

HRVATSKA AGENCIJA ZA HRANU

Gundulića 36 b

31 000 Osijek

Klasa: 541-01/13-01/12

Ur.broj: 2-13-51

Osijek, 20. prosinca 2013.

MINISTARSTVO POLJOPRIVREDE

Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane

Planinska 2a

10 000 ZAGREB

n/p Mirjana Mataušić-Pišl, dr.vet.med., pomoćnica ministra

PREDMET: Znanstveno mišljenje o postupcima s mesom goveda seropozitivnih na enzootsku leukozu goveda s vidljivim *post mortem* promjenama i postupcima s mesom goveda koja su seropozitivna na enzootsku leukozu goveda, ali bez vidljivih *post mortem* promjena
- mišljenje, dostavlja se

Poštovana gospođo Mataušić-Pišl,

temeljem Vašeg zahtjeva (Klasa: 322-02/13-01/171; Ur.br. 525-10/1276-13-1) dostavljamo Vam spomenuto Znanstveno mišljenje.

Isti dokument poslali smo Vam dana 20. prosinca 2013. g. i putem elektroničke pošte.

S poštovanjem,



Ravnateljica

Andrea Gross-Bošković,
dipl. ing. preh. teh. i bioteh.



ZNANSTVENO MIŠLJENJE

o postupcima s mesom goveda seropozitivnih na enzootsku leukozu goveda s vidljivim *post mortem* promjenama i postupcima s mesom goveda koja su seropozitivna na enzootsku leukozu goveda, ali bez vidljivih *post mortem* promjena

Zahtjev HAH – Z – 2013 - 1

Usvojeno 20. prosinca 2013.

ČLANOVI RADNE GRUPE

- prof. dr. sc. Bela Njari, dr. med. vet., Zavod za higijenu, tehnologiju i sigurnost hrane, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu
- prof. dr. sc. Lidija Kozačinski, dr. med. vet., Zavod za higijenu, tehnologiju i sigurnost hrane, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu
- dr. sc. Besi Roić, dr. med. vet., Laboratorij za serološku dijagnostiku virusnih bolesti, Hrvatski veterinarski institut
- mr. sc. Sanja Kurečić Filipović, dr. med., Služba za epidemiologiju, Hrvatski zavod za javno zdravstvo
- dr. sc. Dražen Knežević, dr. med. vet., Odjel za procjenu rizika, Hrvatska agencija za hranu
- dr. sc. Brigita Hengl, dr. med. vet., Odjel za procjenu rizika, Hrvatska agencija za hranu

KOORDINATOR RADNE GRUPE

- dr. sc. Dražen Knežević, dr. med. vet., Odjel za procjenu rizika, Hrvatska agencija za hranu

SAŽETAK

Enzootska leukoza goveda (ELG) je kronična proliferativna bolest koju uzrokuje RNA virus enzootske leukoze goveda (VELG), svrstan u porodicu *Retroviridae*. VELG ima izraziti tropizam prema limfnom tkivu i bijelim krvnim stanicama, a može se umnažati i preživjeti jedino u limfocitima. VELG potiče limfocitozu s karakterističnim povećanjem broja B-limfocita u perifernoj krvi uzrokujući u uznapredovaloj kliničkoj slici trajnu limfocitozu i nastanak limfoma. Većina infekcija prolazi bez kliničkih znakova bolesti. U većine zaraženih životinja (oko 70%) ne razvije se bolest, a ukoliko dođe do pojave kliničkih znakova bolesti oni se obično pojavljuju između 4. i 8. godine. Kada su prisutni, uočeni klinički znakovi odnose se na organske sustave koji su zahvaćeni leukoznim promjenama. Izvor infekcije su zaražena goveda. Međutim, da bi se virus mogao prenijeti sa zaražene životinje na zdravu, zaražena životinja odnosno njezini sekreti/ekskreti moraju sadržavati dovoljnu količinu virusa. Virusi iz porodice *Retroviridae* uzrok su različitih vrsta patoloških stanja u ljudi i u životinja – limfoma, sarkoma i leukemije. VELG posjeduje strukturnu i funkcionalnu povezanost s T-limfotropnim virusom 1, 2 i 3 u primata (STLV-1, -2, -3) i T-limfotropnim virusom 1, 2, 3 i 4 (HTLV-1 do -4) u ljudi. Poznato je kako HTLV-1 inficira oko 20 milijuna ljudi u svijetu, od kojih kod jednog dijela (približno 2-3%) dolazi do razvoja akutne T-stanične leukemije (ATL) ili HTLV-povezanih mijelopatija/tropskih spastičnih parapareza (neuroinflamatornih bolesti središnjeg živčanog sustava). Zbog navedenog do danas je proveden znatan broj studija koje su za cilj imale utvrditi uzrokuje li VELG pojavu patoloških stanja u ljudi. Istraživanjima je dokazano da prisutnost VELG nema utjecaj na patološka stanja u ljudi te stoga ne predstavlja opasnost za ljudsko zdravlje, osim što u čovjeka može uzrokovati pojavu nastanka

antitijela. Međutim, antitijela u ljudskim tjelesnim tekućinama mogu cirkulirati kao neintegrirani elementi te stoga njihovi nalazi ne dokazuju striktno da su ljudi aktivno inficirani s VELG. Postojanje antitijela u ljudima može biti i odgovor na toplinski denaturirane antigene VELG konzumirane putem hrane. S obzirom na navedeno, u cilju postizanja maksimalne razine zaštite zdravlja ljudi radna skupina je mišljenja kako meso goveda seropozitivnih na VELG može biti upotrijebljeno za prehranu ljudi isključivo u prerađenom obliku, koji podrazumijeva primjerenu toplinsku obradu ili neki drugi način obrade mesa koji osigurava inaktivaciju VELG, i to samo onda kada *post mortem* pregledom u mesu i u limfnim čvorovima trupa te na organima i njihovim limfnim čvorovima nisu utvrđene promjene. Neprikladnim za prehranu ljudi radna grupa smatra cijeli trup goveda seropozitivnih na VELG ako su nakon *post mortem* pregleda utvrđene leukozne promjene na mesu i limfnim čvorovima trupa ili samo na limfnim čvorovima trupa, bez obzira na to jesu li utvrđene promjene na organima ili na limfnim čvorovima organa.

KLJUČNE RIJEČI

Enzootska leukoza goveda, seropozitivna goveda, meso, mlijeko

SUMMARY

Enzootic bovine leukosis (EBL) is a chronic proliferative disease caused by RNA virus (Bovine Leukosis Virus – BLV), which belongs to the family *Retroviridae*. BLV has lymphoid tissue tropism and can survive and multiply only in the lymphocytes. BLV can be the cause of lymphocytosis with characteristic increase in the number of B-lymphocytes in the peripheral blood, and the occurrence of lymphoma. Most infections pass without clinical signs of disease. Majority of infected animals (70%) do not develop disease, and if do clinical signs usually appear between the 4th and 8th year of life. When present, clinical signs are related to the organ systems that are affected with leukotic changes. The sources of infection are infected cattle. However, virus transmission from infected to healthy animals requires that infected animal blood or other body fluids must contain a sufficient amount of virus. Viruses of the *Retroviridae* family are the causes of different pathological conditions in humans and animals - lymphoma, sarcoma and leukemia. BLV has structural and functional relationship with T-lymphotropic virus 1, 2 and 3 in a primate (STLV-1, -2, -3) and T-lymphotropic virus 1, 2, 3 and 4 (HTLV-1 to -4) in human. It is known that HTLV-1 infects approximately 20 million people worldwide, of which about 2-3% gets acute T-cell leukemia (ATL) or HTLV-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (neuroinflammatory disorders of the central nervous system). Up to date considerable number of studies were conducted with the aim to determine whether BLV causes a pathological conditions in humans. Results of the studies showed that the presence of BLV has no effect on the pathological conditions in humans and therefore does not represent any threat to human health, except that in humans can cause a production of antibodies. However, antibodies can circulate in the body fluids as unintegrated elements and therefore their findings do not prove strictly that humans are actively infected with BLV. The presence of antibodies in humans may also be the immunological answer to thermally denatured BLV antigens consumed with the food. Considering the above, in order

to achieve the maximum level of human health protection, a Working Group opinion is that meat of BLV seropositive bovine animals can be used for human consumption only in processed form, which requires an adequate heat treatment, or any other treatment of meat that ensures inactivation of BLV, always when *post-mortem* examination in the meat and in the carcass lymph nodes, as well as on organs and their lymph nodes, did not observed any findings. A Working Group opinion is that unfit for human consumption is the whole carcass of BLV seropositive bovine animals in the case when *post-mortem* examination observe the leukotic findings in meat and carcass lymph nodes or carcass lymph nodes only, regardless of whether changes in organs or organs lymph nodes are identified.

KEY WORDS

Enzootic bovine leukosis, seropositive bovine animals, meat, milk

SADRŽAJ

SAŽETAK.....	2
SUMMARY	3
POZADINA SLUČAJA.....	6
ZAHVALE	6
PROCJENA RIZIKA	7
1. IDENTIFIKACIJA OPASNOSTI	7
1.1 Virus enzootske leukoze goveda	7
1.2. Mogućnost infekcije ljudi VELG	8
1.3. Povijest proširenosti bolesti	8
1.4. Zakonska regulativa Republike Hrvatske vezana za ELG	11
2. KARAKTERIZACIJA OPASNOSTI	13
2.1. Enzootska leukoza goveda	13
2.2. Zoonotski potencijal VELG.....	14
3. PROCJENA IZLOŽENOSTI	16
3.1. Procjena izloženosti u goveda	16
3.2. Procjena izloženosti u ljudi.....	17
3.2.1. Scenarij izloženosti ljudi	18
4. KARAKTERIZACIJA RIZIKA.....	20
ZAKLJUČCI	20
PREPORUKE	22
LITERATURA.....	22

POZADINA SLUČAJA

Tijekom provedbe Programa iskorjenjivanja i nadziranja enzootske leukoze goveda u Republici Hrvatskoj u 2013. godini od 09.09. do 09.12.2013. godine pretraženo je ukupno 181 762 uzoraka krvi goveda s područja čitave Hrvatske. Protutijela za VELG utvrđena su u 851 uzorku krvnih seruma goveda što ukazuje da udio pozitivnih životinja iznosi svega 0.46%. Sukladno Zakonu o veterinarstvu („Narodne novine“ broj 82/13) odnosno Pravilniku o mjerama za suzbijanje i iskorjenjivanje enzootske leukoze goveda („Narodne novine“ broj 30/12) potvrđenim slučajem enzootske leukoze goveda smatra se govedo u kojeg je dijagnostičkom pretragom krvi referentnom metodom u službenom laboratoriju utvrđen pozitivan nalaz. Kada je enzootska leukoza goveda službeno potvrđena oboljela goveda upućuju se na klanje.

Temeljem članka 15. točke 1. Zakona o hrani („Narodne novine“ broj 81/13) Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane Ministarstva poljoprivrede uputila je 07. studenog 2013. godine Hrvatskoj agenciji za hranu zahtjev (Klasa: 322-02/13-01/171, Uredžbeni broj: 525-10/1276-13-1) kojim je zatražena znanstvena procjena rizika i stručno mišljenje o postupcima s mesom goveda seropozitivnih na enzootsku leukozu goveda s vidljivim *post mortem* promjenama odnosno o postupcima s mesom goveda koja su seropozitivna na enzootsku leukozu goveda, ali bez vidljivih *post mortem* promjena.

ZAHVALE

Hrvatska agencija za hranu zahvaljuje svim članovima Radne grupe u izradi ovog znanstvenog mišljenja.

PROCJENA RIZIKA

1. Identifikacija opasnosti

1.1. Virus enzootske leukoze goveda

Enzootska leukoza goveda (ELG) je kronična proliferativna bolest koju uzrokuje RNA virus enzootske leukoze goveda (VELG) (Miller i sur., 1969.; Burny i sur., 1984.; Murphy, 1999.; Oroszlan i sur., 1984.; Sagata i sur., 1984.). VELG svrstan je u rod *Deltaretrovirus*, potporodicu *Orthoretrovirinae*, porodicu *Retroviridae*.

Glavne ciljne stanice VELG su B limfociti (Beyer i sur., 2002.; Gillet i sur, 2007.). Virusna čestica sastoji se od jednolančane RNA, nukleoproteina p12, nukleokapsidnog proteina p24, transmembranskog glikoproteina gp30, glikoproteina na površini lipoproteinske ovojnice gp51 te nekoliko enzima, uključujući i reverznu transkriptazu. Posjedovanje enzima reverzne transkriptaze (Stoye i sur., 2012.) omogućuje virusu prepisivanje virusne nukleinske kiseline u obratnom smjeru u komplementarnu DNA. Proviralna DNK, koja je stvorena nakon reverzne transkripcije virusnog genoma, integrira se nasumično u DNA stanice domaćina u kojoj perzistira bez neprekidne proizvodnje virusnog potomstva. Tijekom ELG tvore se antitijela prema unutarnjem proteinu VELG p24 i prema glikoproteinu virusnog omotača označenog kao gp51.

Izvan stanice domaćina virus se može lako uništiti izlaganjem UV-zrakama, zagrijavanjem na 63 °C tijekom 15 minuta te postupcima zamrzavanja i otapanja. Na temperaturi hladnjaka (4 °C) virus preživljava 14 dana.

Izvor infekcije su zaražena goveda. U zaraženom govedu virus ELG se nalazi u limfocitima. Međutim, da bi se virus mogao prenijeti sa zaražene životinje na zdravu, zaražena životinja odnosno njezini sekreti/ekskreti moraju sadržavati dovoljnu količinu virusa. Brojnim pokusima dokazano je kako je upravo krv najčešći izvor zaraze. Za nastanak infekcije potrebno je oko 2000 - 2500 limfocita ili 0.0005 mL zaražene krvi (Tyler, 1978.). Drugi izvori u kojima je izoliran VELG, poput mlijeka i kolostruma, bronhoalveolarnog ispirka, urina, ejakulata, sadržaja obriska nosne sluznice i fecesa, u prirodnim uvjetima, najčešće ne sadrže dovoljnu količinu virusa kojima bi se mogla zaraziti zdrava životinja.

Iako retrovirusi iz roda *Deltaretrovirus* nemaju veliku genetsku raznolikost do sada je utvrđeno 8 različitih genotipova i četiri soja VELG: belgijski, japanski, australski i argentinski (Sabrina i sur., 2009.). Filogenetske analize virusa izoliranih iz uzoraka krvi goveda u Republici Hrvatskoj pokazale su da kod nas većinom fluktuiraju genotip 8 te u nešto manjem obimu genotip 7. Dosadašnja istraživanja nisu ukazala na razliku u patogenosti između različitih sojeva ili genotipova ovog virusa (Balić, 2012.). Najvažnije štetne posljedice ELG su socio-ekonomskog karaktera, a očituju se u vidu šteta do kojih dolazi zbog smanjenja proizvodnje mlijeka i mesa, zbog uklanjanja klinički bolesnih životinja i zbog neškodljivog uklanjanja mesa u klaonicama (Emanuelson i sur., 1992.).

Rutinska dijagnostika ELG danas počiva na primjeni imunoenzimnih testova (ELISA). Imunoenzimni test je metoda odabira pri pretraživanju velikog broja uzoraka kako u tzv. "screening" programima tako i za potvrdu ELG. Metoda lančane reakcije polimerazom rabi se ponajviše kao potvrdna metoda kod

dvojbenih ili nespecifičnih rezultata, kako zbog složenosti izvedbe i uvjeta koji su potrebni pri izvođenju pretrage, tako i zbog razmjerne skupoće. Uzorak koji je pokazao pozitivan rezultat na ELISA potvrdnom testu smatra se potvrđenim slučajem ELG. Jednom dokazana leukoza kod goveda starijeg od 6 mjeseci znači da je ono trajno inficirano i trajni izvor zaraze za druge životinje, čak i ako u ponovljenim testiranjima daju negativnu serološku reakciju (Cvetnić, 1993.). Diferencijalno dijagnostički treba uzeti u obzir limfadenitis, limfoidnu hiperplaziju, perikarditis, povećanje slezene kod septikemijskih stanja te druge neoplazme.

ELG se ne liječi. Programi suzbijanja bolesti temelje se na sustavnom serološkom pretraživanju stada na prisutnost protutijela za virus ELG i uklanjanju svih pozitivnih grla iz uzgoja, upućivanjem na klanje prije izbijanja kliničkih znakova bolesti (Lojkić i sur., 2000.).

1.2. Mogućnost infekcije ljudi VELG

Virusi iz porodice *Retroviridae* uzrok su različitih vrsta patoloških stanja u ljudi i u životinja – limfoma, sarkoma i leukemije. Poznato je da uzrokuju imunodeficijenciju u ljudi (AIDS) i u životinja (FAIDS-feline AIDS i SAIDS-simian AIDS). Zbog toga je zoonotski potencijal virusa iz porodice *Retroviridae*, a posebice VELG, intenzivno istraživan tijekom 80-tih i 90-tih godina dvadesetog stoljeća. U tim su istraživanjima ispitivane ciljane skupine ljudi: vlasnici goveda zaraženih VELG, veterinari koji su često bili u kontaktu s bolesnim govedima, mesari iz klaonica u kojemu su se klaonički obrađivala pozitivna grla, ljudi oboljeli od leukemije, djeca oboljela od limfocitoze izazvanom akutnom limfoblastičnom leukemijom, odnosno non-Hodgkin limfomom te ljudi oboljeli od leukemije ili raka pluća koji su konzumirali meso goveda s endemičnoga područja leukoze goveda. Trenutno dostupne znanstvene spoznaje ne pružaju nepobitne dokaze koji bi ukazivali na to da prisutnost VELG u ljudima, do koje može doći nakon konzumacije mesa goveda koja su seropozitivna na ELG, može biti uzrok bilo koje prepoznatljive bolesti kod ljudi, te se stoga smatra da VELG ne predstavlja opasnost za ljudsko zdravlje (Burridge, 1981.; Bender i sur., 1988.; Madić i Cvetnić, 2000.; Perzova i sur., 2000.; Buehring i sur., 2003.; Burmeister i sur., 2007.). Rizik za ljude nije utvrđen bez obzira je li meso zaraženih životinja zahvaćeno leukoznim promjenama ili ne.

Međutim, s obzirom na to da su rezultati pojedinih istraživanja pokazali da VELG može inficirati ljudske stanice *in vitro*, odnosno da je u DNA dva klona B stanica ljudi s mijelomom utvrđeno prisustvo proviralnih sekvenci (Slavikova i sur., 1987.) pojedini znanstvenici tvrde kako je još uvijek nejasno može li u prirodnim uvjetima doći do integracije VELG u ljudski genom (Nikbakht i sur., 2010.).

1.3. Povijest proširenosti bolesti

O pojavi bolesti u goveda pod nazivom "leukoze" prvi put je izvijestio Leisering (1871.), koji je opisao prisutnost žućkastih kvržica u povećanoj slezeni krave. ELG je proširena u svjetskim razmjerima. Vrlo je vjerojatno kako je ova bolest bila prisutna u Europi tijekom 19. stoljeća, odakle se u prvoj polovici 20. stoljeća proširila na Američki kontinent. Nakon toga je vjerojatno zbog uvoza goveda iz Sjeverne Amerike došlo do vraćanja bolesti natrag u Europu, u zemlje u kojima bolest nije prije postojala

(Johnson i Kaneene, 1992.). Prvi pisani podatci o ELG u Hrvatskoj potječu iz 50-tih i 60-tih godina dvadesetog stoljeća. Lojkić (2001.) navodi kako su prvi stručnjaci koji su proučavali i dokazali ELG pomoću trijaže goveda i hematoloških pretraga korištenjem tzv. Götzeov-ovog ključa bili (Balić i sur., 2013.)

ELG je u Republici Hrvatskoj prvi puta potvrđena 70-ih godina na velikim mliječnim farmama na području Osječko-baranjske županije te je od tada sporadično prisutna. U procesu rasformiranja dijela velikih farmi i posljedične prodaje rasplodnih goveda i drugih načina prometa u protekla dva desetljeća, ELG se sve više počela širiti u manje uzgoje u istočnom dijelu zemlje, s tendencijom širenja na susjedna područja (Balić i sur., 2013.). Prema raspoloživim epidemiološkim podacima ELG je u Hrvatskoj prisutna u najvećoj mjeri na području Slavonije, posebice u Osječko-baranjskoj županiji što su i potvrdili rezultati provedbe naređenih mjera uzimanja uzoraka krvi u 2011. godini. Osim na području svih pet slavonskih županija, u ostalim županijama pozitivni rezultati zabilježeni su sporadično, u malom broju stada, te se najčešće epidemiološki mogu povezati s prometom goveda iz istočnog dijela zemlje u prethodnim godinama. U tablici 1 prikazan je broj goveda pozitivnih na ELG u odnosu na broj pretraženih goveda u Republici Hrvatskoj od 2006. godine do 2011. godine, s tim da je u 2011. godini bila obuhvaćena čitava populacija.

Tablica1: Broj goveda pozitivnih na ELG u odnosu na broj pretraženih goveda u RH od 2006 do 2011

Godina	Broj pretraženih goveda	Pozitivna goveda
2006	330672	93
2007	76640	131
2008	42968	712
2009	57889	634
2010	26057	144
2011	235000	1257

Izvor: Ministarstvo poljoprivrede (2012.)

Na području Europe velik broj zemalja službeno je slobodan od ELG dok se u pojedinim europskim zemljama nalaze samo regije odnosno stada koja su službeno slobodna od ELG. Njihov popis nalazi se u tablicama 2, 3 i 4, a prostorna distribucija ELG prikazana je na slici 1 (European Commission, Health and Consumers, 2012.). Popis zemalja, regija i stada dan je temeljem podataka dobivenih provedbom Odluka Komisije 2003/467/EC, 2012/204/EU, 2012/303/EU i 2012/449/EU.

Tablica 2: Zemlje službeno slobodne od Enzootske leukoze goveda

Austrija	Luksemburg
Belgija	Nizozemska
Cipar	Norveška
Češka	Njemačka
Danska	Slovačka
Finska	Slovenija
Francuska	Španjolska
Irska	Švedska
Latvija	Švicarska
Litvanija	Ujedinjeno Kraljevstvo

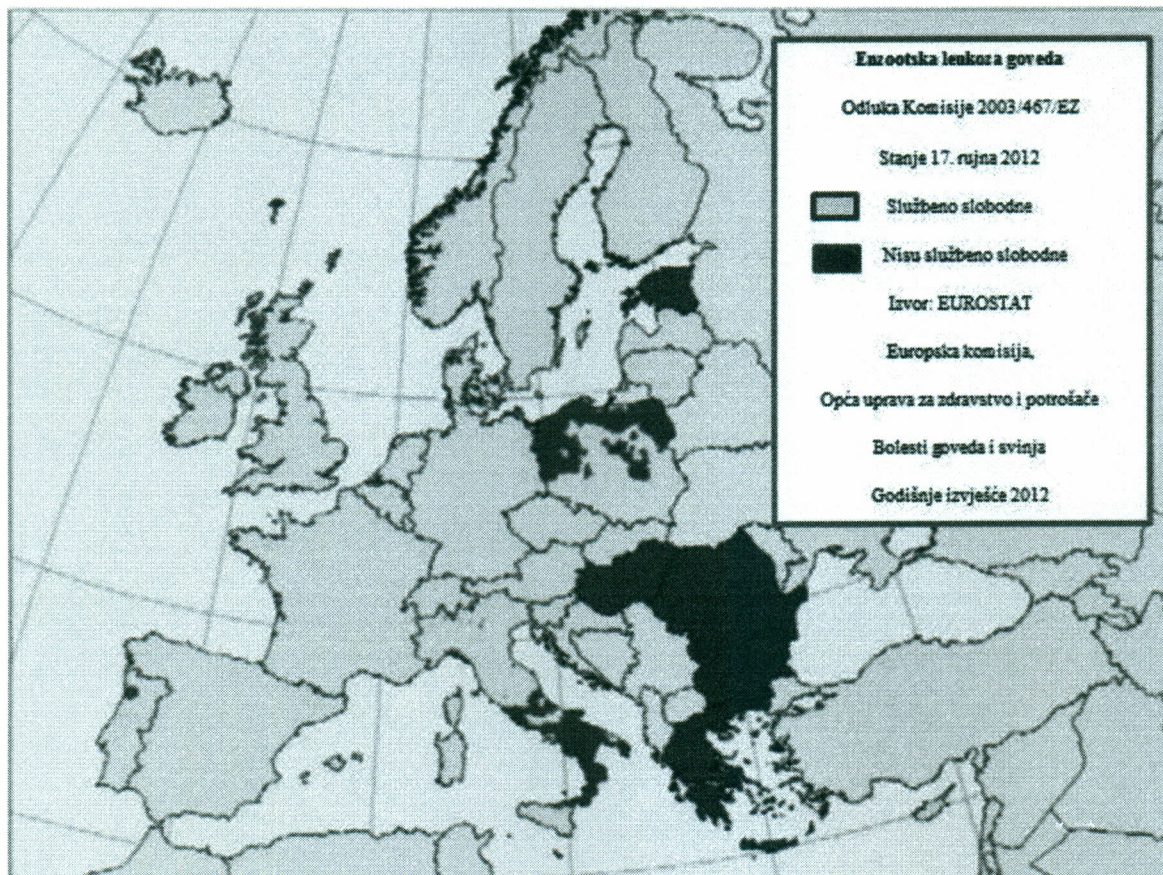
Tablica 3: Regije službeno slobodne od Enzootske leukoze goveda

Italija
Poljska
Portugal
Ujedinjeno Kraljevstvo - Isle of Man

Tablica 4: Postotak službeno slobodnih stada u pojedinim zemljama

Zemlja	%
Bugarska	90,28
Estonija	99,89
Francuska	99,99
Grčka	98,74
Mađarska	99,44
Litva	99,9
Letonija	99,99
Malta	85,95
Poljska	99,99
Rumunjska	99,75

Slika 1: Prikaz prostorne distribucije ELG na području Europe



1.4. Zakonska regulativa Republike Hrvatske vezana za ELG

U zemljama članicama Europske unije načini suzbijanja i iskorjenjivanja ELG su različiti. DiGiacomo (1992.) navodi kako postoje tri načina suzbijanja ELG koja podrazumijevaju dijagnosticiranje i sprječavanje horizontalnog širenja, poboljšanje uzgojne prakse i uklanjanje životinja pozitivnih na virus ELG. Prema utvrđenoj prevalenciji goveda odnosno stada te na osnovi procjene troškova iskorjenjivanja svaka zemlja daje vlastite smjernice za suzbijanje ELG.

U Republici Hrvatskoj Zakonom o veterinarstvu („Narodne novine“, br. 82/13) i nizom podzakonskih akata propisane su mjere za sprječavanje, otkrivanje, suzbijanje i iskorjenjivanje ELG kao i veterinarski uvjeti za stavljanje u promet goveda u odnosu na ELG. Među važnije podzakonske akte kojima je uređena problematika ELG u Republici Hrvatskoj ubrajaju se: Pravilnik o mjerama za suzbijanje i iskorjenjivanje enzootske leukoze goveda („Narodne novine“, br. 30/12), Pravilnik o veterinarskim uvjetima za stavljanje u promet goveda i svinja („Narodne novine“, br. 71/12), Naredba o mjerama zaštite životinja od zaraznih i nametničkih bolesti i njihovom financiranju u 2013. godini („Narodne novine“, br. 03/13) i Naputak o načinu provođenja mjera kontrole zdravlja životinja propisanih naredbom o mjerama zaštite životinja od zaraznih i nametničkih bolesti i njihovom financiranju u 2013. godini („Narodne novine“, br. 26/13). Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane

Ministarstva poljoprivrede donijela je i poseban Program iskorjenjivanja i nadziranja enzootske leukoze goveda u Republici Hrvatskoj u 2013. godini te je izdala i Upute za postupanje s ELG pozitivnim govedima.

Samo ocjenjivanje mesa pri nalazu leukoznih promjena bilo je određeno Pravilnikom o načinu obavljanja veterinarsko-sanitarnog pregleda i kontrole životinja prije klanja i proizvoda životinjskog podrijetla („Narodne novine“, broj 53/91 i 111/00). Stupanjem na snagu Pravilnika o službenim kontrolama hrane životinjskog podrijetla („Narodne novine“, br. 99/07; 28/10; 94/11 i 51/12) prestale su važiti odredbe mnogih članaka Pravilnika o načinu obavljanja veterinarsko-sanitarnog pregleda i kontrole životinja prije klanja i proizvoda životinjskog podrijetla („Narodne novine“, broj 53/91 i 111/00) ali ne i odredbe članka 50. kojim je uređeno ocjenjivanje mesa pri nalazu leukoznih promjena.

Danom stupanja na snagu Zakona o veterinarstvu („Narodne novine“, br. 82/13) prestao je važiti Pravilnik o službenim kontrolama hrane životinjskog podrijetla („Narodne novine“, br. 99/07; 28/10; 94/11 i 51/12) te je time članak 50. kojim je uređeno ocjenjivanje mesa pri nalazu leukoznih promjena stavljen van snage.

Zakonom o veterinarstvu („Narodne novine“, br. 82/13) predviđena je provedba Uredbe (EZ) br. 854/2004 o utvrđivanju posebnih pravila organizacije službenih kontrola proizvoda životinjskog podrijetla namijenjenih prehrani ljudi. U Uredbi (EZ) br. 854/2004 u Prilogu I., Odjeljku II. navedene su mjere koje se poduzimaju nakon obavljenih kontrola, a u Poglavlju III., točki 4. navedene su odluke koje se odnose na žive životinje koje glase: „Životinje koje boluju od bolesti ili stanja koji se mogu prenijeti na životinje ili ljude ako se njima rukuje ili ako se konzumira njihovo meso i općenito životinje koje pokazuju kliničke znakove sustavnih bolesti ili iscrpljenosti i mršavosti, ne smiju se klati u svrhu prehrane ljudi. Takve se životinje moraju odvojeno usmrtiti pod uvjetima koji sprečavaju kontaminaciju drugih životinja ili trupova te se moraju proglasiti neprikladnim za prehranu ljudi.“ Poglavljem V., Prilogom I., Odjeljkom II. iste Uredbe određene su mjere koje se poduzimaju nakon obavljenih kontrola, a odnose se na meso: „Meso se proglašava neprikladnim za prehranu ljudi ako potječe od životinja oboljelih od bolesti koja se nalazi na popisu A ili, prema potrebi, popisu B Međunarodnog ureda za epizootije, osim ako Odjeljkom IV. nije drugačije predviđeno. U Odjeljku IV, Poglavlje I, koje se odnosi na domaća goveda, određeno je kako se trupovi i nusproizvodi klanja goveda mlađih od šest tjedana i goveda starijih od šest tjedana moraju podvrgnuti određenim *post mortem* pregledima.“ Dakle, Odjeljkom IV nisu određena postupanja niti način određivanja prikladnosti mesa za prehranu ljudi nakon *post mortem* pregleda.

Dodatno, rezolucijom Međunarodnog odbora OIE-a, usvojenoj tijekom 72. zasjedanja u svibnju 2004. godine uspostavljena je jedinstvena OIE lista bolesti kopnenih i akvatičnih životinja koja zamjenjuje bivše A i B liste. Cilj izrade jedinstvene liste bio je usklađivanje s terminologijom Sporazuma o primjeni sanitarnih i fitosanitarnih mjera Svjetske trgovinske organizacije, klasificirajući bolesti kao specifične opasnosti i dajući svim bolestima na listi isti stupanj važnosti u međunarodnoj trgovini. Prva lista objavljena je 2005. godine i od tada se lista redovito razmatra i u slučaju izmjena koje je usvojila

Svjetska skupština delegata na svom godišnjem općem zasjedanju novi popis stupa na snagu 1. siječnja sljedeće godine. Enzootska leukoza goveda nalazi se na OIE listi za 2013. godinu.

Nadalje, Zakonom o hrani („Narodne novine“ br. 81/13) određeni su opći zahtjevi propisa o hrani među kojima i zahtjevi sigurnosti hrane. U točki 3. članka 10. navedenog zakona određeno je kako se u smislu članka 14. stavka 2. podstavka b) Uredbe (EZ) br. 178/2002 hranom neprikladnom za prehranu ljudi smatra hrana koja zbog svojih izmijenjenih svojstava (okus, miris, truljenje, kvarenje i raspadanje) nije prihvatljiva za prehranu ljudi.

2. Karakterizacija opasnosti

2.1. Enzootska leukoza goveda

Prema podacima koje navodi OIE (2012.) ELG se prirodno javlja samo u goveda (*Bos taurus* i *Bos indicus*), vodenih bivola i kapibara (vodenprasadi). Nakon pokusne infekcije može se utvrditi odgovor antitijela i u ovaca, jelena, zečeva, štakora, zamoraca, mačaka, pasa, rezus majmuna, čimpanzi, antilopa, koza, svinja i bivola (Burny i sur., 1985.; Burny i sur., 1987.; Wyatt i sur., 1989.).

VELG ima izraziti tropizam prema limfnom tkivu i bijelim krvnim stanicama, a može se umnažati i preživjeti jedino u limfocitima. VELG potiče limfocitozu s karakterističnim povećanjem broja B-limfocita u perifernoj krvi uzrokujući u uznapredovaloj kliničkoj slici trajnu limfocitozu i nastanak limfoma (Miller i Van der Maaten, 1979.). Trajna limfocitoza ($> 50\,000/\mu\text{L}$), koja se javlja u 20-30% zaraženih životinja, često prati fatalni oblik limfosarkoma u goveda (Miller i sur., 1969.). Za trajnu limfocitozu je poznato da je vezana za genetsku osnovu domaćina (Croshaw i sur., 1963.; Levin, 1989.; Xu i sur., 1993.; Van Eijk i sur., 1992.).

VELG je izoliran u CD5+ i u CD5- B-limfocitima u znatno većim koncentracijama u krava s trajnom limfocitozom u odnosu na krave bez limfocitoze. Iako je najveći postotak VELG izoliran iz populacije B-limfocita, ovaj je virus izoliran i iz T-limfocita (CD8+), granulocita i monocita. U perifernim je limfocitima istraživanjima dokazana prisutnost VELG sedmog dana nakon infekcije. VELG je izoliran i iz limfnih čvorova, jetre, slezene, bubrega, maternice.

Većina infekcija prolazi bez kliničkih znakova bolesti. U većine zaraženih životinja (oko 70%) ne razvije se bolest, a ukoliko dođe do pojave kliničkih znakova bolesti oni se obično pojavljuju između 4. i 8. godine. Kada su prisutni, uočeni klinički znakovi odnose se na organske sustave koji su zahvaćeni leukoznim promjenama. Mogu se pojaviti anemija, probavni poremećaji, gubitak tjelesne težine, opća slabost, inapetencija, smanjena mliječnost, pareza stražnjih nogu, groznica, poremećaji u disanju, egzoftalmus, proljev, zatvor. Površinski limfni čvorovi mogu biti jako povećani te ih se lako može opipati pod kožom ili tijekom rektalnog pregleda. Trainin i Brenner (2005.) navode kako se limfomi kod goveda zaraženih VELG javljaju rijetko ($<1\%$), a oko 30-70 % zaraženih goveda nakon 3. godine života ima trajno povećan broj limfocita.

Smrtnost kod ELG može nastupiti zbog rupture slezene (Cvetnić, 1997.), razvoja sekundarne anemije te kada tumorozne tvorevine postignu veličinu i težinu koja ugrožava funkcioniranje organizma. Povećanje slezene uslijed uzastopnog formiranja tumora jedan je od najvažnijih kliničkih znakova

goveđe leukemije. Ovi tumori nastaju uslijed lokalnog nakupljanja transformiranih B stanica, a mogu infiltrirati i druga tkiva kao što su jetra, srce, oko, koža, pluća i limfni čvorovi (Burny i sur., 1987.; Olson i Miller 1987.; Willems i sur., 1999.; Maes i sur., 2002.).

Većina infekcija uzrokovanih VELG prolazi supklinički (Balić i sur., 2013.). VELG izaziva imunosupresiju te lako može doći do nastanka sekundarnih oboljenja zbog neadekvatnog imunosnog odgovora (Maes i sur., 2002.). Prosječna dob ugibanja je 7 godina, ali se bolesna grla uklanjaju iz stada ranije zbog neplodnosti, smanjene mliječnosti ili zbog upornog mršavljenja. Gillet i sur. (2007.) navode kako se samo limfomi uzrokovani VELG trebaju nazivati leukoze ili enzootske leukoze goveda te da treba izbjegavati njihovo poistovjećivanje sa sporadičnom leukozom goveda koja se obično javlja u teladi, te timusnim vrstama limfoma koji su uvjetovani s dobi životinje. Razvoj tumora je uvijek smrtonosan, sa smrću koja se javlja obično u roku od 3 do 6 mjeseci nakon kliničkog otkrivanja infekcije.

2.2. Zoonotski potencijal VELG

Godinama nakon otkrića VELG (Miller i sur., 1969.) brojna serološka ispitivanja provedena na uzorcima ljudskog seruma nisu otkrila antitijela na glikoproteinske ovojnice (gp51) i/ili kapsidni protein (p24) VELG. To je dovelo do prevladavajućeg mišljenja da izloženost ljudi VELG i njegov potencijal za infekciju nije značajan, da se VELG ne prenosi na ljude, da ne postoje bolesti ljudi koje bi mogle biti uzrokovane VELG te da stoga taj virus ne predstavlja javno-zdravstveni rizik.

Međutim, ta su istraživanja provedena uglavnom pomoću tehnike agar-gel-imuno-difuzije (AGID) koja je u vrijeme provođenja tih istraživanja bila najbolja (Lugović i sur., 1989.). Rezultati naknadno provedenih istraživanja temeljenih na testiranju pomoću imunoblotinga i ELISA testa pokazuju da su neki uzorci, koji su prema AGID-u proglašeni negativnim na antitijela VELG, zapravo pozitivni (Walker i sur. 1987.; Have i Hoff-Jorgensen, 1991.; Grover i Guillemain, 1992.). Zbog toga pojedini znanstvenici, iako se smatra da VELG nije infektivan za ljude, ponovno razmatraju mogućnost njegovog utjecaja na zdravlje ljudi (Trainin i Brenner, 2005.).

Temelj za takva istraživanja daje i strukturna i funkcionalna povezanost VELG s T-limfotropnim virusom 1, 2 i 3 u primata (STLV-1, -2, -3) i T-limfotropnim virusom 1, 2, 3 i 4 (HTLV-1 do -4) u ljudi (Rice i sur., 1984.; Sagata i sur., 1985.; Mahieux i Gessain, 2005.; Wolfe i sur., 2005.).

Poznato je kako HTLV-1 inficira oko 20 milijuna ljudi u svijetu, od kojih kod jednog dijela (približno 2-3%) dolazi do razvoja akutne T-stanične leukemije (ATL) ili HTLV-povezanih mijelopatija/tropskih spastičnih parapareza (neuroinflamatorne bolesti središnjeg živčanog sustava).

Zbog navedenog do danas je proveden znatan broj studija koje su za cilj imale utvrditi uzrokuje li VELG bolest kod ljudi. U tim je istraživanjima poseban interes posvećen mogućnosti oboljenja ljudi uslijed konzumacije mesa ili mlijeka zaraženih životinja te uslijed bliskog kontakta sa živim zaraženim životinjama (Burmeister i sur., 2007.; Perzova i sur., 2000.).

McClure i sur. (1974.) svojim pokusom, u kojem su hranili čimpanze mlijekom krava inficiranih s VELG, nisu uspjeli utvrditi antitijela na VELG u pokusnim životinjama, ali nisu u potpunosti isključili

mogućnost infekcije. Slavikova i sur. (1987.) proveli su istraživanje o mogućnosti provirusne integracije VELG u DNA inficiranih ljudskih stanica mijelomskih bolesnika te su izvijestili o nalazu proviralnih sekvenci u DNA dva stanična klon. Bender i sur. (1988.) proveli su istraživanje o ulozi VELG u nastanku leukemije i non-Hodgkinovog limfoma u ljudi. Visoka statistička sigurnost i specifičnost njihovog istraživanja pružila je dokaz da genomska integracija VELG nije čimbenik dječje akutne limfoblastične leukemije/non-Hodgkinova limfoma.

Unatoč uspješnim infekcijama niza staničnih linija *in vitro* (Graves i Ferrer, 1976.; Inabe i sur., 1998.; Milan i Nicolas 1991.; DiGiacomo i Hopkins, 1997.) VELG ne inficira za stalno mačke, pse, majmune i čovjeka, iako kod ovih vrsta može doći do pojave virusno-specifične serokonverzije, odnosno pojave antitijela. Epidemiološke studije pokazale su da konzumacija sirovog mlijeka koje potječe od goveda zaraženih VELG ne povećava učestalost leukemije u čovjeka (Perzova i sur., 2000.; Burmeister i sur., 2007.; Buehring i sur., 2003.). Dakle, malo je vjerojatno da VELG inficira ljude te da se u njima replicira i uzrokuje rak, iako se ta mogućnost prema navodima Calattini i sur. (2006.) ne može isključiti.

Buehring i sur. (2003.) preispitali su navedenu problematiku koristeći osjetljivije imunološke tehnike. Immunoblotingom su ispitali serum 257 ljudi na četiri izotipa antitijela (IgG1, IgM, IgA i IgG4) na kapsidni antigen (p24) VELG. Utvrdili su najmanje jedan izotip antitijela koji reagira s VELG u 74% ispitivanih seruma ljudi. Specifičnost reaktivnosti dodatno je potvrđena drugim istraživanjima i isključivanjem križne reakcije antitijela na druge kronične ljudske viruse među kojima su se nalazili dva ljudska retrovirusa, ljudski T leukemija virus 1 (HTLV 1) i HIV.

Buehring i sur. (2001.) proveli su istraživanje koje je imalo za cilj utvrditi jesu li ljudi bili zaraženi VELG i bi li ta infekcija mogla imati ulogu u pojavi raka dojke. U većini uzoraka tkiva dojki dokazan je proviralni genom VELG, a 4 od 27 uzoraka je bilo pozitivno na kapsidni protein. Njihovi su rezultati pokazali da antitijela koja reagiraju s kapsidnim antigenom VELG mogu poslužiti kao biomarkeri za izlaganje VELG, te da ta izloženost može biti raširena.

U svom radu o onkogenim retrovirusima goveda i njihovom infektivnom i onkogenom potencijalu za ljude Johnson i Griswold (1996.) objavili su kako epidemiološke studije ukazuju na to da VELG pokazuje sličnu infektivnost/onkogenost *in vitro* u ljudi kao i virus ptičje leukoze. Ovi autori navode kako nalaz antitijela na virus ptičje leukoze u ljudskom serumu može sugerirati da ti virusi imaju ulogu u etiologiji određenih malignih bolesti u ljudi.

Nikbakht i sur. (2010.) navode kako su u svom istraživanju utvrdili postojanje PCR produkata u uzorcima ljudskog seruma koji potječu od gag područja VELG (grupno specifični antigen, genetički materijal koji kodira osnovne strukturne proteine retrovirusa). Međutim, autori također navode da takvi materijali mogu cirkulirati u tjelesnim tekućinama kao neintegrirani elementi te da stoga njihovi nalazi ne dokazuju striktno da su ljudi aktivno inficirani s VELG.

3. Procjena izloženosti

3.1. Procjena izloženosti u goveda

Horizontalno prenošenje VELG u stadu ima presudno značenje. Važan čimbenik rizika za prijenos bolesti je bliski kontakt između ELG-negativnih i ELG-pozitivnih goveda. Uobičajena proizvodna praksa u primarnoj proizvodnji (farme, domaćinstva) ima značajnu ulogu u prijenosu virusa, kao i iatrogeni prijenos (injekciona aplikacija lijekova, dijagnostičko uzorkovanje krvi, označavanje životinja tetoviranjem, kastracija, vakciniranje, rektalna palpacija).

Prijenos virusa putem hematofagnih vektora, poput obada i velikih muha, krpelja, komaraca, također je moguć.

Vertikalni prijenos VELG transplacentarno tijekom intrauterinog razvoja ili postpartalno tijekom hranjenja kolostrumom ili mlijekom je vrlo rijedak i javlja se u oko 1-5% zaraženih životinja (Gonzales i sur., 2007., Maes i sur., 2002.). Da bi se takav prijenos dogodio potrebno je da krava tijekom gravidnosti, osim virusom ELG, bude zaražena i virusom govede imunodeficijencije. Određena istraživanja ukazuju na to da protutijela iz kolostruma mogu čak služiti i kao zaštita teladi od zaražavanja virusom ELG.

Općenito, bilo koja tvar ili materijal onečišćen krvlju koja sadrži zaražene limfocite ima potencijal zaraziti životinje s VELG. Pojedina istraživanja ukazuju na to da je za nastanak infekcije potrebno oko 2000-2500 limfocita ili 0.0005 mL zaražene krvi (Tyler, 1978.). Širenje bolesti bez takvih pogodnih okolnosti je obično sporo (Monti i sur., 2005.).

Prevalencija specifičnih protutijela na VELG u pozitivnoj je korelaciji s mliječnom pasminom i starosti goveda. Korelacija između spolova i pasmina nije utvrđena (Balić i sur., 2013.).

Osnovni način širenja ELG između životinja podrazumijeva krv kao svojevrsni medij kojim se bolest prenosi sa životinje na životinju. Na brzinu imunološkog odgovora bitno utječe infekcijska doza – što je doza veća potrebno je manje vremena kako bi se serološkim i virusološkim pretragama otkrila zaražena životinja (Kabeya i sur., 2001.).

Ulazna vrata infekcije VELG predstavljaju gotovo svi dijelovi tijela izloženi zaraženoj krvi. Infekcija može biti supkutana, intradermalna, intramuskularna, intrauterina, intratrahealna, intravenska i rektalna. Iako je raznim istraživanjima dokazano postojanje VELG u kolostrumu i mlijeku seropozitivnih krava nastajanje infekcije oralnim putem nije do kraja razjašnjen.

Nedoumicu produbljuje činjenica da kolostrum i mlijeko, osim uzročnika u limfocitima, sadrže i protutijela za uzročnika. Posteljica može predstavljati ulazna vrata, ali samo ako je bređa krava inficirana istodobno VELG i virusom imunodeficijencije goveda.

3.2. Procjena izloženosti u ljudi

Do sada su na međunarodnoj i nacionalnoj razini provedena mnoga znanstvena istraživanja vezana za viruse u hrani i njihovu rizičnost za zdravlje ljudi (Njari i Madić, 1993.; Njari i sur. 1996.; Madić i Cvetnić, 2000.; Njari i sur., 2001.; Knežević i Njari, 2009.).

Visoku razinu izloženosti VELG imaju osobe u bliskom i čestom kontaktu sa zaraženim životinjama, poput vlasnika goveda oboljelih od ELG, veterinari koji su često bili u kontaktu s bolesnim govedima i mesari u klaonicama u kojima su se klaonički obrađivala pozitivna goveda.

Johnson i sur. (1986. a, b) ukazuju na to da su radnici koji rukuju zaraženim mesom potencijalno izloženi virusima koji prirodno uzrokuju leukemiju i limfosarkome u goveda (VELG), te zaključuju kako ti radnici imaju trostruko povećani rizik obolijevanja od mijeloične leukemije i non-Hodgkin limfoma u odnosu na kontrolne skupine. Osim toga, Johnson i sur. (1995.) ukazuju na to da u trgovinama hranom, radnici koji rukuju mesom (koje između ostalog može biti zaraženo VELG) imaju veći rizik od obolijevanja od raka pluća od osoba u kontrolnim skupinama.

Rezultati pojedinih istraživanja pokazuju kako je pojava leukemije češća u dijelu populacije koja često konzumira mliječne proizvode i govedinu (Hursting, 1993.; Howell, 1974.). U više istraživanja zabilježena je povećana incidencija leukemije među zaposlenicima u mliječnoj industriji (Kristensen, 1996.; Reif, 1989.; Blair, 1985.; Donham, 1980.).

Fritschi i sur. (2002.) su istraživali učestalost obolijevanja kanadskih radnika te utvrdili da oni pojedinci koji rade u zanimanjima povezanim s govedima imaju približno dva puta veći rizik za razvoj leukemije i limfoma.

Buehring i sur., (2003.) navode kako se na tržištu može naći goveđe meso i mlijeko koje sadrži stanice zaražene VELG. Ovi autori ukazuju na vjerojatnost da je mogući glavni put prijenosa VELG od krave na čovjeka putem konzumacije mlijeka. Dokazano je da se telad može inficirati VELG preko mlijeka iz inficiranih krava. Također je poznato da je majčino mlijeko inficirano s usko povezanim HTLV1 glavni izvor infekcije za dojenčad do najmanje 1 godine starosti (Hino i sur., 1995.; Yoshinaga i sur., 1995.).

Istraživanja koja su proveli Mesa i sur. (2013.), Buehring i sur. (2001.) i Buehring (1997.) pokazala su nalaz proviralnog genoma VELG u tkivu dojke pacijentica koje su bolovale od raka dojke. Takvi nalazi ukazuju na to da su pacijentice tijekom života bile izložene VELG.

Niti jedno od navedenih istraživanja nije uspjelo dokazati neupitnu vezu nastanka bolesti u ljudi zbog inficiranosti VELG. Ukoliko dodatna istraživanja utvrde čvrstu vezu između ovakvih nalaza zabrana uporabe proizvoda podrijetla od životinja zaraženih VELG bit će indicirana.

3.2.1. Scenarij izloženosti ljudi

Iz tablice 5 vidljivo je da bi se broj osoba izloženih uzročniku povećao u slučaju stavljanja na tržište mesa od serološki pozitivnih životinja koje nije prošlo toplinsku obradu. Također, povećala bi se i izloženost skupina ljudi koje su rjeđe izložene VELG, kao što su djeca, stariji te osobe s oslabljenim imunološkim sustavom. Nadalje, moguće mjere zaštite nije moguće primijeniti na sve osobe koje bi bile izložene, već samo na manji broj ljudi koji rade na farmama, u klaoničkim objektima, transportu i mesnicama. Nezaštićena bi ostala brojčano i po podskupinama najveća skupina kupaca.

	Proizvodni stadij						
	Obiteljska poljoprivredna gospodarstva	Farma sa serološki pozitivnim životinjama	Klaonički objekti u kojima se klaonički obrađuju serološki pozitivne životinje	Toplinska obrada mesa („prerada“) prije stavljanja na tržište	Stavljanje mesa na tržište bez toplinske obrade („prerade“)		
Izložene skupine	Članovi OPG-a (muškarci i žene, trudnice, djeca, starije osobe, osobe s oslabljenim imunološkim sustavom)	Radnici na farmi (muškarci i žene; trudnice)	Radnici u klaoničkom objektu (muškarci i žene; trudnice)	Radnici u objektu za preradu mesa (muškarci i žene; trudnice)	Radnici u transportu: muškarci i žene	Radnici u trgovini: muškarci i žene	Kupci: muškarci, žene; trudnice), djeca, stariji, osobe s oslabljenim imunološkim sustavom
Moguće mjere zaštite	Zaštitna oprema za lice i tijelo	Zaštitna oprema za lice i tijelo	Zaštitna oprema za lice i tijelo	Zaštitna oprema za lice i tijelo	Zaštitna oprema za lice i tijelo	Zaštitna oprema za lice i tijelo	nema
Sadašnja izloženost	Da	Da	Da	Da	Ne	Ne	Ne
Moguća izloženost	Da	Da	Da	Da	Da	Da	Da

Tablica 5: Prikaz moguće izloženosti ljudi s obzirom na proizvodni stadij kod trenutne situacije i kod moguće promjene

4. Karakterizacija rizika

Retrovirusi se smatraju specifičnim za pojedinu vrstu i ne prelaze barijeru među vrstama. Iako se VELG smatra takvim virusom pojedini su znanstvenici proveli niz istraživanja kako bi se utvrdilo jesu li ljudi mogli biti zaraženi konzumacijom mesa, mlijeka i mliječnih proizvoda ili uslijed profesionalne izloženosti živim govedima.

Svoja su istraživanja temeljili na činjenicama koje ukazuju kako VELG i HTLV-1 na razini nukleotida pokazuju otprilike 50% sličnosti te dijele mnoge zajedničke značajke u molekularnoj organizaciji i patogenezi bolesti. Primjerice, VELG i HTLV-1 se ne produciraju u inficiranim limfocitima ili tumorskim stanicama *in vivo*, ali je proizvodnja virusa izazvana kratkotrajnom kulturom *ex vivo*. Zatim, abnormalni hematološki nalazi javljaju se u nekim, ali ne i svim, inficiranim pojedincima, a do razvoja tumora dolazi u manjeg dijela inficiranih životinja. Isto tako, transaktivirani viralni genski proizvodi oba virusa utječu na ekspresiju staničnih gena domaćina (Burny i sur., 1980.; Rosen i sur., 1985.).

Trenutno dostupne znanstvene spoznaje ne pružaju nepobitne dokaze koji bi ukazivali na to da prisutnost VELG u ljudi nakon konzumacije mesa goveda koja su seropozitivna na ELG, može biti uzrok bilo koje prepoznatljive bolesti kod ljudi, te se stoga smatra da VELG ne predstavlja opasnost za ljudsko zdravlje (Burridge, 1981.; Bender i sur., 1988.; Madić i Cvetnić, 2000.; Perzova i sur., 2000.; Buehring i sur., 2003.; Burmeister i sur., 2007.). Rizik za ljude nije utvrđen bez obzira je li meso zaraženih životinja zahvaćeno leukoznim promjenama ili ne.

Međutim, s obzirom na to da su rezultati pojedinih istraživanja pokazali da VELG može inficirati ljudske stanice *in vitro*, odnosno da je u DNA dva klonova B stanica ljudi s mijelomom utvrđeno prisustvo proviralnih sekvenci (Slavikova i sur., 1987.) pojedini znanstvenici tvrde kako je još uvijek nejasno može li u prirodnim uvjetima doći do integracije VELG u ljudski genom (Nikbakht i sur., 2010.).

Serološka ispitivanja provedena su na uzorcima seruma ljudi oboljelih od raka i pojedinaca koji su profesionalno izloženi VELG te su u njima dokazana antitijela na VELG (Buehring, 2003.). Također su pronađena i antitijela na VELG u serumu bolesnika koji boluju od leukemije (Cereda i sur., 1984.).

Rezultati istraživanja koji ukazuju na nalaz antitijela na VELG ne pružaju uvjerljive dokaze prijenosa bolesti sa životinja na ljude, niti nužno znače da su ljudi zapravo aktivno inficirani VELG jer takvi materijali mogu cirkulirati u tjelesnim tekućinama kao neintegrirani elementi. Postojanje antitijela može biti i odgovor na toplinski denaturirane antigene VELG konzumirane putem hrane (Buehring i sur., 2001.).

ZAKLJUČCI

Goveda u kojih je za života dijagnostičkom pretragom krvi referentnom metodom u službenom laboratoriju utvrđen pozitivan nalaz na ELG upućuju se na klaoničku obradu u skladu s Pravilnikom o mjerama za suzbijanje i iskorjenjivanje enzootske leukoze goveda („Narodne novine“, br. 30/12).

Životinje koje su pozitivne na ELG moraju se klaonički obraditi odvojeno od drugih životinja, pri čemu se moraju poduzeti mjere zaštite kako bi se spriječilo onečišćenje/a drugih trupova, linija klaoničke obrade, alata za obradu trupova i osoblja koje se nalazi u klaoničkom objektu.

Prema Dupuy i sur. (2012.) pri *post mortem* pregledu tipičan slučaj ELG predstavlja nalaz povećanih površinskih limfnih čvorova i/ili povećanih limfnih čvorova trbušne ili zdjelične šupljine, dok blagi slučaj ELG predstavlja ograničen broj povećanih površinskih limfnih čvorova. Za limfosarkome ovi autori očekuju sličan nalaz. Leukozne promjene u vidu limfoma kod goveda zaraženih VELG javljaju se rijetko (<1%) (Trainin i Brenner, 2005.).

U svom vodiču za inspekciju mesa FAO (2000.) kao smjernicu za donošenje odluke o postupcima s trupovima životinja koje boluju od leukoze, odnosno limfosarkoma propisuje da se meso takvih životinja pri pregledu nakon klaoničke obrade klasificira kao neprikladno za prehranu ljudi. Ukoliko je hiperplazija limfnih čvorova histološki dijagnosticirana, te se ne radi o limfomu, trup se prema navedenim smjernicama FAO može odobriti za ljudsku prehranu. Ovisno o jačini leukoznih promjena, trupovi mogu biti potpuno odobreni za prehranu ili uvjetno odobreni za prehranu nakon toplinske obrade (FAO, 2000.).

Trenutno dostupni znanstveni dokazi ne ukazuju na to da prisustvo VELG u mesu seropozitivnih životinja može imati utjecaj na zdravlje ljudi, te je sukladno tome radna grupa zaključila kako je rizik od obolijevanja ljudi nakon konzumacije mesa goveda seropozitivnih na ELG zanemariv.

Međutim, radi postizanja maksimalne razine zaštite zdravlja ljudi radna grupa je mišljenja kako meso goveda seropozitivnih na VELG može biti upotrijebljeno za prehranu ljudi isključivo u prerađenom obliku, koji podrazumijeva primjerenu toplinsku obradu ili neki drugi način obrade mesa koji osigurava inaktivaciju VELG, i to samo onda kada *post mortem* pregledom u mesu i u limfnim čvorovima trupa te na organima i njihovim limfnim čvorovima nisu utvrđene leukozne promjene. Toplinska obrada mesa (kuhanje, sterilizacija) treba se obaviti na način da se meso prije toplinske obrade isječe na komade debljine do 10 centimetara, te se zatim kuha u vodi najmanje dva sata i trideset minuta ili sterilizira najmanje dva sata i to tako da se u sredini komada mesa postigne temperatura od 80 °C koja se mora održati najmanje 30 minuta. Smatrat će se da je meso dovoljno kuhano kada u najdubljim dijelovima promijeni boju u sivo i kada sok koji se pri zasijecanju cijedi nije više crvenkast. Toplinska obrada masnog tkiva treba se obaviti na način da se ono istopi suhim ili vlažnim postupkom na temperaturi od minimalno 100 °C.

Neprikladnim za prehranu ljudi radna grupa smatra cijeli trup goveda seropozitivnih na VELG ako su nakon *post mortem* pregleda utvrđene leukozne promjene na mesu i limfnim čvorovima trupa ili samo na limfnim čvorovima trupa, bez obzira na to jesu li utvrđene promjene na organima ili na limfnim čvorovima organa.

PREPORUKE

S obzirom na to da određeni znanstvenici, temeljem rezultata znanstvenih istraživanja u kojima su serološkim ispitivanjem seruma ljudi oboljelih od raka i pojedinaca koji su profesionalno izloženi VELG dokazana antitijela na VELG, ne isključuju u potpunosti mogućnost nastanka patoloških stanja uslijed infekcije VELG, preporuča se određivanje uporabe zaštitnih sredstava (rukavice, maska za usta i nos, zaštitne naočale, gumirana pregača) za osobe profesionalno izložene VELG (radnici u klaoničkim objektima i doktori medicine veterinarske).

Nadalje, s obzirom da su spoznaje o riziku oboljenja ljudi nakon konzumacije mesa i mlijeka životinja seropozitivnih na VELG manjkave, preporuča se razmatranje o provedbi studije utvrđivanja nepobitnih dokaza o povezanosti infekcije VELG i patoloških stanja u ljudi. Studija bi posebice bila indicirana u odnosu na ljude koji su profesionalno izloženi mogućnosti infekcije VELG. Pri donošenju odluke o provedbi studije u obzir bi trebalo uzeti podatke cost-benefit analize kao i podatke o prevalenciji zaraženih grla i stada u Republici Hrvatskoj te očekivano vrijeme završetka eradikacije ELG.

LITERATURA

1. Balić, D. (2012.) Enzootska leukoza goveda: epizootiološki čimbenici. Dostupno na: <http://veterina.com.hr/?p=14361>
2. Balić, D., Kiš, T., Lohman Janković, I., Roić, B., Lojkić, I., Madić, J., Periškić, M., Škrivanko, M., Lolić, M., Agičić, M. (2013.) Rasprostranjenost enzootske leukoze goveda u Hrvatskoj u razdoblju od 2006. do 2011. s osvrtom na probleme suzbijanja i iskorjenjivanja Veterinarska stanica 44 (4), 261-272.
3. Bender, A. P., Leslie L. Robison, S. V. S. Kashmiri, Kenneth L. McClain, William G. Woods, W. Anthony Smithson, Ruth Heyn, Jonathan Finlay, Leonard M. Schuman, Colleen Renier, Robert Gibson (1988.) No Involvement of Bovine Leukemia Virus in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia and Non-Hodgkin's Lymphoma CANCER RESEARCH 48, 2919-2922, May 15, 1988]
4. Beyer J., Köllner B., Teifke J.P., Starick E., Beier D., Reimann I., Grunwald U. & Ziller M. (2002.) Cattle infected with bovine leukaemia virus may not only develop persistent B-cell lymphocytosis but also persistent Bcell lymphopenia. J. Vet. Med. [B], 49, 270-277.
5. Blair A. (1985.) Leukemia cell types and agricultural practices in Nebraska. Arch Environ Health.40(4):211-4.
6. Buehring G. C. (1997.) Evidence of bovine leukemia virus in human mammary epithelial cells Semin Cell Dev Biol 1997 35: 27A; Abstract V-1001
7. Buehring, G. C., K. Y. Choi and H.M. Jensen. (2001.) Bovine leukemia virus in human breast tissues. Breast Cancer Res, 3 (Suppl 1):A14

8. Buehring G. C., Philpott S. M., Choi K. Y. (2003.) Humans have antibodies reactive with Bovine leukemia virus. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 19:1105-1113.
9. Burmeister T., Schwartz S., Hummel M., Hoelzer D., Thiel E. (2007.) No genetic evidence for involvement of Deltaretroviruses in adult patients with precursor and mature T-cell neoplasms. *Retrovirology* 4:11. PubMed Abstract, BioMed Central
10. Burny, A., Bruck, C., Chantrenne, H., Cleuter, Y., Dekegel, D., Kettmann, R., Lecercq, M., Leunen, J., Mammerickx, M., and Portetelle, D. (1980.) Bovine leukemia virus: molecular biology and epidemiology. In: G Klein (eds) *Viral Oncology*. Raven Press, New York, p 231-289.
11. Burny, A.; Bruck, C.; Cleuter, Y.; Couez, D.; Deschamps, J. and Ghysdael, J. (1984.) Bovine leukemia virus, a distinguished member of the human T-lymphotropic virus family. *Princess Takamatsu Symp*. 15: 219-227.
12. Burny, A.; Bruck, C.; Cleuter, Y.; Couez, D.; Deschamps, J. and Ghysdael, J. (1985.) Bovine leukemia virus, a versatile agent with various pathogenic effects in various animal species. *Cancer Res*. 45: 4578s-4582s.
13. Burny, A., Cleuter Y., Kettmann R., Mammerickx M., Marbaix G., Portetelle D., Van den B. A., Willems L., Thomas R. (1987.) Bovine leukaemia: facts and hypotheses derived from the study of an infectious cancer. *Cancer Surv*, 6:139-159.
14. Burridge M. J. (1981.) The zoonotic potential of bovine leukemia virus. *Veterinary Research Communications*, Volume 5, Issue 1, pp 117-126.
15. Calattini S., Chevalier S. A., Duprez R., Afonso P., Froment A., Gessain A., Mahieux R. (2006.) Human T-cell lymphotropic virus type 3: complete nucleotide sequence and characterization of the human tax3 protein. *J Virol*, 80:9876-9888.
16. Cereda, P. M.; Debiaggi, M. and Romero, E. (1984.) Antibody to bovine leukemia virus in sera from leukemic patients. *Microbiologica* 7: 107-112.
17. Croshaw, J.E. Jr., Abt D. A., Marshak, R.R., Hare, W.C.D. and Switzer, J. (1963.) Pedigree studies in bovine lymphosarcoma. *Ann N.Y. Acad. Sci.*, 10: 1193-11202.
18. Cvetnić, S. (1993.) Serološki nalaz kod enzootske leukoze goveda. *Vet. stn*. 24, 365-366.
19. Cvetnić, S. (1997.) Virusne bolesti životinja. HAZU-Školska knjiga, Zagreb, str. 424-435.
20. DiGiacomo, R. F. (1992.): The epidemiology and control of bovine leukemia virus infection. *Vet. Med*. 87, 248-257.
21. DiGiacomo R.F., Hopkins S.G. (1997.) Food animal and poultry retroviruses and human health. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 13:177-190.
22. Donham, K. J. (1980.) Epidemiologic relationships of the bovine population and human leukemia in Iowa. *Am J Epidemiol.*;112(1):80-92.
23. Dupuy, C., Hendrikx, P., Hardstaff, J., Lindberg, A. (2012.) Contribution of meat inspection to animal health surveillance in bovine animals. Supporting Publications:EN-322. [53 pp.]. Available online: www.efsa.europa.eu/publications

24. Emanuelson, U., K. Scherling and H. Petterson (1992.) Relationship between herd bovine leukaemia virus infection and reproduction, disease incidence and productivity in Swedish dairy herds. *Prev. Vet. Med.* 16, 121-131.
25. European Commission, Health and Consumers (2012.) Bovine and swine diseases 2012 Annual report.
26. FAO (2000.) D. Herenda, P.G. Chambers, A. Ettriqui, P. Seneviratna, T.J.P. da Silva Manual on meat inspection for developing countries. M-25 ISBN 92-5-103304-8. Dostupno na: <http://www.fao.org/docrep/003/t0756e/t0756e03.htm>
27. Fritschi L., Johnson K. C., Kliever E. V., Fry R.; (2002.) Canadian Cancer Registries Epidemiology Research Group. *Animal- Causes Control.* Aug;13(6):563-71 related occupations and the risk of leukemia, myeloma, and non-Hodgkin's lymphoma in Canada.
28. Gillet N., Florins A., Boxus M., Berteau C., Nigro A, Vandermeers F., Balon H., Bouzar A. B., Defoiche J., Burny A., Reichert M., Kettmann R. and Willems L. (2007.) Mechanisms of leukemogenesis induced by bovine leukemia virus: prospects for novel anti-retroviral therapies in human. *Retrovirology, BioMed Central.* 4:18 doi:10.1186/1742-4690-4-18
29. Gonzales, T., M. Licursi, E. Bonzo (2007.): Enzootic bovine leukosis: performance of an indirect ELISA applied in serological diagnosis. *Brazilian J. of Microbiol.* 38, 1-5.
30. Graves D. C. Ferrer J. F. (1976.) In vitro transmission and propagation of the bovine leukemia virus in monolayer cell cultures. *Cancer Res* 36:4152-4159.
31. Grover, Y. P. and Guillemain, B. (1992.) An immunoblotting procedure for detection of antibodies against bovine leukemia virus in cattle. *J. Vet. Med. B.* 39: 48-52.
32. Have P. and Hoff-Jorgensen, R. (1991.) Demonstrating of antibodies against bovine leukemia virus (BLV) by blocking ELISA using bovine polyclonal anti-BLV immunoglobulin. *Vet. Microbiol.* 27: 221-229.
33. Hino, S., Katamine, S., Miyamoto, T., Doi, H., Tsuji, Y., Yamaba, T., Kaplan, J. E., Rudolph, D. L. and Lai, R. B. (1995.) Association between maternal antibodies to the external envelope glycoprotein and vertical transmission of human T-lymphocytic virus type-1. *J. Clin. Invest.* 95: 2920-2925.
34. Howell M. A. (1974.) Factor analysis of international cancer mortality data and per capita food consumption. *Br J Cancer.* Apr;29(4):328-36.
35. Hursting S. D. (1993.) Diet and human leukemia: an analysis of international data. *Prev Med.* May;22(3):409-22.
36. Inabe K., Ikuta K, Aida Y. (1998.) Transmission and propagation in cell culture of virus produced by cells transfected with an infectious molecular clone of bovine leukemia virus. *Virology* 245:53-64.
37. Johnson E. S., Fischman H. R., Matanoski G. M., Diamond E. (1986.a) Occurrence of cancer in women in the meat industry. *Br J Indust Med;* 43: 597-604.

38. Johnson E. S., Dalmas D., Noss J., Matanoski G. M. (1986.b) Cancer mortality among workers in abattoirs and meatpacking plants: an update. *Am J Indust Med* 1995; 27: 389-403.
39. Johnson, R. and J. B. Kaneene (1992.) Bovine leukemia virus and enzootic bovine leukosis. *Vet.Bull.* 62, 287-312.
40. Johnson E. S., Nicholson L. G., Durack D. T. (1995.) Detection of antibodies to avian leucosis/sarcoma viruses (ALSV) and reticuloendotheliosis viruses (REV) in humans by ELISA. *Cancer Det Prev* 19: 394-404.
41. Johnson E. S., Griswold C. M. (1996.) Oncogenic retroviruses of cattle, chickens and turkeys: potential infectivity and oncogenicity for humans. *Med Hypotheses* 46: 354-6.
42. Kabeya H., Ohashi K., Onuma M. (2001.) Host immune responses in the course of bovine leukemia virus infection. *J Vet Med Sci.* Jul;63(7):703-8.
43. Knežević, D., Njari B. (2009.) *Proizvodnja hrane i zoonotski virusi, Meso, Vol. XI No. 6.* 352-359
44. Kristensen P. (1996.) Incidence and risk factors of cancer among men and women in Norwegian agriculture. *Scand J Work Environ Health.* Feb;22(1):14-26.
45. Leisering, A. (1871.) *Ber Vet-Wes Kgr Sachn.* 16:15
46. Levin, H. A. (1989.) Disease resistant and immune response genes in cattle: Strategies for their detection and evidence of their existence. *J. Dairy Sci.* 72: 1334-1348.
47. Lojkić, M., Ž. Čač, L. Jemeršić, B. Roić, I. Lojkić (2000.): Epizotičko stanje i mjere suzbijanja enzootske leukoze goveda. *Praxis Vet.* 48,151-161
48. Lojkić, M. (2001): Enzootska leukoza goveda. *MPŠRH: Tečaj: Bruceloza, tuberkuloza i enzootska leukoza goveda.* Str. 121-135.
49. Lugović, B., J. Madić, M. Lojkić i S. Cvetnić (1989): Upotreba ELISA s monoklonskim protutijelima za dijagnosticiranje enzootske leukoze goveda pretragom seruma i mlijeka. *Praxis vet.* 37, 8-14.
50. Madić, J. i Cvetnić S. (2000.): Životinjski retrovirusi i ljudsko zdravlje. *Praxis vet.* 48, 191-196.
51. Mahieux R, Gessain A. (2005.) New human retroviruses: HTLV-3 and HTLV-4]. *Med Trop (Mars)* 65:525-528
52. McClure, H.M.; Keeling, M.E.; Custer, R.P.; Marshak, R.R.; Abt, D.A. and Ferrer, J.F. (1974.) Erythroleukemia in two infant chimpanzees fed milk from cows naturally infected with the bovine C-type virus. *Cancer Res.* 34:2745-2757.
53. Maes, S., U. Tatsufumi, K. Ohashi, C. Sugimoto and M. Onuma (2002.): Vertical transmission of bovine leukemia virus and bovine immunodeficiency virus in dairy cattle herds. *Vet. Microbiol.* 84, 275-282.
54. Mesa G., Ulloa J. C., Uribe A. M, Gutierrez M. F. (2013.) Bovine Leukemia Virus Gene Segment Detected in Human Breast Tissue. *Open Journal of Medical Microbiology.* 3, 84-90
doi:10.4236/ojmm.2013.31013 (<http://www.scirp.org/journal/ojmm>)

55. Milan D., Nicolas J. F. (1991.) Activator-dependent and activator-independent defective recombinant retroviruses from bovine leukemia virus. *J Virol* 65:1938-1945.
56. Miller J. M., Miller L. D., Olson C., Gillette K. G. (1969.) Virus-like particles in phytohemagglutinin-stimulated lymphocyte cultures with reference to bovine lymphosarcoma. *J Natl Cancer Inst.*;43:1297-1305.
57. Miller, J.M. and Van der Maaten, M.J. (1979.) Infectivity tests of secretions and excretions from cattle infected with bovine leukemia virus. *J. Natl. Cancer Inst.* 52:425-428.
58. Ministarstvo poljoprivrede (2012.) Enzootska leukoza goveda (ELG) u Hrvatskoj - javna rasprava o nastavku programa iskorjenjivanja u 2013. godini. (Acinger Rogić, Ž., Kiš, T., Sućec, I.; ppt)
59. Monti, G., R. Schrijver and D. Beier (2005.) Genetic diversity and spread of bovine leukaemia virus isolates in Argentine dairy cattle. *Arch. Virol.* 150, 443-458.
60. Murphy, F. A. (1999.) *Veterinary Virology*. 3 edition, Academic Press: San Diego, Calif. pp: 363-373, 383-384.
61. Nikbakht, Gh.; Rabbani, M.; Emam, M. and Rezaatofghi, E. (2010.) Serological and genomic detection of bovine leukemia virus in human and cattle samples. *Int.J.Vet.Res.* 4; 4: 253-258.
62. Naputak o načinu provođenja mjera kontrole zdravlja životinja propisanih naredbom o mjerama zaštite životinja od zaraznih i nametničkih bolesti i njihovom financiranju u 2013. godini („Narodne novine“, br. 26/13).
63. Naredba o mjerama zaštite životinja od zaraznih i nametničkih bolesti i njihovom financiranju u 2013. godini („Narodne novine“, br. 03/13).
64. Njari, B., J. Madić (1993.) Značenje virusa za higijenu namirnica animalnog podrijetla. Znanstveno- stručni sastanak: Veterinarska znanost i struka, Zagreb, 24. i 25. lipnja, Zbornik sažetaka radova, str. 73.
65. Njari, B., J. Živković, J.Madić, B. Mioković (1996.) Virusi u namirnicama životinjskog podrijetla i veterinarsko javno zdravstvo. 1. hrvatski kongres. Cavtat, 2.-5. listopada. Zbornik radova, 95.-102.
66. Njari, B., J. Madić, M. Hadžiosmanović, B. Mioković (2001.) Virusi uzročnici zoonoza u namirnicama animalnog podrijetla. Croatian and Slovenian Symposium on Microbiology and infectious diseases "Zoonoses today and tomorrow". Plitvička jezera. 21.-23 June, 2001. Abstracts, p. 98.
67. OIE (2012) OIE Terrestrial Manual 2012, Chapter 2.4.11. — Enzootic bovine leukosis.
68. Olson C., Miller J.: (1987.) Enzootic bovine leukosis and bovine leukemia virus. Martinus Nijhoff Publishing, Boston:3.
69. Oroszlan, S.; Copeland, T.D.; Rice, N.R.; Smythers, G.W.; Tsai, W.P. and Yoshinaka, Y. (1984.) Structural and antigenic characterization of the proteins of human T-cell leukemia viruses and their relationships to the gene products of other retroviruses. Princess Takamatsu Symp. 15: 147-157.

70. Perzova R. N., Loughran T. P., Dube S., Ferrer J., Esteban E., Poiesz B. J. (2000.) Lack of BLV and PTLV DNA sequences in the majority of patients with large granular lymphocyte leukaemia. *Br J Haematol* 109:64-70.
71. Pravilnik o mjerama za suzbijanje i iskorjenjivanje enzootske leukoze goveda („Narodne novine“, br. 30/12).
72. Pravilnik o veterinarskim uvjetima za stavljanje u promet goveda i svinja („Narodne novine“, br. 71/12).
73. Reif J. (1989.) Cancer risks in New Zealand farmers. *Int J Epidemiol.* Dec;18(4):768-74.
74. Rice N. R., Stephens R. M., Couez D., Deschamps J., Kettmann R., Burny A., Gilden R.V.: (1984.) The nucleotide sequence of the env gene and post-env region of bovine leukemia virus. *Virology*, 138:82-93.
75. Rosen, C. A., Sodroski, J. G., Kettaman, R., Burny, A. and Haseltine, R. A. (1985.) Trans activation of the bovine leukemia virus long terminal repeat in BLC-infected cells. *Science*, 227:320-322.
76. Sabrina M. Rodriguez, Marcelo D. Golemba, Rodolfo H. Campos, Karina Trono and Leandro R. Jones (2009.) Bovine leukemia virus can be classified into seven genotypes: evidence for the existence of two novel clades. *Journal of General Virology*. 90, 2788–2797.
77. Sagata, N.; Yasunaga, T.; Ohishi, K.; Tsuzuku-Kawamura, J.; Onuma, M. and Ikawa, Y. (1984.) Comparison of the entire genomes of bovine leukemia virus and human T-cell leukemia virus and characterization of their unidentified open reading frames. *EMBO J.* 3: 3231-3237.
78. Sagata, N., Yasunaga, T., Tsuzuku-Kawamura, J., Ogawa, Y. and Ikawa, Y. (1985.) Complete nucleotide sequence of the genome of bovine leukemia virus: its evolutionary relationship to other retroviruses. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 25: 677-681.
79. Slavikova, K.; Kettmann, R.; Reinerova, M.; Zajac, V.; Portetelle, D. and Burny, A. (1987.) Provirus integration of bovine leukemia virus into DNA of infected human myeloma cells. *Neoplasma* 34: 653-657.
80. Stoye, J. P., J. Blomberg, J. M. Coffin, H. Fan, B. Hahn, J. Neil, S. Quackenbush, A. Rethwilm and M. Tristem (2012): Family Retroviridae. In: *Virus Taxonomy* (KING, A. M. K., M. J. ADAMS, E. B. CARSTENS, E. J. LEFKOWITZ, eds.), pp. 477-495.
81. Trainin Z, Brenner J. (2005.) The direct and indirect economic impacts of bovine leukemia virus infection on dairy cattle. *Isr J Vet Med.*;60:90–105.
82. Tyler, L. (1978) Enzootic bovine leukosis. *Vet Rec*; 103: 194-198.
83. Uredba (EZ) br. 854/2004.
84. Van Eijk, M.J. T., Stewart, J.A., Beever, J.E. Fernando, R.L. and Lewin, H.A. (1992.) Development of persistent lymphocytosis in cattle is closely associated with DRB2. *Immunogenetics*, 37: 64-68.

85. Walker, P. J. Molloy, J. B. and Rodwell, B. J. (1987.) A protein immunoblot test for detection of bovine leukemia virus p24 antibody in cattle and experimentally infected sheep. *J. Virol. Methods*. 15: 201-211.
86. Willems L., Burny A., Dangoisse O., Collete D., Dequiedt F., Gatot J. S., Kerkhofs P., Lefebvre L., Merezak C., Portetelle D., Twizere J. C., Kettmann R. (1999.) Bovine leukemia virus as a model for human T-cell leukemia virus. *Current Topics in Virology*:139-167.
87. Wolfe N. D., Heneine W., Carr J. K., Garcia A. D., Shanmugam V., Tamoufe U., Torimiro J. N., Prosser A. T., Lebreton M., Mpoudi-Ngole E., McCutchan F. E., Bix D. L., Folks T. M., Burke D. S., Switzer W. M. (2005.): Emergence of unique primate T-lymphotropic viruses among central African bushmeat hunters. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 102:7994-7999.
88. Wyatt, C. R.; Wingett, D.; White, J.S.; Buck, C. D.; Knowles, D. and Reeves, R. (1989.) Persistent infection of rabbits with bovine leukemia virus associated with development of immune dysfunction. *J. Virol*. 63: 4498-4506..
89. Xu, A., Van, Eijk, M.J.T. Park, C. and Lewin, H.A. (1993.) Polymorphism in BoLa-DRB3 exon-2 correlates with resistance to persistent lymphocytosis caused by bovine leukemia virus. *J. Immunol*. 151: 6977-6985.
90. Yoshinaga, M., Yashiki, S., Oki, T., Fujiyoshi, T., Nagata, Y. and Sonoda, S. (1995.) A maternal risk factor for mother-to-child HTLV-1 transmission: viral antigen-producing capacities in culture of peripheral blood and breast milk cells. *Jpn. J. Cancer Res*. 86: 649-654.
91. Zakon o veterinarstvu („Narodne novine“, br. 82/13).