

Bruceloza u morskih sisavaca (II. dio)



Ž. Cvetnić*, Maja Zdelar -Tuk, Sanja Duvnjak, Martina Đuras,
T. Gomerčić, Irena Reil i S. Špičić

Uvod

U kopnenih sisavaca bruceloza je najčešće povezana s patologijom reproduktivnih organa (placentitisom, orhitisom, epididimitisom), a u ženskih životinja najčešći klinički znak je pobačaj. O kliničkoj slici morskih sisavaca zbog nemogućnosti sustavnog praćenja postoji malo informacija. Nepoznata je inkubacija u inficiranih životinja. Reproductive je probleme u morskih sisavaca teško procijeniti, ali je *Brucella* izdvojena iz reproduktivnih organa nekih vrsta. U rijetkim slučajevima patološke promjene mogu prouzročiti i kliničke promjene (Miller, 2007., cit. Guzman-Verri i sur., 2012.).

U većini slučajeva izolati brucela izdvojeni su iz nasukanih sisavaca, uglavnom iz reda kitova, koji su u kritičnom zdravstvenom stanju ili su već uginuli (Davison i sur., 2009.). Zato je teško točno odrediti koja su karakteristična svojstva prije svega vezana uz brucelozu i utvrditi kliničke i patološke znakove izravno vezane uz infekciju brucelom (Gonzales-Barrientos i sur., 2010.). Mnogi nasukani morski sisavci općenito su domaćini parazitima u raznim organima s mnoštvom patoloških lezija. Uz neke od tih ozljeda i sami paraziti mogu biti

vezani uz primarne bolesti, druge mogu biti prouzročene sekundarnim uzrocima poput različitih trauma, ali i organskim onečišćivačima (Davison i sur., 2011., Oliveira i sur., 2011.). Za očekivati je da će takve patološke lezije štetiti normalnoj fiziologiji i prouzročiti ozbiljne bolesti poput pneumonije, meningitisa, zatajenja jetre ili srca, nije uobičajeno naći i druge bakterijske vrste ili gljivice u istim organima i tkivima iz kojih je izdvojena brucela (Gonzales-Barrientos i sur., 2010.). Takvi mikroorganizmi mogu biti primarni uzročnici bolesti ili oportunistički mikroorganizmi koji mogu prouzročiti superinfekciju u kitova koji su već inficirani vrstom *Brucella (B.) ceti*. U nekim drugim slučajevima postojala je opravdana sumnja na istovremene virusne infekcije. Diferencijalna klinička i patološka dijagnoza bruceloze u morskih sisavaca iz reda kitova nije jednostavna i zahtijeva detaljna istraživanja. Temeljno poznavanje anatomije i fiziologije sisavaca iz reda kitova od ključne je važnosti za tumačenje kliničkih i patoloških nalaza. Osobito je važno za razlikovanje patoloških znakova i fizioloških promjena pripisanih sazrijevanju i starenju morskih sisavaca (Guzman-Verri i sur., 2012.).

Dr. sc. Željko CVETNIĆ*, dr. med. vet., znanstveni savjetnik, naslovni redoviti profesor, (dopisni autor, e-mail: cvetnic@veinst.hr), dr. sc. Maja ZDELAR-TUK, dr. med. vet., znanstvena savjetnica, dr. sc. Sanja DUVNJAK, dipl. ing. molek. biol., Irena REIL, dr. med. vet., dr. sc. Silvio ŠPIČIĆ, dr. med. vet., znanstveni savjetnik, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb, Hrvatska; dr. sc. Martina ĐURAS, dr. med. vet., docentica, dr. sc. Tomislav GOMERČIĆ, dr. med. vet., docent, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagreb, Hrvatska

Patološke promjene povezane s brucelozom u kitova

Patološke promjene koje su u vezi s infekcijom bakterijom *Brucella* u morskih sisavaca uočene su isključivo u redu *Cetacea* - kitovi. Infekcija može imati više ishoda s različitim rasponom patoloških promjena. Takav nalaz ukazuje ili na razliku u patogenosti bakterija iz roda *Brucella* (*B.*) spp. izdvojenih iz morskih sisavaca ili primljivosti kitova za razliku od perajara. Bakterije *B. ceti* i *B. pinnipedialis* izdvojene su i iz mnogih organa u naizgled zdravih sisavaca (Nyomo i sur., 2011.).

Patologija spolnih organa

Brucella ceti je izdvojena iz reproduktivnih organa mužjaka i ženki sisavaca iz reda kitova. Reproductivni sustav tih sisavaca ima neke jedinstvene karakteristike. Prve infekcije brucelom u reproduktivnim organima ženki iz reda kitova zabilježene su u dobrih dupina držanih u akvariju u Kaliforniji (Ewalt i sur., 1994., Miller i sur., 1999.). U tom slučaju opisan je pobačaj i placentitis, a brucele su izdvojene iz različitih tkiva pobačenog ploda. Nakon toga brucele su izdvojene iz mliječne žlijezde i sperme dupina i kitova (Gonzalez-Barrientos i sur., 2010.). U patuljastog kita (*Balaenoptera acutorostrata*) u Pacifiku utvrđena je serološki pozitivna reakcija i pronađeno je nekoliko granulomatoznih promjena na endometriju maternice. Te lezije su pokazivale značajnu mononuklearnu infiltraciju i sadržaj epiteloidnih i orijaških stanica, što ukazuje na promjene prouzročene brucelama (Ohishi i sur., 2003.). Sumnjalo se na pobačaj prouzročen s *B. ceti* u obalnog dupina nasukanog na belgijskoj obali. U dupina je nedvojbeno dokazan pobačaj. Ženka dupina imala je još mlijeka u mliječnoj žlijezdi, a brucele su izdvojene iz mozga, pluća i čreva po spolnim organima. Na istočnoj

tropskoj obali Tihog oceana u Kostarici, u plavobijelog dupina (*Stenella coeruleoalba*) je indirektnom imunofluorescencijom dokazana *Brucella*, a kasnije je bakteriološki izdvojena iz posteljice, pupčane vrpce, mlijeka, alantoisne i amnionske tekućine te iz raznih organa ploda. U te gravidne životinje utvrđen je teški nekrozni placentitis i uginuće ploda u sedmom mjesecu gravidnosti (Gonzalez-Barrientos i sur., 2010.). Kao i u kopnenih sisavaca izolati iz morskih sisavaca isto tako pokazuju tropizam za mliječnu žlijezdu ženki iz reda kitova (Maquart i sur., 2009.). Prvi opis epididimitisa i orhitisa u sisavaca iz reda kitova pojavio se u kitova usana i zubana te obalnih dupina, a promjene su bile istovjetne onima u kopnenih sisavaca. Promjene su se očitovala granulomatoznim tkivom i mineralizacijom, a ponekad i kazeoznom nekrozom (Dagleish i sur., 2008., Ohishi i sur., 2008.). Vrlo često je povećan jedan testis s nalazom multilokularnih apscesa s debelom fibroznom kapsulom. Lokalizacija brucele u reproduktivnom sustavu mužjaka i ženki iz reda kitova jasno ukazuje na mogućnost spolnog prijenosa bruceloze, a kasnije i dojenjem (Foster i sur., 2002., Dawson i sur., 2008., Ohishi i sur., 2008., Maquart i sur., 2009.).

Patološke promjene na srcu i krvožilnom sustavu

B. ceti je izdvojena iz krvi, perikardijalna tekućina i srčanih lezija sisavaca iz reda kitova (Maquart i sur., 2009., Gonzalez-Barrientos i sur., 2010.). Krvožilni sustav tih sisavaca prilagođen je za stalno plivanje i ronjenje, a patološke promjene mogu znatno ugroziti takve aktivnosti. Zapremina krvi u kitova je 2 do 3 puta veća nego u ljudi i kreće se od 7% pa do 20% tjelesne mase, a ovisi o vrsti kita. Veća je u onih vrsta koje duže i dublje rone. Sisavci iz reda kitova mogu podnijeti brzu promjenu krvnog tlaka zbog posebne prilagodbe koja se

naziva „*retia mirabilia*“. Retia je masa krvnih žila koja se nalazi ispod dorzalnih dijelova rebara, okružuje trupove prsnih kralježaka i ispunjuje kralježnički kanal oko kralježničke moždine, a djeluje kao tampon zona. Štiti mozak od navale krvi uslijed povišenog krvnog tlaka i od manjka opskrbe krvlju tijekom smanjene brzine rada srca (Ochrymowych i Lambersten, 1984.). Lezije na krvožilnom sustavu i srcu opisane su u ljudi, ali rijetke su u kopnenih sisavaca (Cay i sur., 2009.). Značajno je da je plavobijeli dupin (*Stenella coeruleoalba*) s neurobrucelozom imao izraziti i težak oblik endokarditisa (Gonzalez-Barrientos i sur., 2010), vrlo sličan s onim koji se pojavljuje u ljudi, a očituje se naraslim papulama i fibrinom na mitralnim zaliscima (Özbek i sur., 2007.). Za pretpostaviti je da su se te kronične promjene na srcu razvijale više mjeseci ili čak godinama i da su ugrožavale funkciju srca (Guzman-Verri, 2012.).

Patološke promjene u središnjem živčanom sustavu

Sisavci iz reda kitova su među najinteligentnijim životinjama i imaju veliki mozak, koji omogućuje mnoge sposobnosti i ehokolaciju. Osim toga mozak kitova posjeduje dodatna specijalizirana svojstva za trajni život u vodi. Zato nije neočekivano da je neurobruceloza u sisavaca iz reda kitova vezana za dezorijentiranost i primarna nasukavanja (Hernandez-Mora i sur., 2008., Gonzalez-Barrientos i sur., 2010.). Neurobruceloza nije zabilježena u goveda, ovaca, koza svinja i pasa, ali se često javlja u neliječenih ljudi oboljelih od bruceloze (Obiako i sur., 2010.). Većina izolata *B. ceti* je izdvojena iz mozga i moždanih tekućina nasukanog obalnog, bijelokljunog, bijelobokog i plavobijelog dupina (Munoz i sur., 2006., Gonzalez-Barrientos i sur., 2010.). Najčešće se neurobruceloza uočava u plavobijelog dupina duž srednjeameričke obale Tihog

oceana i europskog primorja. Najčešće se u njih uočavaju drhtavica, epileptički napadaji, dezorijentiranost i opća nesposobnost plutanja. Opće patološke promjene očituju se kao hiperemija mozga, zamucenje cerebrosposinalne tekućine, meningoencefalomijelitis karakteriziran negojnim meningitisom, osobito u moždanom deblu i kralježničkoj moždini (Jepson i sur., 1997., Gonzales i sur., 2002., Jauniaux i sur., 2010.).

Patološke promjene kostiju i zglobova

Kostur morskih sisavaca iz reda kitova prilično je jedinstven među sisavcima, a omogućuje im savršenu hidrodinamiku. Kao i u drugih teških patoloških stanja prouzročenih vrstom *B. ceti*, lezije na kosturu morskih sisavaca mogu spriječiti plivanje što može biti primarni uzrok nasukavanja. Zabilježeno je nekoliko slučajeva gdje je *B. ceti* izdvojena iz kostiju i zglobova sisavaca iz reda kitova. Prvi slučaj je zabilježen u obalnog dupina u kojeg je diskospondilitis kralježnice prouzročio dugotrajnu kroničnu bolest (Foster i sur., 2002.). Opisan je slučaj u mužjaka plavobijelog dupina koji je pored meningoencefalomijelitisa imao i fibrinopurulentni osteoartritis s ozbiljnom infiltracijom sinovijalnog zgloba makrofagima i neutrofilima koja je zahvatila desni rameni zglob (Gonzalez-Barrientos i sur., 2010.). Najizrazitiji slučaj je bio velika lezija zatiljnog zgloba u bijelobokog dupina iz kojeg su izdvojene brucele u velikim količinama. Promjene su bile karakterizirane nepokretnim i sraslim zatiljnim zglobom. Sličan spektar promjena opisan je i u bjelokljunog dupina (Dagleish i sur., 2007., Galatius i sur., 2009.). Brucela je izdvojena i iz kralježnice i kralježaka obalnih dupina, što isto tako upućuju na kroničnu prirodu bolesti (Maquart i sur., 2009.). Slučaj spinalnog osteomijelitisa u ljudi s Novog

Zelanda povezan je s *B. ceti* (McDonald i sur., 2006.).

Patologija dišnog sustava

Brucela je izdvojena iz pluća više vrsta sisavaca iz reda kitova, ali nije dokazana jasna veza između invazije brucela i patologije tih organa (Munoz i sur., 2006., Gonzalez-Barrientos i sur., 2010.). Dišni sustav sisavaca iz reda kitova oblikovan je tako da omogućuje disanje u ritmu s redovitim kretanjem tijekom plivanja i ronjenja. Nosnice kitova nalaze se dorzalno na glavi i omogućuju prolaz zraka kroz nosnu šupljinu do grkljana. Grkljan kitova je izdužen i strši u nosni dio ždrijela tako da prilikom gutanja, hrana i voda iz usne šupljine prolaze postrance, a ne preko grkljana kao u kopnenih životinja. Takav položaj grkljana u kitova omogućava istovremeno gutanje i disanje. Pluća ovih sisavaca su među prvim organima zahvaćenim tijekom smanjene mogućnosti plivanja, a povezanost između patoloških nalaza je nejasna i nije izravna. Naime, brucele su izdvojene i iz klinički zdravih pluća sisavaca iz reda kitova s brucelozom. Isto tako bilo je slučajeva gdje je brucela izdvojena iz pluća, ali primarni uzrok bolesti bio je vezan uz druge uzročnike, poput virusnih infekcija i drugih uzročnika (Foster i sur., 2002., Munoz i sur., 2006.). Često je upala pluća povezana s prisutnošću nematoda u plućima što može potaknuti upalne reakcije i patološke promjene. U jednog nasukanog obalnog dupina u kojeg je iz pluća izdvojena *B. ceti*, utvrđena je infestacija desne klijetke i plućnih krvnih žila povezana s akutnim plućnim trombima, teškom akutnom nekrotizirajućom pneumonijom i intersticijskom subakutnom i kroničnom pneumonijom s arteritisom (Jauniaux i sur., 2010.). Neke patološke promjene u plućima u plavobijelih dupina inficiranih brucelama imaju izrazite sličnosti s promjenama na

plućima u ljudi koji su imali brucelozu. Glavne patološke promjene na plućima očituju se kao intersticijska pneumonija i bronhopneumonija, bronhijalne mikrokalcifikacije, hiperemija i manje nakupine leukocita u peribronhijalnom vezivnom tkivu (Gonzalez-Barrientos i sur., 2010.).

Patološke promjene retikuloendotelnog sustava, kože i drugih organa

Imunološki sustav kitova ne razlikuje se značajno od onoga u drugih sisavaca. Brucela je izdvojena iz tkiva retikuloendotelnog sustava poput limfnih čvorova, slezene i jetre kao i iz krvi, peritonealne tekućine, bubrega, kožnih apscesa i apscesa ispod sala sisavaca iz reda kitova. Razni patološki nalazi vezani uz brucelozu opisani su u raznim tkivima i organima. Najčešće su to hepatomegalija, splenomegalija, povećanje limfnih čvorova, pojava nekrotičnih žarišta na jetri i slezeni, upalna infiltracija slezene, limfnih čvorova i gušterače te kongestija bubrega (Foster i sur., 2002., Gonzalez-Barrientos i sur., 2010.).

Patološke promjene prouzročene vrstom *B. pinnipedialis*

Za razliku od kitova u kojih je najveći broj uzoraka dobiven iz bolesnih ili nasukanih životinja, u tuljana je najveći broj uzoraka dobiven iz klinički zdravih životinja i životinja ulovljenih u divljini. U njih nisu bile opisane vidljive patološke promjene. Bakterije su uglavnom izdvojene iz dišnog sustava tuljana (pluća ili plućnih parazita), retikuloendotelnog sustava (limfni čvorovi, slezena i jetra). Brucele su isto tako izdvojene iz probavnog sustava, bubrega, testisa i

placente kod pobačaja morskog lava. Postoji pretpostavka da su plućni crvi važni u prenošenju bakterije roda *Brucella* u perajara. Perajari se inficiraju plućnim crvima konzumiranjem ribljih vrsta koje su posredni domaćini. Parazit *Parafilaroides decurus* koji je izdvojen iz kalifornijskog morskog lava upotrebljava riblju vrstu *Girella nigricans* kao posrednog domaćina (Garnet i sur., 1997., Dawson i sur., 2008.a).

Dijagnostika bruceloze u morskih sisavaca

Nema kliničkih simptoma koji bi ukazivali na brucelozu u morskih sisavaca. Na bolest se može posumnjati prilikom pobačaja ili patološkog nalaza orhitisa, epididimitisa, apscesa u potkožju, meningitisa ili meningoencefalitisa i prilikom neke sustavne bolesti. Brucele su isto tako izdvojene iz organa zdravih životinja (Nymo i sur., 2011.). U cilju razumijevanja patogeneze, proširenosti epizootologije i epidemiologije bruceloze te izvora infekcije u morskih sisavaca u oceanima i morima diljem svijeta, potrebno je primijeniti dijagnostičke pretrage i kada god je to moguće izdvojiti i identificirati brucele. Za tu svrhu koriste se dvije mogućnosti. Prvom se nastoji izdvojiti bakterija, nakon čega slijedi identifikacija. Ako brucelu nije moguće izdvojiti klasičnim bakteriološkim načinom, koriste se druge mogućnosti poput utvrđivanja određenih sekvenci DNK bakterija iz roda *Brucella* metodom lančane reakcije polimerazom (PCR) ili izravnom vizualizacijom bakterijskih antigena u tkivima metodom imunofluorescencije (IF), zatim imunoperoksidaznim testom (I-HRP) ili imunohistokemijskim metodama. Neizravne metode se temelje na otkrivanju protutijela brucela u serumu inficiranih morskih sisavaca (Guzman-Verri i sur., 2012.).

U serološkoj se dijagnostici koriste standardni serološki testovi: Rose Bengal, test, klasična aglutinacija, reakcija vezanja komplementa te imunoenzimni test. Serološki testovi nisu u potpunosti standardizirani za morske sisavce pa rezultate treba prosuđivati s oprezom. Iako su pozitivne serološke reakcije zabilježene u 23 od 38 vrsta testiranih u cijelom svijetu, postoje značajne varijacije u specifičnosti i osjetljivosti raznih seroloških metoda koje se koriste u serološkoj dijagnostici. Iz tog ih je razloga potrebno interpretirati s oprezom (Meegan i sur., 2010.). Utvrđivanje antigena brucele neizravnom imunofluorescencijom iz organa i tkiva klinički sumnjivih slučajeva na brucelozu predstavlja brzi i učinkovit dijagnostički alat (Hernandez-Mora i sur., 2009.).

Za bakteriološku pretragu uzimaju se tkiva i organi uginulih i na brucelozu sumnjivih životinja. Brucele su izdvojene iz različitih tkiva i organa, s vidljivim ili mikroskopskim patološkim promjenama ili iz potpuno zdravog tkiva ili organa. Izdvajaju se iz slobodno živućih životinja, ulovljenih ili držanih u akvariju. Ipak, najčešće su uzorci dobiveni od nasukanih životinja lošeg zdravstvenog stanja ili uginulih. Važan korak prije same obrade je priprema materijala prije naciepljivanja na podloge. Površinska meka tkiva prije naciepljivanja potrebno je sterilizirati ili spržiti, a kruta površinska tkiva potrebno je prije samog naciepljivanja odstraniti skalpelom. Ponekad se primjećuje slab rast na hranjivoj podlozi Farrell, zbog čega se najčešće koriste druge selektivne hranjive podloge za brucelozu (Guzman-Verri i sur., 2012.). Rast kolonija podrijetlom iz kitova i dupina na hranjivim podlogama vidljiv je već nakon četiri dana inkubacije, dok se rast kolonija podrijetlom iz tuljana pojavljuje tek za 7 do 10 dana. Stoga neki autori preporučaju da se materijal podrijetlom od morskih sisavaca inkubira 14 dana. Isto tako

poželjno je da se materijal nacjepljuje na različite neselektivne agare poput serum dekstroze agara i krvnog agara. Potrebno je hranjive podloge inkubirati na 37 °C uz prisutnost 10% CO₂ i bez CO₂ u atmosferi. Izolatima podrijetlom iz kitova za rast nije potreban CO₂, a perajarima je potreban. Kolonije brucela podrijetlom iz morskih sisavaca su tipičnog glatkog (S) oblika, podignute, sjajne, konveksne, boje meda, prozirne. Brucele su kokobacili ili kratki štapići, ponekad se pojavljuju pojedinačno, u parovima ili malim nakupinama. Prilikom uzorkovanja materijala za bakteriološku pretragu treba uzeti što više organa i tkiva bez obzira na promjene. Potrebno je uzeti reproduktivne organe, mliječnu žlijezdu, različite apscese, limfne čvorove, pluća, izmet i drugo (Foster i sur., 2002., Dawson i sur., 2008.b).

Postoji više molekularnih metoda koje se upotrebljavaju za dokaz i identifikaciju *B. ceti*. Najčešće se upotrebljava PCR-RFLP kojim se istražuju geni vanjske membrane Omp2a, Omp2b, i Omp25, zatim dokaz insercijske sekvence IS711, tipizacija na osnovi slijeda na više lokusa (MLST) i analiza varijabilnog broja tandemskih ponavljanja (MLVA). Ovim metodama se može dobro identificirati *B. ceti* i različite podgrupe koje odgovaraju njihovim domaćinima poput tip *B. ceti* iz dupina tip *B. ceti* iz obalnog dupina i sojevi *B. ceti* izdvojeni iz ljudi (Bourg i sur., 2007., Dawson i sur., 2008.b, Zygmunt i sur., 2010.).

Liječenje bruceloze u morskih sisavaca

Klasična antibiotska terapija za brucelozu s vremena na vrijeme pokušava se davati dupinima u zatočeništvu, ali nije zabilježen uspješan tretman. Zbog dugotrajnog unutarstaničnog opstanka brucela u organizmu i rizika od širenja infekcije na druge životinje i

ljude, neškodljivo uklanjanje pozitivnih životinja, a osobito onih s kliničkim komplikacijama smatra se nužnim i opravdanim (Hernandez-Mora i sur., 2013.).

Kontrola i nadzor bruceloze u morskih sisavaca

Konsumacija mesa i drugih proizvoda od jedne ili više od 87 različitih vrsta morskih sisavaca je vrlo česta (Robards i Reeves, 2011.). Unatoč svim tim spoznajama ne postoji sustavni nadzor bruceloze u morskih sisavaca, moguće posljedice su češće infekcije ljudi i širenje bolesti. Postoje samo rijetka mjesta u kojima se kontrolira meso i organi radi dalje potrošnje. Najčešće su morski sisavci ulovljeni i obrađeni bez ikakve mjere opreza. *B. ceti* i *B. pinnipedialis* imaju sve karakteristike infektivnosti i mogu zaraziti ljude i druge vrste životinja. Ne postoji rutinska kontrola nasukanih i uginulih životinja te takve životinje često dolaze u izravan dodir s domaćim životinjama i ljudima te postoji potencijalna opasnost od infekcije (Van Bresseem i sur., 2009., Hernandez-Mora i sur., 2013.).

U tim slučajevima treba se držati općih načela kontrole infekcije, uključujući izdvajanje, dezinfekciju i higijenu objekata u kojima se kontrolira bruceloza sumnjivih morskih sisavaca. Brucele su osjetljive na mnoge dezinficijense poput hipoklorita, 70% etanola, izopropanola, fenolne dezinficijense, formaldehid, glutardehid i ksilen. Prisutnost organskih tvari i niskih temperatura može smanjiti djelotvornost dezinfekcijskog sredstva. Za dezinfekciju površina koristi se 2,5% natrijev hipoklorit, 2-3% otopina natrijevog hidroksida, 20% svježa suspenzija gašenog vapna ili 2% otopina formaldehida. Etanol, izopropanol ili razrijeđene otopine hipoklorita mogu se koristiti za dezinfekciju onečišćene

kože. Sterilizacija (vlažna toplina 121 °C /15 min.) može se koristiti za uništavanje brucela na onečišćenom priboru i opremi. Ove bakterije isto tako mogu biti uništene suhom toplinom (160-170 °C) u trajanju od najmanje jednog sata. Za dezinfekciju organskog materijala upotrebljava se ksilen (1 mm/L) i kalcij cijamid (20 kg/m³) tijekom 2 do 4 tjedna. Brucele se isto tako mogu uništiti gama zračenjem i pasterizacijom.

Sažetak

Zbog nemogućnosti sustavnog praćenja brucela nema dovoljno informacija o kliničkoj slici morskih sisavaca. U većini slučajeva izolati brucela izdvojeni su iz nasukanih sisavaca uglavnom iz reda kitova, koji su u kritičnom zdravstvenom stanju ili su već uginuli. Teško je točno odrediti koja su karakteristična svojstva prvenstveno vezana uz brucelozu i ustvrditi kliničke i patološke znakove izravno vezane uz infekciju brucelom. Mnogi nasukani morski sisavci općenito su domaćini parazitima u raznim organima s mnoštvo patoloških lezija. Takve patološke lezije mogu štetiti normalnoj fiziologiji i prouzročiti ozbiljne bolesti poput: pneumonije, meningitisa, zatajenje jetre ili srca. Isto nije neuobičajeno naći druge bakterijske vrste ili gljivice u istim organima i tkivima iz kojih je izdvojena brucela. U nekim drugim slučajevima postojala je opravdana sumnja na istovremene virusne infekcije. Diferencijalna klinička i patološka dijagnoza bruceloze u morskih sisavaca iz reda kitova nije jednostavna i zahtijeva detaljna istraživanja. Temeljno poznavanje anatomije i fiziologije sisavaca iz reda kitova od ključne je važnosti za tumačenje kliničkih i patoloških znakova i fizioloških promjena pripisanih sazrijevanju i starenju morskih sisavaca. Ne postoji sustavni nadzor bruceloze u morskih sisavaca već postoje samo rijetka kontrolna mjesta u kojima se kontrolira meso i organi radi dalje potrošnje. Moguća posljedica su češće infekcije ljudi i širenje bolesti.

Ključne riječi: *morski sisavci, klinička slika, patološke promjene, dijagnostika*

Literatura

- BOURG, G., D. O'CALLAGHAN and M. L. BOSCHIROLI (2007): The genomic structure of *Brucella* strains isolated from marine mammals gives clues to evolutionary history within the genus. *Vet. Microbiol.* 125, 375-380.
- CAY, S., G. CAGIRCI, O. MADEN, Y. BALBAY and S. AYDOGLU (2009): *Brucella* endocarditis: a registry study. *Kard. Pol.* 67, 274-280.
- DAGLEISH, M. P., J. BARLEY, F. E. HOWIE, R. J. REID, J. HERMAN and G. FORSTER (2007): Isolation of *Brucella* species from a diseased atlanto-occipital joint of an Atlantic white-sided dolphin (*Lagenorhynchus acutus*). *Vet. Rec.* 160, 876-878.
- DAGLEISH, M. P., J. BARLEY, J. FINLAYSON, R. J. REID and G. FORSTER (2008): *Brucella ceti* associated pathology in the testicle of a harbour porpoise (*Phocoena phocoena*). *J. Comp. Pathol.* 139, 54-59.
- DAVISON, N., M. P. CRANWELL, L. PERRETT, L. J. DAWSON, E. DEAVILLE, R. STUBBERFIELD, E. J. JARVIS and P. D. JEPSON (2009): Meningoencephalitis associated with *Brucella* species in a live-stranded striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) in south-west England. *Vet. Rec.* 165, 86-89.
- DAVISON, N., L. PERRETT, L. LAW, L. J. DAWSON, R. STUBBERFIELD, E. J. MONIES, E. DEAVILLE and P. D. JEPSON (2011): Infection with *Brucella ceti* and high levels of polychlorinated biphenyls in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) stranded in south-west England. *Vet. Rec.* 169, 14.
- DAWSON, C. E., L. L. PERRETT, E. J. STUBBERFIELD, J. A. STACK, S. S. FARRELLY, W. A. COOLEY, N. J. DAVISON and S. QUINNEY (2008a): Isolation and characterization of *Brucella* from the lungworms of a harbour porpoise (*Phocoena phocoena*). *J. Wildl. Dis.* 44, 237-246.
- DAWSON, C. E., E. J. STUBBERFIELD, L. L. PERRETT, A. C. KING, A. M. WHATMORE, J. B. BASHIRUDDIN, J. A. STACK and A. P. MACMILLAN (2008b): Phenotypic and molecular characterisation of *Brucella* isolates from marine mammals. *BMC Microbiol.* 8, 224-227.
- EWALT, D. R., J. B. PAYEUR, B. M. MARTIN, D. R. CUMMINS and W. G. MILLER (1994): Characteristics of *Brucella* species from a bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). *J. Vet. Diagn. Invest.* 6, 448-452.
- FOSTER, G., A. P. MACMILLAN, J. GODFROID, F. HOWIE, H. M. ROSS, A. CLOECKAERTI, R. J. REID, S. BREW and I. A. PATTERSON (2002): A review of *Brucella* spp. Infection of sea mammals with particular emphasis on isolates from Scotland. *Vet. Microbiol.* 90, 563-580.
- GALATIUS, A., C. SONNE, C. C. KINZE, R. DIETZ and J. E. JENSEN (2009): Occurrence of vertebral osteophytosis in a museum sample of white-beaked dolphins (*Lagenorhynchus albirostris*) from Danish waters. *J. Wildl. Dis.* 45, 19-28.
- GARNET, M. M., D. M. LAMBORN, S. J. JEFFRIES, P. B. RHYAN, D. R. EWALT, L. M. POLZIN and N. E. CHEVILLE (1997): Evidence of *Brucella* infection in Parafilaroides lungworms in a Pacific harbour seal (*Phoca vitulina richardsi*). *J. Vet. Diagn. Invest.* 9, 298-303.

13. GONZALES, T., I. A. PATTERSON, R. J. REID, G. FOSTER, M. BARBERAN, J. M. BLASCO, S. KENNEDY, F. E. HOWIE, J. GODFROID, A. P. MACMILLAN and A. SHOCK, D. BUXTON (2002): Chronic meningoencephalitis associated with *Brucella* sp. infection in live-stranded striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*). *J. Comp. Pathol.* 126, 147-152.
14. GONZALES-BARRIENTOS, R., J. A. MORALES, G. HERNANDEZ-MORA, E. BARQUERO-CALVO, C. GUZMAN-VERRI, E. CHAVEZ-OLARTE and E. MORENO (2010): Pathology of striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) infected with *Brucella ceti*. *J. Comp. Pathol.* 142, 347-352.
15. GUZMAN-VERRI, C., R. GONZALES-BARRIENTOS, G. HERNANDEZ-MORA, J. A. MORALES, E. BAQUERO-CALVO, E. CHAVEZ-OLARTE and E. MORENO (2012): *Brucella ceti* and brucellosis in cetaceans. *Front. cell. Infect. Microbiol.* doi:10.3389/fcim.2012.00003.
16. HERNANDEZ-MORA, G., R. GONZALES-BARRIENTOS, J. A. MORALES, E. CHAVEZ-OLARTE, C. GUZMAN-VERRI, E. BARQUERO-CALVO, M. J. DE MIGUEL, C. M. MARIN, J. M. BLASCO and E. MORENO (2008): Neurobrucellosis in stranded dolphins, Costa Rica. *Emer. Infect. Dis.* 14, 1430-1433.
17. HERNANDEZ-MORA, G., C. A. MANIRE, R. GONZALES-BARRIENTOS, J. A. MORALES, E. CHAVEZ-OLARTE, C. GUZMAN-VERRI, L. STAGGS, R. THOMPSON and E. MORENO (2009): Serological diagnosis of *Brucella* infections in odontocetes. *Clin. Vaccine. Immunol.* 16, 906-915.
18. HERNANDEZ-MORA, G., J. D. PALACIOS-ALFARO and R. GONZALES-BARRIENTOS (2013): Wildlife reservoir of brucellosis: *Brucella* in aquatic environments. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 32, 89-103.
19. JAUNIAUX, T. P., C. BRENEZ, D. FRETIN, J. GODFROID, J. HAETERS, T. JACQUES, F. KERCKHOFF, J. MAST, M. SARLET and F. L. COIGNOUL (2010): *Brucella ceti* infection in harbour porpoise (*Phocoena phocoena*). *Emerg. Infect. Dis.* 16, 1966-1968.
20. JEPSON, P. D., S. BREW, A. P. MACMILLAN, J. R. BAKER, J. BARNETT, J. K. KIRKWOOD, T. KUIKEN, I. R. ROBINSON and V. R. SIMPSON (1997): Antibodies to *Brucella* in marine mammals around the coast of England and Wales. *Vet. Rec.* 513-515.
21. MAQUART, M., P. LE FLECHE, G. FOSTER, M. TRYLAND, F. RAMISSE, B. DJONNE, S. AL DAHOUK, I. JACQUES, H. NEUBAUER, K. WALRAVENS, J. GODFROID, A. CLOECKAERT and G. VERGNAUT (2009): MLVA-16 typing of 295 marine mammal *Brucella* isolates from different animal and geographic origins identifies 7 major groups within *Brucella ceti* and *Brucella pinnipedialis*. *BMC Microbiol.* 9, 145-155.
22. McDONALD, W. L., R. JAMALUDIN, G. MACKERET, M. HANSEN, S. HUMPHREY, P. SHORT, T. TAYLOR, J. SWINGLER, C. E. DAWSON, A. M. WHATMORE, E. STUBBERFIELD, L. L. PERRETT and G. SIMMONS (2006): Characterization of a *Brucella* sp. strain as a marine-mammal type despite isolation from a patient with spinal osteomyelitis in New Zealand. *J. Clin. Microbiol.* 44, 4363-4370.
23. MEEGAN, J. C. FIELD, I. SIDOR, T. ROMANO, S. CASINGHINO, C. R. SMITH, L. KASHINSKY, P. A. FAIR, G. BOSSANT, R. WELLS and J. L. DUNN (2010): Development, validation, and utilization of a competitive enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibodies against *Brucella* species in marine mammals. *J. Vet. Diagn. Invest.* 22, 856-862.
24. MILLER, W. G., L. G. ADAMS, T. A. FICHT, N. F. CHEVILLE, J. P. PAYEUR, D. R. HARLEY, C. HOUSE, S. H. RIDGWAY (1999): *Brucella*-induced abortions and infection in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *J. Zoo. Wildl. Med.* 30, 100-110.
25. MUNOZ, P. M., G. GARCIA-CASTRILLO, P. LOPEZ-GARCIA, J. GONZALES-CUELLI, M. J. DE MIGUEL, C. M. MARIN, M. BARBERAN and J. M. BLASCO (2006): Isolation of *Brucella* species from alive-stranded striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) in Spain. *Vet. Rec.* 158, 450-451.
26. NYMO, I. H., M. TRYLAND and J. GODFROID (2011): A review of *Brucella* infection in marine mammals, with special emphasis on *Brucella pinnipedialis* in the hooded seal (*Cystophora cristata*). *Vet. Res.* 42, 93-116.
27. OBIAKO, O. R., D. OGOINA, S. S. DANBAUCHI, S. I. KWAIFA, N. D. CHOM and E. NWKORIU (2010): Neurobrucellosis – a case report and review of literature. *Niger. J. Clin. Pract.* 13, 347-350.
28. OCHRYMOWYCH, C. and R. LAMBERSTEN (1984): Anatomy and vasculature of a minke whale heart. *Am. J. Anat.* 169, 165-175.
29. OHISHI, K., Y. FUJISE and T. MARUYAMA (2008): *Brucella* spp. In the western North Pacific and Antarctic cetaceans: a review. *J. Cetacean Res. Manag.* 10, 67-72.
30. OHISHI, K., R. ZENITANI, T. BANDO, Y. GOTO, K. UCHIDA, T. MARUYAMA, T. YAMAMOTO, N. MIYAZAKI and Y. FUJISE (2003): Pathological and serological evidence of *Brucella* infection in baleen whales (Mysticeti) in the western North Pacific. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 26, 125-136.
31. OLIVEIRA, J. B., J. A. MORALES, R. C. GONZALES-BARRIENTOS, J. HERNANDEZ-GAMBOA and G. HERNANDEZ-MORA (2011): Parasites of cetaceans stranded on the Pacific coast of Costa Rica. *Vet. Parasitol.* 182, 319-328.
32. ÖZBEK, C., U. YETKIN, I. YUREKLI, M. BADEMCI and A. GURBUZ (2007): Development of commissural perforation of an aortic valve in *Brucella* endocarditis with gaint vegetation. *Inter. J. Thorac. Cardiovasc. Sur.* 10, 1-8.
33. ROBARDS, M. D. and R. R. REEVES (2011): The global extend and character of marine mammal consumption by humans 1970 -2009. *Biol. Conserv.* 144, 2770-2786.
34. VAN BRESSEM, M. F., J. A. RAGA, G. DIGUARDO, P. D. JEPSON, P. J. DUINGNAN, U. SIEBERT, T. BARRETT, M. C. SANTOS, I. B. MORENO, S. SICILIANO, A. AQUILAR and K. WAEREBEEK (2009): Emerging infectious diseases in cetaceans world wide and the possible role of environmental stressors. *Dis. Aquat. Org.* 86, 143-157.
35. ZYGMUN, M. S., M. MAQUART, N. BERNARDET, B. DOUBLET and A. CLOECKAERT (2010): Novel IS711-specific chromosomal locations useful for identification and classification of marine mammal *Brucella* strains. *J. Clin. Microbiol.* 48, 3765-3769.

Brucellosis in Marine Mammals (Part II.)

Željko CVETNIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor, Full Professor, Maja ZDELAR-TUK, DVM, PhD, Sanja DUVNJAK, Grad. Mol. Biol. Eng., PhD, Irena REIL, DVM, Silvio ŠPIČIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor, Croatian Veterinary Institute, Zagreb, Croatia; Martina ĐURAS, DVM, PhD, Assistant Professor, Tomislav GOMERČIĆ, DVM, PhD, Assistant Professor, Faculty of Veterinary Medicine University of Zagreb, Croatia

Due to the lack of systematic monitoring of brucellosis, there is insufficient information on the clinical picture of marine mammals. Most isolates of *Brucella* sp. were from stranded mammals, predominantly whales, which were found in a critical state of health or dead. It is difficult to determine the characteristic properties of brucellosis and to determine the clinical and pathological signs directly related to brucellosis. Many stranded marine mammals are hosts for parasites in various organs with a multitude of pathological lesions, and these pathological lesions can harm the normal physiology, causing serious diseases such as pneumonia, meningitis, liver or heart failure. It is not uncommon to find other bacterial species or fungi in the same organs and tissues from which *Brucella* sp. is isolated. In other cases,

there is a reasonable suspicion of concurrent viral infections. Differential clinical and pathological diagnosis of brucellosis from whales is not easy and requires detailed research. Basic knowledge of the anatomy and physiology of whales are of crucial importance for the interpretation of the clinical and pathological findings, in particular to distinguish pathological characters and physiological changes attributed to the maturing and aging of marine mammals. There are no systematic controls of brucellosis in marine mammals, and there are only sparse checkpoints where meat and organs for consumption are controlled. Possible consequences are often human infection and spread of the disease.

Key words: *Marine mammals, Clinical, Pathology, Diagnosis*