog prometa. Merama se ograničava uvoz goveda iz zapata u kojima je prisutna leukoza, uvode se karantinske mere i kontrola životinja iz uvoza u karantinima.

6.2.1. Unapređeni aktivni nadzor u cilju očuvanja ili potvrđivanja slobodnog statusa

Sasvim je sigurno da čitav niz faktora utiče na određivanje obima i pristup aktivnom nadzoru. U zemljama u kojima je uspostavljena registracija proizvođača goveda, trgovaca, prevoznika, klaničara i prerađivača, identifikacija životinja, kontrola prometa i transporta, adekvatne biosigurnosne mere na farmama i imanjima u kojima se drže goveda i u kojima bolest nije prisutna aktivni nadzor je usmeren ka sprečavanju ponovnog unošenja virusa na teritoriju zemlje iz inostranstva, ispitivanja u cilju održavanja statusa države slobodne od ELG.

Na osnovu analize rizika, određuje se naučno zasnovan i statistički reprezentativan uzorak koji se testira primenom različitih laboratorijskih metoda. Uzorkovanje se usmerava na strateški bitne pozicije, kao što su:

1. Teritorija cele zemlje u cilju dokazivanja odsustva infekcije i zadržavanja statusa države ili regije slobodne od bolesti;
 - kontrola zbirnih tankova za sakupljanje mleka u otkupu ili na farmama;
 - kontrole uzoraka mleka u laboratorijama za kontrolu kvaliteta mleka;

2. Granične regije sa zemljom u kojoj je ELG prisutna i sa kojom postoji mogućnost za odvijanje nakontrolisanog prometa goveda sa ciljem ranog otkrivanja infekcije;
3. Karantini za uvezena goveda;
4. Karantini za goveda iz unutašnjeg prometa nejasnog zdravstvenog statusa i porekla;
5. Klanice- kontrola tumora prikupljenih na klanicama.

Kod nas je aktivni nadzor populacije goveda još uvek deo eradikacionog procesa. Zbog čega su ostali aspekti Aktivnog nadzora sada zapostavljeni. Međutim, njegov značaj će rasti i biće sve važniji kako proces sticanja slobodnog statusa bude ulazio u završnu fazu. Ovaj proces će zvanično biti završen potvrdom odnosno verifikacijom statusa pojedinih farmi i regija, i konačno zemlje slobodne od ELG. Serološki nadzor koji se sada sprovodi na teret državnog budžeta biće prenesen na teret farmera ili njihovih organizacija.

Proces eradikacije se ne može sprovoditi u nedogled, njegova cena za budžet je visoka posebno ukoliko ne daje očekivane rezultate ili se oni previše sporo ostvaruju.

Takođe i cena aktivnog nadzora koji se sprovodi radi očuvanja i potvrde statusa može biti previsoka, ako nije dobro metodološki postavljen i optimizovan, a njegovi rezultati budu loši jer nije efikasan u dovoljnoj meri.

Da bi *Aktivni nadzor* ELG bio dobro koncipiran i efikasan on mora pored navedenog da uključuje i sledeće elemente :

- Sistem za identifikaciju i praćenje goveda u zemlji;
- Prijavu i proveru svake sumnje na farmama i klanicama i njihovo dodatno observiranje od strane specijalista državnih institucija;
- Postavljanje kauzalne dijagnoze u potvrđivanju svakog slučaja sumnje, postavljene korišćenjem indirektnih dijagnostičkih testova,
- Ukidanje statusa farmama ili regiona samo nakon izvršene potvrde kauzalne dijagnoze;
- Epizootiološko istraživanje svakog slučaja do kraja, odnosno da se utvrди poreklo životinje i virusa.

Korišćenjem ***nested PCR*** kao molekularne metode velike analitičke osjetljivosti (oko pet do deset molekula provirusne DNK) povećava se efikasnost aktivnog nadzora i smanjuju troškovi, jer je pogodan:

- za korišćenje različitog matriksa (mleko, krv, limfno tkivo);
- za razlikovanje sporadičnih od infektivnih limfoma;

- za diferenciranje suspektnih slučajeva tumora sakupljenih u klanicama;
- za ranu dijagnostiku novih infekcija, pre stvaranja antitela;
- za ranu dijagnostiku kod teladi sa kolostralnim antitelima;
- za diferencijaciju pozitivnih ili sumnjivih rezultata u ELISA testu.

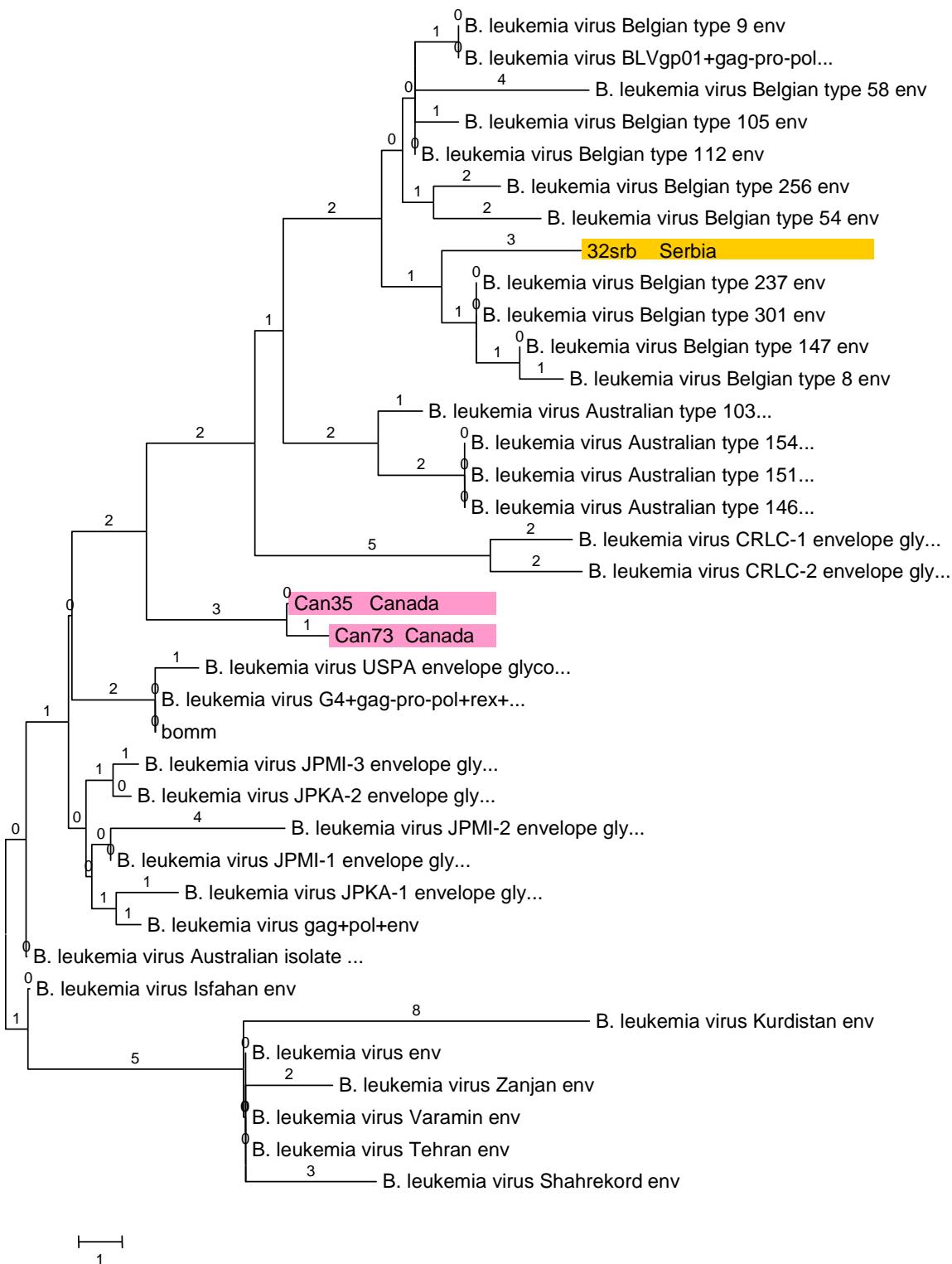
U našoj zemlji, ali i u nekim zemljama Evropske Unije naročito u novijim članicama sa prostora Balkanskog poluostrva i onim zemljama koje prolaze kroz fazu promena i "tranzicije", još uvek su prisutne slabosti sistema zdravstvenog nadzora kao i nedovoljno izgrađena svest različitih učesnika u proizvodnji i u veterinarskoj službi. Posledice ovoga i određenih, nekada preuranjenih postupaka mogu imati za posledicu sporadičnu pojavu ELG. U zemljama EU primenjene su različite aktivnosti u cilju suzbijanja i eradicacije žarišta ELG, koje su najvećoj meri dale rezultate i u skladu sa odredbama direktiva EU koje regulišu ovu oblast. Imajući ovo u vidu, jasno je da se implementacija različitih vidova kontrole mora izvršiti pažljivo uz kvalitetnu evaluaciju realnih mogućnosti za primenu nove metodologije, a u zavisnosti od prethodno uspostavljenih neophodnih preduslova kako bi postignuti rezultati mogli biti trajno održivi.

6.2.2. Filogenetska analiza

Molekularne metode mogu dati značajan doprinos u relizaciji postavljenih zadataka i očekivanih rezultata u sistemu Aktivnog nadzora ELG-a.

Sekvenciranjem i filogenetskom analizom kao metodama molekularne epizootiologije može se ustanoviti srodnost i poreklo virusnih izolata. Utvrđivanje porekla virusa može biti od velike koristi prilikom trasiranja puta ulaska virusa u zemlju ili farmu, odnosno puta prenošenja. Na primer kod uvoza životinja ili nelegalnog prometa goveda. Slučaj prilikom uvoza prilodnih junica iz Kanade radi obnove proizvodnje na jednoj leukoznoj farmi, dobar je primer primene ovih metoda i njihove efikasnosti u rešavanju nastalih nedoumica i mogućih kontroverzi. U karantinu smo otkrili 8 leukoznih junica koje su prošle laboratorijsku kontrolu u zemlji porekla pre transporta i izvoza u našu zemlju.

Filogenetsko stablo



Dendrogram 2: Filogenetsko stablo env regionala BLGV sa domaćim izolatom i kanadskim izolatima iz karantina dužine 335nt (Neighbor-Joining, 100rep., random seed 123, bootstrap test)

Zemlja izvoznica odnosno distributer-vlasnik je izrazio sumnju da je možda došlo do infekcije u karantinu obzirom da nismo zemlja slobodna od ELG i da je na farmi u vremenu održavanja karantina još uvek bilo goveda domaćeg porekla koja su poticala iz leukoznog stada, mada su sve te krave bila serološki negativne. Izvoznik je s pravom izarazio sumnju i doveo u pitanje tvrdnje kupca uvozničnika.

Filogenetskom analizom uspeli smo da dokažemo da izolati virusa dobijeni iz krvi junica u karantinu vode poreklo od uvezenih goveda sa kojima je virus unet u karantin. Ovo se jasno može videti iz pozicioniranja kanadskih izolata na filogenetskom stablu-dendrogramu. Kanadski izolati su formirajli svoju granu i izdvojeni u posebnu grupu koja je srodnja, ali ipak dovoljno udaljena da bi se moglo potvrditi da se radi o virusima različitog geografskog porekla. Srednja vrednosti distace 10 jasno ukazuje da se radi o vrlo hetereognoj grupi koju sačinjavaju izolati virusa kod kojih postoji izražen diverzitet genotipova. Odnosno da su u pitanju virusi udaljenog srodstva sa dosta genetskih razlika.

Prema stepenu homologije/heterologije uočava se izražena homologija u podgrupama i heterologija između različitih podgrupa, a prema poreklu izolata belgijski, australijski, iranski. Belgijski izolati pokazali su viši stepen homologije sa našim sojevima virusa i sa australijskim. Naš izolat sa belgijskim izolatima deli veći broj nukleotidnih substitucija nego sa ostalima. Tako je na 62, 105, 183, 225, nukleotidu G je zamjenjen sa A, na 108, 315 nukleotidu A je zamjeno sa G, na 246 nukleotidu C je zamenjen sa T, a na 255 nukleotidu T je sustituisan sa C, na 289 nukleotidu gde je A je zamenjen sa C takođe na 331 nukleotidu C je zamenjen sa T.

Neke nukleotidne supstitucije su zajedničke za belgijske, naše i kanadske izolate kao što su izmene na 105 nukleotidu G je zamjenjen sa A, 289 nukleotidu je A zamenjen sa C, na 315 nukleotidu A je zamenjen sa G, na 331 nukleotidu C je zamenjen sa T.

Kanadski izolati virusa imaju nekoliko nukleotidnih izmena-supstitucija zajedničkih sa našim izolatom na 288 nukleotidi A je zamenjen sa G i na 287 nukleotidu G je zamenjen sa A. Poređenjem mutacija nastalim na upoređivanim nukleotidnim skvencama kanadskih i naših izolata uočava se da su izmene nastale samo na dva nukleotida.

Bez obzira na to broj nukleotidnih supstistucija sa belgijskim izolatima je znatniji i značajniji. Jasno je da veći broj istih nukleotidnih izmena sa belgijskim izolatima upućuje na veću

homologiju unutar ove podgrupe i genetsku srodnost našeg izolata sa Belgijskim sojem virusa, kojem naš izolat i pripada.

Sa nekim izolatima belgijskog soja naš izolat deli čvorište (Belgian typ 237 EU262583.1 i Belgian typ 301 EU262575.1 Belgian typ 147 EU262582.1. Belgian typ 8 EU262576.1.)

Samim tim je i očekivana njegova bliskost sa upoređivanim belgijskim izolatima sa kojima je procenat identičnosti nukleotidnih sekvenci iznosi 98% (Tabela 21) odnosno sa ovom subgrupom stepen divergencije je najniži te sa njim i čini zajednički subklaster.

Analizirajući širi kontekst može se zaključiti da virusi u okviru srodnih podgrupa dele zajedničkog roditelja. Belgijski soj virusa verovatno je progenitor od koga vode poreklo naši kao i upoređivani kanadski izolati virusa zbog čega su u dendrogramu i pozicionirani blizu australijskih i belgijskih sojeva. Distanca između naših i kanadskih izolata je velika i uprkos mutacijama nastalim na istim mestima koje na prvi pogled mogu da zavaraju, ipak nisu od značaja i radi se o virusima različitog porekla. U ovakvim i sličnim slučajevima filogenetska analiza pored epizootiološkog značaja i u forenzičkom smislu može biti vrlo korisna ponekada i presudna za donošenje ispravnog zaključka.

Bos taurus nije autohtona vrsta na američkom kontinentu te je izvesno da je najverovatnije do migracije virusa na američki i australijski kontinent došlo uvozom goveda iz starog sveta. U tradicionalnom američkom načinu uzgoja goveda u velikim slobodnim stadima postojali su uslovi za brže širenje infekcije unutar stada. Izvozom goveda u evropske zemlje virus BLV je враћен u zemlje porekla. Drugi putevi unosa i širenja na evropski kontinent uvozom goveda iz amerike su manje verovatni kao što su južnoameričke kapibare i američki bizoni mada ne mogu biti sasvin isključeni u evoluciji bolesti i migraciji virusa.

7. ZAKLJUČAK

Na osnovu rezultata postignutih u ovom radu mogu se izvesti sledeći zaključci:

1. Godišnja seroprevalencija na farmama mlečnih krava u ispitivanom periodu se kretala u opsegu od 0,33 do 48,3 %, istovremeno na individualnim gazdinstvima se kretala od 0,07 do 2,86 %;
2. Epizootiološke karakteristike enzootske leukoze goveda uslovljene su specifičnostima područja, načinom držanja i tehnologijom uzgoja, socijalnim navikama i ekološkim faktorima;
3. ELISA test je dobar izbor za standardni dijagnostički postupak u procesu eradikacije ELG, koji omogućava rano otkrivanje zaraženih životinja i njihovo blagovremeno uklanjanje iz stada. Na ovaj način se direktno utiče na dinamiku bolesti u stadu i brzinu ostvarivanja kontrole bolesti, njenog suzbijanje i konačno iskorenjivanja ELG;
4. Pri određivanju najpogodnjeg modela za suzbijanje i iskorenjivanje leukoze treba se rukovoditi i imati u vidu načine transmisije bolesti, specifičnost i osetljivost dijagnostičkog postupka i ekonomski značaj zaraženih stada;
5. Eradikacija enzootske leukoze goveda se može uspešno sprovoditi i na velikim farmama sa visokom prevalencijom inficiranih i obolelih goveda primenom više različitih modela kontrole i eradicacije ELG;
6. Za forme sa niskom prevalencijom i malim brojem pozitivnih goveda u stadu najefikasnije je primeniti **model "Testiraj i ukloni"**, koji je i najpogodniji. Njime se postižu najoptimalniji rezultati za 3-6 godina koji su u zavisnosti od prevalencije, broja životinja u stadu i doslednosti primene predviđenih mera;

7. Na farmama sa velikim procentom inficiranih životinja treba primeniti posebne programe za suzbijanje i iskorenjivanje enzootske leukoze goveda;
8. Ekonomski najoptimalniji model kontrole za stada goveda sa visokom prevlencijom i velikim brojem stoke jeste **model " Izolacije i izdvajanja obolelih i njihovo uklanjanje kroz pojačani godišnji remont stada"**. Primenom ovog modela pozitivni rezultati se mogu postići za 6-8 godina uz mogućnost očuvanja proizvodnje na farmama;
9. Drugi **modeli "Izdvajanja i spore eliminacije remontom stada"** i **model "Dijagnostike i poboljšanja"** u našim uslovima nisu dali pozitivne rezultate na farmama koje su primenjivale ove modele (ovaj model je davao rezultate samo tamo gde je bilo moguće formirati dve odvojene farme) proces je bio dugotrajan, skup i neizvesan, a uticao je na poskupljenje čitavog postupaka eradikacije;
10. Aktivni nadzor je moguće unaprediti uključivanjem i primenom principa koji su pomenuti. Dok bi se njegova efikasnost mogla značajno povećati ukoliko bi se uvele molekularne tehnike kao što su nested PCR, sekvenciranje i filogenetska analiza;
11. Filogenetskim analizama **env** regiona domaćeg izolata virusa ELG iz stada goveda koje vodi poreklo od krava uvezenih krajem šezdesetih godina utvrđeno je da virus pripada **Belgijskom soju virusu**;
12. Filogenetskom analizom **env** regiona izolata virusa ELG poreklom iz kvi junica u karantinu uvezenih iz Kanade utvrđeno je da izolati ne pripadaju istoj podgrupi kojoj pripadaju domaći izolati. Prema stepenu homologije/heterologije uočava se izražena homologija u podgrupama i heterologije između različitih podgrupa što nam govori o različitom poreklu izolata.

LITERATURA

1. Acaite J. Tamosiunas J. Likauskas J. Milius and Sitinski (2007) The eradication of enzootic bovine leukosiis fom Lithuania .Prev.Vet.Med.82, 83-89.
2. Altaner C.,Barr J.,Altanova V.Janik V.: 1991 Protective vaccination against bovine leukamia virus infection by means of cell-derived vaccine.Vaccine, 9, 889-895.
3. Andrews C., H.G. Periera, P.Wildy: Viruses of vertebrates.London: Bailliere Tindall, 1978.;
4. Bartlett, D.E.: Bovine leukosis and A.I.Bov.Pract. 14 (1979), 111-114.
5. Baumgartener, L.E., J. Crowley, S.Entine, C. Olson, G. Hugoson, H.H. Hansen, W.H. Dreher: Influence of sire on BLV infection in progeny.Zbl.Vet.Med.B. 25 (1978), 202-210.;
6. Bause, I., F.Maas Inderwiesen, F.W. Schmitt: Results of en epidemiologicalsurvey of enzootic bovine leukosis in the northerm part of Lower Saxony and a preliminary commmunication of an examination into relationship between BLV antibody development on calving Vet.Res.9 1978.;
7. Bause, Ingrid: Die Persistenz prazipitierender Antikörper im Blutserum leukozeinfizierter Rinder mit besonderer Bercksichtigung des kalbezeitpunktes. Gottingen, 1980. Diss.;
8. Balić,D., T.Kiš, Ivana L.B.Roić, I.Lijkić, J.Madić,Rasprostranjenost enzootske leukoze goveda u Hrvatskoj u razdoblju 2006- 2011 s osvrtom na probleme suzbijanja i iskorenjivanja, Vetrinrska stanica Vol,44,261-272 Zagrab 2013.
9. Bech-Nilsen, S. Pirer, C.E., Ferer, J.F.E.: Natuarl mode of transmission of the bovine leukemia virus, role of bloodsucking insects, Am.J.Vet.Res. 39 (1978), 1089-1092.;
10. Behrens, F., R.Ziegelmaier, T.Toth, M.Keyserlingk, E. Forschner: Rinderleukose Diagnostik: ELISA-ein neus Verfahren. Berl.Münch.Tierarztl.Wschr. 92 (1979), 429-432.;
11. Bendixen, H.H.: Preventive measurs in cattle leukemia: leukosis enzootica bovis. Ann.M.Y.Acod.SCi. 108 (1963), 1241-1267.;
12. Bex, F., Bruck Claudine, M.Mammerickx, D.Portetelle, J.Chysdael, J.Cleuter, Lecereq Madeleine, D.Dekegel, A.Barny: Humoral antibody response to bovine leukemia, virus in cattle and Sheep. Cancer Res. 39 (1979), 1118-1123.;
13. Beyer.J, B.Kollner, P.Tefke, E.Starick, D.Beier, I.Reimann, U.Grunwald,(2002) Cattle infected with bovine leukaemia virus may not also persistent B-cell lymphocytosis . J.Vet.Med.B.49,270-277.

14. Biancifiori, F., G.Cenci: ELISA test for Detection of Antibodies to enzootic bovine leukosis virus. 4.Int.Symp. of bovine leukosis. Brussels - Luxemburg, 1982, 167-184.;
15. Bikovskij, A.F., F.J. Eršov, J.V.J.Karmiševa, V.N. Bljumkin, L.L. Mironova : Atlas virusnoj citopatologiji. Moskva, Medicina, 1975.;
16. Blood, D.C., J.A.Handerson, OmM.Radostitis, J.H.Rundel, C.C. Gay: Veterinary medicine 5.ed.London, Bailliere Tindull, 1979, 609-614.;
17. Bošnakovski, J.: Raširenost na enootskata leukemija kaj govedata vo Makedonija. Makedonski Veterinaren pregled 13 (1984), 59-65.;
18. Burny, A., Bruck, D.Couez, J.Deschamps, J.Ghysdael, R.kettmann, G.Marboix, D.Portetelle: Enzootic bovine leukosis: Biochemical aspects. 5.Int.Simp. of bovine leukosis. Tubingen, 1982, 161-164.;
19. Brajušković.G : Molekularna biologija II Biološki fakultet Beograd 2012, ISBN 978-86-387-0803-1.
20. Budarkov, A.V., I.A.Bakulov, V.V.Markov, R.U.Čumak: Radionuklidnie metodi i sledovanija v virusologiji i mikrobiologiji. Moskva: Energoatomizdat, 1990.;
21. Buerhing G., Kramme P., Schultz R..Evidence for bovine leukemia virus in mammary epithelial cells of infected COWS.Labor.Investig., 1994, 71, 359-365.
22. Buridge, J.M., D.M.Puhr, J.M. Hennemann: Epidemiological study of bovine leukemia virus infection in Florida. 4.Int.Simp. of bovine leukosis. Brussels - Luxembourg, 1982, 373-380.;
23. Burny, A., F.Bex, H.Chanterenne, Y.Cleuter, D.Dekegel, J.Ghysdael, R.Kettmann, M.Leclercq, J.Leunen, Mammerickx, D.Portetelle: Bovine leukemia virus involvement in enzootic bovine leukosis. Advan.Cancer Res. 28 (1987), 252-269.;
24. Buxton, A., G.Fraser: Animal microbiology, Oxford, Blackwell Sci.Publ., 1977.;
25. Buxton, B.A., Hinkle, D.R.Schultz: Role of insects in the transmission of bovine leukosis virus: potencial for transmission by stable flies, horn flais, an tabanids. Am.J.Vet.Res. 46 (1985), 123-126;
26. Buxton, B.A., Schultz, W.E. Collins: Role of insects in the transmission of bovine leukosis virus: potential for transmission by mosquitoes. Am.J.Vet.Res.43 (1982), 1458-1459.;
27. Calafat, J., A.A. Ressang: Morphogenesis of bovine leukemia virus. Virology (1977), 42-53;
28. Calafat, J., A.A.Rossang: Ultrastructure of bovine leukemia virus. Comparison with other RNA tumor viruses. CEC Seminar bovine leukosis: Various methods of molecular virology. Bruxelles, 1976, 13-30;

29. Caldwell, G.G., L.L.Baungartner, C.Carter, S.Cotter, R.Currier, M.Essex, W.Hardy, C.Olson, R.Olsen: Seroepidemiologic testing in man for evidence of antibodies to feline leukemia virus and bovine leukemia virus. Comp.Leukemia Res.43 (1975), 238-241;
30. Camaragos MF, Stancek D, Rocha MA, Lessa LM, Reis JK, (2002) Partial sequencing of env gene of bovine leukaemia virus from Brazilian samples and phylogenetic analysis. J Vet Med B Infect dis Vet Public Health 49: 325-331
31. Coetzer JAW ,Tustin RC,2004, Infectious disease of Livestock 2ND Edition Cape Town,South Africa, Oxford University Press Sothen Africa Enzootic bovine leucosis , 708-716.
32. Crespeau, F.J., P.Sarsat, A.Vuillaume, D.Levy, A.L. Parodi: A two years sero-epidemiological survey of bovine leukemia virus (BLV) infection in high incidence area of the south-west of France. Ann.Rech.Vet.9 (747-754);
33. Cvelić-Čabrilović Vesna, T.Bajrović, A.Nevjestačić: Preliminarna ispitivanja rasprostranjenosti leukoze goveda na nekim govedarskim uzgojima BiH. Vet.Glasn.38 (1984), 611-615;
34. Cvetlić-Čabrilović Vesna, A.Nevjestačić, T.Bajrović, M.Sabrinović, D.Kubelka: Ispitivanja rasprostranjenosti goveđe leukoze na društvenim gazdinstvima u SR Bosni i Hercegovini. Zbornik kratkih sadržaja 9.Savetovanja o dijagnostici, profilaksi i terapiji u savremenoj stočarskoj proizvodnji. Primošten, 1984.;
35. Cvetnić S.: Savremeni domeni epizootiologije u unapređenju zdravlja stoke ,Zbornik VI Kongres veterinara i vet. tehničara Jugoslavije,285-293,Zagreb,1987.
36. Cvetnić, S.: Virusne bolesti životinja. Zagreb, Školska knjiga 1995.;
37. Danforth D.N.Jr.:Crit. Rev. Oncol.Hematol.,12,91-149,1992.
- 38 Daniel R.C.W.,Gatei M.H., Good M.F.,Boyle D.B.,Lavin M.F.: 1993.Recombinant viral vaccines for enzootic leucosis.Immunol.Cell Biol., 71,399-404
39. Dekegel, D., M.Mammerickx, A.Burny, D.Portetelle, Y.Cleuter, J.Ghysdael, R.Kettmann: Morphogenesis of bovine leukemia virus (BLV), CEC, Seminar bovine leukosis: Various methods of molecular virology. Brussels, 1976, 31-42;
40. Deshayes, L., D.Levy, A.L.Parody, J.P.Levy: Proteins of bovine leukemia virus.1.Characterization on reaction with natural antibodies. J.Virology.21 (1977), 1056-1060;
41. Devare, S.G., R.J.Stephenson, S.P.Sarma, A.S.Naronson: Bovine lymphosarcoma: Development of a radioimmunologic technique for detection of the etiologic agent. Science, 194 (1976), 1428-1430.
42. Devare, S.G., S.Chander, S.B.Samagh, R.J.Stephenson: Evaluation of radioimmunoprecipitation in domestic cattle. J.Ummunol., 119 (1977), 227-282;

43. Dietzschold, B., O.R.Kaaden, B.Frenzel: Subunit and fine structure of the glicoprotein of bovine leucemia virus. Ann.Res.Vet.9 (1978), 613-617;
44. Diglio, C.A., J.F.Ferrer : Induction of syncytia by the bovine C-type leukemia virus. Cancer.Res. 36 (1976), 1056-1067;
45. D'Giacomo R.F (1992) The epidemiology and control of bovine leukemia virus infection. Vet.Med. 87, 248-257.
46. Donham, K.J., W.J.Berg, S.R.Sawin: Epidemiologic relationship of the bovine population and human leukemia in Iowa. Am.J.Epid. 112 (1980), 80-92;
47. Dugalić Nada, B.Krupež, D.Kostović, P.Popović, M.Simić, : Leukoza goveda i njeno suzbijanje na teritoriji Opštine Čačak u toku 1983-1984. godine. Vet.glasn.40 (1986), 427-429;
48. Đukić Branislava, D.Vicković, Z.Aleksić: Leukoza goveda sa aspekta forenzičke procene. Zbornik predavanja 12. seminara za stručno usavršavanje veterinara. Beograd, 1983, 100-113.
49. Đukić Branislava, S.Stamatović, G.Matić, M.Putnik, D.Zdravković, M.Jovanović: Egzoftalmus kao posledica leukoznih promena u mišićima oka govečeta. Prilog histopatogeneze. Vet.glasn.10 (1975), 713-718;
50. Đukić Branislava: Patomorfološka ispitivanja leukoze goveda. Vet.glasn. 11 (1969), 873-886;
51. Dun, A.E.: Ob ustojčivosti k leukozu nekotorih porod krupnogog rogatog skota. Veterinarija 1 (1988), 29-31;
52. Dutcher, R.M., E.P.Larkin, R.R.Marshak: Virus-like particles in cows milk from a herd with high incidence of limphosarcoma. J.Nat.Cancer Inst.33 (1964), 1055-1064;
53. Eaglesome, D.Mitchell, I.K.Betteridge, G.B., Randall, E.L.Singh, B.S.Samgh, W.C.D.Hare: Transfer of embryos from bovine leukaemia virus - infected cattle to uninfected recipients: Preliminary results. Vet.Rec.7 (1982), 122-123;
54. Eife, K.Von.: Beitrag zum Vorkommen der Leukose der Rinder in Niedersachsen Ergebnisse aus funfjährigen Blutuntersuchungen (1965-1969). Deutch.Tierarztl.Wschr.(78) 1971, 485-508;
55. Eves F., Molloy J., Dimmock C., Eves L.: A field evaluation of the polymerase chain reaction procedure for the detection of bovine leukaemia virus proviral DNA in cattle., Vet.Microbiol., 1994, 39,313-321.
56. Erskine R.J., Bartlett P.C., Byrem T.M. (2012) Herd level determinants of bovine leukemia virus prevalence in dairy farms . J.Dairy Res. 79(4) 445-450.

57. Fechner H., Kurg A., Geue L., Blankenstein P., Mewes G., Ebner D., Bejer D.:Evaluation of polymerase chain reaction (PCR) application in diagnosis of bovine leukemia virus (BVL) infection in naturally infected cattle. J.Vet.Mad.B., 1996, 43, 621-630.
58. Ferrer, J.F., L.Aavila, D.N.Stock: Serological detection of type C viruses found in bovine cultures. Canc.Res.32 (1972), 1986-1870;
59. Ferrer, J.F., M.Diane, M.Bhatt, D.A.Abt, R.R.Marshak, V.L.Baliga: Serological diagnosis of infection with the putative bovine leukemia virus (BLV). Comp.Leukemia, Res. 43 (1975), 235-237;
60. Felemer.R, G.Munoz, J.Zunoga, M.Revabel : Molecular analysis of a 444 bp fragment of the bovine leukaemia virus gp51 env gen reveals a high frequency of non-silent point mutations and suggests the presence of two subgroups BLV in Chile, Veterinary Microbiology 108, 2005, 39 - 47.
61. Fischer, W., M.Keyserlingk-Eberius: Untersuchungen über das Verhalten von gegen das Virus der enzootischen Rinderleukose (BVL) gerichteten maternalen Antikörpern im Blutserum von Kalbern und Schlusfolgerungen für ihre tierseuchenrechtliche Bedeutung. Tierarztl.Umschau, 35 (1980), 815-823;
62. Flensburg, C.J., Rike Hoff-Jorgensen: Recent development in the Danish leukosis control programme. 5.Int.Symp.bovine leukosis, Tubingen, 1982.;
63. Forschehner, E., M.J.Seidler, M.Keyserling-Eberins: Methodische Erfahrungen mit dem Agargell immunodiffusions Test (ID-Test) bei der routinemässigen Massenuntersuchung von Blutproben zur Erkennung der enzootischen Rinder-leukose. Berl.Münc.Tierartzl.91 (1978), 453-456;
64. Frenzel, B., O.R.Kaaden, M.Musgay: Detection of Antibodies against BLV and its structural Proteins p15, p24 and gp69. CEC.Sc.Workshop on bovine leukosis. Rotherdam, 1977, 25-31;
65. Frenzel, B., O.R.Kaaden, M.Mussgay, F.Weiland: Some biochemical and serological properties of a glycoprotein isolated from BLV. Int.Working conference on bovine leukosis. Brussel, 1976;
66. Frenzel, B., O.R.Kaaden, M.Mussgay: Untersuchungen über die Häufigkeit und Verteilung von Antikörpern gegen ein Glykoproteinantigen des Rinderleukose virus in leukoseversenuchten, Bestanden. Ttsch.Tierarztl.Wschr.85 (1978), 45-47;

67. Furruta Y., Shinohara K., Sano K., Meguaro M., Nagashima J.: In situ hybridisation with digoxigenin -labeled DNA probes for detection of virus genomes. *J.CLIN.Pathol.*, 1990, 43, 806-809.
68. Gauthier, T., B.Guillemain, T.Astier, R.Mamoun: Sensitivity of an immunodiffusion test for the detection and quantitation of bovine leukemia virus induced antibodies. 4.Int.Symp. of bovine leukosis. Brussels, Luxembourg, 1982: 151-166;
69. Gilden, R.V., C.W.Long, M.Hanson, R.Toni, H.P.Charman, S.Oroszlan, J.M.Miller, M.J. Van Der Maaten: Characteristics of the major internal protein and RNA-dependant DNA-polymerase of bovine leukemia virus. *J.Gen.Viral* 29 (1975), 305-314;
70. Gileet N., Florins A., Boxus M, et al., 2007, Mechanisms of leukemogenesis induced by bovine leukemia virus: prospects for novel anti-retroviral therapies in humans. *Retrovirology*, 4,18.
71. Götze, R.G., G.Rosenberger, G.Ziegenhagen: Die Leukose des Rindes. Ihre hematologische und Leukose des Rindes. Ihre hematologische und klinische Diagnose. *Mh.Vet.Med.*9 (1954), 517-526;
72. Guillemin, B., Z.R.Mamoun, T.Astier, F.J.Duplan, L.A.Parodi: Early polykaryocytosis inhibition test: Evaluation of its performance in seroepidemiological survey of bovine leukemia virus induced antibodies in cattle. *Ann.Rech.Vet.*9 (1978), 709-720;
73. Gupta, D., F.J.Ferrer: A critical comparison of the virus neutralization radioimmunoprecipitation and immunodiffusion test for the serological diagnosis of the BLV infection. *Ann.Rech.Vet.*9 (1978), 683-688;
74. Gutierrez A. Alvarez I. Politzki R. Marina Lomonaco Rondeli F. Fondevil N. Trono K. 2011. Natural progression of bovine leukemia virus infection in Argentinean dairy cattle. *Vet.MicrobiOL.* 151,255-263.
75. Henderson B., Rossa R.K., Pike M.C., Casagrande J.T.: Cancer Res., 42,3232-3239, 1982.
76. HENDISTATUS II Multiannual animal disease status , FAO-WHO-OIE, 2004.;
77. Hoff, R.Jorgensen: Slow virus infections with particular reference to maedi-visna and enzootic bovine leukemia. *Vet.Sci.Commun.*1 (1977), 251-263;
78. Hofirek, B., P.Jagos, L.Polak, R.Radenacher, A.Tesar, F.Varejka, J.Zavada: Diagnostics of enzootic leukosis in cattle in Czechoslovakia and the methods of its suppression. CEC, 3.Int.Symp. of bovine leukosis. Alfort, 1978, 739-742;
79. Horvath, Z., G.Ferencz., J.Kajtar: The role of blood sampling needles in the transfer of enzootic bovine leukosis. 5.Int.Symp.bovine leukosis. Tubingen, 1984, 306-310;

80. Hugh, C., H.C.McDonald, J.F.Ferrer: Detection quantitation and characterization of the major interval virion antigen of the bovine leukemia virus by radioimmunoassay. *J.Nat.Canc.Inst.* 4 (1976), 875-882;
81. Iliev, T.: *Bolesti po govedata*. Sofija, Zemizdat, 1964.;
82. Ivačić, Z.: Komparativno proučavanje vrijednosti ELISA i gel-imunodifuzionog testa u dijagnostici enzootske goveđe leukoze. *Veterinaria*, 37 (1987), 249-272;
83. Jacobs Er., Song Z., Poon H., Henney J., Taylor A., Jefferson B., Vernan W., Valli V. : Proviral detection and serology in bovine leukemia virus-exposed normal cattle and with lymphosarcoma. *Can.J.Vet.Res.*, 1992, 56, 339-348.
84. Jacobsen, J.L., R.W.Bull, Janice M.Miller, T.H.Herot, J.B.Kaneene: Transmission of bovine leukemia virus: Prevalence of antibodies in precolostral calves. *Prev.Vet.Med.* 1 (1982), 265-272;
85. Jakšić, L.B., Đ.Sofrenović: Specijalna patološka morfologija. Beograd, Naučna knjiga, 1987.;
86. Jazbec, I., D.Smrekar: Indigestija u krave, izazvana opsežnim leukoznim promenama u sirištu. *Vet.glasn.* 26 (1972), 39-42;
87. Jazbec, I., Martina Klinkon, V.Gregorović: Dijagnostika enzootske goveđe leukoze ID i ELISA testom u soku različitih organa. *Vet.glasn.* 40 (1986), 415-419;
88. Jazbec, I., Martina Klinkon: ELISA test u dijagnostici enzootske leukoze goveda. *Vet.glasn.* 39 (1985), 433-439;
89. Jazbec, I., V.Gregorović, F.Skušek: Extent, diagnosis and eradication of enzootic bovine leukosis in Socialist Republic of Slovenia (Yugoslavia). 4.Int.Symp. of bovine leukosis. Brussels, Luxembourg, 1982, 384-395;
90. Jazbec, I., V.Gregorović, F.Skušek: Imunodifuzijski test (ID test) u dijagnostici enzootske goveđe leukoze sa posebnim osvrtom na rasprostranjenost u SR Sloveniji. *Vet.glasn.* 34 (1980), 349-355;
91. Jazbec, I., V.Gregorović, F.Skušek: Rezultati eradicacije enzootske leukoze goveda u SR Sloveniji. *Vet.glasni.* 38 (1984), 499-509;
92. Jazbec, I., V.Gregorović, F.Skušek: Rezultati komparativnih istraživanja hematološke i serološke dijagnostike (ID test) enzootske goveđe leukoze. *Vet.glasn.* 33, (1979, 45-51;
93. Jazbec, I., V.Gregorović, F.Skušek: The extensiveness and eradication of enzootic leukosis great milk herds in Slovenija (Yugolsavia). 5.Int.Symp. of bovine leukosis. Tubingen, 1982, 461-474;

94. Joest, E.: Handbuch der Speziellen Pathologischen, Anatomie der naustiere. Berln, Hambur, Parly, 1970;
95. Jovanović, M., R.Pavlović, Branislava Đukić, D.Jovanović, M.Andelić, B.Radaković: Neka zapažanja o uticaju leukoze na reproduktivna svojstva krava crveno-danske rase. Veterinaria, 21 (1972), 247-252;
96. Kaaden, O.R., B.Frenzel, F.Weiland, M.Mussgay: Charakterisierung des Virus der Rinderleukose und seiner Antigene. Fortschr.Vet.Med.28 (1978), 159-163;
97. Kaaden, O.R., W.Fischer, A.Murmann, A.Kiebisch: Transmission of BLV by Ixodes Ricinus Ticks. 4.Int.Symp. of bovine lukosis, Brussels, Luxembourg, 1982, 348-358;
98. Kavanagh, J.P.: Preliminary results of a programme for the eradication of enzootic bovine leukosis using the glycoprotein agar-gel immunoffusion test. CEC Sc.Workshop on bovine leukosis. Weybridge, 1979, 13-20;
99. Kenyon, S.J., J.F.Ferrer, A.R.McFeely, C.D.Graves: Induction of lymphosarcoma in sheep by bovine leukemia virus. J.Nat.Cancer Inst.5 (1981), 1157-1163;
100. Kenyon, S.J., P.Gupta, J.F.Ferrer: Presence of the bovine leukemia virus (BLV) in milk of naturaly infected cows. 4. Int.symp.bovine leukosis. Brussels; Luxembourg 1982: 289-298;
101. Kettmann, R., A.Barny, Y.Cleuter, J.Ghysdael, M.Mammerickx: Distribution of bovine leukemia virus proviral sequences in tissues of bovine, ovine and human origin. Ann. Rech. Vet. 9 (1978), 837-844;
102. Kettmann, R., M.Mammerickx, D.Dekegel, J.Ghysdael, D.Portelle, A.Burny: Biochemical approach to bovine leukemia. Acta haematol. 54 (1975, 201-209;
103. Klinkon-Ogrinec Martina: Hematološki in biojemijski profil pri živalih, pozitivnih in negativnih glede na enzootsko govejo leukoco. Ljubljana: VTOZD za veterinarstvo BF, 1986., Magistarsko delo;
104. Knapen K., Kerhofs P., Thiry E., Mammerickx M.: Epidemiological evaluation of a monoclonal ELISA detecting antibodies against bovine leukemia virus in serum pools. Epidemiol.Infect., 1994, 113, 563-569;
105. Klintevall K.,Ballagy-Pordany A.,Naslung K.,Belak S.:Bovine leukaemia virus: rapid detection of proviral DNA by nested PCR in blood and organs of experimentally infected calvec. Vet.Microbiologi., 1994, 42, 191-204.
106. Jovanović M, Knežević M. Opšta patologija. Beograd:Fakultet veterinarske medicine 1999;
107. Kono, Y., H.Hatakeyama, H.Ishikawa, H.Sentsui: Antibody titers in cattle clinically and subclinically infected with bovine leukemia virus. Vet. Microbiol. 6 (1981), 167-170;

108. Kobayashi S., T. Tsutsui, T.Yamamoto, Y.Hayam, K.Kameyama, M.Konishi and K.Murakami (2010): Risk factors associated with withen-herd transmission of bovine leukemia virus on dairi farms in Japan. *Vet.Res.* 6, 1-6.
109. Kuzman J.,Kozacsynska B., Bicka L.: Diagnosis of bovine leukemia virus infection in newborn calves by use of PCR .*Bull.Vet. Inst.Pulawy* , 1999, 43, 125-131;
110. Kubis P., Rulka J.,Dabrowski S., PCR in diagnosis of bovine laukemia virus infection. *Bull.Vet. Inst.Pulawy* , 1996,40,85-89
111. Lange, S., R.O.Kaaden: Establishment of cell line and detection of a retrovirus from bovine skin leukosis. 5. *Int.symp.bovine leukosis. Tubingen* 1982: 529-534;
112. Levy, D., L.Deshayes, B.Guillemain, L.A.Parodi: Bovine leukemia virus specific antibodies among French cattle. I. Comparison of complement fixation and hematological test. *Int. J.Cancer* 19 (1977), 822-827;
113. Levy, D., L.Deshayes, L.A.Parody, P.J.Levy, R.J. Stephenson, G.S.Devare, R.Gilden: Bovine leukemia virus specific antibodies among French cattle. II. Radioimmunoassay with the major structural protein (BLV-p24). *Int. J.Cancer* 20 (1977), 543-550;
114. Levy, D., L.Deshayes, L.A.Parody, P.J.Levy: Bovine leukemia virus-specific antibodies in French cattle. III. Prevalernce of the BLV-gp51. Radioimmunoassay for the detection of BLV-infected animals. *Int.J.Cancer* 25 (1980), 147-152;
115. Levy, D.: Immunologikal mehanisms of the virus-inducaded leukemias. 5. *Int.symp.bovine leukosis. Tubingen* 1984; 649-160;
116. Levy, D.M., Hoang-Xuan, H.Leveziel, L.A.Parody: Immunochemical Carakterization of Major Histocompatibillity Antigens in Cattle. 5. *Int.symp.bovine leukosis. Tubingen* 1982;
117. Libermann, H., W.Wittman, M.Muller: Neue Erkenntnise bei der enzootischen Rinder Leukose. *Mh.Vet.Med.* 36(1981), 69-74;
118. Lilly, F.: The inheritance of susceptibility to the Gross leukemia virus in mice. *Genetics* 53 (1966), 529-539;
119. Lorenz, J.R., O.C.Straub: Enzootic bovine leukosis and bovine leukemia virus. Boston: Nijhoff, Publ. 1987; 51-68;
120. Lorenz, J.R., OC.Straub: Evaluatin of an international comparative immunodiffusion test for the diagnosis of bovine leukosis. CEC Sc.Workshop on bovine leukosis. Weybridge, 1979;
121. Lukas, H.M., D.H.Roberts, G.Wibberley, S.Buschnell: Isolation of BLV from bovine secretions. 5. *Int.symp. bovine leukosis. Tubingen* 1972: 280-286;

122. Lukas, H.M., D.H.Roberts: Transmission of bovine leukosis virus (BVL). 4. Int.symp. bovine leukosis. Brussels; Luxembourg 1982; 264-268;
123. Lukas, H.M., M.Dawson, D.Chasey, G.Wibberley, D.H. Roberts: Enzootic bovine leukosis virus in semen. *Vet.Rec.* 106 (1980), 7, 128;
124. Maaten Van Der M.J., J.M.Miller, M.J.F.Schmerr: In utero transmission of bovine leukemia virus. *Am.J.Vet.Res.* 42 (1981), 1052-1054;
125. Maaten Van Der M.J., J.M.Miller: Sites of in vivo replication of bovine leukemia virus in experimentaly infected cattle. *Ann. Rech.Vet.* 9 (1978), 831-835;
126. Maaten Van Der M.J., J.M.Miller: Susceptibility of cattle to bovine leukemia virus infection by various route of exposure. In: *Advances in comparative leukemia research.* Amsterdam; New York: Elsevier, 1977, 92-32;
127. Maaten Van Der M.J., J.M.Miller: Use of a continuous feline cell line for virologic and serologic investigations. *Am.J.Vet.Res.* 41 (1980), 1785-1788;
128. Malmquist, W.A., M.J.Van Der Maaten, D.A.Boothe: Isolation, immunodiffusion, immunofluorescence and electron microscopy of a syncytial virus of lymphosarcomatus and apparently normal cattle. *Cancer Res.* 29(1969), 188-200;
129. Mammerickx, M., D.Portetelle, A.Burny: Aplication of an enzime-linked immunosorbent assay (ELISA) involving monoclonal antibody for detection of BLV antibodies in individual or pooled bovine milk samples. *Zbl.Vet.Med.* B32 (1985), 526-533;
130. Mammerickx, M., A.Barny, D.Dekegel, J.Ghisdael, R.Kettmann, D.Portetelle: Comparative stady of four diagnostic methods of enzootic bovine leukosis. *Zbl.Vet.Met.* B24 (1977), 733-740;
131. Mammerickx, M., A.Corrman, A.Burny, D.Dekegel, D.Portetelle: Eradication of enzootic bovine leukosis based on the detection of the disease by the gp immunodiffusion test. *Ann.Rech.Vet.* 9 (1978), 885-894;
132. Mammerickx, M., D.Dekegel, A.Burng, D.Portetelle: Study of the oral transmission of bovine leukosis to sheep. *Vet.Microbiol.* 1 (1976), 347-350;
133. Mammerickx, M., D.Dekegel: Presence of *Trypanosoma theileri* in herds with a high incidence of enzootic bovine leukosis. *Ann.Spc.Belge Med.Trop.* 56, (1976), 47-53;
134. Mammerickx, M., D.Portetelle, A.Burny, J.Leunen: Detection by immunodiffusion and Radioimmunoassay-test of Antibodies to Bovine Leukemia Virus Antigens in Sera of Experimentaly Infected Sheep and Cattle. *Zbl.Vet. Met.* B 27 (1980), 291-303.;
135. Mammerickx, M., D.Portetelle, A.Burny: Experimental Crosstransmissions of bovine leukemia virus (BLV) between several animals species. *Zbl.Vet.Med.* B28 (1981), 69-81;

136. Mammerickx, M., J.Otte, F.Rase, E.Braibant, D.Portetelle, A.Burny, D.Dekegel, J.Ghysdael: Lagre scale serological detection in Belgium of enzootic bovine leukosis. Zbl. Vet.Met.B 25 (1978), 416-424;
137. Mammerickx M., Portetelie D., Burny A.: The diagnosis of enzootic bovine leukosis. Comp.Imunol.Microbiol. Infect.Dis., 1985,,8,305-309.
138. Markewicz L., Kaminski S., Rulka J.: BamHI restriction fragment length polymorphism within the env gene of bovine leukemia provirus. Bull.Vet. Inst.Pulawy 2004, 48, 15-18.
139. Matsumura K, E Inoue, .Y Osawa, and K.Okazaki (2011) Molecular epidemiology of bovine leukemia virus associated with enzootic bovine leukosis in Japan. VirusRes.155,343-348.
140. Mandić,D., R. Hasanagić,K.Perović:Prilog poznavanju limfatične (juvenilne) leukoze teladi i junadi. Prex.Vet.33.(1985),215-220
141. Manz D.:Die Milch Untersuhungsmteial fur die Diagnostik der enzootischen Leukose des Rindes . Deutshe Tierarztliche Wochenschrift 88, 161-208;
142. Manz,D.,D.Wiegand, F.Behrens, R.Ziegelmaier: Vergleichende serologische Untersuchungen an Bult und Milsh zur Diagnostik der enzootischen Leukose des Rindes. Zbl.Vet.Med. 28 (1981), 280-291;
143. Marin, C., N.De Lopez: Humoral spontaneous response to bovine leukaemia virus infection in zebu, sheep, buffalo and capubara. 4 Int.symp. bovine leukosis. Brussels; Luxembourg 1982: 310-319;
144. Markson, M.L.: Bovine leukosis in Great Britain, CEC seminar Bovine leukosis: Various methods of molecular virology. Brussels 1976: 381-386;
145. Marsolais G., Dubuc R., Bergeron J., Kelly E., Jackson M.: Importance of primer selection in the application of PCR technology to the diagnosis of bovine leukemia virus. J.Vet.Diagn.Invest., 1994, 6, 297-301;
146. Martin, J., M.J.Van Der Maaten, J.M.Miller: An evalution of the syncytium assay for the detection of bovine leukemia virus in peripheral blood leukocytes. Bovine Leucosis. Various methods of Molecular Virology. Seminar EC on bovine leukosis. Brussels 1976: 299-309;
147. Matthaeus, W., O.C.Straub: immunoglobulin amounts and leukosis-specific antibodies in colostrum, milk and serum in the periparturient period and their levels in the newborn. 4. Int.symp. on bovine leukosis. Brussels; Luxembourg 1972; 112-21;
148. Moratio G, Obal G, Dubra A, Correa A, Bianchi S, Buschiazzo A, Cristina J, (2010) Phylogenetic analysis of bovine leukemia viruses in South America reveals diversification in seven distinct genotypes. Arch. Virol 155; 481-489.

149. Mc. Donald, H.C., D.C.Graves, J.F.Ferrer: Izoloation and characterization of on antigen of the bovine C type virus. *Cancer Res.* 36 (1976), 1251-1257;
150. Mc.Girrl.K.K, G.C.Buehringl :Tax end rex sekvences of Bovine Leukaemia Virus from Globally Duverse Isolates: Rex Amino Acid Seqvences more Vatiabile then Tax.: *J.Vet.Med. B* 52,8-16 Blackwell Verlag. Berlin, 2005
151. Mijović, A.: Vnos, širenje, Diagnostika in zatiranje enzootske goveje levkoze v čredah krav molznic kmetijske zadruge Postojna. Ljubljana, VTOZD za veterinarstvo 1988, Magistarsko delo;
152. Miller, J.M., F.J.Schmerr, M.J. Van Der Maaten: Comparison of four serologic tests for the detection of antibodies to bovine leukemia virus. *Am.J.Vet.Res.* 42 (1981), 5-8;
153. Miller, J.M., M.J. Van Der Maaten, M.J.F.Schmerr: Vaccination with glycosidase-treated glycoprotein antigen does not prevent bovine leukosis virus infection in cattle. 5. Int. symp.bovine leukosis. Tubingen 1982;
154. Miller, J.M., M.J. Van Der Maaten: Infectivity tests of secretions and excretions from cattle infected with bovine leukemia virus. *J.Nat.Cancer Inst.* 62 (1979), 425-428;
155. Miller, M.J., C.Olson: Precipitating antibody to an internal antigen of the C typ virus associated with bovine lymphosarcoma. *J.Nat.Canc.Inst.* 49 (1972), 1449-1462;
156. Miller, M.J., J.M. Van Der Maaten: Serological defection of bovine leukemia virus infection. *Vet.Microbiol.* 1 (1976), 159-202;
157. Miller, M.J., J.M.Van Der Maaten: A complement fixation test for the bovine leukemia (C-type) virus. *J.Nat.Canc.Inst.* 53 (1974), 1699-1702;
158. Miller, M.J., L.D.Miller, C.Olson, K.G.Giltte: Virus-like particles in phytohemmaglutinin-stimulated lymphocite cultures with reference to bovine lymphosarcoma. *J.Natl. Cancer Inst.* 43 (1969), 1297-1305;
159. Miller, M.J., M.J. Van Der Maaten, Marshall Phillips: Studies of a glycoprotein associated with bovine leukemia virus. CEC seminar on bovine leukosis: Various methods of molecular virology. Brussels 1976: 69-82;
160. Milosavljević, P.: Limfosarkomatozna splenomegalija u krave. *Vet.glasnik* 42, (1988), 59-63;
161. Moliteni E., Agrasti A., Meneveri R., Marozzi A., Malcovati M., Bonizzi L., Poli G., Ginelli E.: Molecular characterization of a variant of proviral bovine leukemia virus (BVL).*J.Vet.Med.B.*, 1996, 43, 201-211;
162. Mussgay, M., R.O.Kaaden: Neuere Erkenntnisse über die Atiologie und die serologische Diagnoses der enzootischen Leukose des Rindes. *Dt.tierarztl. Wschr.* 83 (1976), 351-353;

163. Mussgay, M., R.O.Kaaden: Progres in studies on the etiology and serologic diagnosis of enzootic bovine leukosis. *Curr.Top.Microbiol. Immunol.* 79 (1978), 43-73;
164. Murakami.K, Kobayashi .S, Konishi, Kemeyma.K, Yamamoto.K, The recent prevalence of bovine leukemia virus infection amog Japanese cattle, National Institut of Animal Helth Tsukuba, *Veterinary Microbiology*, 148 (2011) 84-88.
165. Naif H., Brandon R., Daniel R., Lavin M.: Bovine leukemia proviral DNA detection in cattle using the polymerase chain reaction. *Vet. Microbiol.*,1990, 25, 117-129;
166. Nevjestic, A., T.Bajrović, M.Sabrinović, Lj.Rukavina: Ispitivanje rasprostranjenosti leukoze na govedarskim uzgojima društvenog sektora u SR Bosni i Hercegovini. 10. Savetovanje o dijagnostici, profilaksi i terapiji u savremenoj stočarskoj proizvodnji. Primošten, 1985;
167. Nikolić, B.: Die Rinder Leukoses in Vojvodina. 5. Int.Met.diseases of cattle. Opatija 1968: 945-948;
168. Nuotio.L, H.Rusanen, L.Sihvonen and E.Neovonen, Eradication og bovine leukosis from Finland. *Prev.Vet.Med.*59,(2003) 43-49.
169. O.I.E Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animalis, 5th edition, 2004.;
170. Ogrinec, K.M.: Hematološki in biohemski profil živalih pozitivnih in negativnih glede na enzootsko gojivo levkozo. Ljubljana: VTOZD za veterinarstvo 1986. Magistarsko delo;
171. Ohishi K., Suzuki H., Yamamoto T., Mariyama T., Miki K., Ikawa Y., Numakanai S., Okada K., Ohshima K., Sugimoto M.. 1991. Protective immunity against bovine leukaemia virus induced in carrier sheep by inoculating with a vaccinia virus-BLV env recombinant :Association with cell mediated immunity.:*J.Gen.Virology*,72,1887-1892;
172. Olson, C., D.M.Driscool: Bovine Leukosis: Investigation of risk for man. *J.Am.Vet.Med.Ass.* (1978), 11, 1470-1472;
173. Olson, C., L.D.Miller, J.M.Miller, H.E.Hoss: Brief Communication: Transmission of Lymphosarcoma from Cattle to Sheep. *J.Nat. Cancer Inst.* 49 (1972), 1463-1467;
174. Olson, C., R.F.Rowe, R.Kaja: Embryo transplantation and bovine leukosis virus preliminary report. 4. *Int.ymp. bovine leukosis, EEC. Brussels; Luxemburg* 1982; 361-369;
175. Ott S.I. Johnson R. Wells S.J. 2003. Association between bovine leukosis virus seroprevalence and herd-level productivty on US dairy farms . *Prev. Vet. Med.*61.249-262.
176. Onuma, M., C.Olson, L.E.Baumgartner, L.D. Pearson: An ether-sensitive antigen associated with bovine leukemia virus infection. *J.Nat. Cancer Inst.* 55 (1975), 1155-1158;
177. Onuma, M., L.E.Baumgartner, C.Olson, L.D. Pearson: Fetal infection with bovine leukemia virus in sheep. *Cancer Res.* 37 (1977), 4075-4081;

178. Operating instruction for the enzime immunoassay (EIA) kit to detekt antibodies in tankmilk against enzootic bovine leukosis virus (EBL). Dr.Bommeli AG, Liebefeld-Bern. CH.
179. Ouchterlony, O.: Handbook of immunodiffusion and immunoelectrophoresis. Michigan: Ann.Arbor Sci.Publ. 1968;
180. Pantić, Medicinska virusologija. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva 1995;
181. Pauli, G., W.Rohde, H.Ogura, E.Harms, H.Bauer: Comparative immunological studies on bovine and ovine C-type particles. CEC Seminar bovine leukemia: Various methods of molecular virology. Brusselles 1976: 45-55;
182. Paulsen, J., W.Rhode, G.Pauli, W.Harms, H.Bauer: Comparative Studies on ovine and bovine C-tupe particle. Bibl. Helmat. 43 (1976), 190-192;
183. Pavlović, R., J.Sič, M.Lalić, Kaut Natalija, D.Dabović: Dalja zapažanja o raširenosti leukoze goveda na individualnom sektoru u SAP Vojvodini i teškoćama u sanacionom postupku. Zbornik kratkih sadržaja. 10.Savetovanje o dijagnostici, profilaksi i terapiji u savremenoj stočarskoj proizvodnji. Primošten 1985;
184. Pavlović, R., S.Momirov, B.Marinković, M.Normali, D.Žuržul, M.Lalić, Kaut Natalija, Z.Davidov: Neki problemi i teškoće u sprovođenju mera za suzbijanje i iskorenjivanje leukoze goveda na društvenom i privatnom sektoru u SAP Vojvodini. Zbornik kratkih sadržaja 9. Savetovanje o dijagnostici, profilaksi i terapiji u savremenoj stočarskoj proizvodnji. Primošten 1984;
185. Poli, G., A.Balsari, A.Tonido, W.Ponti, G.Varirca: Microplate Enzime-Linked Immunosorbent Assay for Bovine Leukemia Virus Antibody. 4. Int.symp. bovine leukosis. Brussels; Luxembourg 1982; 211-218;
186. Portetelle D.,Limbacah K.,Bunry A.,Mammerickx M.,Desmettre P., Riviere M.,Zavada J.,Paoletti E. 1991 .Recombinant vaccinia virus expression of the bovine leukemia virus envelop gene and protection of immunized sheep ageinst infection.Vaccine , 9, 194;
187. Portetelle D.,Mammerickx M.,Burney A..Use of two monoclonal antibodies in an ELISA test for detection of antibodies to bovine leukemia virus envelope protein gp 51.J.Vet.Metods, 1989, 23 ,211-222;
188. Portetelle, D., C.Brouck, M.Mammerickx, A.Burny: Detection of bovine leukemia virus antibodies: Use of monoclonal antibody to increase sensitivity and specificity of the ELISA test. 5. Int.symp. bovine leukosis. Tubingen 1984: 45-51;

189. Portetelle, D., C.Brouck, Y.Cleuter, M.Mammerickx, A.Burny: Immunological Reactivity of the bovine leukemia virus glycoprotein gp51. 4. Int.symp. bovine leukosis. Brussels; Luxembourg 1982; 66-73;
190. Portetelle, D., M.Mammerickx, F.Bey, A.Barny, Y.Cleuter, D.Dekegel, J.Chysadael, R.Kettmann, p24. Detection by radioimmunoassay of antibodies directed agiins these antigens. Int. Working conference on bovine leukosis. Brussel 1976;
191. Pravilnik o merama za suzbijanje i iskorenjivanje leukoze goveda ("Sl.list SFRJ" br. 34/81);
192. Pravilnik o merama za suzbijanje i iskorenjivanje enzootske leukoze goveda ("Sl.list SFRJ" br. 39/88);
193. Pravilnika o utvrđivanju mera za rano otkrivanje,dijagnostiku, sprečavanje širenja , suzbijenje i iskorenjivanje zarazne bolesti enzootske leukoze goveda, načinu nihovog sprodođenja , kao i načinu utvrđivanja statusa gazdinstva slobodnog od enzootske leukoze goveda (Službeni glasnik RS br: 2009)
- 194.. Radostis O.M. Gay C.C. Hinchsliff K.W. Constable P.D. 2006. Vetrinray Medicine : A Textbook of the Disease Cattle , Horses, Sheep , Pigs and Gostes tenth ed. Elesiever Sounders , New York pp. 1209-1221.
195. Ressang, A.A., L.J.Gielkens, J.Quak, N.Mastenbroek: Studies on bovine leukosis: Further experience with on Enzime-linked immunocorbent assay for the detecttion of antibodies to bovine leukosis virus. CEC Sc.workshop on bovine leukosis. Weybrige 1979: 67-80;
196. Resseang, A.A.: The serological diagnosis of enzootic bovine leukosis. Coordination of agricultural resarch. Working conference on bovine leukosis, 1978;
197. Reichel M., Tham K., Barner S., Kittelberg R., : Evolation of alternative methodes for the detecion of bovine leukaemia virus in cattle. New Zeland Vet. J., 1989, 46, 140-1146.
198. Roberts, H.D., D.A.Stagg: Serological Diagnosis of Enzootic Bovine Leukosis in the United Kingdom. CEC Sc.workshop on bovine leukosis. Rotherdam 1977: 166-172;
199. Romero, C.H., B.G.Cruz, A.C.Rowe: Transmission on bovine leukemia virus in milk. Trop.Anim.Hlth.Prod. 15 (1983), 215-218;
200. Rosenberger, G.: Die kliniche Unterscuchung des Rindes. Berlin; Hamburg: Parey, 1970
201. Rosenberger, G.: Die kliniche Unterscuchung des Rindes. Berlin; Hamburg : Parey, 1977;
202. Rosenberger, G.: Ergebnisse zwolfjähriger Leukose-Untersuchungen on der Rinderklinik Hannover. Deutsc H. Tierarztl. Wsch. 7 (1963), 410-417;

203. Roić B. Sučec. I., Janković I. Zoretić.M., Cventnić.Ž., Starešina.V.,Milas.Z., Turk.N., Proširenost enzootske leukoze goveda u Republici Hrvatskoj tjemkom 2009.i 2010.godnie. Veterinarska stanica vol.44(6),(2013) 437-448.
204. Rodriguez SM, Golemba MD, Campros RH, Trono K, Jones LR, (2009) Bovine leukemia virus can be classified into seven genotypes : evidence for the existence of two new clade. *J Gen Virol* 90: 2788-2797.
205. Rodriguez SM, Florins A. Gillet N. de Brogniez A. Sanchez -Alcaraz (2011) Preventive and therapeutic strategies for Bovine leukemia virus : lessona for the existence of HTLV Virus 3 (7) 1210-1248.
206. Rulka J.,Kobiš p., Deren W., Buzola E.,Evaluation of nested –PCR metohod for the diagnosis of bovine leukaemia virus infection.*Bull.Vet.Inst.Pulawy*, 2001, 45,11-19;
207. Rulka J., Kubis P., Derena W., Buzala E., Obecnosc wirusa BLV w pelnej krwi i mleku zakazonych krow.: *Medycyna Wet..*, 2001,57, 574-577.
208. Rusov, Č., Radmila Živković, Ljiljana Jojić: Leukoza bikova i mere zaštite. *Vet.glasnik* 42 (1985), 425-432;
209. Rusov, Č., Radmila Živković, S.Jevtić, Ljiljana Jojić: Hemogram klinički normalnih bikova. *Vet.glasnik* 35 (1981), 199-208;
210. Rusov, Č., Radmila Živković, S.Jevtić, M.Zeremski, Ljiljana Jojić: Leukoza bikova i mere zaštite. *Vet.glasnik* 39 (1982), 425-432;
211. Rusov, Č.: Leukoze goveda. Beograd: Naučna knjiga, 1991;
212. Samagh, S.B., S.Shander, A.S. Greig, P.Boulanger: Serological diagnosis of bovine leukemia infection using dual (glycoprotein and p24), viral antigen. CEC, Sc.workshop on bovine leukosis, Rotherdam 1977;
213. Sassiou E., Katos A.,Papadopulis O., Bourtji-Hatzopoulou E.,Sarris K.,Yiatzis D.: 1996. Statistical description of the Greek small ruminant flocks and the affecting brucellosis prevalence, 7-th Hellenic veterinaru congres, Thessaloniki,51;
- 214.. Sandev N. Konstatntinova N., Zarkova I., 2000. Economic problems concernig enzootic bovine leukosisi Arg.Econ. Manag. 45 (1) 38-41-
215. Sothy Meas, Tatsufumi Ususi, Kazuhiko Ohashi,Ghihiro Sugimoto, Misao Onuma; Vertical transmission of bovine leukemia virus and bovine immunodeficiecy virus in dairy cattle herds Departman of Disease Controle, Granduate Shool of Veterinary Medocine, Hokaido University, Sapporo, Japan : *Veterinary Microbiology* 84 (2002) 275-282

216. Schmidt, W.F., E.Mitscherlich, Maria Osmers, A.Albreht: Enzootic Bovine Leukosis on the Basis of Agar-Gel immunodiffusion-Test - Diagnosis in Lower Saxony. CEC, Sc.workshop on bovine leukosis. Rotherdam 1977: 85-92;
217. Schmidt, W.F.: Situation and new developments of control-prophylaxis and vaccination in bovine leukosis. EEC, Symp. Bovine leukoce. Tubingen 1982: 421-432;
218. Schultz, A.M., D.T.Compeland, S.Oroszlan: The envelope proteins of bovine leukemia virus: Purification and cequence analysis. Viroloqy 135 (1984), 417-427;
219. Severini, M., D.Rutili, F.Titoli, L.Rampishini: Experimentelle ubertragung des Bovinen Leukosevirus auf verschiedene Tierarten. Tierarztl. Umsch. 12 (1985), 971-974;
220. Stamatović, S., M.J.Jovanović, S.Stojičević, B.Jokić, Danica Ljubičić, Katarina Radulović: Vertikalna transmisija leukoze goveda. Vet.glasnik 8 (1983), 587-594;
221. Stamatović, S., M.J.Jovanović: Naša zapažanja u epizootiologiji limfatične leukemije u krupnim aglomeracijama goveda. Vet.glasnik 23 (1969), 843-848;
222. Stamatović, S., M.J.Jovanović: Prilog istraživanju reakcije mijeloidne loze u toku limfatične leukemije goveda. Vet.glasnik 11 (1969), 863-871;
223. Stamatović, S., M.Putnik, Branislava Đukić, M.Jovanović, G.Matić: Ispitivanje pojave egzoftalmusa i limfatične leukemije u crveno-danskih krava. Vet.glasnik, 29 (1975), 799-808;
224. Stamatović, S.: Leukoza goveda - značaj, raširenost, suzbijanje. Zbornik predavanja 12. Seminara za stručno usavršavanje veterinara. Beograd, 1983: 52-62;
225. Straub, C.O., E.Weinghold: Zur frage der Übertragung boviner Leukose durch Kolostrum und Milch. Dtsch. Tierarztliche Wschr. 81 (1974), 581-583;
226. Straub, C.O., R.J.Lorenz, L.Csheurier, W.J.C.Donnelly, J.C.Flensburg, G.Gentile, M.Mammerickx, L.M.Markson, A.A. Ressang: Bovine hematolgy (technical problems in the counting of leukocytes). Zbl.Vet.Met. B 25 (1978), 14-28;
227. Straub, C.O.: Enzootic bovine leukosis, virus diseases of food animals. A world geography of epidemiology an control. Vol. 2. Disease monographs, London: Academic Press, 1981: 688-718;
228. Straub, C.O.: Horizontal transmission studies on enzootic bovine leukosis. Ann. Rech. Vet. 9 (1978), 809-813;
229. Straub, C.O.: Studies on horizontal transmission of Bovine Leukosis. Arh.Ges. Virusforsch. 33 (1971), 145-150;
230. Straub, C.O.: Studies on the number of lymphocytes necessary to establish BLV infection in sheep. EEC, 5. Int.symp. bovine leukosis. Tubingen 1984: 293-297;

231. Straub, C.O.: The evolution and diminution of bovine leukosis. 4. Int.symp.bovine leukosis. Brussels 1982: 5-9;
232. Straub, C.O.: Transmission studies from leukotic cattle to sheep using secretions, excretions, breath and skin scrapings. 4. Int.symp. bovine leukosis. Brussels; Luxembourg 1982: 299-308;
233. Stoye J. P, J. Blomberg, J.M.Coffin, H.Fan, B.Hahn,J.Neil,, S.Quackenbush,ARethwilim andM.Tristem (2012): Family Retroviridae.In:Virus Taxonomi (King, A.M.K., M.J.Adams, E.B.Carstens, E.J.Lefkowitz, eds.)pp477-495
234. Suneya, M., M.Onuma, T.Mikami, H.Izava: Humoral and cellular immune responses to bovine leukaemia virus infection in sheep. 4. Int.symp. bovine leukosis. Brussels; Luxembourg 1982: 77-87;
235. Tadjibaev, A.A.: Patomorfologičeskie izmenenija u telyat pri lejkoze. Veterinarija 9 (1983), 33-35;
236. Tarassishin L.A., V.Zajac, Č.Altaner, M.Popović, M.Grofofa, F.N.Grinenko, D.A.Altstein, M.V.Zhdanov: Radioimmunoassay for major internal structural protein (p-24) of the bovine leukemia virus: Antybody detection and viruses identification. Neoplazma 27 (1980), 509-515;
237. Theile G.H.,Miller J.M., Higgins J.,Ruppaner R.N.,Garrent W. 1982.Vccination against bovine leukaemia virus infection .Cirr.Top.Vet.Med.Anim.Sci.,15, 547-559;
238. Todorović, D., S.Petrović: Patološke promene na akcesornim polnim žlezdama bikova obolelih od lejkoze. Vet.glasnik 42 (1985), 441-445;
239. Tolle, A.: Die fluoreszenzserologiche Diagnose der Rinderleukose. Dtsch. Tierarztl. Wschr. 68 (1961), 193-202;
240. Tolle, A.: Zur Beurteilung quantitativer famatologscher Befunde im Rahmen der Leukose-Diagnostik beim Rind. Zentralbl. Vet.Met. B 12 (1965), 281-290;
241. Trainin, Z.R.Meirom, A.Gluckmann: Annales de Recharches. Veterinaires 9, 1978, 659;
242. Turmand, M.C., R.L.Carter, M.J. Burridge: An investigation for seasonal trends in bovine leukemia virus infection. Prev. Vet.Med. 1 (1982/83), 115-123;
243. Uputstvo proizvođača dijagnostičkog kita IDEXX Laboratorie (Bovine Leucosis Virus Antibody Test Kit, CHEKIT Leucose Serum, IDEXX Laboratories)
244. Valikhov, F.A., G.L.Burba, V.P. Shishnkov: Virological examination og milk, semen and blood from cattle infected with bovine leukosis virus. 5. Int.symp. bovine leukosis. Tubingen 1982: 269-271;
245. Valikhov, F.A.: Studie on the morphology and on some immunological properties of bovine leukosis virus. CEC Sc.workshop on bovine leukosis. Rotherdam 1977: 172-188;

246. Valčić M.: Opšta epizootiologija.Fakultet veterinarske medicine, 1998;
247. Vujić, G.A.: Praktična virusologija, uvodna razmatranja i tehnika rada. Zaječar 1980;
248. Weinberg R.A.: Molekulare Grudlagen von Krebs.In:Krebs- Tumoren, Zellen,Genen.Spektrum dert Wissenschaft, Verlagsgesellshaft Heidelberg, 1987;
249. Wilesmith, J.W., O.C.Straub, R.J.Lorenz: Some Observations of the epidemiology of bovine leucosis virus infection in a large dairy herd. Res. Vet. Sci. 28 (1980), 10-16;
250. Wittmann, W., A.Seils: Beitrage zur Diagnose und Bekämpfung der enzootischen Rinderleukose, 2 Die Entwicklung der Lymphozytengesamtzahl bei sponat. Und experimentell induzierter Rinderleukose. Arch. Exp. Vet.Med. 23 (1969); 775-782;
251. Willem L., Kerkhofs P.,Burny A., Mammerickx M., Kettmann R.:Bovine leukaemiA virus an animal model for the stady intrastrain variability. J. Virology 1993,67,1096-1089.
252. Xie B., Oyamada T., Yoshikawa H., Oyamada T., Yoshikawa T.: Detection aproviral DNA of bovine leukemia virus in cattle by a combination of in situhybridization and the polymerase chain reaction. J.comp.Path.,1997, 116, 87-96;
253. Zaharija, I.: Zarazne bolesti domaćih životinja. Zagreb: Školska knjiga, 1978;
254. Zajac, V., Č.Altaner, J.Zavada, L.Černi: Comparison of radioimmunoassay for internal protein of bovine leukemia virus with neutralization test employing VSV-BLV pseudotype. Neoplasma 27 (1980), 517-523;
255. Zakon o zaštiti životinja od zaraznih bolesti koje ugrožavaju celu zemlju,Sl.list SFRJ, br.43/86;
256. Zakon o zdravstvenoj zaštiti životinja., Sl. Glasnik RS. 39/91;
257. Zasharija I., Opća epizootiologija ,Zagreb,1980;
258. Zavada, J., L.Černi, Z.Zavada, J.Bozonova, D.A.Alstein: A rapid neutralization test for antibodies to bovine leukemia virus with the use rhabdovirus pseudo-types. J.Natl. Cancer. Inst. 1 (1979), 95-101;
- 259 Zakon o veterinarstvu Sl.GL. RS 91/ 2005
260. Zhao X, Buehring GC, (2007) Natural genetic variations on bovine leukemia virus envelope gene: possible effectes of selection and escape. Virology 366: 150-165.
- 261 Želev, V.: Tumori pri životnите. Sofija: Zamizdat, 1974.

B I O G R A F I J A

Slobodan Stanojević rođen 15.10.1962.godine u V.Trešnjevici u opštini Paraćin gde je završio i osnovnu školu. Srednju školu je završio u Jagodini i Svilajncu.

ŠKOLOVANjE

Veterinski fakultet u Beogradu, završio 1990 godine, kao i specijalizaciju iz kliničke farmakologije 1997.godina. Na Fakultet veterinarske medicine u Beogradu, 2006.godine odbranio je magistarsku tezu pod naslovom "Prilog poznavanju epzootioloških karakteristika enzootske leukoze goveda". Završio obuke i više instruktivnih seminara u zemlji i inostranstvu u oblasti epizootiologije, analize rizika i upravljanja rizikom u kriznim situacijama prilikom pojave zaraznih bolesti.

ZVANJE

Magistar veterinarskih nauka

naučno/istraživačko zvanja: istraživač saradnik

RADNO ISKUSTVO

- Mesna industrija JUHOR Jagodina (tehnolog, rukovodilac u proizvodnji).
- Republička veterinarska inspekcija Pomoravski okrug.
- Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede R.Srbije.
- Zamenik šefa republičkog štaba za suzbijanje SIŠ na KiM i šef štaba za Metohiju.
- Naučni institut za veterinarstvo Srbije: Saradnik za zdravstvenu zaštitu goveda, Epizootiolog.

FUNKCIJE U NIVS-U:

- tehnički direktor
- šef Odeljenja za epizootilogiju
- zamenik predsednika upravnog odbora NIVS-a

OSTALE FUNKCIJE obavljao funkciju

- potpredsednik regionalne veterinarske komore Beograd
- član upravnog odbora SVD (Srpsko veterinarsko društvo)
- sekretar sekcije za zoonoze SVD
- podpredsednik beogradaske podružnice SVD

Prilozi: 1-75 Tabele.

Distribucija dijagnostičkih ispitivanja goveda za period 2000-20014 godina po opštinama i naseljenim mestima sa iskazano godišnjom sero-prevalencijom za svako naselje i opštinu.

Prakazan je i ukupan brojem pregledanih životinja i gazdinstava, kao i broj pozitivnih naselje, dvorišta i goveda.

Tabela 1..Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2000. godini

	Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih uzoraka krvnih seruma goveda		
		red br	Naziv mesta	Br. dvorišta	ELG poz. dvor.	Krvi goveda	ELG poz goveda	Preval- enca
1	Obrenovac	1	Obrenovac	35	1	117	1	0.9
		2	Grabovac	224	2	606	2	0.3
		3	Skela	110		246		
		4	Ušće	56	7	202	7	3.5
		5	Trstenica	48		143		
		6	Dren	80	1	230	1	0.4
		7	Konatice	25		44		
		8	Stubline	143	3	463	5	1.1
		9	Brović	46	1	128	3	2.3
		10	Zabrežje	12		28		
		11	Veliko polje	60	1	164	1	0.6
		12	Draževac	236	2	622	5	0.8
		13	Mislođin	35	2	80	2	2.5
		14	Piroman	31	2	89	4	4.5
		15	Jasenak	34	1	93	1	1.1
		16	M.Moštanica	0		0		
		17	Barič	29		58		
		18	Poljne	38	1	93	2	2.2
		19	Vukićevica	42		109		
		20	Ljubinić	37		107		
		21	Rvati	15		25		
		22	Belo polje	0		0		
		23	Baljevac	0		0		
		24	Zvečka	56	2	133	4	3.0
		25	Urovci	16		38		
		26	Krtinska	22		50		
		27	Ratari	20	2	52	2	3.8
		28	Orašac	24		74		
		Obrenovac		Ukupno:	1474	21	3994	40
2	Zvezdara							
		1	M.M.Lug					
		2	V.M.Lug	29	3	53	3	5.7
	Zvezdara			ukupno:	29	3	53	3
								5.7

Tabela 2. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2000. godini

	Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih uzoraka krvnih seruma goveda		
		red br	Naziv mesta	Br. dvorišta	ELG poz. dvor.	Krvi goveda	ELG poz goveda	Preval- enca
3	Rakovica	1	Resnik	75	1	164	1	0.6
		2	Rakovica					
		3	Kneževac					
	Rakovica		ukupno:	75	1	164	1	
4	Lazarevac	1	Vrbovno	14		28		
		2	Leskovac	34	5	72	5	6.9
		3	Stepojevac	7		21		
		4	Sokolovo	27		50		
		5	Veliki Crnjeni	26		49		
		6	Cvetovac	7		18		
		7	Vreoci	40		60		
		8	Medoševac	0		0		
		9	Sakulja	0		0		
		10	Junkovac	15		25		
		11	Arapovac	5		8		
		12	Miroslajci	0		0		
		13	Šopić	50		69		
		14	Burovo	4		8		
		15	Zeoke	17		28		
		16	Baroševac	5		10		
		17	Strmovo	7		13		
		18	Mali Crnjeni	6		10		
		19	Prkosava	7		10		
		20	Rudovci	11		20		
		21	Bistrica	8		10		
		22	Dren	0		0		
		23	Petka	8		16		
		24	Šušnjar	14		27		
		25	Stubica	9		19		
		26	Lukovica	13		21		
		27	Trbušnica			0		
		28	Kruševica	8		10		
		29	Brajklovac	16		36		
		30	Barzilovica	0		0		
		31	Čibutkovica	22		40		
		32	Županjac	0		0		
		33	Dudovica	39		92		
	Lazarevac		Ukupno:	85	5	770	5	

Tabela.3.Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2000. godini

	Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih uzoraka krvnih seruma goveda		
		red br	Naziv mesta	Br. dvorišta	poz. dvor.	Krvi goveda	poz goveda	Preval- enca
5	Čukarica							
		1	Sremčica	10		27		
		2	Rušanj	23		54		
		3	Ostružnica	13		35		
		4	Železnik	15	1	37	1	2.7
		5	Pećani	0		0		
		6	V.Moštanica	38		90		
		7	Rucka	0		0		
		8	Umka	15		31		
	Čukarica		Ukupno:	114	1	274	1	0,3
6	Zemun	1	Surčin	35	2	120	3	2.5
		2	Dobanovci	70	3	184	12	6.5
		3	Bežanija	14	1	75	1	1.3
		4	Ugrinovci	116	7	484	19	3.9
		5	Progar	24		61		
		6	Jakovo	38	5	151	5	3.3
		7	Petrovčić	18	5	79	17	21.5
		8	Batajnica	115	7	429	10	2.3
		9	Bečmen					
		10	Boljevci					
		11	Zemun					
	Zemun	11	UKUPNO:	430	30	1583	64	4.4
7	Grocka	1	Zaklopača					
	JVS	2	Kaluđerica	11		26		
	Grocka	3	Umčari	38	2	316	4	1.3
		4	Begaljica	6	1	67	1	1.5
		5	Živkovac	38		10		
		6	Pudarci	9		68		
		7	Boleč	4		15		
		8	Brestovik	30	1	8	1	12.5
		9	Vrčin	61		75		
		10	Kamendo	43	2	94	2	2.1
		11	Dražanj	7		85		
		12	Grocka	10		16		
		13	Ritopek					
	Grocka		ukupno:	257	6	780	8	1.0

Tabela 4. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2000. godini

	Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih uzoraka krvnih seruma goveda		
		red br	Naziv mesta	Br. Dvorišta	ELG poz. Dvor.	Krvi goveda	ELG poz goveda	Preval- enca
8	Mladenovac	1	Jagnjilo	123		370		
		2	Markovac	70		171		
		3	Beljevac	21		51		
		4	V.Krsna	172	1	507	1	0.2
		5	Koraćica	89		248		
		6	Kovačevac	156		324		
		7	Amerić	31		99		
		8	Međulužje	28		78		
		9	Dubona	33		66		
		10	Vlaška	74		195		
		11	Rabrovac	63		211		
		12	Trstena	8		15		
		13	Rajkovača	31		68		
		14	Granice	10		18		
		15	Pružatovac	61		170		
		16	Šepšin	56		87		
		17	Senaja	7		10		
		18	V.Ivanča	123	2	436	3	0.7
		20	Mladenovac	21	1	63	1	1.6
	Mladenovac		UKUPNO:	1177	4	3187	5	0.2
9	Sopot							
		1	Sibnica					
		2	Drlupa					
		3	Slatina					
		4	Dučina					
		5	Nemenikuće	21		65		
		6	Stojnik					
		7	Babe					
		8	Đurinci					
		9	Parcani					
		10	Ralja	11		20		
		11	Popović	8		14		
		12	M.Požarevac	13		22		
		13	M.Ivanča					
		14	Rogača	14		36		
		15	Guberevac					
		16	Sopot					
	Sopot		Ukupno	67		157		

Tabela 5. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2000. godini

	Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih uzoraka krvnih seruma goveda		
		red br	Naziv mesta	Br. dvorišta	ELG poz. dvor.	Krvi goveda	ELG poz goveda	Preval- enca
10	Voždovac	1	Pinosava	46	1	146	1	0.7
		2	Ripanj	56	1	105	1	
		3	Zuce					
		4	Jajinci	6	1	16	1	5.3
		5	B.potok	1	1	3	1	
		6	Kumodraž					
		7	s.Rakovica					
	Voždovac		ukupno:	109	4	270	4	1.5
		1	Rožanci	16		43		
		2	Arnajevo	20		67		
		3	Beljina					
11	Barajevo	4	V.Borak					
		5	Manić	9		13		
		6	Šiljakovac					
		7	Boždarevac	2		4		
		8	Lisović	5		12		
		9	Vranić	28		99		
		10	Baćevac					
		11	Guncati					
		12	Meljak					
		13	Ravni gaj					
		14	Lipovica					
		15	Barajevo	10		56		
	Barajevo		ukupno.	90		294		
12	Palilula	1	Višnjica					
		2	Slanci	28	1	57	1	1.8
		3	V.selo	20	1	29	2	6.9
		4	Ovča					
		5	Borča					
	Palilula		Ukupno:	48	2	86	3	3.5

Tabela 6. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2001. godini

	Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih uzoraka krvnih serumu goveda		
		red br	Naziv mesta	Br. dvorišta	ELG poz. dvor.	Krvi goveda	ELG poz goveda	Preval- enca
		1	Obrenovac					
1	Obrenovac	2	Grabovac	283	2	748	2	0.3
		3	Skela	96	1	188	1	0.5
		4	Ušće	132	8	331	11	3.3
		5	Trstenica	91		261		
		6	Dren	133		377		
		7	Konatice	108	1	188	1	0.5
		8	Stubline	96		272		
		9	Brović	93	1	253	1	0.4
		10	Zabrežje	47	1	108	1	0.9
		11	Veliko polje	96	5	254	6	2.4
		12	Draževac	172	2	465	2	0.4
		13	Mislođin	66	2	331	4	1.2
		14	Piroman	76	3	214	4	1.9
		15	Jasenak	67		178		
		16	M.Moštanica	38	1	73	1	1.4
		17	Barič	20		40		
		18	Poljne	81	1	185	2	1.1
		19	Vukićevica	123		311		
		20	Ljubinić	103		290		
		21	Rvati	9		12		
		22	Belo polje	30		84		
		23	Baljevac	40		78		
		24	Zvečka	120	1	282	1	0.4
		25	Urovci	60	1	141	2	1.4
		26	Krtinska	87		200		
		27	Ratari	80		211		
		28	Orašac	114		348		
	Obrenovac		Ukupno:	2461	30	6423	39	0.6
2	Zvezdara	1	M.M.Lug	6	5	13	5	38.5
		2	V.M.Lug	8	1	29	2	6.9
		3	Mirijevo	2		7		
	Zvezdara		ukupno:	16	6	49	7	14.3
3	Rakovica	1	Resnik					
		2	Rakovica					
		3	Kneževac					
	Rakovica		ukupno:					

Tabela 7. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2001. godini

	Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih uzoraka krvnih seruma goveda		
		red br	Naziv mesta	Br. dvorišta	ELG poz. dvor.	Krvi goveda	ELG poz goveda	Preval- enca
4	Lazarevac	1	Vrbovno	60		121		
		2	Leskovac	83	2	189	2	1.1
		3	Stepojevac	32	2	89	2	
		4	Sokolovo	52		91		
		5	Veliki Crljeni	163	1	294	1	0.3
		6	Cvetovac	0		0		
		7	Vreoci	117	1	177	1	0.6
		8	Medoševac	32		36		
		9	Sakulja	0		0		
		10	Junkovac	158		244		
		11	Arapovac	37		56		
		12	Miroslajci	0		0		
		13	Šopić	110	1	123	1	0.8
		14	Burovo	44		56		
		15	Zeoke	59		98		
		16	Baroševac	28	1	60	1	1.7
		17	Strmovo	27		50		
		18	Mali Crljeni	42		55		
		19	Prkosava	27		37		
		20	Rudovci	33		60		
		21	Bistrica	38		63		
		22	Dren	34		58		
		23	Petka	29		56		
		24	Šušnjar	28		39		
		25	Stubica	24		41		
		26	Lukovica	38		52		
		27	Trbušnica	79	1	153	1	0.7
		28	Kruševica	48		65		
		29	Brajklovac	33		73		
		30	Barzilovica	107	1	103	1	1.0
		31	Čibutkovica	141		287		
		32	Županjac	50		102		
		33	Dudovica	116		274		
	Lazarevac		Ukupno:	1869	10	3202	10	0.3

Tabela 8. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2001. godini

	Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih uzoraka krvnih seruma goveda		
		red br	Naziv mesta	Br. dvorišta	ELG poz. dvor.	Krvi goveda	ELG poz goveda	Preval- anca
5	Čukarica	1	Sremčica	15		40		
		2	Rušanj	36		88		
		3	Ostružnica	24		63		
		4	Železnik	14		36		
		5	Pećani	3		7		
		6	V.Moštanica	35		71		
		7	Rucka	2		2		
		8	Umka	7		19		
	Čukarica	Ukupno:		136		326		
6	Zemun	1	Surčin	61	2	209	4	1.9
		2	Dobanovci	64	7	206	16	6.8
		3	Bežanija	0		0		
		4	Ugrinovci	154	9	619	28	4.5
		5	Progari	24		60		0.0
		6	Jakovo	67	7	258	15	5.8
		7	Petrovčić	73	4	357	39	10.9
		8	Batajnica	111	9	412	11	2.7
		9	Bečmen	24	1	49	1	2.0
		10	Boljevci	50		119		
		11	Zemun polje	9		31		
	Zemun	11	UKUPNO:	637	39	2320	66	4.9
7	Grocka	1	Zaklopača	1		2		
		2	Kaluđerica	10		15		
		3	Umčari	120	2	264	3	1.1
		4	Begaljica	35	3	60	4	6.7
		5	Živkovac	30		66		
		6	Pudarci	43	1	76	1	1.3
		7	Boleč	6		6		
		8	Brestovik	1		2		
		9	Vrčin	94		238		
		10	Kamendo	56		83		
		11	Dražanj	89		175		
		12	Grocka	9		22		
		13	Ritopek	3		5		
		14	Leštane	6		11		
		15	Vinča	8		11		
	Grocka	Ukupno:		511	6	1036	8	0.8

Tabela 9. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2001. godini

	Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih uzoraka krvnih serumi goveda		
		red br	Naziv mesta	Br. dvorišta	ELG poz. dvor.	Krvi goveda	ELG poz goveda	Preval- enca
8	Mladenovac	1	Jagnjilo	239		720		
		2	Markovac	142	1	346	1	0.3
		3	Beljevac	0		0		
		4	V.Krsna	407	1	1182	2	0.2
		5	Koraćica	173		468		
		6	Kovačevac	292		603		
		7	Amerić	26		83		
		8	Međulužje	71	1	203	1	0.5
		9	Dubona	55		101		
		10	Vlaška	223		577		
		11	Rabrovac	170		555		
		12	Trstena	0		0		
		13	Rajkovanac	47		101		
		14	Granice	40		77		
		15	Pružatovac	87		236		
		16	Šepšin	62		95		
		17	Senaja	13		19		
		18	V.Ivanča	210	2	742	3	0.4
		19	s.Mladenovac	51		84		
		20	Mladenovac	35		103		
Mladenovac		UKUPNO:		2343	5	6295	7	0.1
9	Sopot							
		1	Sibnica	19		64		
		2	Drlupa	16	1	63	1	1.6
		3	Slatina	12		39		
		4	Dučina	11		27		
		5	Nemenikuće	116		370		
		6	Stojnik	48	1	130	1	0.8
		7	Babe	14		49		
		8	Đurinci	35		51		
		9	Parcani	10		27		
		10	Ralja	15		33		
		11	Popović	28		49		
		12	M.Požarevac	28		48		
		13	M.Ivanča	9		23		
		14	Rogača	30		77		
		15	Guberevac	33		125		
		16	Sopot	61		150		
Sopot		Ukupno		485	2	1325	2	0.2

Tabela 10. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2001. godini

	Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih uzoraka krvnih seruma goveda		
		red br	Naziv mesta	Br. Dvorišta	ELG poz. Dvor.	Krvi goveda	ELG poz goveda	Preval- enca
10	Voždovac	1	Pinosava	47	2	155	2	
		2	Ripanj	52		100		
		3	Zuce	30		63		
		4	Jajinci	5		12		
		5	B.potok	15	1	30	1	
		6	Kumodraž	13		25		
		7	s.Rakovica	0		0		
		Voždovac		ukupno:	162	3	385	3
11	Barajevo	1	Rožanci	77		242		
		2	Arnajevo	23		83		
		3	Beljina	85		212		
		4	V.Borak	25		52		
		5	Manić	22		51		
		6	Šiljakovac	5		10		
		7	Boždarevac	10		24		
		8	Lisović	15		27		
		9	Vranić	77		243		
		10	Baćevac	14		27		
		11	Guncati	8		29		
		12	Meljak	3		6		
		13	Ravni gaj	2	1	17	3	17.6
		14	Lipovica					
		15	Barajevo	15		51		
		Barajevo		ukupno.	381	1	1074	3
12	Palilula	1	Višnjica	7		14		
		2	Slanci	48		97		
		3	V.selo	12		17		
		4	R.ćuprija	0		0		
		5	Ovča	24	1	122	1	0.8
		6	Borča	24		51		
	Palilula		Ukupno:	115	1	301	1	0.3

Tabela 11. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2002.godini

	Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih uzoraka krvnih seruma goveda		
		red br	Naziv mesta	Br. dvorišta	ELG poz. dvor.	Krvi goveda	ELG poz goveda	Preval- enca
		1	Obrenovac	10		18		
1	Obrenovac	2	Grabovac	281	1	807	1	0.1
		3	Skela	115		256		
		4	Ušće	66	1	228	1	0.4
		5	Trstenica	79		257		
		6	Dren	124		363		
		7	Konatice	84	2	172	2	1.2
		8	Stubline	106		336		
		9	Brović	78	1	241	2	0.8
		10	Zabrežje	37	1	90	1	1.1
		11	Veliko polje	108	4	333	5	1.5
		12	Draževac	193		503		
		13	Mislođin	87	1	197	1	0.5
		14	Piroman	73	3	222	11	5.0
		15	Jasenak	71	1	245	1	0.4
		16	M.Moštanica	39	1	78	1	1.3
		17	Barič	32	1	58	2	3.4
		18	Poljne	77	1	180	2	1.1
		19	Vukićevica	77		227		
		20	Ljubinić	78		236		
		21	Rvati	11		17		
		22	Belo polje	25		87		
		23	Baljevac	36		68		
		24	Zvečka	143	1	353	2	0.6
		25	Urovci	61	1	174	1	0.6
		26	Krtinska	81		226		
		27	Ratari	87		269		
		28	Orašac	100	1	306	2	0.7
	Obrenovac		Ukupno:	2359	21	6547	35	0.5
2	Zvezdara	1	M.M.Lug	7		7		
		2	V.M.Lug	30	1	40	1	2.5
		3	Mirijevo	3		3		
	Zvezdara		ukupno:	40	1	50	1	2.0

Tabela 12. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2002.godini

	Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih uzoraka krvnih seruma goveda		
		red br	Naziv mesta	Br. dvorišta	ELG poz. dvor.	Krvi goveda	ELG poz goveda	Preval- enca
3	Rakovica	1	Resnik	37	4	78	6	3.8
		2	Rakovica					
		3	Kneževac					
	Rakovica		ukupno:	37	4	78	6	7.7
4	Lazarevac	1	Vrbovno	50	2	113	2	1.8
		2	Leskovac	46	1	145	1	0.7
		3	Stepojevac	44		124		
		4	Sokolovo	26		61		
		5	Veliki Crnjeni	142		286		
		6	Cvetovac	0		0		
		7	Vreoci	94		158		
		8	Medoševac	0		0		
		9	Sakulja	0		0		
		10	Junkovac	76		37		
		11	Arapovac	24		53		
		12	Miroslajci	103	4	244	4	1.6
		13	Šopić	104		188		
		14	Burovo	18		25		
		15	Zeoke	0		0		
		16	Baroševac	16		28		
		17	Strmovo	36		63		
		18	Mali Crnjeni	18		65		
		19	Prkosava	23		32		
		20	Rudovci	39		103		
		21	Bistrica	37		59		
		22	Dren	49		94		
		23	Petka	61		92		
		24	Šušnjar	23		36		
		25	Stubica	62		77		
		26	Lukovica	37		55		
		27	Trbušnica	1		22		
		28	Kruševica	35		42		
		29	Brajklovac	129		270		
		30	Barzilovica	125		224		
		31	Čibutkovica	73		133		
		32	Županjac	24		51		
		33	Dudovica	115		230		
	Lazarevac		Ukupno:	1630	7	3110	7	0.2

Tabela 13. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2002.godini

	Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih uzoraka krvnih seruma goveda		
		red br	Naziv mesta	Br. dvorišta	ELG poz. dvor.	Krvi goveda	ELG poz goveda	Preval- enca
5	Čukarica	1	Sremčica	23		61		
		2	Rušanj	39		93		
		3	Ostružnica	36		97		
		4	Železnik	13	1	32	1	3.1
		5	Pećani	5		11		
		6	V.Moštanica	67		135		
		7	Rucka	4		7		
		8	Umka	12		26		
	Čukarica		Ukupno:	199	1	462	1	0.2
5	Zemun	1	Surčin	45		160		
		2	Dobanovci	63	2	228	3	1.3
		3	Bežanija	14		76		
		4	Ugrinovci	153	4	669	10	1.5
		5	Progar	30		81		
		6	Jakovo	53	4	245	7	2.9
		7	Petrovčić	52		275		
		8	Batajnica	112	8	404	11	2.7
		9	Bečmen	14	1	31		
		10	Boljevci	52		108		
		11	Zemun polje	0		0		
	Zemun	11	UKUPNO:	588	19	2277	31	1.4
6	Grocka	1	Zaklopača	1		1		
		2	Kaluđerica	0		0		
		3	Umčari	119	3	262	3	1.1
		4	Begaljica	33	2	74	2	2.7
		5	Živkovac	28		56		
		6	Pudarci	36	1	56	1	1.8
		7	Boleč	26		58		
		8	Brestovik	3		6		
		9	Vrčin	77		147		
		10	Kamendo	49		80		
		11	Dražanj	90		199		
		12	Grocka	11		24		
		13	Ritopek	0		0		
		14	Leštane	0		0		
		15	Vinča	0		0		
	Grocka		ukupno:	473	6	963	6	0.6

Tabela 14. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2002.godini

	Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih uzoraka krvnih seruma goveda		
		red br	Naziv mesta	Br. dvorišta	ELG poz. dvor.	Krvi goveda	ELG poz goveda	Preval- enca
7	Mladenovac							
		1	Jagnjilo	294	2	1149	2	0.2
		2	Markovac	122		401		
		3	Beljevac	0		0		
		4	V.Krsna	392	4	1230	4	0.3
		5	Koraćica	154		553		
		6	Kovačevac	321	1	763	1	0.1
		7	Amerić	66		201		
		8	Međulužje	71		243		
		9	Dubona	74		139		
		10	Vlaška	181		508		0.0
		11	Rabrovac	181	1	668	1	0.1
		12	Trstena	0		0		
		13	Rajkovača	43		98		
		14	Granice	22	1	52	1	1.9
		15	Pružatovac	82	2	292	1	0.3
		16	Šepšin	68		140		
		17	Senaja	0		0		
		18	V.Ivanča	224		863		
		19	s.Mladenovac	38		83		
		20	Mladenovac	1	1	8	1	12.5
	Mladenovac		UKUPNO:	2334	12	7391	11	0.14
8	Sopot							
		1	Sibnica	11		53		
		2	Drlupa	25		124		
		3	Slatina	7		38		
		4	Dučina	18		89		
		5	Nemenikuće	64		338		
		6	Stojnik	17		57		
		7	Babe	10		44		
		8	Đurinci	22		42		
		9	Parcani	11		50		
		10	Ralja	10		25		
		11	Popović	23		65		
		12	M.Požarevac	12		36		
		13	M.Ivanča	19		35		
		14	Rogača	36		185		
		15	Guberevac	0		0		
		16	Sopot	0		0		
	Sopot		Ukupno	285		1181		

Tabela 15. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2002.godini

	Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta						
		red br	Naziv mesta	Br. dvorišta	ELG poz. dvor.	Krvi goveda	ELG poz goveda	Preval- enca
10	Voždovac	1	Pinosava	61		192		
		2	Ripanj	1		1		
		3	Zuce	186	2	286	4	1.4
		4	Jajinci	5	1	13	1	7.7
		5	B.potok	25		59		
		6	Kumodraž	13		31		
		7	s.Rakovica	0		0		
Voždovac		ukupno:		291	3	582	5	0.9
11	Barajevo	1	Rožanci	3		8		
		2	Arnajevo	24		71		
		3	Beljina	72		217		
		4	V.Borak	49	1	178	1	0.6
		5	Manić	27		66		
		6	Šiljakovac	19		40		
		7	Boždarevac	14		68		
Barajevo		ukupno.		400	2	1225	2	0.2
12		1	Višnjica	6		14		
		2	Slanci	42		94		
		3	V.selo	10		19		
		4	R.ćuprija	2		2		
		5	Ovča	30	2	143	2	1.4
		6	Borča	25		55		
Palilula		Ukupno:		115	2	327	2	0.6

Tabela 16. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2003.godini

	Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih uzoraka krvnih seruma goveda		
		red br	Naziv mesta	Br. Dvorišta	ELG poz. Dvor.	Krvi goveda	ELG poz goveda	Preval- enca
		1	Obrenovac	10		17		
1	Obrenovac	2	Grabovac	286	1	1077	1	0.1
		3	Skela	63		160		
		4	Ušće	107		328		
		5	Trstenica	66		247		
		6	Dren	94		288		
		7	Konatice	71	1	121	1	0.8
		8	Stubline	76		422		
		9	Brović	58		219		
		10	Zabrežje	38	1	85	1	1.2
		11	Veliko polje	41	4	133	6	4.5
		12	Draževac	160		399		
		13	Mislođin	80	1	186	1	0.5
		14	Piroman	52	3	172	4	2.3
		15	Jasenak	74		213		
		16	M.Moštanica	38		75		
		17	Barič	34		59		
		18	Poljne	70		163		
		19	Vukićevica	90		218		
		20	Ljubinić	71		217		
		21	Rvati	10		16		
		22	Belo polje	28		102		
		23	Baljevac	29		56		
		24	Zvečka	120		318		
		25	Urovci	45		115		
		26	Krtinska	70	1	198	1	0.5
		27	Ratari	74		232		
		28	Orašac	66		213		
	Obrenovac		Ukupno:	2021	12	6049	15	0.2
2	Zvezdara	1	M.M.Lug	7	2	23	2	8.7
		2	V.M.Lug	5		28		
		3	Mirijevo	3		10		
	Zvezdara		ukupno:	15	2	61	2	3.3

Tabela 17. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2003.godini

	Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih uzoraka krvnih seruma goveda		
		red br	Naziv mesta	Br. dvorišta	ELG poz. dvor.	Krvi goveda	ELG poz goveda	Preval- enca
3	Rakovica	1	Resnik	31	2	67	2	3.0
		2	Rakovica					
		3	Kneževac					
	Rakovica		ukupno:	31	2	67	2	3.0
4	Lazarevac	1	Vrbovno	47		101		
		2	Leskovac	70	1	151	1	0.7
		3	Stepojevac	41		86		
		4	Sokolovo	31		61		
		5	Veliki Crnjeni	104		170		
		6	Cvetovac	0		0		
		7	Vreoci	93		127		
		8	Medoševac	17		20		
		9	Sakulja	0		0		
		10	Junkovac	47		84		
		11	Arapovac	14		36		
		12	Miroslajci	67	1	114	1	0.9
		13	Šopić	15		65		
		14	Burovo	5		13		
		15	Zeoke	6		15		
		16	Baroševac	38		61		
		17	Strmovo	26		56		
		18	Mali Crnjeni	26		30		
		19	Prkosava	19		50		
		20	Rudovci	60		92		
		21	Bistrica	50		60		
		22	Dren	32		67		
		23	Petka	12		34		
		24	Šušnjar	7		18		
		25	Stubica	0		0		
		26	Lukovica	21		49		
		27	Trbušnica	60		90		
		28	Kruševica	46		97		
		29	Brajklovac	141		255		
		30	Barzilovica	127		227		
		31	Čibutkovica	128		255		
		32	Županjac	49		88		
		33	Dudovica	110		226		
	Lazarevac		Ukupno:	1540	2	2865	2	0.1

Tabela 18. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2003.godini

	Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih uzoraka krvnih seruma goveda		
		red br	Naziv mesta	Br. dvorišta	elg poz. dvor.	Krvi goveda	elg poz goveda	Preval- enca
5	Čukarica	1	Sremčica	23		50		
		2	Rušanj	35		87		
		3	Ostруžnica	33		59		
		4	Železnik	18		32		
		5	Pećani	3		3		
		6	V.Moštanica	54		81		
		7	Rucka	4		4		
		8	Umka	11		17		
Čukarica		Ukupno:		181		333		
6	Zemun	1	Surčin	51	1	159	1	0.6
		2	Dobanovci	72	1	271	2	0.7
		3	Bežanija	13		70		
		4	Ugrinovci	94	3	766	3	0.4
		5	Progar	25		77		
		6	Jakovo	56	3	245	5	2.0
		7	Petrovčić	67	5	300	9	3.0
		8	Batajnica	121	2	444	2	0.5
		9	Bečmen	19	1	42	1	2.4
		10	Boljevci	56		124		
		11	Zemun	5		41		
		12	Zemun polje	3		7		
Zemun		11	UKUPNO:	582	16	2546	23	0.9
7	Grocka	1	Zaklopača					
		2	Kaluđerica	6		11		
		3	Umčari	81	1	206	1	0.5
		4	Begaljica	36	1	82	1	1.2
		5	Živkovac	213		49		
		6	Pudarci	25		57		
		7	Boleč	5		9		
		8	Brestovik	0		0		
		9	Vrčin	69		105		
		10	Kamendo	37		67		
		11	Dražanj	83		201		
		12	Grocka	15		31		
		13	Ritopek	1		3		
		14	Leštane	5		14		
		15	Vinča	6		13		
Grocka		ukupno:		582	2	848	2	0.2

Tabela 19. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2003.godini

	Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih uzoraka krvnih seruma goveda		
		red br	Naziv mesta	Br. dvorišta	ELG poz. dvor.	Krv goveda	ELG poz goveda	Preval- enca
8	Mladenovac	1	Jagnjilo	263	1	884	1	0.1
		2	Markovac	75	1	226	1	0.4
		3	Beljevac	19		48		
		4	V.Krsna	266		1209		
		5	Koraćica	139		527		
		6	Kovačevac	258		764		
		7	Amerić	16		52		
		8	Međulužje	76		318		
		9	Dubona	68		152		
		10	Vlaška	225		706		
		11	Rabrovac	220		907		
		12	Trstena	0		0		
		13	Rajkovanac	39		113		
		14	Granice	16		50		
		15	Pružatovac	85		464		
		16	Šepšin	63		147		
		17	Senaja	0		0		
		18	Crkvine	27		82		
		19	V.Ivanča	196		890		
		20	s.Mladenovac	40		95		
		21	Mladenovac	34		124		
Mladenovac		UKUPNO:		2125	2	7758	2	0.02
9	Sopot							
		1	Sibnica	92	2	200	3	1.5
		2	Drlupa	38	1	109	1	0.9
		3	Slatina	24		71		
		4	Dučina	97		241		
		5	Nemenikuće	21		72		
		6	Stojnik	42		100		
		7	Babe	12		29		
		8	Đurinci	4		4		
		9	Parcani	15		66		
		10	Ralja	21		74		
		11	Popović	38		92		
		12	M.Požarevac	25		49		
		13	M.Ivanča	17		28		
		14	Rogača	76		172		
		15	Guberevac	43		97		
		16	Sopot	12		37		
Sopot		Ukupno		577	3	1441	4	0.3

Tabela 20. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2003.godini

	Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih uzoraka krvnih serumi goveda		
		red br	Naziv mesta	Br. Dvorišta	ELG poz. Dvor.	Krvi goveda	ELG poz goveda	Preval- enca
10	Voždovac	1	Pinosava	68		120		
		2	Ripanj	215		404		
		3	Zuce	86	1	237	1	0.4
		4	Jajinci	8		17		
		5	B.potok	24		41		
		6	Kumodraž	13		24		
		7	s.Rakovica	11		26		
		ukupno:		425	1	869	1	0.1
11	Barajevo							
		1	Rožanci	70		181		
		2	Arnajevo	3		10		
		3	Beljina	6		28		
		4	V.Borak	18		56		
		5	Manić	0		0		
		6	Šiljakovac	10		18		
		7	Boždarevac	48		65		
		8	Lisović	21		191		
		9	Vranić	157		542		
		10	Baćevac	54		119		
		11	Guncati	0		0		
		12	Meljak	5	1	21	1	4.8
		13	Guberevac	3		10		
		14	Lipovica	0		0		
		15	Barajevo	3		24		
		ukupno.		398	1	1265	1	0.1
12	Palilula							
		1	Višnjica	3		5		
		2	Slanci	2		2		
		3	V.selo	10		13		
		4	R.ćuprija	39		62		
		5	Ovča	34	1	150	1	0.7
		6	Borča	0		0		
	Palilula	Ukupno:		88	1	232	1	0.4

Tabela 21. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2004.godini

	Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih uzoraka krvnih seruma goveda		
		red br	Naziv mesta	Br. dvorišta	ELG poz. dvor.	Krvi goveda	ELG poz. gove da	Preval- enca
		1	Obrenovac	10		16		
1	Obrenovac	2	Grabovac	277		840		
		3	Skela	120		252		
		4	Ušće	131	1	465	1	0.2
		5	Trstenica	65		263		
		6	Dren	118		356		
		7	Konatice	68		139		
		8	Stubline	111		402		
		9	Brović	76		262		
		10	Zabrežje	73		73		
		11	Veliko polje	116	1	387	3	0.8
		12	Draževac	170	1	459	1	0.2
		13	Mislođin	88		189		
		14	Piroman	54	1	208	4	1.9
		15	Jasenak	70		243		
		16	M.Moštanica	45		98		
		17	Barič	40		67		
		18	Poljne	67		197		
		19	Vukićevica	108		306		
		20	Ljubinić	105		327		
		21	Rvati	11		18		
		22	Belo polje	31		95		
		23	Baljevac	39		79		
		24	Zvečka	104		264		
		25	Urovci	31		83		
		26	Krtinska	63		376		
		27	Ratari	72		219		
		28	Orašac	100		316		
	Obrenovac		Ukupno:	2363	4	6999	9	0,12
2	Zvezdara	1	M.M.Lug	7	1	25	1	4.0
		2	V.M.Lug	11		45		
		3	Mirijevo	2		12		
	Zvezdara		ukupno:	20	1	82	1	1,2

Tabela 22. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2004.godini

	Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih uzoraka krvnih seruma goveda		
		Red br	Naziv mesta	Br. Dvorišta	ELG poz. vor.	Krvi goveda	ELG poz goveda	Prev al- enca
3	Lazarevac	1	Vrbovno	50		104		
		2	Leskovac	53		113		
		3	Stepojevac	37		191		
		4	Sokolovo	22		49		
		5	Veliki Crnjeni	66		126		
		6	Cvetovac	0		0		
		7	Vreoci	36		69		
		8	Medoševac	0		0		
		9	Sakulja	0		0		
		10	Junkovac	47		139		
		11	Arapovac	40		100		
		12	Miroslajci	94		260		
		13	Šopić	39		167		
		14	Burovo	6		10		
		15	Zeoke	0		0		
		16	Baroševac	0		0		
		17	Strmovo	25		30		
		18	Mali Crnjeni	10		30		
		19	Prkosava	0		0		
		20	Rudovci	46		114		
		21	Bistrica	40		102		
		22	Dren	75		289		
		23	Petka	6		8		
		24	Šušnjar	33		33		
		25	Stubica	11		33		
		26	Lukovica	18		52		
		27	Trbušnica	61		167		
		28	Kruševica	41		90		
		29	Brajklovac	90		200		
		30	Barzilovica	134		225		
		31	Čibutkovica	116		200		
		32	Županjac	47		87		
		33	Dudovica	111		225		
	Lazarevac		Ukupno:	1354		3213		

Tabela 23. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2004.godini

	Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih uzoraka krvnih seruma goveda		
		Red br	Naziv mesta	Br. dvorišta	ELG poz. dvor.	Krvi goveda	ELG pozg oved a	Preval- enca
4	Čukarica	1	Sremčica	27		59		
		2	Rušanj	36		85		
		3	Ostružnica	25		60		
		4	Železnik	17		27		
		5	Pećani	11		16		
		6	V.Moštanica	62		108		
		7	Rucka	3		6		
		8	Umka	12		19		
	Čukarica		Ukupno:	193		380		
5		1	Zemun	1	0	8	0	
	Zemun	2	Surčin	34	1	153	1	0.7
		3	Dobanovci	57	2	441	6	1.4
		4	Bežanija	11	0	45	0	
		5	Ugrinovci	193	1	735	1	0,13
		6	Progar	24	0	79	0	
		7	Jakovo	57	3	203	5	2.5
		8	Petrovčić	58	2	308	4	1.3
		9	Batajnica	150	4	450	4	0.9
		10	Bećmen	7	1	36	1	2.8
		11	Boljevci	50	0	120	0	
		12	Soko salaš	1	0	34	0	
	Zemun	11	UKUPNO:	643	14	3372	22	0,6

Tabela 24. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2004.godini

	Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih uzoraka krvnih seruma goveda		
		Red br	Naziv mesta	Br. dvorišta	ELG poz. dvor.	Krvi goveda	ELG poz. gove da	Preval- enca
6	Grocka	1	Zaklopača					
		2	Kaluđerica	8		14		
		3	Umčari	112		250		
		4	Begaljica	26		68		
		5	Živkovac	24		41		
		6	Pudarci	27		62		
		7	Boleč	5		8		
		8	Brestovik	2		2		
		9	Vrčin	47		108		
		10	Kamendo	31		55		
		11	Dražanj	90		187		
		12	Grocka	9		14		
		13	Ritopek	0		0		
		14	Leštane	3		6		
		15	Vinča	4		4		
	Grocka		ukupno:	388		819		
7	Sopot							
		1	Sibnica	36		258		
		2	Drlupa	81		357		
		3	Slatina	42		160		
		4	Dučina	22		320		
		5	Nemenikuće	104		324		
		6	Stojnik	0		0		
		7	Babe	0		0		
		8	Đurinci	0		0		
		9	Parcani	14		33		
		10	Ralja	75		285		
		11	Popović	30		79		
		12	M.Požarevac	40		43		
		13	M.Ivanča	11		21		
		14	Rogača	0		0		
		15	Guberevac	31		186		
		16	Sopot	14		43		
	Sopot		Ukupno	500		2109		

Tabela 25. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2004.godini

	Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih uzoraka krvnih serumi goveda		
		Red br	Naziv mesta	Br dvorišta	ELG Poz dvor.	Krv goveda	ELG poz gove da	Prevalenca
8	Mladenovac	1	Jagnjilo	271		879		
		2	Markovac	69		192		
		3	Beljevac	22		58		
		4	V.Krsna	393	1	1067	1	0.1
		5	Koraćica	150		645		
		6	Kovačevac	252		688		
		7	Amerić	0		0		
		8	Međulužje	53		173		
		9	Dubona	106		207		
		10	Vlaška	217		747		
		11	Rabrovac	214		854		
		12	Trstena	0		0		
		13	Rajkovanac	33		77		
		14	Granice	19		52		
		15	Pružatovac	24		517		
		16	Šepšin	66		143		
		17	Senaja	4		3		
		18	V.Ivanča	221		856		
		19	s.Mladenovac	36		94		
		20	Mladenovac	42		210		
		21	Crkvine	31		98		
		22	M.Granice	13		31		
		23	Bataševo	2		4		
	Mladenovac		UKUPNO:	2238	1	7595	1	0.01
10	Rakovica	1	Resnik	27		61		
		2	Rakovica					
	Rakovica		ukupno:	27		61		

Tabela 26. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2004.godini

	Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih uzoraka krvnih seruma goveda		
		Red br	Naziv mesta	Br.dvorišta	ELG poz.Dv or.	Krvi goveda	ELG poz gove da	Preval- enca
9	Voždovac	1	Pinosava	63		156		
		2	Ripanj	188		329		
		3	Zuce	90		279		
		4	s.Rakovica	6		16		
		5	Jajinci	6		10		
		6	B.potok	14		26		
		7	Kumodraž	6		12		
		8	s.Rakovica	5		16		
	Voždovac		ukupno:	378		844		
11	Barajevo	1	V.Borak	86		183		
		2	Manić	22		47		
		3	Šiljakovac	18		46		
		4	Boždarevac	59		182		
		5	Lisović	42		87		
		6	Vranić	74		259		
		7	Baćevac	112		380		
		8	Guncati	70		145		
		9	Meljak	22		138		
		10	Ravni gaj	0		0		
		11	Lipovica	0		0		
		12	Barajevo	48		166		
		13	Arnajevo	101		348		
		14	Rožanci	61		225		
		15	Beljina	68		272		
	Barajevo		ukupno.	783		2478		

Tabela 27. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2004.godini

	Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih uzoraka krvnih seruma goveda		
		red br	Naziv mesta	Br. dvorišta	ELG poz. dvor.	Krvi goveda	ELG poz gove da	Preval- enca
12	Palilula	1	Višnjica	3		4		
		2	Slanci	19		59		
		3	V.selo	9		22		
		4	R.ćuprija	1		1		
		6	Ovča	27		175	5	3.70
		7	Borča	4	1	22	1	4.55
		8	Vrbovsko	7	1	39	16	41.03
		9	Kovilovo	1		11		
		10	Krnjača	33		126		
	Palilula		Ukupno:	104	2	459	22	4.79

Tabela 28. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2005.godini

	Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih uzoraka krvnih seruma goveda			Ukupno
		R br.	Naziv mesta	Br. Dvoriš a	ELG poz. Dvor.	Pregledano	ELG poz goveda	Preval- enca	
1	Zemun	1	Ugrinovci	155	2	722	2	0.28	1094
		2	Batajnica	87	3	452	3	0.66	802
		3	Surčin	50	4	152	4	2.63	289
		4	Dobanovci	55	2	460	12	2,6	590
		5	Bežanija	1	0	5	0		6
		6	Progar	36	1	94	1	1.06	213
		7	Jakovo	73	2	230	2	0.87	536
		8	Petrovčić	59	3	277	5	1.81	407
		9	Bečmen	41	1	35	1	2.86	131
		10	Boljevci	72	0	108	0		346
		11	Zemun	2	0	17	0		17
	Zemun	11	Ukupno:	631	18	2552	30	1,17	4431

Tabela 29. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2005.godini

	Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih uzoraka krvnih seruma goveda			Ukupno
		R br.	Naziv mesta	Br. Dvorišta	ELG poz. Dvor.	Pregledano	ELG poz goveda	Preval- enca	
		1	Obrenovac	11		15			26
2	Obrenovac	2	Grabovac	268	1	861	1	0.12	1261
		3	Skela	125		267			512
		4	Ušće	138	2	543	2	0.37	802
		5	Trstenica	104		191			448
		6	Konatice	68		138			197
		7	Stubline	145		450			694
		8	Brović	93		298			485
		9	Zabrežje	36		74			144
		10	Veliko polje	131	2	482	4	0.83	669
		11	Draževac	174		446			600
		12	Mislođin	83		178			275
		13	Piroman	98	1	290	8	2.76	449
		14	Jasenak	75		236			353
		15	M.Moštanica	47		116			116
		16	Barič	41		68			97
		17	Poljne	69		191			309
		18	Vukićevica	106		274			423
		19	Ljubinić	123		423			863
		20	Baljevac	37		94			129
		21	Dren	125		405			555
		22	Zvečka	128		335			447
		23	Urovci	65		153			227
		24	Krtinska	93		243			377
		25	Ratari	89		318			495
		26	Orašac	102		350			532
		27	Rvati	12		23			38
		28	B.polje	29		91			101
	Obrenovac		Ukupno:	2615	6	7553	15	0.20	11624

Tabela 30. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2005.godini

	Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih uzoraka krvnih seruma goveda			Ukupno goveda
		red br.	Naziv mesta	Br. dvorišta	ELG poz. dvor.	Pregledano	ELG poz goveda	Prevalenca	
			Lazarevac						
3	Lazarevac		Vrbovno	1		3			6
			Leskovac	9		15			32
			Stepojevac	44		109			166
			Sokolovo	45		90			156
			Veliki Crnjeni	37		68			134
			Cvetovac	4		12			15
			Vreoci	62		110			147
			Medoševac						
			Sakulja						
			Junkovac	54		128			168
			Arapovac	48		69			116
			Miroslajci	82		151			225
			Šopić	50		141			141
			Burovo	19		30			62
			Zeoke	1		5			7
			Baroševac	9		25			37
			Strmovo	3		7			10
			Mali Crnjeni	24		42			52
			Prkosava	2		3			3
			Rudovci	49		94			143
			Bistrica	64		146			184
			Dren	16		45			63
			Petka	21		35			62
			Šušnjar	17		21			50
			Stubica	2		5			7
			Lukovica	11		16			41
			Trbušnica	53		117			149
			Kruševica	9		17			20
			Brajklovac						
			Barzilovica						
			Čibutkovica	117		219			319
			Županjac	38		71			97
			Dudovica	88		187			314
	Lazarevac		Ukupno:	979		1981			2926

Tabela 31. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2005.godini

	Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih uzoraka krvnih seruma goveda			Ukupno goveda
		R br.	Naziv mesta	Br. Dvorišta	ELG poz. Dvor.	Pregledano	ELG poz goveda	Prevalenca	
4	Grocka		Zaklopača	2		2			2
			Kaluđerica	6		10			17
			Umčari	99		185			459
			Begaljica	28		51			73
			Živkovac	23		35			55
			Boleč	5		5			6
			Brestovik	3		6			6
			Vrčin	81	1	178	1	0.56	251
			Kamendo	12		19			23
			Dražanj	72	1	145	1	0.69	211
			Leštane	4		9			14
			Vinča						
	Grocka		ukupno:	335	2	645	2	0.31	1117
5			Jagnjilo	173		479			689
	Mladenovac		Markovac	77		188			245
			V.Krsna	349	3	931	3	0.32	1261
			Koraćica	152		447			589
			Kovačevac	352	1	627	1	0.16	820
			Amerić	78		188			258
			Međulužje	51		172			278
			Dubona	48		81			113
			Vlaška	177		362			533
			Rabrovac	77		345			485
			Rajkovac	27		61			81
			Granice	21		35			49
			Pružatovac	77		260			340
			Šepšin	44		74			99
			Senaja	6		12			13
			V.Ivanča	232		746			944
			s.Mladenovac	37		73			124
			M.vrbica	19		52			71
			Mladenovac	43		125			157
			Rabrovac	68		205			277
			Jagnjilo	67		237			341
			Beljevac	21		63			97
			Crkvine	35		106			151
			M.Granice	15		21			36
			Bataševo	4		5			7
	Mladenovac		UKUPNO:	2250	4	5895	4	0,07	9175

Tabela 32. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2005. godini

	Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih uzoraka krvnih seruma goveda			Ukupno goveda
		R br.	Naziv mesta	Br. Dvorišta	ELG poz. Dvor.	Pregledano	ELG poz goveda	Prevalenca	
6	Čukarica		Sremčica	23		47			68
			Rušanj	30		83			54
			Železnik	15		33			55
			V.Moštanica	60		122			115
			Ostružnica	35		66			83
			Makiš	8		10			23
			Umka	23	1	40	1	2.50	58
7	Čukarica	Ukupno:		194	1	401	1	0.25	456
7	Sopot		Sibnica	76	1	246	1	0.41	342
			Drlupa	78		265			340
			Slatina	26		98			135
			Dučina	77		228			308
			Nemenikuće	138	1	467	1	0.21	638
			Stojnik						
			Babe-Stojnik	50		193			199
			Đurinci						
			Parcani	25		54			76
			Ralja	8		10			16
			Popović	20		45			62
			M.Požarevac	2		5			7
			M.Ivanča						
			Rogača	92		283			369
			Guberevac	75		164			238
			Sopot						
	Sopot	Ukupno		591	2	2058	2	0,09	2730
8	Voždovac		Pinosava	74		186			245
			Zuce	99		294			414
			s.Rakovica	12		49			78
			Ripanj	200		361			501
			Jajinci	5		9			12
			B.potok	19		35			41
			Kumodraž	5		10			17
	Voždovac		ukupno:	414		944			1308

Tabela 33. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2005.godini

	Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih uzoraka krvnih serumi goveda			Ukupno
		R br.	Naziv mesta	Br. dvorišta	ELG poz. dvor.	Pregledano	ELG poz goveda	Preval- enca	
9	Rakovica		Resnik	21	1	53	1	1.89	61
			Rakovica						
	Rakovica	ukupno:	21	1	53	1	1.89	61	
10	Barajevo		V.Borak	98		271			368
			Manić	31		93			114
			Šiljakovac	20		49			71
			Boždarevac	67		200			266
			Lisović	57		127			195
			Vranić	132		333			444
			Baćevac	70		149			201
			Guncati	5		28			35
			Meljak	21		56			78
			Barajevo	1		6			7
			Arnajevo	93		264			364
			Rožanci	80		218			336
			Beljina	84		214			292
	Barajevo	ukupno.	661		1737				2403
11	Zvezdara		M.M.Lug	9	2	22	2	9.09	39
			V.M.Lug	16		42		0.00	57
			Mirijevo	4		6		0.00	12
	Zvezdara	ukupno:	29	2	70	2	2.86	108	
12	Palilula		Višnjica	3		11			22
			Slanci	25		55			67
			V.selo	7		14			16
			Ovča	55	2	287	3	1.05	495
			Borča	11		44			92
			Preliv	7	1	20	1	5.00	34
			Besni fok	1		2			2
			P.Skela	3		7			11
			Kovilovo	1		9			15
			Krnjača	1		2			2
	Palilula	Ukupno:	114	3	451	4	0.89	756	

Tabela 34. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2006.godini

Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih goveda			Ukupno goveda
	Br	Naziv mesta	Br. Dvorišta	Poz. dvor.	Starija od 24 meseca	Poz goved	Prevalenca	
	1	Lazarevac	1		1			1
Lazarevac	2	Vrbovno	44		75			90
	3	Leskovac	54		97			116
	4	Stepojevac	68		80			107
	5	Sokolovo	40		48			62
	6	Veliki Crljeni	56		98			116
	7	Cvetovac	2		8			8
	8	Vreoci	21		52			56
	9	Šopić	31		48			63
	10	Burovo	12		16			20
	11	Zeoke	28		27			36
	12	Baroševac	25		54			54
	13	Mali Crljeni	19		19			24
	14	Prkosava	12		13			16
	15	Rudovci	21		32			39
	16	Bistrica	22		49			74
	17	Dren	26		47			65
	18	Petka	24		30			36
	19	Šušnjar	1	1	1	1		1
	20	Stubica	16		21			37
	21	Lukavica	17		24			28
	22	Trbušnica	51		152			189
	23	Kruševica	29		47			61
	24	Brajklovac	95		209			213
	25	Barzilovica	60		101			108
	26	Čibutkovica	61		79			88
	27	Županjac	32		52			59
	28	Dudovica	32		67			95
	29	Miroslajci	111		161			191
	30	Strmovo	26		33			36
	31	Arapovac	22		23			43
	32	Junkovac	41		52			68
Lazarevac	33	Ukupno:	1100	1	1.816	1	0,06	2200
Voždovac	1	Pinosava	58	1	46	1		48
	2	Zuce	105		196			232
	3	Ripanj	179		247			300
	4	B.potok	22		24			26
	5	Bgd	20		44			51
Voždovac		ukupno:	384	1	557	1	0,18	657
Rakovica	1	Resnik	19		43			44
Rakovica		ukupno:	19		43			44

Tabela 35. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2006.godini

Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih goveda			Ukupno goveda
	Br.	Naziv mesta	Br. Dvorišta	ELG poz. Dvor.	Goveda starija od 24 meseca	ELG poz goveda	Prev al-enca	
Mladenovac	1	Crkvine	28		67			86
	2	Markovac	75		134			153
	3	Beljevac	14		49			58
	4	V.Krsna	357	1	710	1		854
	5	Koraćica	139	1	348	1		421
	6	Kovačevac	276		445			542
	7	Amerić	48		99			119
	8	Međulužje	67		167			219
	9	Dubona	50		60			70
	10	Vlaška	171		326			399
	11	Rabrovac	183		505			637
	12	Rajkovac	27		49			57
	13	Granice	39		42			53
	14	Pružatovac	71		201			253
	15	Šepšin	40		51			61
	16	Senaja	4		8			8
	17	V.Ivanča	234		629			746
	18	s.Mladenovac	37		53			66
	19	M.vrbica	25		47			59
	20	Mladenovac	44		95			109
	21	Jagnjilo	213		510			677
Mladenovac		UKUPNO:	2142	2	4.595	2	0,04	5647
Sopot	1	Sibnica						0
	2	Drlupa	30		143			162
	3	Slatina						0
	4	Dučina	11		46			48
	5	Nemenikuće	144		478			574
	6	Stojnik	20		46			64
	7	Babe-Stojnik	13		23			29
	8	Đurinci	2		2			3
	9	Parcani	12		45			45
	10	Ralja	11		27			30
	11	Popović	28		61			61
	12	M.Požarevac	22		60			63
	13	M.Ivanča	30		40			42
	14	Rogača	23		128			145
	15	Guberevac	10		23			30
	16	Sopot	18		57			67
Sopot		Ukupno	374		1.179			1363

Tabela 36.Seroološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2006.godini

Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih goveda			Ukupno goveda
	Br.	Naziv mesta	Br. Dvori šta	ELG poz. Dvor.	Goveda starija od 24 meseca	poz goved a	Preval- enca	
Barajevo	1	V.Borak	2		4			5
	2	Manić						0
	3	Šiljakovac	22		37			41
	4	Boždarevac	66		118			142
	5	Lisović						0
	6	Vranić	144		296			337
	7	Baćevac	60		50			58
	8	Guncati	61		91			111
	9	Meljak	21		33			35
	10	Barajevo	94	1	110	1	0,91	142
	11	Arnajevu	84		221			277
	12	Rožanci	63		218			248
	13	Beljina	75		187			213
Barajevo		ukupno.	692	1	1.365	1	0,07	1609
Grocka	1	Zaklopeča						0
	2	Kaluđerica	1		2			2
	3	Umčari	101		163			185
	4	Begaljica	25		40			56
	5	Živkovac	18		26			28
	6	Pudarci	21		18			18
	7	Boleč	3		2			2
	8	Brestovik	4		6			7
	9	Vrčin	60		90			142
	10	Kamendo	31		49			51
	11	Grocka	3		5			7
	12	Ritopek						0
	13	Leštane	1		2			4
	14	Vinča	3		2			2
	15	Dražanj	85	1	120	1		160
Grocka		ukupno:	356	1	525	1	0,19	664

Tabela 37.Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2006.godini

Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih goveda			Ukupno goveda
	Br	Naziv mesta	Br. Dvorišta	ELG poz. Dvor.	Goveda starija od 24 meseca	ELG poz goveda	Preval- enca	
Zemun	1	Bežanija	6		28			31
	2	Ugrinovci	143	1	333	1	0,30	447
	3	Batajnica	118		345			454
	4	13.maj	1		390			552
	5	Soko salaš	1		13			17
Zemun		Ukupno:	269	1	1.109	1	0,09	1501
Surčin	1	Surčin	54	2	104	2	1,92	155
	2	Dobanovci	61	2	167	9	5,38	203
	3	Progar	36		44			60
	4	Jakovo	60	1	136	2	1,47	172
	5	Boljevci	77		75			103
	6	Bečmen	27		29			39
	7	Petrovčić	66	2	222	2	0,90	256
Surčin		Ukupno:	381	7	777	15	1,93	988
Zvezdara	1	M.m.lug	8		12			13
	2	v.M.lug	13		29			31
	3	Mirijevo	2		3			3
Zvezdara		ukupno:	23	0	44	0	0,00	47
Palilula	1	Višnjica	3		2			3
	2	Slanci	20		31			36
	3	V.selo	7		8			8
	4	Ovča	63	1	220	1	0,45	286
	5	Borča	34	1	75	1	1,33	94
	6	P.skela	12		22			28
	7	Jabubučki rit	1					1
	8	Krnjača	7		15			18
Palilula	9	Ukupno:	147	2	373	2	0,54	474

Tabela 38.Seroološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2007.godini

Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih goveda			Ukupno goveda
	Br.	Naziv mesta	Br. Dvorišta	ELG poz. Dvor.	Goveda starija od 24 meseca	ELG poz goveda	Prevalenca	
	1	Obrenovac	14		16			18
Obrenovac	2	Grabovac	289		675			817
Obrenovac	3	Trstenica	78		287			326
	4	Konatice	65		113			132
	5	Stubline	140		301			369
	6	Brović	88		258			297
	7	Zabrežje	25		43			55
	9	Draževac	231		350			390
	10	Mislođin	65		132			163
	11	Piroman	88	2	217	3	1,19	252
	12	Jasenak	60		173			198
	13	M.Moštanica	36		47			56
	14	Barič	25		37			46
	15	Poljne	54	1	176	1	0,49	206
	16	Vukićevica	83		227			263
	17	Ljubinić	102		278			352
	18	Baljevac	31		78			93
	19	Dren	116		288			356
	20	Zvečka	116		219			254
	21	Urovci	64		89			111
	22	Krtinska	86		145			172
	23	Ratari	87		180			237
	24	Orašac	100		283			340
	25	Rvati	8	1	16	1	5,26	19
	26	Ušće	127		381			463
	27	B.polje	28		60			69
	28	V.polje	133	2	365	4	0,94	424
	29	Skela	127		144			172
	Ukupno:		2466	6	5578	9	0,14	6650
Čukarica	1	Sremčica	16		26			27
	2	Rušanj	37		58			60
	3	Ostrižnica	29		40			43
	4	Železnik	9		17			25
	5	Pećani	6		7			10
	6	Umka	12		12			13
	7	Rucka	2		1			1
	8	V.Moštanica	38		49			51
Čukarica	Ukupno:		149		210			230

Tabela 39. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2007.godini

Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih goveda			Ukupno goveda
	Br.	Naziv mesta	Br. Dvorišta	poz. Dvor.	starija od 24 meseca	poz goveda	Prevalenca	
	1	Lazarevac	8		8			13
Lazarevac	2	Vrbovno	47		90			105
	3	Leskovac	34		65			81
	4	Stepojevac	62		92			111
	5	Veliki Crljeni	82		112			125
	6	Cvetovac	10		6			8
	7	Vreoci	58		82			94
	8	Medoševac	7		7			9
	9	Šopić	31		62			66
	10	Burovo	12		18			23
	11	Zeoke	8		11			11
	12	Baroševac	18		26			31
	13	Mali Crljeni	27		39			47
	14	Prkosava	15		13			17
	15	Rudovci	31		52			60
	16	Bistrica	50		93			112
	17	Dren	44		179			198
	18	Petka	40		87			95
	19	Šušnjar	12		19			20
	20	Stubica	11		21			23
	21	Lukavica	23		39			40
	22	Trbušnica	115		127			245
	23	Kruševica	15		24			25
	24	Brajklovac	85		165			197
	25	Barzilovica	91		140			147
	26	Čibutkovica	91		150			166
	27	Županjac	31		46			57
	28	Dudovica	63		152			167
	29	Miroslajci	108		109			129
	30	Strmovo	25		27			29
	31	Arapovac	43		45			57
	32	Junkovac	41		31			46
Lazarevac		Ukupno:	1338		2137	0		2554
Voždovac	1	Pinosava	28		108			122
	2	Zuce	90		185			208
	3	Ripanj	214		194			232
	4	B.potok	13		19			22
	5	selo Rakovica	21		33			41
Voždovac		ukupno:	366		539	0		625
Rakovica	1	Resnik	18		38			40
Rakovica		ukupno:	18		38			40

Tabela 40. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2007.godini

Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih goveda			Ukupno goveda
	Br.	Naziv mesta	Br. Dvorišta	poz. Dvor.	starija od 24 meseca	poz goveda	Prevalenca	
Zemun	1	Ugrinovci	156		842			1102
	2	Batajnica	127		295			384
	3	N.Beograd	7		22			34
Zemun		Ukupno:	290	0	1159	0	0,00	1520
Surčin	1	Surčin	44		99			127
	2	Dobanovci	61		143	9	4,48	201
	3	Progar	41		43			56
	4	Jakovo	64		136	3	1,57	191
	5	Boljevci	66		78			97
	6	Bećmen	15		24			30
	7	Petrovčić	62		192	2	0,80	249
Surčin		UKUPNO:	353	0	715	14	1,47	951
Grocka	1	Zaklopeča	1		1			1
	2	Kaluđerica	1		3			3
	3	Umčari	109		152			179
	4	Begaljica	30		38			45
	5	Živkovac	18		20			22
	6	Pudarci	26		38			44
	7	Boleč	3		1			1
	8	Brestovik	4		4			5
	9	Vrčin	42		91			107
	10	Kamendo	27		39			42
	11	Grocka	2		3			3
	13	Leštane	1		1			1
	14	Vinča	1		1			1
	15	Dražanj	90		115			141
Grocka		ukupno:	355	0	507	0	0,00	595
Barajevo	1	Manić	21		40			45
	2	Šiljakovac	19		32			37
	3	Boždarevac	96	1	129	1	0,77	190
	4	Lisović	45		56			75
	5	Vranić	144	1	264	1	0,37	309
	6	Baćevac	70		89			106
	7	Guncati	57		87			104
	8	Meljak	19	1	30	2	6,66	35
	9	Barajevo	111		107			117
	10	Arnajevo	75		153			203
	11	Rožinci	62		163			221
	12	Beljina	73		131			192
	13	V. Borak	76		164			206
Barajevo		ukupno.	868	3	1445	4	0,22	1840

Tabela 41.Seroološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2007.godini

Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih goveda			Ukupno goveda
	Br.	Naziv mesta	Br. Dvorišta	poz. Dvor.	starija od 24 meseca	poz goveda	Prevalenca	
	1	Crkvine	25		75			85
Mladenovac	2	Beljevac	16		32			44
	3	V.Krsna	191		662			822
	4	Koraćica	130		334			411
	5	Kovačevac	131		349			467
	6	Amerić	65		134			159
	7	Međulužje	64		207			248
	8	Dubona	41		51			58
	9	Vlaška	153		224			282
	10	Rajkovac	31		57			71
	11	Granice	42		44			59
	12	Pružatovac	70		204			257
	13	Šepšin	30		44			49
	14	Senaja	7					17
	15	V.Ivanča	206		565			694
	16	s.Mladenovac	39		56			68
	17	M.vrbica	20		25			35
	18	Mladenovac	50		64			75
	19	Jagnilo	374		983			1243
	20	Rabrovac	62		92			130
	21	Markovac	1		37			42
Mladenovac	UKUPNO:		1748		4239			5316
Sopot	1	Sibnica	24		74			103
	2	Drlupa	31		146			167
	3	Nemenikuće	91		340			380
	4	Stojnik	22		58			64
	5	Babe	5		14			16
	6	Ropočevvo	1		7			7
	7	Đurinci	11		14			19
	8	Parcani	22		45			56
	9	Ralja	44		67			78
	10	Popović	42		70			74
	11	M.Požarevac	21		60			66
	12	M.Ivanča	33		51			56
	13	Guberevac	34		58			67
	14	Sopot	23		58	1	1,72	82
	15	Slatina	23		66			78
	16	Dučina	79		181			201
	17	Rogača	87		219			270
Sopot	Ukupno		593	0	1528	1	0,06	1784
Zvezdara	1	M.m.lug	10		20			20
	2	V.m.lug	4	1	8	1	12,5	8
Zvezdara	ukupno:		14	1	28	1	3,57	28

Tabela 42.Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2007.godini

Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih goveda			Ukupno goveda
	Br.	Naziv mesta	Br. Dvorišta	ELG poz. Dvor.	Goveda starija od 24 meseca	ELG poz goveda	Prevalenca	
Palilula	1	Višnjica	2		2			3
	2	Slanci	16		30			34
	3	V.selo	4		6			6
	4	Ovča	5		5	1	20	6
	5	Borča	32		343			454
	6	Krnjača-Preliv	6		12	1	8,33	34
Palilula		ukupno	65		398	2	0,37	542

Tabela 43.Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2008.godini

Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih goveda			Ukupno goveda
	Br	Naziv mesta	Br. Dvorišta	ELG poz. Dvor.	Goveda starija od 24 meseca	ELG poz goveda	Prevalenca	
1	1	Obrenovac	13		13			15
	2	Grabovac	257		673			811
	3	Trstenica	92		256			305
	4	Konatice	55		79			91
	5	Stubline	140		354			414
	6	Brović	102		233			272
	7	Zabrežje	26		46			55
	8	Draževac	158		331			379
	9	Mislođin	60		122			146
	10	Piroman	91		202			233
	11	Jasenak	62		159			181
	12	M.Moštanica	34		79			82
	13	Barič	24		33			38
	14	Poljne	58		142			170
	15	Vukićevica	88		207			245
	16	Ljubinić	104		270			343
	17	Baljevac	27		59			65
	18	Dren	130	1	582	1	0,17	656
	19	Zvečka	135		210			251
	20	Urovci	74		86			99
	21	Krtinska	98		309			350
	22	Ratari	94		197			250
	23	Orašac	110		289			329
	24	Rvati	14		19			23
	25	Ušće	141		963			1046
	26	B.polje	32		60			68
	27	V.polje	141		350			395
	28	Skela	130		118			148
Obrenovac	Ukupno:		2490	1	6441	1	0,02	7460
Čukarica	1	Sremčica	17		20			24
	2	Rušanj	28		40			43
	3	Ostrižnica	25		32			35
	4	Železnik	7		18			20
	5	Pećani	6		8			10
	6	Umka	13		15			15
	7	V.Moštanica	42		51			56
Čukarica	Ukupno:		138		184			203

Tabela 44. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2008.godini

Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih goveda			Ukupno goveda
	Br	Naziv mesta	Br. Dvorišta	poz. Dvor.	starija od 24m	poz goveda	Prevalenca	
Lazarevac	1	Vrbovno	62		91			105
	2	Leskovac	54		83			97
	3	Stepojevac	54		66			77
	4	Veliki Crljeni	48		28			29
	5	Vreoci	60		61			71
	6	Medoševac	3		5			5
	7	Šopić	35		53			62
	8	Burovo	12		12			17
	9	Zeoke	13		16			20
	10	Mali Crljeni	57		17			17
	11	Rudovci	25		39			44
	12	Bistrica	79		68			85
	13	Dren	37		64			74
	14	Petka	22		36			40
	15	Šušnjar	12		19			20
	16	Stubica	18		29			32
	17	Lukavica	29		14			17
	18	Trbušnica	63		110			125
	19	Kruševica	13		19			21
	20	Brajklovac	98		177			212
	21	Barzilovica	89		119			131
	22	Čibutkovica	90		119			137
	23	Županjac	34		46			54
	24	Dudovica	82		153			173
	25	Miroslajci	129		96			111
	26	Strmovo	23		19			21
	27	Arapovac	45		33			46
	28	Sokolovo	34		46			56
	29	Junkovac	31		47			56
Lazarevac	Ukupno:		1352		1685	0		1955
Zemun	1	Ugrinovci	166	2	445	2	0,45	550
	2	Batajnica	143	1	720	1	0,14	1043
	3	N.Beograd	8		21			27
Zemun	Ukupno:		317	3	1186	3	0,25	1620
Surčin	1	Surčin	146		219			289
	2	Dobanovci	65	1	121	2	0,82	173
	3	Progar	44		38			59
	4	Jakovo						0
	5	Boljevci	146		75			91
	6	Bečmen	47		24			29
	7	Petrovčić	47		187			218
Surčin	UKUPNO:		495	1	664	2	030	859

Tabela 45. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2008.godini

Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih goveda			Ukupno goveda
	Br	Naziv mesta	Br. Dvorišta	ELG poz. Dvor.	Goveda starija od 24 meseca	ELG poz goveda	Prevalenca	
Grocka	1	Zaklopeča	3		1			2
	2	Kaluđerica	6		2			2
	3	Umčari	112		149			170
	4	Begaljica	33		34			38
	5	Živkovac	25		18			20
	6	Pudarci	32		32			42
	7	Boleč	2		3			4
	8	Brestovik	4		3			4
	9	Vrčin	67		88			95
	10	Kamendo	38		40			41
	11	Grocka	3		2			3
	12	Ritopek	1		1			2
	13	Leštane	4		1			2
	14	Vinča	4		1			1
	15	Dražanj	102		102			122
Grocka		ukupno:	436	0	477	0		548
Mladenovac	1	Crkvine	25		76			88
	2	Beljevac	19		43			51
	3	V.Krsna	373	2	645	3	0,47	764
	4	Koraćica	179		328			405
	5	Kovačevac	300		344			458
	6	Amerić	81		120			150
	7	Međulužje	72		164			197
	8	Dubona	54		52			59
	9	Vlaška	178		217			256
	10	Rajkvac	35		56			72
	11	Granice	43		45			55
	12	Pružatovac	79		194			260
	13	Šepošin	1		2			2
	14	Senaja	6		6			7
	15	V.Ivanča	231		579			711
	16	s.Mladenovac	37		51			64
	17	M.vrbica	25		47			60
	18	Mladenovac	31		76			91
	19	Jagnjilo	214		482			610
	20	Rabrovac	175		510			628
	21	Markovac	72		119			147
Mladenovac		UKUPNO:	2230	2	4156	3	0,07	5135
Rakovica		Resnik	1		3			4
		Rakovica						0
Rakovica		ukupno:	1		3			4

Tabela 46. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2008.godini

Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih goveda			Ukupno goveda
	Br	Naziv mesta	Br. Dvorišta	poz. Dvor.	starija od 24 meseca	poz goveda	Prevalenca	
Sopot	1	Sibnica	67		140			160
	2	Drlupa	66		232			257
	3	Nemenikuće	143		414			480
	4	Stojnik	66		97			110
	5	Babe	18		28			33
	6	Ropočevac	9		10			14
	7	Đurinci	13		18			24
	8	Parcani	25		51			56
	9	Ralja	36		55			69
	10	Popović	44		69			77
	11	M.Požarevac	20		60			63
	12	M.Ivanča	35		40			45
	13	Guberevac	57		69			78
	14	Sopot	52		82			96
	15	Slatina	23		62			71
	16	Dučina	76		181			208
	17	Rogača	101		236			272
Sopot		Ukupno	851		1844	0		2113
Barajevo	1	Manić	22		38			45
	2	Šiljakovac	18		29			38
	3	Lisović	47		48			60
	4	Vranić	159		254			289
	5	Baćevac	60		76			95
	6	Guncati	53		87			106
	7	Meljak	14		22			24
	8	Barajevo	98		141			167
	9	Arnajevo	93		152			204
	10	Rožanci	77		175			213
	11	Beljina	86		122			182
	12	Boždarevac	95		121			176
	13	V. Borak	92		172			228
Barajevo		ukupno.	914	0	1437			1827
Voždovac	1	Pinovsava	49		109			123
	2	Resnik	17		35			37
	3	Zuce	71		170			191
	4	Ripanj	337		208			697
	5	B.potok	13		19			19
	6	s.Rakovica	19		31			37
Voždovac		ukupno:	506		572			1104

Tabela 47.Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2008.godini

Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih goveda			Ukupno goveda
	Br	Naziv mesta	Br. Dvorišta	ELG poz. Dvor.	Goveda starija od 24 meseca	ELG poz goveda	Prevalenca	
Zvezdara	1	M.m.lug						0
	2	v.M.lug	16		17			18
Zvezdara		ukupno:	16	0	17	0		18
Palilula	1	Višnjica	1		4			4
	2	Slanci	14		25			26
	3	V.selo	3		4			4
	6	Ovča	34		134			166
	7	Borča	31		73			90
	8	Krnjača	18		34			60
	9	P.skela	10	1	101	23	22,77	27
	10	Kovilovo	4		12			16
Palilula		ukupno	115	1	387	23	5,94	499

Tabela 48. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2009.godini

Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih goveda			Ukupno goveda
	Br	Naziv mesta	Br. Dvorišta	poz. Dvor.	starija od 24	poz goveda	Prevalenca	
	1	Grabovac	304		599			736
Obrenovac	2	Trstenica	97		237			278
	3	Stubline	44		8			8
	4	Brović	87		251			288
	5	Zabrežje	22		32			37
	6	Draževac	81	1	136	1	0,74	161
	7	Mislođin	46		100			117
	8	Piroman	81		184			219
	9	Jasenak	69		153			181
	10	M.Moštanica	30		38			41
	11	Barič	18		26			29
	12	Poljane	13		10			13
	13	Vukićevica	62		150			175
	14	Ljubinić	22		2			2
	15	Obrenovac	8		7			7
	16	Dren	144		3			7
	17	Zvečka	122		173			216
	18	Urovci	53		54			66
	19	Krtinska	100		117			141
	20	Ratari	109		162			221
	21	Orašac	130		239			298
	22	Rvati	7		14			16
	23	Ušće	161	1	328	1	0,30	398
	24	B.polje	26		42			49
	25	V.polje	170	1	269	1	0,37	315
	26	Skela	144		109			176
Obrenovac		Ukupno:	2.150	3	3.443	3	0,09	4.195
	1	Čukarica	6		17			25
Čukarica	2	Sremčica	10		21			25
	3	Rušanj	22		42			44
	4	Ostružnica	24		26			34
	5	Pećani	4		5			5
	6	V.Moštanica	27		31			38
	7	Umka	7		8			9
Čukarica		Ukupno:	100		150			180
Voždovac	1	Pinosava	48		99			112
	2	Zuce	105		137			158
	3	Ripanj	239		169			194
	4	s.Rakovica	21		28			30
Voždovac		ukupno:	413		433			494
Rakovica		Resnik	16		30			34
Rakovica		ukupno:	16		30			34

Tabela 49. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2009.godini

Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih goveda			Ukupno goveda
	Br	Naziv mesta	Br. Dvorišta	poz. Dvor.	starija od 24	poz goveda	Prevalenca	
	1	Lazarevac	6		3			4
Lazarevac	2	Vrbovno	53		78			87
	3	Leskovac	90		82			94
	4	Stepojevac	79		68			81
	5	Veliki Crljeni	84		90			104
	6	Burovo	35		10			13
	7	Baroševac	20		27			30
	8	Bistrica	44		62			73
	9	Dren	29		44			49
	10	Petka	17		17			20
	11	Šušnjar	10		10			10
	12	Stubica	25		34			35
	13	Lukovica	15		15			19
	14	Trbušnica	78		115			135
	15	Brajklovac	182		169			200
	16	Barzilovica	97		91			106
	17	Čibutkovica	146		93			111
	18	Županjac	49		41			59
	19	Dudovica	159		110			135
	20	Strmovo	19		23			25
	21	Miroslajci	17		1			4
	22	Sokolovo	22		27			34
	23	Arapovac	34		45			49
	24	Junkovac	28		37			44
	25	Cvetovac	11		17			23
	26	Šopić	79		55			64
	27	Vreoci	71		47			53
	28	Medoševac	15		7			8
	29	Zeoke	3		2			2
	30	Prkosava	14		14			16
	31	Rudovci	27		38			43
	32	Kruševica	33		49			52
	33	M.Crljeni	39		47			53
Lazarevac		Ukupno:	1.630		1.568			1.835
Surčin	1	Surčin	45		78			87
	2	Dobanovci	49	1	96	1	1,04	124
	3	Progari						
	4	Jakovo	28	1	66	2	3,00	80
	5	Boljevci	57		124			157
	6	Soko salaš	19		14			18
	7	Bečmen	14		16			23
	8	Petrovčić	72		177			214
Surčin			256	2	571	3	0,53	703

Tabela 50.Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2009.godini

Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih goveda			Ukupno goveda
	Br	Naziv mesta	Br. Dvorišta	poz. Dvor.	starija od 24	poz goveda	Prevalenca	
	1	Ugrinovci	176	3	378	4	1,06	489
Zemun	2	Batajnica	131		658			901
	3	N.Beograd	45		120			157
	Ukupno:		352	3	1.156	4	0,35	1.547
Mladenovac	1	Crkvine	19		56			68
	2	Beljevac	13		34			44
	3	V.Krsna	415	2	568	2	0,35	697
	4	Koraćica	182		294			366
	5	Kovačevac	191		287			374
	6	Amerić	100		117			141
	7	Međulužje	83		139			182
	8	Dubona	55		43			52
	9	Vlaška	198		189			246
	10	Rajkovac	31		36			43
	11	Granice	25		36			41
	12	Pružatovac	86		192			236
	13	Šepšin	44		40			41
	14	Senaja	4		3			3
	15	V.Ivanča	292		545			678
	16	s.Mladenovac	42		43			58
	17	M.vrbica	24		46			56
	18	Mladenovac	60		97			119
	19	Rabrovac	183		479			596
	20	Jagnjilo	227		454			581
	21	Markovac	56		103			120
Mladenovac	UKUPNO:		2.330	2	3.801	2	0,05	4.742
Sopot	1	Sibnica	22		35			43
	2	Drlupa	62		219			240
	3	Nemenikuće	133		405			501
	4	Stojnik	35		74			84
	5	Babe	4		10			10
	6	Ropočevo	3		9			11
	7	Đurinci	11		19			23
	8	Parcani	23		37			49
	9	Ralja	31		48			58
	10	Popović	31		61			66
	11	M.Požarevac	19		59			64
	12	M.Ivanča	25		33			39
	13	Guberevac	35		52			71
	14	Sopot	28		52			78
	15	Slatina	35		62			76
	16	Dučina	120		170			205
	17	Rogača	127		199			245
Sopot	Ukupno		744		1.544			1.863

Tabela 51.Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2009.godini

Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta				Broj pregledanih goveda			Ukupno goveda
	Br	Naziv mesta	Br. Dvorišta	poz. Dvor.	Goveda starija od 24 meseca	poz. goveda	Prevalenca	
Barajevo	1	Manić	21		31			34
	2	Šiljakovac	47		126			150
	3	Lisović	28		37			50
	4	Vranić	135		221			266
	5	Baćevac	50		57			69
	6	Guncati	47		68			80
	7	Meljak	32		31			34
	8	Barajevo	93		132			153
	9	Arnajevو	108		141			186
	10	Rоžanci	84		197			273
	11	Beljina	94		114			174
	12	Boždarevac	102		114			160
	13	V.Borak	100		130			188
Barajevo		ukupno.	941		1.399			1.817
Zvezdara		M.m.lug	7		15			16
		v.M.lug						0
Zvezdara		ukupno:	7		15			16
Palilula		Slanci	13		21			24
		Borča	46		25			43
		Ovča	61		162			214
		P.skela	38	1	56	9	18	14
		Kovilovo	4		19			20
		Krnjača	4		10			20
		Ukupno:	162	1	293	9	3,07	403

Tabela 52.Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2010.godini

Opština		Broj pregledanih naselja i dvorišta			Broj pregledanih goveda			Ukupno goveda
		Naziv mesta	Br. Dvorišta	poz. Dvor.	Goveda starija od 24 meseca	poz goveda	Preval- enca	
Obrenovac	1	Grabovac	337		606			724
	2	Trstenica	100		223			262
	3	Konatice	30		62			75
	4	Stubline	175		341			422
	5	Brović	96		210			250
	7	Draževac	203		271			310
	8	Mislođin	43		90			108
	9	Piroman	116		178			201
	10	Jasenak	44		149			168
	11	M.Moštanica	52		33			34
	12	Barič	14		21			25
	13	Poljane	49		127			147
	14	Vukićevica	67		176			220
	15	Ljubinić	148		242			306
	16	Baljevac	40		63			81
	17	Dren	112		241			281
	18	Zvečka	86		178			206
	19	Urovci	43		63			79
	20	Krtinska	58		114			142
	21	Ratari	82		195			248
	22	Orašac	79		230			275
	23	Rvati	12		10			11
	24	Ušće	111		327			370
	25	B.polje	21		39			45
	26	V.polje	115		162			198
	27	Skela	66		109			129
Obrenovac	Ukupno:	2.299			4.460			5.317
Zemun	1	Ugrinovci	71	2	259	2	0,77	323
	2	Batajnica	51		541			690
Zemun	Ukupno:	122	2		800	2	0,25	1.013
Surčin	1	Surčin	52		60			74
	2	Dobanovci	62		77			97
	3	Progar	42		23			36
	4	Jakovo	138		120			146
	5	Boljevci	32		52			60
	6	Bečmen	16		16			22
	7	N.Bgd.deo	11		14			18
Surčin	Ukupno:	353			362			453

Tabela 53.Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2010.godini

Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta			Broj pregledanih goveda			Ukupno goveda
	Naziv mesta	Br. Dvorišta	poz. Dvor.	Goveda starija od 24 meseca	poz goveda	Prevalenca	
Lazarevac	1 Vrbovno	41		74			81
	2 Leskovac	5		2			3
	3 Stepojevac	10		5			9
	4 Veliki Crljeni	5		17			22
	5 Vreoci	42		51			60
	6 Strmovo	3		2			2
	7 Lukovica	31		24			30
	8 Miroslajci	129		109			127
	9 Arapovac	9		44			55
	10 Lazarevac	8		4			6
	11 Šopić	67		74			88
	12 Medoševac	9		8			8
	13 Barzilovica	69		82			98
	14 Brajklovac	99		171			190
	15 Čibutkovica	81		81			102
	16 Dudovica	81		121			144
	17 Junkovac	6		44			62
	18 Medoševac	6		2			2
	19 Sokolovo			9			10
	20 Petka	35		28			37
	21 V.crljeni	52		59			67
	22 Stubica	36		33			43
	23 Šušnjar	18		21			25
	24 Županjac	39		40			48
	25 Burovo	19		19			22
	26 Cvetovac	9		14			19
	27 Zeoke	16		15			21
	28 Prkosava	24		15			18
	29 Baroševac	42		33			39
	30 Bistrica	83		61			77
	31 Dren	21		32			37
	32 Kruševica	28		30			39
	33 Stepojevac	38		56			62
	34 Trbušnica	18		41			52
	35 Rudovci	13		31			37
	36 Leskovac	41		63			79
	37 M.Crljeni	61		43			49
Lazarevac	Ukupno:	1.294		1.558			1.870

Tabela 54. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2010.godini

Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta			Broj pregledanih goveda			Ukupno goveda
	Naziv mesta	Br. Dvorišta	poz. Dvor.	starija od 24 meseca	poz goveda	Prevalenca	
Grocka	1 Zaklopeča	1		2			2
	3 Umčari	70		113			132
	4 Begaljica	17		25			33
	5 Živkovac	10		15			18
	6 Pudarci	14		33			39
	9 Vrčin	27		63			72
	10 Kamendo	24		27			30
	12 Grocka	2		3			3
	16 Dražanj	94		88			101
Grocka	ukupno:	259		369			430
	Crkvine	21		58			69
Mladenovac	Beljevac	13		43			51
	V.Krsna	250		274			395
	Koraćica	100		294			365
	Kovačevac	174		272			352
	Amerić	51		110			141
	Međulužje	45		151			176
	Dubona	30		43			48
	Vlaška	101		2			25
	Rabrovac	1		13			16
	Rajkovanac	22		53			63
	Granice	23		34			42
	Pružatovac	51		151			197
	Šepšin	19		36			48
	Senaja	5		3			3
	V.Ivanča	139		327			450
	s.Mladenovac	18		48			53
	M.vrbica	15		40			52
	Mladenovac	34		75			95
	Rabrovac	144		479			597
	Jagnjilo	193		423			555
	Markovac	72		84			95
Mladenovac	UKUPNO:	1.521		3.013			3.888
	1 Beograd deo	5		15			19
Čukarica	2 Sremčica	9		177			178
	3 Rušanj	19		33			35
	4 Ostružnica	18		24			27
	5 Pečani	3		4			5
	6 V.Moštanica	25		31			34
	7 Umka	9		9			11
	8 Rucka	1		1			1
Čukarica	Ukupno:	89	0	294	0		310

Tabela 55.Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2010.godini

Opština		Broj pregledanih naselja i dvorišta			Broj pregledanih goveda			Ukupno goveda
		Naziv mesta	Br. Dvorišta	poz. Dvor.	Goveda starija od 24 meseca	poz goveda	Prevalenca	
	Sopot	1 Sibnica	55		107			135
		2 Drlupa	55		19			23
		3 Nemenikuće	156		393			470
		4 Stojnik	49		80			87
		5 Ropočeveo	4		11			11
		6 Đurinci	12		19			23
		7 Parcani	26		37			45
		8 Ralja	40		59			71
		9 Popović	31		51			60
		10 M.Požarevac	20		68			83
		11 M.Ivanča	22		29			34
		12 Guberevac	37		62			71
		13 Sopot	5		6			6
		14 Slatina	22		63			84
		15 Dučina	87		182			213
		16 Rogača	93		220			286
	Sopot	Ukupno	714		1.406	0		1.702
	Voždovac	1 Pinosava	40		88			98
		2 Zuce	57		123			146
		3 B.potok	6		8			9
		4 Ripanj	270		143			966
		5 s.Rakovica	15		32			42
	Voždovac	ukupno:	388		394			1.261
	Rakovica	1 Resnik	12		27			29
		2 Rakovica	1		4			4
	Rakovica	ukupno:	13	0	31			33
	Barajevo	1 Manić	18		26			31
		2 Šiljakovac	12		19			22
		3 Lisović	37		44			57
		4 Vranić	115		209			234
		5 Baćevac	55		46			55
		6 Guncati	46		66			79
		7 Meljak	11		17			22
		8 Barajevo	77		111			130
		9 Arnajevo	95		125			169
		10 Rožanci	52		103			137
		11 Beljina	82		101			139
		12 Boždarevac	94		103			140
		13 V.Borak	99		117			181
	Barajevo	ukupno.	793		1.087			1.396

Tabela 56. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2010.godini

Opština		Broj pregledanih naselja i dvorišta			Broj pregledanih goveda			Ukupno goveda
		Naziv mesta	Br. Dvorišta	poz. Dvor.	Goveda starija od 24 meseca	poz goveda	Prevalenca	
Zvezdara	1	M.m.lug	10		16			16
	2	v.M.lug						0
Zvezdara		ukupno:	10		16			16
Palilula	1	Slanci	13		18			20
	2	V.selo	5		9			10
	3	Borča	51		18			31
	4	Ovča	62		131			181
	6	P.skela	8		3			3
	7	Kovilovo	5		17			17
	8	Krnjača	25		36			48
		Ukupno:	169		232			310

Tabela 57.Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2011.godini

Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta			Broj pregledanih goveda			Ukupno goveda
	Naziv mesta	Br. Dvorišta	ELG poz. Dvor.	starija od 24 meseca	ELG poz goveda	Prevalenca	
Obrenovac	Grabovac	232		570			693
	Trstenica	92		25			28
	Konatice	32		58			70
	Stubline	124		699			817
	Brović	82		213			245
	Zabrežje	22		38			42
	Draževac	100		256			295
	Mislođin	44		88			101
	Piroman	75		154			176
	Jasenak	45		152			187
	M.Moštanica	25		27			31
	Barič	16		24			29
	Poljane	43		181			221
	Vukićevica	68		173			197
	Ljubinić	80		219			273
	Obrenovac						0
	Baljevac	22		69			81
	Dren	89		222			263
	Zvečka	81		173			211
	Urovci	37		54			73
	Krtinska	57		114			141
	Ratari	68		170			224
	Orašac	70		213			256
	Rvati	5		10			12
	Ušće	98		310			351
	B.polje	25		40			44
	V.polje	90		248			275
	Skelo	62		104			169
Obrenovac	Ukupno:	1.788		4.604			5.505
Surčin	Surčin	29		39			51
	Dobanovci	38		65			86
	Progar	19		25			44
	Jakovo	39		197			227
	Boljevci	27		49			62
	Bečmen	17		16			22
	Petrovčić	42		161			195
	N.Bgd.deo	8		15			18
Surčin	Ukupno:	219		567			705
Zemun	Batajnica	45		656			1.018
	Ugrinovci	96	2	396	2	0,51	494
Zemun		141	2	1.052	2	0,19	1.512

Tabela 58.Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2011.godini

Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta			Broj pregledanih goveda			Ukupno goveda
	Naziv mesta	Br. Dvorišta	poz. Dvor.	starija od 24	poz goveda	Prevalenca	
	Vrbovno	42		71			76
Lazarevac	Leskovac	49		84			98
	Stepojevac	52		65			79
	Sokolovo	25		45			54
	Veliki Crljeni	59		77			93
	Cvetovac	7		16			23
	Vreoci	45		49			56
	Miroslajci	11		8			9
	Arapovac	33		42			56
	Junkovac	24		46			50
	Lazarevac	13		7			11
	Šopić	46		52			62
	Barzilovica	65		44			63
	Brajklovac	101		149			179
	Čibutkovica	84		100			132
	Dudovica	124		139			160
	Lukovica	23		23			30
	Medoševac	11		9			10
	Miroslajci	94		109			137
	Petka	36		28			39
	Stubica	25		33			39
	Šušnjar	17		25			27
	Županjac	32		35			43
	Burovo	15		18			18
	Županjac	2		7			9
	Zeoke	11		11			13
	Prkosava	19		14			15
	Baroševac	20		25			31
	Bistrica	11		73			98
	Dren	29		33			43
	Kruševica	37		29			39
	Trbušnica	65		99			130
	Rudovci	24		28			33
	Strmovo	13		14			19
	M.Crljeni	32		34			43
Lazarevac	Ukupno:	1.296		1.641	0		2.017
Čukarica	1	Sremčica	14	23			29
	2	Rušanj	18	28			31
	3	Ostružnica	19	19			25
	4	Pećani	3	4			5
	5	Umka	8	9			9
	6	Rucka	1	2			2
Čukarica	Ukupno:	64		85			102

Tabela 59. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2011.godini

Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta			Broj pregledanih goveda			Ukupno goveda
	Naziv mesta	Br. Dvorišta	ELG poz. Dvor.	Goveda starija od 24 meseca	ELG poz goveda	Prevalenca	
	Kaluđerica	1		2			2
Grocka	Umčari	123		136			164
	Begaljica	8		29			35
	Živkovac	18		13			15
	Pudarci	21		38			45
	Brestovik	1		3			4
	Vrčin	28		56			70
	Kamendo	23		17			18
	Grocka	1		3			4
	Ritopek						0
	Vinča						0
	Dražanj	55		84			98
Grocka	ukupno:	279		381			455
	Crkvine	18		56			76
Mladenovac	Beljevac	13		37			50
	V.Krsna	272		525			631
	Koraćica	92		279			358
	Kovačevac	157		257			331
	Amerić	46		107			129
	Međulužje	50		142			173
	Dubona	30		44			49
	Vlaška	84		160			205
	Rabrovac	2		18			18
	Rajkovanac	20		48			57
	Granice	20		28			33
	Pružatovac	59		182			230
	Šepšin	18		41			48
	Senaja	1		1			1
	V.Ivanča	151	1	492	2	0,40	619
	s.Mladenovac	20		41			60
	M.vrbica	14		35			47
	Mladenovac	30		69			86
	Rabrovac	244		706			906
	Jagnjilo	64		193			258
	Markovac	41		81			94
Mladenovac	UKUPNO:	1.446	1	3.542	2	0,05	4.459
Rakovica	Resnik	12		29			30
	Rakovica	2		1			1
Rakovica	ukupno:	14		30			31

Tabela 60. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2011.godini

Opština Vet. Stanica	Broj pregledanih naselja i dvorišta			Broj pregledanih goveda			Ukupno goveda
	Naziv mesta	Br. Dvorišta	ELG poz. Dvor.	Goveda starija od 24 meseca	ELG poz goveda	Preval- enca	
Sopot	Sibnica	55		128			139
	Drlupa	55		208			248
	Nemenikuće	132		392			489
	Stojnik	43		71			82
	Babe	9		22			25
	Ropočevac	5		15			16
	Đurinci	9		17			18
	Parcani	20		31			35
	Ralja	31		51			60
	Popović	33		47			58
	M.Požarevac	16		61			80
	M.Ivanča	21		25			30
	Guberevac	46		53			60
	Sopot	2					1
	Slatina	25		73			93
	Dučina	81		187			227
	Rogača	88		332			392
Sopot	Ukupno	671		1.713			2.053
Voždovac	Pinosava	41		83			97
	Zuce	49		128			148
	B.potok	8		8			9
	Ripanj	103		137			159
Voždovac	ukupno:	201		356			413
Barajevo	Manić	14		27			30
	Šiljakovac	11		18			20
	Lisović	32		46			51
	Vranić	97		177			200
	Baćevac	25		22			28
	Guncati	36		60			69
	Meljak	9		18			20
	Barajevo	61		100			115
	Arnajevac	54		131			180
	Rožanci	51		156			241
	Beljina	57		103			150
	Boždarevac	60		92			136
	V.Borak	61		119			174
Barajevo	ukupno.	568		1.069			1.414

Tabela 61.Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2011.godini

Opština Vet. Stanica	Broj pregledanih naselja i dvorišta			Broj pregledanih goveda			Ukupno goveda
	Naziv mesta	Br. Dvorišta	ELG poz. Dvor.	Goveda starija od 24 meseca	ELG poz goveda	Preval- enca	
Zvezdara	M.m.lug	6		12			13
	v.M.lug						0
Zvezdara	ukupno:	6		12			13
Palilula	Slanci	15		18			19
	V.selo	5		8			9
	Borča	24		70			76
	Ovča	42		129			172
	P.skela	3		3			3
	Kovilovo	4		17			20
	Krnjača	19		46			80
Palilula	Ukupno:	112		291			379

Tabela 62.Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2012.godini

Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta			Broj pregledanih goveda			Ukupno goveda
	Naziv mesta	Br. Dvorišta	ELG poz. Dvor.	Goveda starija od 24 meseca	ELG poz goveda	Preval- enca	
	Surčin	4		11			16
Surčin	Dobanovci	36		61			81
	Progar	15		24			31
	Jakovo	42		106			135
	Boljevci	27		49			62
	Bečmen	17		11			13
	Petrovčić	37		150			201
	N.Bgd.deo	7		11			15
	Ukupno:	185		423			554
Zemun	Batajnica	74		657			890
	Ugrinovci	84		396			511
Zemun	Ukupno	158		1.053			1.401

Tabela 63.Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2012.godini

Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta			Broj pregledanih goveda			Ukupno goveda
	Naziv mesta	Br. Dvorišta	ELG poz. Dvor.	Goveda starija od 24 meseca	ELG poz goveda	Prevalenca	
	Grabovac	224		570			705
Obrenovac	Trstenica	84		107			128
	Konatice	26		54			60
	Stubline	101		351			420
	Brović	67		228			269
	Zabrežje	20		33			37
	Draževac	97		252			308
	Mislođin	37		74			90
	Piroman	67		159			191
	Jasenak	49		159			185
	M.Moštanica	21		21			27
	Barič	17		25			29
	Poljane	40		131			154
	Vukićevica	62		163			196
	Ljubinić	73		217			254
	Obrenovc	6		11			15
	Baljevac	16		66			82
	Dren	96		218			259
	Zvečka	86		173			210
	Urovci	41		63			79
	Krtinska	56		115			135
	Ratari	70		168			209
	Orašac	85		220			263
	Rvati	7		18			19
	Ušće	126		295			365
	B.polje	18		39			52
	V.polje	88		240			286
	Skela	53		96			116
Obrenovac	Ukupno:	1.733		4.266			5.143
	Beograd deo	4		10			19
Čukarica	Sremčica	9		13			16
	Rušanj	15		26			30
	Ostružnica	16		19			24
	Pećani	3		4			5
	V.Moštanica	23		32			40
	Umka	6		8			9
Čukarica	Ukupno:	76		112			143

Tabela 64. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2012.godini

Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta			Broj pregledanih goveda			Ukupno goveda
	Naziv mesta	Br. Dvorišta	ELG poz. Dvor.	Goveda starija od 24 meseca	ELG poz goveda	Prevalenca	
	Vrbovno	45		57			68
Lazarevac	Leskovac	50		77			97
	Stepojevac	48		49			57
	Sokolovo	22		46			60
	Veliki Crnjeni	59		77			103
	Cvetovac	7		15			18
	Vreoci	36		33			41
	Miroslajci	100		91			132
	Arapovac	33		47			54
	Junkovac	19		37			45
	Lazarevac	7		7			8
	Šopić	41		48			58
	Barzilovica	58		75			84
	Brajklovac	93		151			180
	Čibutkovica	69		103			117
	Dudovica	72		156			186
	Lukovica	14		17			23
	Medoševac	5		4			7
	Zeoke	11		11			16
	Petka	37		28			39
	Stubica	29		25			30
	Šušnjar	13		20			27
	Županjac	26		27			33
	Burovo	10		12			16
	Županjac	3		7			8
	Prkosava	15		14			16
	Baroševac	14		22			25
	Bistrica	46		70			89
	Dren	30		31			45
	Kruševica	20		24			25
	Trbušnica	47		205			339
	Rudovci	18		31			37
	Strmovo	14		1,2			5
	M.Crnjeni	30		40			42
Lazarevac	Ukupno:	1.141		1.657			2.130
Zvezdara	M.m.lug	8		11			14
	v.M.lug						0
	Mirijevo						0
Zvezdara	ukupno:	8		11			14

Tabela 65. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2012. godini

Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta			Broj pregledanih goveda			Ukupno goveda
	Naziv mesta	Br. Dvorišta	ELG poz. Dvor.	starija od 24 meseca	ELG poz goveda	Prevalenca	
	Crkvine	17		55			65
	Beljevac	8		39			46
Mladenovac	V.Krsna	195		334			421
	Koraćica	97		307			374
	Kovačevac	149		245			346
	Amerić	50		111			127
	Međulužje	45		162			195
	Dubona	27		35			43
	Vlaška	103		147			190
	Rabrovac	1		18			20
	Rajkovac	19		40			60
	Granice	31		27			32
	Pružatovac	58		203			276
	Šepšin	19		46			54
	Senaja	6		5			6
	V.Ivanča	143		510			635
	s.Mladenovac	17		51			62
	M.vrbica	12		37			47
	Mladenovac	22		71			86
	Rabrovac	230		391			547
	Jagnjilo	191		439			596
	Markovac	45		209			287
Mladenovac	UKUPNO:	1.485		3.482			4.515
Sopot	Sibnica	47		147			182
	Drlupa	52		221			269
	Nemenikuće	139		407			526
	Stojnik	40		85			101
	Babe	10		27			32
	Ropočevac	5		16			20
	Đurinci	7		15			19
	Parcani	20		34			44
	Ralja	41		62			75
	Popović	32		62			69
	M.Požarevac	18		34			53
	M.Ivanča	21		25			29
	Guberevac	39		54			62
	Sopot	32		68			99
	Slatina	18		38			51
	Dučina	101		156			185
	Rogača	86		148			185
Sopot	Ukupno	708		1.599			2.001

Tabela 66.Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2012.godini

Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta			Broj pregledanih goveda			Ukupno goveda
	Naziv mesta	Br. Dvorišta	ELG poz. Dvor.	starija od 24 meseca	ELG poz goveda	Prevalenca	
Grocka	Zaklopeča	1		2			2
	Umčari	147		151			217
	Begaljica	17		25			34
	Živkovac	8		14			16
	Pudarci	19		25			35
	Brestovik	1		3			3
	Vrčin	27		53			72
	Kamendo	33		30			46
	Grocka	1		1			2
	Dražanj	54		82			98
Grocka	ukupno:	308		386			525
Voždovac	Pinosava	42		86			96
	Zuce	45		115			140
Voždovac	B.potok	7		12			20
Sv Modest	Ripanj	86		120			152
	s.Rakovica	11		23			28
Voždovac	ukupno:	191		356			436
Rakovica	Resnik	1		12			13
	Rakovica	11		25			29
Rakovica	ukupno:	12		37			42
Barajevo	Barajevo	56		103			126
	Manić	20		32			42
	Šiljakovac	10		17			21
	Lisović	34		48			60
	Vranić	101		177			216
	Baćevac	37		42			48
	Guncati	34		56			72
	Meljak	11		14			20
	Arnajevo	52		133			189
	Rožanci	44		172			240
	Beljina	57		113			163
	Boždarevac	60		94			130
	V.Borak	62		115			179
Barajevo	ukupno.	578		1.116			1.506
Palilula	Slanci	10		13			16
	V.selo	5		6			9
	Borča	26		64			68
	Ovča	4		129			166
	P.skela	3		3			3
	Kovilovo	4		14			21
	Krnjača	18		53			82
Palilula	Ukupno:	70		282			365

Tabela 67. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2013.godini

Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta			Broj pregledanih uzoraka krvnih seruma goveda			Ukupno goveda
	Naziv mesta	Br. Dvorišta	ELG poz. Dvor.	Goveda starija od 24 meseca	ELG poz goveda	Prevalenca	
	Grabovac	300		559			756
Obrenovac	Trstenica	94		177			233
	Konatice	25		48			62
	Stubline	129		323			443
	Brović	89		252			307
	Zabrežje	24		30			39
	Draževac	130		274			339
	Mislođin	33		72			99
	Piroman	61		147			196
	Jasenak	61		112			134
	M.Moštanica	19		21			34
	Barič	15		158			191
	Poljane	54		119			151
	Vukićevica	23		1			15
	Ljubinić	95		209			285
	Obrenovc	6		15			16
	Baljevac	29		65			82
	Dren	102		193			247
	Zvečka	67	1	162	1	0,61	195
	Urovci	36		47			63
	Krtinska	5		12			12
	Ratari	77		216			265
	Orašac	65		202			256
	Rvati	42		59			96
	Ušće	99		279			353
	B.polje	18		9			49
	V.polje	104		233			275
	Skela	48		82			102
	Ukupno:	1.850	1	4.076	1	0,02	5.295
Čukarica	Čukarica	4		14			14
Čukarica	Sremčica	13		16			18
	Rušanj	13		26			27
	Ostružnica	13		20			21
	Pećani	3		4			4
	V.Moštanica	23		22			27
	Umka	7		7			9
	Rucka	1		1			1
Čukarica	Ukupno:	77		110			121

Tabela 68. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2013.godini

Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta			Broj pregledanih uzoraka krvnih seruma goveda			Ukupno goveda
	Naziv mesta	Br. Dvorišta	poz. Dvor.	starija od 24 m	poz goveda	Prevalenca	
Lazarevac	Vrbovno	35		56			67
	Leskovac	45		73			91
	Stepojevac	36		48			61
	Sokolovo	3		46			62
	Veliki Crljeni	52		77			89
	Cvetovac	7		20			28
	Vreoci	25		26			28
	Miroslajci	32		36			45
	Arapovac	29		35			50
	Junkovac	24		42			57
	Lazarevac	5		11			14
	Šopić	44		51			67
	Barzilovica	74		69			81
	Brajklovac	99		121			136
	Čibutkovica	80		94			108
	Dudovica	75		129			164
	Lukovica	8		13			17
	Medoševac	6		5			7
	Miroslajci	66		57			91
	Zeoke	9		8			11
	Petka	17		30			40
	Stubica	24		26			30
	Šušnjar	10		23			29
	Županjac	32		32			46
	Burovo	7		13			15
	Prkosava	13		15			17
	Baroševac	19		19			22
	Bistrica	71		80			99
	Dren	11		30			42
	Kruševica	18		23			25
	Trbušnica	56		73			89
	Rudovci	4		3			6
	Strmovo	8		7			9
	M.Crljeni	22		30			38
Lazarevac	Ukupno:	1.066		1.421			1.781
Surčin	1	Surčin	33	27			37
	2	Dobanovci	36	57			295
	3	Progar	15	24			39
	4	Jakovo	40	97			131
	5	Boljevci	27	44			55
	6	Bečmen	10	8			15
	7	Petrovčić	27	158			200
	8	N.Bgd.deo	6	10			13
		Ukupno:	194	425			785

Tabela 69. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2013.godini

Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta			Broj pregledanih uzoraka krvnih seruma goveda			Ukupno goveda
	Naziv mesta	Br. Dvorišta	poz. Dvor.	starija od 24	poz goveda	Prevalenca	
Zemun	1 Batajnica	74		673			979
	2 Ugrinovci	73		445			559
Zemun		147		1.118			1.538
Grocka	Zaklopeča	1		6			10
	Kaluđerica	2		3			3
	Umčari	115		130			182
	Begaljica	25		26			32
	Živkovac	7		12			14
	Pudarci	33		40			51
	Boleč	2		2			2
	Brestovik	1		2			2
	Vrčin	1		61			72
	Kamendo	44		39			75
	Dražanj	43		68			82
Grocka	ukupno:	274		389			525
	Crkvine	19		49			65
	Beljevac	14		38			54
Mladenovac	V.Krsna	300		503			701
	Koraćica	95		304			427
	Kovačevac	165		273			426
	Amerić	46		95			133
	Međulužje	42		148			214
	Dubona	23		32			35
	Vlaška	105		149			204
	Rajkovac	23		42			70
	Granice	17		24			31
	Pružatovac	86		230			328
	Šepšin	17		41			52
	Senaja	4		5			6
	V.Ivanča	145		522			715
	s.Mladenovac	20		3			33
	M.vrbica	12		38			52
	Mladenovac	27		67			94
	Rabrovac	131		537			677
	Jagnjilo	148		433			554
	Markovac	42		70			87
Mladenovac	UKUPNO:	1.481		3.603			4.958
Voždovac	Pinosava	17	1	26	1	3,85	30
	Zuce	52		115			132
	B.potok	9		20			23
	Ripanj	114		127			149
	s.Rakovica	17		22			27
Voždovac	ukupno:	209	1	310	1	0,32	361
Rakovica	Rakovica	10		27			28
Rakovica	ukupno:	10		27			28

Tabela 70. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2013.godini

Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta			Broj pregledanih uzoraka krvnih seruma goveda			Ukupno goveda
	Naziv mesta	Br. Dvorišta	poz. Dvor.	starija od 24	poz goveda	Prevalenca	
Sopot	Sibnica	9		26			39
	Drlupa	72		265			314
	Nemenikuće	141		442			551
	Stojnik	67		140			160
	Babe	54		67			84
	Ropočevac	5		21			22
	Đurinci	7		16			19
	Parcani	20		37			40
	Ralja	59		154			191
	Popović	31		62			73
	M.Požarevac	36		38			45
	M.Ivanča	2		2			2
	Guberevac	9		1			6
	Sopot	32		76			96
	Slatina	23		67			83
	Dučina	66		167			200
	Rogača	70		210			256
Sopot	Ukupno	703		1.791			2.181
Barajevo	Manić	20		31			35
	Šiljakovac	11		18			26
	Lisović	24		43			61
	Vranić	96		187			219
	Baćevac	37		42			49
	Guncati	34		58			65
	Meljak	12		19			21
	Barajevo	52		101			124
	Arnajevac	59		155			201
	Rožanci	63		122			182
	Beljina	58		108			157
	Boždarevac	72		88			120
	V.Borak	61		181			257
Barajevo	ukupno.	599		1.153			1.517
Zvezdara	M.m.lug	6		11			12
	V.m.lug						0
Zvezdara	ukupno:	6		11			12
	Slanci	7		11			14
Palilula	V.selo	5		8			11
	Borča	22		47			60
	Ovča	34		118			148
	P.skela	2		1			3
	Kovilovo	4		13			15
	Krnjača	14		49			72
Palilula	Ukupno:	88		247			323

Tabela 71. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2014.godini

Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta			Broj pregledanih uzoraka krvnih seruma goveda			Ukupno goveda
	Naziv mesta	Br. Dvorišta	ELG poz. Dvor.	Goveda starija od 24 meseca	ELG poz goveda	Prevalenca	
	1 Grabovac	231		585			704
Obrenovac	2 Trstenica	62		185			219
	3 Konatice	22		51			60
	4 Stubline	133		435			511
	5 Brović	71		247			293
	6 Zabrežje	15		32			37
	7 Draževac	101		255			300
	8 Mislođin	2		8			13
	9 Piroman	70		151			181
	10 Jasenak	27		149			176
	11 M.Moštanica	16		18			25
	12 Barič	16		22			28
	13 Poljane	40		116			131
	14 Vukićevica	62		147			190
	15 Ljubinić	75		203			257
	16 Obrenovac	6		9			12
	17 Baljevac	17		61			77
	18 Dren	71		226			276
	19 Zvečka	61		152			153
	20 Urovci	32		53			60
	21 Krtinska	38		102			117
	22 Ratari	56		167			216
	23 Orašac	41		202			243
	24 Rvati	5		14			20
	25 Ušće	86		293			359
	26 B.polje	16		31			39
	27 V.polje	73		213			256
	28 Skela	53		88			102
	Ukupno:	1.498		4.215	0		4.903
Čukarica	1 Sremčica	8		11			11
	2 Ostružnica	5		16			22
	3 Pećani	3		3			4
	4 V.Moštanica	1		1			2
	5 Umka	6		5			6
	6 Rucka	1		1			2
Čukarica		Ukupno:	24		37		47

Tabela 72. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2014. godini

Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta			Broj pregledanih uzoraka krvnih seruma goveda			Ukupno goveda
	Naziv mesta	Br. Dvorišta	poz. Dvor.	starija od 24	poz goveda	Prevalenca	
Lazarevac	1 Vrbovno	28		49			53
	2 Leskovac	41		70			85
	3 Stepojevac	35		49			56
	4 Sokolovo	17		51			65
	5 Veliki Crljeni	39		62			88
	6 Cvetovac	8		17			25
	7 Vreoci	18		20			22
	8 Arapovac	27		34			49
	9 Junkovac	19		41			51
	10 Miroslajci	109		89			124
	11 Lazarevac	4		5			6
	12 Šopić	46		55			68
	13 Barzilovica	81		64			81
	14 Brajklovac	121		145			182
	15 Čibutkovica	100		122			153
	16 Dudovica	108		155			192
	17 Lukovica	15		17			21
	18 Medoševac	6		5			8
	19 Miroslajci	24		5			19
	20 Zeoke	8		9			13
	21 Petka	17		27			38
	22 Stubica	24		27			36
	23 Šušnjar	15		29			34
	24 Županjac	35		38			46
	25 Burovo	6		13			14
	26 Prkosava	12		11			14
	27 Baroševac	15		19			26
	28 Bistrica	46		85			105
	29 Dren	20		33			49
	30 Kruševica	13		15			18
	31 Trbušnica	118		405			429
	32 Rudovci	14		19			24
	33 Strmovo	10		13			14
	34 M.Crljeni	21		30			33
Lazarevac	Ukupno:	1.220		1.828			2.241
	1 Surčin	14		18			24
Surčin	2 Dabanovci	30		663			682
	3 Progar	10		27			32
	4 Jakovo	39		107			135
	5 Boljevci	19		35			46
	6 Bečmen	9		10			17
	7 Petrovčić	27		162			203
	8 N.Bgd.deo	4		7			9
	9 Ukupno:	216		1.741			2.093

Tabela 73.Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2014.godini

Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta			Broj pregledanih uzoraka krvnih seruma goveda			Ukupno goveda
	Naziv mesta	Br. Dvorišta	poz. Dvor.	starija od 24 meseca	poz goveda	Prevalenca	
Zemun	1 Batajnica	64		712			945
	2 Ugrinovac	85		482			607
		149		1.194			1.552
Grocka	1 Zaklopeča	2		7			10
	2 Umčari	64		120			149
	3 Begaljica						0
	4 Živkovac	4		5			5
	5 Pudarci	5		13			16
	6 Boleč						0
	7 Brestovik	1		1			2
	8 Vrčin	27		57			73
	9 Kamendo	11		20			25
	10 Grocka	1		3			3
	11 Dražanj	57		99			120
	12 Begaljica	15		22			28
Grocka	ukupno:	187		347			431
Mladenovac	1 Crkvine	13		44			47
	2 Beljevac	9		41			45
	3 V.Krsna	286		498			655
	4 Koraćica	134		310			404
	5 Kovačevac	220		302			406
	6 Amerić	73		93			122
	7 Međulužje	55		151			206
	8 Dubona	25		29			36
	9 Vlaška	100		194			229
	10 Rajkovac	25		50			73
	11 Granice	22		21			30
	12 Pružatovac	100		224			325
	13 Šepšin	21		41			58
	14 Senaja	5		5			6
	15 V.Ivanča	137		541			629
	16 s.Mladenovac	34		72			93
	17 M.vrbica	31		36			64
	18 Mladenovac	25		83			105
	19 Rabrovac	185		570			787
	20 Jagnilo	216		450			627
	21 Markovac	67		79			105
	22 Beljevac	10		5			11
	23 Crkvine	10		10			17
Mladenovac	UKUPNO:	1.803		3.849			5.080

Tabela 74. Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2014.godini

Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta			Broj pregledanih uzoraka krvnih seruma goveda			Ukupno goveda
	Naziv mesta	Br. Dvorišta	Poz. Dvor.	starija od 24	poz goveda	Prevalenca	
Sopot	1 Nemenikuće	162		426			533
	2 Stojnik	43		79			90
	3 Babe	9		24			32
	4 Ropočevac	1		12			15
	5 Đurinci	8		15			17
	6 Parcani	21		36			41
	7 Ralja	26		45			53
	8 Popović	24		50			55
	9 M.Požarevac	14		23			26
	10 M.Ivanča	16		25			29
	11 Guberevac	32		47			58
	12 Sopot	37		75			99
	13 Slatina	18		62			80
	14 Dučina	65		170			200
	15 Rogača	64		209			255
	16 Sibnica	113		172			219
	17 Drlupa	58		236			284
Sopot	Ukupno	711		1.706			2.086
1 Voždovac	1 Pinosava	31		62			70
	2 Zuce	49		101			131
	3 B.potok	10		22			29
	4 Ripanj	103		114			142
	5 s.Rakovica	12		22			25
Voždovac	ukupno:	205		321			397
1 Rakovica	1 Resnik	1		3			3
	2 Rakovica	7		16			18
Rakovica	ukupno:	8		19			21
Barajevo	1 Manić	17		24			34
	2 Šiljakovac	10		27			32
	3 Lisović	23		47			62
	4 Vranić	94		186			220
	5 Baćevac	37		44			53
	6 Guncati	34		56			68
	7 Meljak	13		19			21
	8 Barajevo	48		107			135
	9 Arnajevo	46		143			202
	10 Rožanci	39		139			211
	11 Beljina	50		97			145
	12 Boždarevac	42		83			125
	13 V.Borak	47		120			169
	14 Manić	1		1			1
	15 V.Borak	19		24			48
Barajevo	ukupno.	520		1.117			1.525

Tabela 75.Serološka ispitivanja goveda na ELG u ekstenzivnom uzgoju goveda u 2014.godini

Opština	Broj pregledanih naselja i dvorišta			Broj pregledanih uzoraka krvnih seruma goveda			Ukupno goveda
	Naziv mesta	Br. Dvorišta	ELG poz. Dvor.	Goveda starija od 24 meseca	ELG poz goveda	Prevalenca	
Zvezdara	1 M.m.lug	7		15			15
	2 V.m.lug						0
							0
Zvezdara	ukupno:	7		15			15
Palilula	1 Slanci	6		10			12
	2 V.selo	3		2			4
	3 Borča	16		36			44
	4 Ovča	27		111			148
	5 P.skela	4		3			3
	6 Kovilovo	3		15			20
	7 Krnjača	13		39			62
Palilula	Ukupno:	72		216			293