



Република Србија
МИНИСТАРСТВО ПОЉОПРИВРЕДЕ,
ШУМАРСТВ И ВОДОПРИВРЕДЕ

- Управа за ветерину -
Број: 323-07-03772/2021-05/9
Датум: 30.07.2021. године
Београд

**ПЛАН ЗА СПРОВОЂЕЊЕ МОНИТОРИНГА
НА БОЛЕСТ ЗАПАДНОГ НИЛА**

Овим Планом ближе се дефинише спровођење мониторинга код коња, птица и вектора вируса (комарци, нарочито врста *Culex pipiens*) на болест западног Нила (у даљем тексту: БЗН), прописаног Правилником о утврђивању Програма мера здравствене заштите животиња за 2021. годину (Сл. Гласник РС, број: 36/2021).

У циљу раног откривања, праћења и сузбијања БЗН, као и присуства вируса у природним резервоарима и обезбеђивање правовремене процене ризика о могућем преношењу и ширењу вируса на пријемчиве животиње и хуману популацију, спроводиће се активни и пасивни надзор код пријемчивих врста животиња и вектора вируса. Програм надзора спроводиће се у периоду од августа до децембра, у складу са овим Планом.

I Методологија спровођења надзора:

1. Активни надзор:

- серолошко испитивање одабраних коња (индикатор јединке одабране случајним избором за потребе мониторинга са одређеног подручја у одређеном времену код којих ће се испитивати присуство *IgM* антитела у узорку крвног серума као доказ акутне-скорашње инфекције БЗН);

- испитивање присуства вируса у узорцима популације векторских комараца (нарочито врста *Culex pipiens*, која се у преко 99% случајева показала као најчешћи вектор вируса БЗН на нашим просторима) ухваћених посебним клопкама у периоду године са највећом активности вектора;

- испитивањем присуства вируса у узорцима прикупљених угинулих или плански одстрелених пријемчивих врста дивљих птица или у узорцима ждрелних брисева живих ухваћених пријемчивих врста дивљих птица у периоду од августа до децембра.

2. Пасивни надзор:

Серолошко (испитивање парних узорака серума) и вирусолошко испитивање узорака коња оболелих са знацима поремећаја централног нервног система.

3. Одабир места узорковања:

Дистрибуцију и одабир места узорковања обавља епизоотиолошка служба надлежног научног или специјалистичког ветеринарског института за своје епизоотиолошко подручје, на основу процене ризика од изложености вирусу БЗН, при чему је потребно водити рачуна о:

- 1) постојећим резултатима серолошких и вирусолошких испитивања из претходних сезона;
- 2) присуству подручја погодних за развој комараца (баре, реке, водотокови, канали и сл.);
- 3) насељеним местима у којима су регистровани случајеви обољења људи.

На основу досадашњих сазнања о присуству и кружењу вируса БЗН у Републици Србији (хуманих случајева болести од 2012. до 2020.године и налаза вируса БЗН у комарцима и дивљим птицама добијених током мониторинга од 2014. до 2019. године), извршена је подела подручја, по управним окрузима, у односу на ризик од појаве инфекције БЗН (Табела 1 овог Плана).

Табела 1. Подела подручја у односу на ризик од појаве БЗН:

| Посебно ризична подручја | Мање ризична подручја |
|--------------------------------|--------------------------|
| Северно-бачки управни округ | Шумадијски управни округ |
| Западно-бачки управни округ | Борски управни округ |
| Јужно-бачки управни округ | Зајечарски управни округ |
| Северно-банатски управни округ | Моравички управни округ |
| Средње-банатски управни округ | Расински управни округ |
| Јужно-банатски управни округ | Нишавски управни округ |
| Сремски управни округ | Топлички управни округ |
| Град Београд | Пиротски управни округ |
| Подунавски управни округ | Јабланички управни округ |
| Браничевски управни округ | Пчињски управни округ |
| Мачвански управни округ | |
| Колубарски управни округ | |
| Рашки управни округ | |
| Златиборски управни округ | |
| Поморавски управни округ | |

II Активни надзор

Активни надзор обухвата серолошки и вирусолошки надзор.

1. Серолошки надзор:

Серолошки надзор подразумева испитивање крвних серума одабраних коња, т.ј. индикатор јединки. Позитиван налаз на присуство специфичних антитела *IgM* класе указује на акутну (скорашњу) инфекцију вирусом БЗН (не старију од 3 месеца). Серолошка испитивања ће се спроводити употребом ЕЛИСА теста у надлежним научним или специјалистичким ветеринарским институтима.

Одговарајућим и прихватљивим узорком крви индикатор јединки, а у складу са потребама и циљевима које има овај програм надзора, сматра се било који узорак крви коња, узет у планираном временском периоду (месецу) и на планираном подручју (округу), без обзира на примарни разлог узорковања крви (анализе на инфективну анемију, преглед за потребе учешћа на изложби, смотри, тркама, и сл.), који се додатно и накнадно испитује и ЕЛИСА техником (применом одговарајућег ЕЛИСА кита-теста) на присуство специфичних антитела *IgM* класе против вируса БЗН.

У високо ризичним окрузима (Табела 1. овог Плана) - Серолошко испитивање узорака крвних серума одабраних коња подразумева испитивање (и узорковање по потреби) до 40 узорака коња месечно са што више локација (минимално 8) у по сваком за инфекцију ризичном округу (Табела 1. и 2. овог Плана).

У окрузима са мањим ризиком (Табела 1. овог Плана) - Серолошко испитивање узорака крвних серума одабраних коња подразумева испитивање (и узорковање по потреби) до 20 узорака коња месечно са што више локација (минимално 5) у по сваком за инфекцију

мање ризичном округу (Табела 1. и 2. овог Плана).

Узорковање и испитивање вршити сукцесивно током два месеца највеће активности вектора вируса, и то:

- I узорковање/испитивање – током августа;
- II узорковање/испитивање – током септембра;

За испитивања се првенствено требају искористити узорци коња достављени институтима ради других испитивања, и тек уколико број узорака није задовољавајући, потребно је извршити додатно узорковање и испитивање. За надзор је добро али није обавезно вршити тестирања истих животиња током сукцесивних испитивања.

За потребе испитивања могућности укључивања других врста животиња као сетинел животиња за серолошки надзор у овом програму мониторинга, извршиће се серолошко испитивање крвних серума ограниченог броја говеда (узраста 6 до 8 месеци) са подручја два округа из посебно ризичних подручја ЕЛИСА тестом на присуство специфичних антитела *IgG* класе против вируса БЗН.

Окрузи где ће се вршити додатно тестирање су Јужнобанатски округ као изразито високо ризичан округ са високим степеном циркулације вируса и Рашки округ са мањим интензитетом циркулације вируса у којем се појављује циркулација ВЗН али релативно слабог интензитета. Извршиће се прикупљање укупно до 100 узорака по округу.

Узорковање се врши од старије телади тј младих јунади/јуница, односно животиња узраста од 6 до 8 месеци (не узимати узорке од телади млађе од 6 месеци) у периоду када програм почиње у августу, како би се избегла могућност да су антитела пореклом од инфекције из претходне 2020.године, а и евентуални матернални имунитет, који већ не постоји код јединки старијих од 4 месеца. Не узимати узорке од телади млађе од 6 месеци.

Потребно је да се испита 50 јединки већ наведеног узраста по округу и то са најмање 10 локалитета и да се испитију једном у августу и једном у септембру (могу да се узоркују и исте јединке или пак јединке одговарајућег узраста са истих локалитета, јер се сматра да су све јединке узраста 6 до 8 месеци биле сигурно серонегативне пре надзора).

Узорци за додатна тестирања других врста (говеда) прикупљају се од стране ветеринарских станица односно епизоотиолошке службе надлежног института а у складу са посебним планом који израђује надлежни ветеринарски институт са наведени округ. Посебне Планове и извештаје о спроведеним активностима и резултатима испитивања надлежни институт доставља Управи за ветерину као и Националној референтној лабораторији ВСИ „Краљево“.

2. Вирусолошки надзор:

Вирусолошки надзор подразумева узорковање и испитивање органа и ткива угинулих или одстрелених, односно ждрелних брисева ухваћених живих дивљих птица пријемчивих врста, као и збирних узорака јединки комараца вектора (врста *Culex pipiens*) на присуство вируса БЗН.

Присуство вируса ће се испитивати и у узорцима мозга и ликвора коња који су угинули са клиничким знацима неуролошких поремећаја.

Вирусолошка испитивања ће се спроводити употребом молекуларних метода (*real-time RT-PCR* или *RT-PCR*) у референтној лабораторији Ветеринарског специјалистичког института „Краљево“ из Краљева, Научном институту за ветеринарство Србије из Београда и Научном институту за ветеринарство „Нови Сад“ из Новог Сада. Ветеринарски институти достављају узорке на испитивања према следећој територијалној организацији:

| НИВ СРБИЈЕ БЕОГРАД | НИВ „НОВИ САД“ | ВСИ „КРАЉЕВО“ |
|------------------------------|----------------------------|----------------------------|
| НИВ Србије Београд | НИВ „Нови Сад“ Нови Сад | ВСИ „Краљево“ Краљево |
| ВСИ „Пожаревац“ Пожаревац | ВСИ „Суботица“ Суботица | ВСИ „Ниш“ Ниш |
| ВСИ „Шабац“ Шабац | ВСИ „Сомбор“ Сомбор | ВСИ „Јагодина“ Јагодина |
| | ВСИ „Зрењанин“ Зрењанин | ВСИ „Зајечар“ Зајечар |
| | ВСИ „Панчево“ Панчево | |

2.1. Вирусолошки надзор код дивљих птица:

Угинуле птице, нарочито немиграторне врсте и то оне које су најпријемчивије за инфекцију вирусом БЗН (*Corvidae* - свраке, вране, гачци, гаврани и сл., грабљивице - посебно јастребови, соколови, орлови и птице певачице) нађене у природи или угинуле у рехабилитационим центрима, као и угинули соколови, орлови, јастребови и друге грабљивице по зоолошким вртovima или одгајивачницама, испитују се у ВСИ „Краљево“, НИВ Србије и НИВ „Нови Сад“ ради утврђивања присуства вируса БЗН. Код масовнијих угинућа птица на једном локалитету неопходно је пре испитивања на присуство БЗН искључити вероватноћу тровања.

Прикупљање узорака угинулих птица и њихово тестирање на присуство вируса БЗН врши се у периоду од августа до децембра у окрузима високог ризика за инфекцију (Табела 1. и 2. овог Плана), односно у периоду од августа до октобра на подручјима округа мањег ризика од ифекције (Табела 1. и 2. овог Плана).

У случају немогућности налаза и лабораторијског тестирања угинулих птица, узорковање се може спровести или планским одстрелом дивљих птица високо ризичних на инфекцију вирусом БЗН из породице *Corvidae* (сива врана, сврака), у сарадњи са ловачким удружењима или хватањем у природи (не у зоолошким вртovima и фармском одгоју) живих дивљих птица високо ризичних на инфекцију вирусом БЗН (птице певачице или *Corvidae* – вране, свраке) и узимањем узорака ждрелних брисева и то у окрузима са високим ризиком од инфекције у периоду од августа до децембра односно у периоду од августа до октобра на подручјима округа мањег ризика од ифекције (Табела 1. и 2. овог Плана)..

За чување и транспортовање узорака до надлежне лабораторије која ће вршити тестирање неопходно је обезбедити одржавање хладног ланца (на леду или смрзнути). Узорци угинулих и одстрелених дивљих птица (мозак и паренхиматозни органи) и ждрелни брисеви у природи ухваћених живих птица се испитују на присуство вируса БЗН молекуларним методама (*real-time RT-PCR* или *RT-PCR*).

2.2 Вирусолошки надзор комараца вектора вируса:

На присуство вируса БЗН испитују се комарци вектори врсте *Culex pipiens* молекуларним методама (*real-time RT-PCR* или *RT-PCR*) у ВСИ „Краљево“, НИВ Србије и НИВ „Нови Сад“ ради утврђивања присуства вируса БЗН. Узорци комараца се испитују као збирни узорак (од 50 до 100 јединки у пулу).

Прикупљање комараца врши се клопкама за комарце у периоду њихове интензивније активности (август- октобар) на локалитетима погодним за развој комараца (баре, реке, водотокови, канали и слично) а у близини пријемчивих врста животиња (штала коња и фарми живине), познатих позитивних локалитета утврђених из претходних година надзора, као и локалитета са утврђеним инфекцијама код људи, од стране епизоотиолошке службе надлежних института.

У окрузима високог ризика, прикупљање се врши на 10 локалитета распоређених по целом подручју тих округа - укупно 4 узорковања (Табеле 1. и 2. овог Плана), и то:

- I узорковање – почетак августа
- II узорковање – крај августа;
- III узорковање – прва половина септембра;
- IV узорковање – крај септембра/ почетком октобра;

У окрузима мањег ризика, прикупљање се врши на 5 локалитета распоређених по целом подручју тих округа - укупно 4 узорковања (Табеле 1. и 2. овог Плана), и то:

- I узорковање – почетак августа
- II узорковање – крај августа;
- III узорковање – прва половина септембра;
- IV узорковање – крај септембра/ почетком октобра;

За комарце ухваћене CO₂ и другим замкама у нативном стању (без течности) неопходно је обезбедити што брже хлађење (смрзавање) и транспортовање на испитивање у смрзнутом стању (најбоље је на сувом леду ако је доступан).

Табела 2. Приказ плана надзора (узорковања и испитивања)

| | Посебно ризична подручја | Мање ризична подручја |
|--|---|--|
| 1. Испитивања одабраних коња за спровођење мониторинга | | |
| Надзор одабраних коња | Серолошка испитивања до 40 одабраних коња месечно узоркованих са најмање 8 локалитета по округу у надлежном институту. Испитивање (и узорковање по потреби) крви одабраних коња спровести током два месеца (август-септембар) | Серолошка испитивања до 20 одабраних коња узоркованих са најмање 5 локалитета по округу у надлежном институту. Испитивање (и узорковање по потреби) крви одабраних коња спровести током два месеца (август-септембар) |
| 2. Испитивање присуства вируса у природним резервоарима и векторима | | |
| Надзор над присуством вируса код дивљих птица | Применом <i>RT-PCR</i> или <i>real time RT-PCR</i> методологије у узорцима до 30 нађених угинулих пријемчивих врста птица по округу од августа до децембра или (ако нема угинулих) одстрељених законом не заштићених или у природи ухваћених живих пријемчивих врста дивљих птица по округу током периода август – децембар (до укупног броја од 40 узорака по округу за тај период). | Применом <i>RT-PCR</i> или <i>real time RT-PCR</i> методологије у узорцима до 20 нађених угинулих пријемчивих врста дивљих птица по округу током периода август - октобар. |
| Надзор над присуством вируса у векторима комарацима (<i>Culex pipiens</i>) | Сакупљање комараца једном до два пута месечно у периоду август-октобар на 10 локалитета распоређених по целом округу и испитивање применом <i>RT-PCR</i> или <i>real time RT-PCR</i> методологије (4 узорковања почевши од почетка августа до краја септембра/почетка октобра) | Сакупљање комараца једном до два пута месечно у периоду август-октобар на 5 локалитета по округу и испитивање применом <i>RT-PCR</i> или <i>real time RT-PCR</i> методологије (4 узорковања почевши од почетка августа до краја септембра/почетка октобра) |

III Пасивни надзор

Пасивни надзор обухвата обавезно испитивање свих коња који испољавају неуролошке сметње и то серолошким испитивањем парних узорак крвних серума узоркованих у интервалу од 3 до 4 недеље на присуство специфичних антитела *IgM* класе против вируса БЗН у надлежном научном или специјалистичком ветеринарском институту. У случајевима угинућа оболелих коња, на лабораторијско тестирање је неопходно послати узорак ткива мозга и ликвор ради испитивања присуства вируса БЗН применом *RT-PCR* или *real time RT-PCR* методологије.

IV Начин узорковања и дистрибуција узорака

За серолошка испитивања ће се искористити узорци коња достављени институтима ради других испитивања уз обезбеђење основних епизоотиолошких и анамнестичких података. Додатна узорковања, ради остварења прорачунатог броја узорака крви одабраних коња са подручја неког округа, према наведеним диспозицијама у плану мониторинга спровешће, уз узимање основних епизоотиолошких и анамнестичких података, епизоотиолошка служба специјалистичких и научних ветеринарских института у сарадњи са надлежном ветеринарском станицом. За надзор је пожељно али није неопходно вршити тестирања истих животиња током сукцесивних месечних испитивања.

Епизоотиолошке службе надлежних института ће вршити и прикупљање узорака лешева угинулих и одстрелених, као и ждрелних брисева ухваћених живих дивљих птица и комараца на својим подручјима и слање тих узорака у ВСИ „Краљево“, НИВ Србије и НИВ“Нови Сад“, према територијалној расподели датај за вирусолошки надзор.

Узорке за лабораторијско испитивање мора пратити „Упут за слање материјала“ (Прилог 1. овог Плана). Поменути Упут мора да садржи све релевантне податке (датум узорковања, име и/или број чипа коња, име и презиме власника и број / адресу газдинства за узорке коња, односно датум узорковања, **латински назив дивље птице**, локалитет узорковања / ГПС координате, врста узорка за дивље птице и друге податке наведене у „Упуту за слање материјала“ (Прилог 1. овог Плана)). Сви узорци се морају пријавити/евидентирати у бази СМТС (за дивље птице је обавезно навођење латинског назива).

Уколико се током тестирања утврди позитиван серолошки налаз на присуство специфичних антитела *IgM* класе код одабраних индикатор коња, односно утврди присуство вируса БЗН код дивљих птица, комараца или коња, **одмах и без одлагања, пријављује се сумња** на присуство вируса БЗН, достављањем Дописа пријаве сумње и лабораторијског извештаја 1) Управи за ветерину (скенирани документи *e-mail*-ом - tatjana.labus@minpolj.gov.rs и bolestzapadnognila@gmail.com, оригинали службеном поштом) и 2) надлежном ветеринарском инспектору.

Узорци коју су позитивни или сумњиви на присуство вируса БЗН, шаљу се у националну референтну лабораторију за БЗН - ВСИ „Краљево“, ради спровођења потврдних испитивања. Уколико ова лабораторија добије позитиван налаз, односно утврди присуство вируса БЗН, **одмах и без одлагања пријављује појаву болести** и доставља Допис пријаве болести и лабораторијски извештај (**не треба вршити експедицију налаза/извештаја Управи за ветерину (потврду у СМТС) док се не добију резултати потврдних испитивања из референтне лабораторије**) 1) Управи за ветерину (скенирани документи *e-mail*-ом - tatjana.labus@minpolj.gov.rs и bolestzapadnognila@gmail.com, оригинали службеном поштом), 2) надлежном ветеринарском инспектору и 3) пошиљаоцу узорка. Све резултате потврдних испитивања ВСИ Краљево шаље институту који је наручио испитивања (пошиљаоцу узорка), који је у обавези да потврђен позитиван налаз убаци/експедује у СМТС апликацију. Исти поступак се спроводи и за узорке крвних серума одабраних коња за

које се утврди да су позитивни на присуство антитела *IgM* класе против вируса БЗН.

Узорке крвних серума коња за које се утврди да су позитивни на присуство антитела *IgM* класе против вируса БЗН, као и узорке дивљих птица и комараца за које се утврди да су позитивни на присуство вируса БЗН, неопходно је чувати замрзнуте за потребе даљих испитивања (укључујући и позитивне узорке на вирус БЗН оболелих или уинулих коња испитаних током пасивног надзора).

Узорке коња (репрезентативан број по округу или све) пожељно је сачувати одређено време у банци серума института (један узорак за једну животињу) у циљу даљих испитивања на поједине болести коња уз обележавање узорка и вођење евиденције (идентификациони број животиње, подаци о газдинству и др.).

Узорке комараца (репрезентативан број: 20% свих прикупљених по округу неовисно од врсте комараца) је потребно сачувати дубоко смрзнуте (-80°C) у циљу евентуалних даљих испитивања на поједине заразне и зоонозне патогене уз обележавање узорка и вођење евиденције (подаци о врсти комараца, локацији и години узоровања и др.).

За надзор над дивљим птицама и комарцима, као технички компликованијих сегмената надзора, потребно је предходно обезбедити следеће услове:

1. сагласност за хватање и узорковање дивљих птица;
2. учешће квалификованих орнитолога, односно најмање сертификованог прстеновача дивљих птица, за рад на терену и тачну идентификацију врста дивљих птица, од којих се узима узорак;
3. сарадњу и рад са ловачким удружењима или организацијама;
4. легалне, односно пријављене наменске мреже за хватање дивљих птица;
5. сарадњу са невладиним организацијама које се баве орнитологијом;
6. учешће квалификованих ентомолога за тачну идентификацију врста и пуловање замкама ухваћених комараца, који ће се испитивати на присуство вируса БЗН и по потреби рад на терену на њиховом сакупљању;
7. довољан број адекватних клопки специјализованих за хватање комараца вектора (*Culex pipiens*);
8. суви лед, који се користи као атрактант у клопкама и на коме се врши чување и транспорт сакупљених узорака комараца до лабораторије.

Како би се обезбедила несметана и правовремена реализација надзора БЗН, у случају, да неки ветеринарски институт не може да испуни набројане услове, односно нема потребне ресурсе за технички компликованије и сложеније радње (надзор над дивљим птицама и комарцима векторима), укључујући и предуслове за вршење лабораторијских испитивања, потребно је да одмах писаним путем обавести Управу за ветерину, и достави сагласност другог института који ће евентуално преузети надзор на епизоотиолошком подручју тог института и координисати реализацију активности.

V Извештаји и фактурисање

Сви научни и специјалистички ветеринарски институти, до 10. у месецу за предходни месец, достављају *Извештај о обиму узорковања и резултатима испитивања по окрузима а за целокупну територију НИВ/ВСИ* (Прилог 2 овог Плана) и *Извештај о резултатима ентомолошких испитивања по окрузима за целокупну територију НИВ/ВСИ* (Прилог 5 овог Плана), као и Збирни месечни извештај из СМТС-а, који садржи податке о пореклу свих узорака и резултатима испитивања за тај месец (на нивоу округа, општине и насељеног места).

Национална референтна лабораторија доставља и *Извештај Националне референтне лабораторије о обиму и резултатима потврдних испитивања* (Прилог 3 и 4 овог Плана), са резултатима потврдних испитивања по институтима, врстама испитивања и врстама узорака.

Такође, сваки институт доставља и *фактуру* о обављеним пословима насловљеном на Министарство пољопривреде и заштите животне средине - Управи за ветерину, ул. Омладинских бригада бр.1, 11070 Нови Београд.

Најкасније до 30 јануара 2022. године сви научни и специјалистички ветеринарски институти достављају *Завршни извештај о свим спроведеним активностима по питању овог мониторинга током 2021. године* Управи за ветерину и Националној референтној лабораторији ВСИ „Краљево“. Овај завршни извештај обавезно садржи извештај о обиму узорковања и резултатима испитивања по програму мониторинга БЗН (Прилог 2 овог Плана), са збирним подацима за 2021. годину, приказани за сваки округ посебно, на територији подручног института, на месечном нивоу и збирно (Прилог 2, 3 и 4 овог Плана).

Институти на чијем подручју се врше и додатна испитивања других врста достављају посебне извештаје о спроведеним активностима и резултатима испитивања на говедима.

Коначни извештај о овом мониторингу у облику елабората, уз детаљну анализу свих података, припремиће ВСИ „Краљево“, у координацији са НИВ Србије, НИВ „Нови Сад“ и другим институтима.

VI Ценовник услуга:

1. Узорковање:

- циљне дивље птице (убијене/угинуле), узорак цео леш: 1.000,00 дин;
- циљне дивље птице (ухваћене/живе), узорак ждрелни брис: 1.500,00 дин. (*допуна предходне ставке и само уколико нема угинулих/одстрелиених птица у ризичним подручјима*);
- коњи и говеда (крв): 300,00 динара (само по потреби уколико нема довољан број узорака серума коња односно крви говеда достављених институтима ради других испитивања);
- комарци, збирни узорак сакупљен на једној локацији у току 24 сата: 1.500,00 динара

2. Лабораторијска испитивања:

- ЕЛИСА са дијагностичким средством: 1.750,00 динара;
- RT-PCR или real time RT-PCR: 3.500,00 динара;
- ентомолошка испитивања: 500,00 динара по узорку (пулу од 50 до 100 јединки) за тестирање.
- ЕЛИСА са дијагностичким средством за испитивање говеда: 900 динара



В.Д. ДИРЕКТОРА

Емина Милакара
Емина Милакара