

Rasprostranjenost bruceloze u morskih sisavaca s posebnim osvrtom na Hrvatsku



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

Uvod

Potencijalni domaćini brucela u vodenim sustavima mogu biti pripadnici oko 130 vrsta morskih i slatkovodnih sisavaca koji žive i hrane se u morima, rijekama i jezerima. Među njima je 86 različitih vrsta kitova red *Cetacea* iz podreda kitova usana (*Mysticeti*) i kitova zubana (*Odontoceti*) kojem pripadaju i dupini, 36 vrsta koje pripadaju u podred *Pinnipedia* (perajari), porodica *Otariidae* (ušani), *Odobenidae* (morževi), *Phocidae* (tuljani). Osim toga sjeverna morska vidra (*Enhydra lutris*), južna morska vidra (*Lutra felina*), polarni medvjed (*Ursus maritimus*), morska krava (*Trichechus* sp.), kitolike morske krave (*Dugong dugong*) isto se tako ubrajaju u morske sisavce, koji se mogu zaraziti (Jefferson i sur., 2008., cit. Hernandez-Mora i sur., 2013.).

Proučavanje bruceloze u morskih sisavaca započelo je 1994. godine kada je *Brucella* (*B.*) sp. prvi puta izdvojena iz lešina običnog tuljana (*Phoca vitulina*), obalnog dupina (*Phocoena phocoena*) i običnog dupina (*Delphinus delphis*) koji se nasukao uz obalu Škotske, kao i iz pobačenog ploda dobrog dupina (*Tursiops truncatus*) u zatočeništvu u američkoj saveznoj državi Kaliforniji

(Ewalt i sur., 1994., Ross i sur., 1996.). Temeljem Konvencije o nomenklaturi brucela tradicionalno se vrsta imenuje po glavnom domaćinu. U početku su svi navedeni sojevi nazvani *B. maris* (Jahans i sur., 1997.). Kasnije studije su pokazale da se radi o dvije vrste brucela. Izolati iz kitova su prvo nazvani *Brucella cetacea* (Cloekaert i sur., 2001.). Godine 2007. preimenovane su u *Brucella ceti*. Izolati iz perajara razlikuju se od *B. ceti* i nazvani su *B. pinnipedialis* čiji su domaćini tuljani (*Phocidae*) (Corbel i Morgan, 1975., Corbel i sur., 1983., Ostrman i Moriyon, 2006., Foster i sur., 2007.).

Svi izolati *B. ceti* pripadaju istoj vrsti. Međutim, prema svojem preferentnom domaćinu, bakteriološkim i genetičkim svojstvima mogu se podijeliti u tri klastera: *B. ceti* (tip A iz dupina, oznaka ST 26), tip B (oznaka ST 23) iz obalnog dupina (vrsta *Phocoena*) i *B. ceti* (tip iz čovjeka, ST 27) (Maquart i sur., 2009.). Pored toga klaster A može se dalje podijeliti u podklaster A1, A2 i P1 prema svojim MVLA-16 profilima. Dok većina izolata A1, A2 i B dolazi iz vrsta reda kitova koje nastanjuju Atlanski ocean, izolati P1 dolaze iz samo jedne vrste plavobijelog dupina (*Stenella*

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

coerulealba) nasukane na istočnoj tropskoj obali Tihog oceana u Kostariki (Guzman-Verri i sur., 2012.).

Prijenos bruceloze u morskih sisavaca

Svojstva morske vode kao što su temperatura, slanost, gustoća, hranjive tvari i kisik, kombinirana s njezinom sposobnošću absorbiranja svjetlosti i topline čine fizičku, kemijsku i biološku cjelinu. Brucele nisu pokretljive i u nepovoljnim uvjetima ne prežive dugo, zato su za opstanak morskih vrsta iznimno važna spomenuta oceanografska svojstva. Razrjeđivanje bakterija ispod infektivne doze može omesti prijenos (Moreno i Moriyon, 2006., cit. Guzman-Verri i sur., 2012.). Način prijenosa bruceloze u morskih sisavaca nije u potpunosti razjašnjen. Smatra se da se infekcija u kitova može širiti između pojedinih jedinki spolnim putem ili u dodiru s pobačenim plodom i tkivom posteljice. Poznat je i vertikalni način s majke na plod. (Hernandez-Mora i sur., 2008., Maquart i sur., 2009., Gonzalez-Barrientos i sur., 2010.). U tuljana je način prijenosa nedovoljno poznat, no zajednički život u skupinama i stalni neposredni dodiri pogoduju širenju infekcije. Plućni nematodi (*Pseudalius inflexus*) smatraju se mogućim vektorima bruceloze u morskom okolišu. Brucele su dokazane u spolnim organima i crijevnom lumenu plućnih nematoda izdvojenih iz dupina i tuljana. U svom razvojnem ciklusu paraziti migriraju kroz dišni sustav morskih lavova, dospijevaju u probavni sustav pa izmetom u okoliš. Zelena riba (*Girella nigricans*) i drugi posrednici poput koprofagnih riba pojedu kontaminirani izmet. Njih kasnije pojedu morski sisavci te se u njihovom probavnom sustavu oslobađaju ličinke, koje opet migriraju u pluća i ciklus se nastavlja (Dawson i sur., 2008.a).

Rasprostranjenost bruceloze u morskih sisavaca

Nakon gotovo dva desetljeća istraživanja i dokaza bruceloze u morskih sisavaca, opće je poznato da je bruceloza u morskih sisavaca globalno rasprostranjena. Bakteriološki ili serološki pozitivne životinje pronađene su u Sjevernom Atlantiku, Sredozemnom moru i na Arktiku, uključujući i Barentsovo more. Zaražene ili zarazi izložene životinje otkrivene su duž atlanske i pacifičke obale Sjeverne Amerike, obale Perua, Australije, Novog Zelanda, Havaja i na Solomonskim otocima te Antarktici (Ohishi i sur., 2003., 2008., Munoz i sur., 2006., Hernandez-Mora i sur., 2009., Guzman-Verri i sur., 2012.).

Određene usporedne analize pokazuju da su neke vrste iz reda kitova i dupina prijemčljivije na infekciju brucelom od drugih vrsta. Među kitovima zubanima najčešće se bruceloza javlja u obalnih dupina (*Phocoena phocoena*), zatim u plavobijelog dupina (*Stenella coeruleoalba*), atlantskog bjelobokog dupina (*Lagenorhynchus acutus*), dobrog dupina (*Tursiops truncatus*) i običnog dupina (*Delphinus delphis*) te patuljastog kita (*Balaenoptera acutorostrata*). Procjena učestalosti bruceloze u morskih sisavaca razlikuje se od vrste do vrste. Istraživanja su provedena u različitim geografskim područjima na različitom broju uzoraka. Pokazalo se da je oko 4% pretraženih morskih sisavaca serološki pozitivno na područja Atlantika, Pacifika i Arktika. U manje opsežnim istraživanjima seroprevalencija se kretala od 0 do 80%. Pozitivne serološke reakcije utvrđene su u 35 vrsta kitova i u 14 vrsta perajara, dvije podvrste morskih vidri, jedne vrste slatkovodnih vidri i polarnog medvjeda (Hernandez-Mora i sur., 2013.).

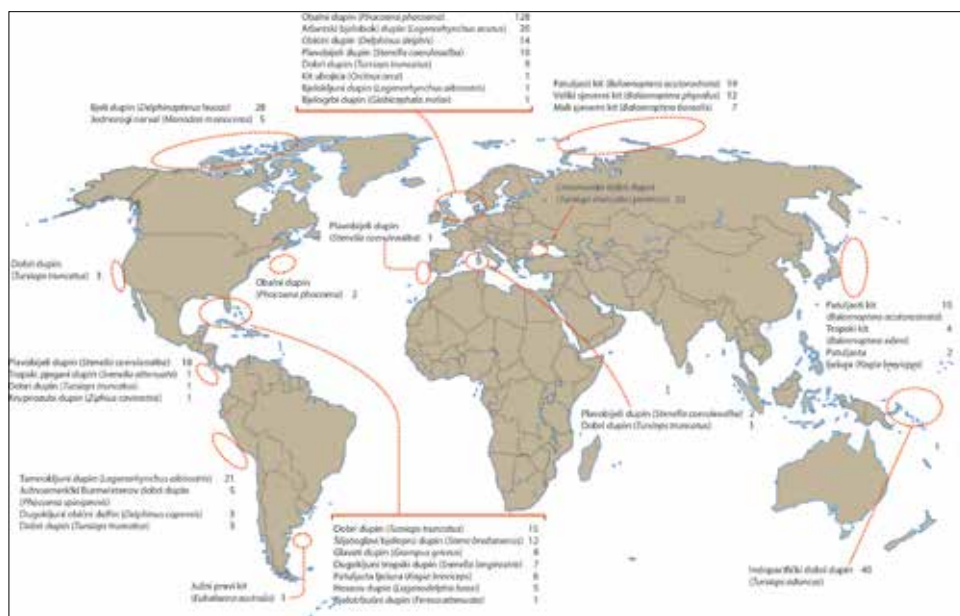
Brucella ceti

B. ceti izdvojena je iz oba postojeća podreda kitova: (*Mysticeti*) kitova usana

i kitova zubana (*Odontoceti*). Prvi podred uključuje četiri porodice kitova usana, koji se hrane filtriranjem i gutanjem planktona (brazdasti kitovi) i obiranjem planktona (glatki i patuljasti kitovi), odnosno filtriranjem mulja s morskog dna (sivi kit). Podred kitova zubana sadrži skupinu od osam porodica koje uključuju prave i patuljaste ulješure, dupine pokretnog vrata, brazdaste dupine, šiljatozube dupine obalne dupine, indijske i južnoameričke riječne dupine i šiljatokljune riječnomorske dupine. *B. ceti* je dokazana (izdvajanjem ili PCR-om) u samo četiri porodice: *Balaenopteridae* (brazdasti kitovi), *Phocoenidae* (obalni dupini), *Delphinidae* (šiljatozubi dupini) i *Monodontidae* (dupini). Brucele su dokazane u mnogih vrsta poput obalnog dupina (*Phocoena phocoena*), dobrog dupina (*Tursiops truncatus*), plavobijelog dupina (*Stenella coeruleoalba*), bjelokljunog dupina (*Lagenorhynchus albirostris*), kita ubojice (*Orcinus orca*) i drugih. Protutijela su dokazana u sedam porodica i u 35

različitih vrsta, što upućuje na zaključak da je infekcija brucelama u morskih sisavaca iz porodica kitova vrlo učestala (Ross i sur., 1996., Dagleish i sur., 2008., Dawson i sur., 2008.b, Munoz i sur., 2006.).

Većina izolata izdvojena je iz kitova koji su se nasukali na obalama Atlantskog oceana u Americi i Europi, ali i na jugozapadnoj i istočnoj obali Pacifika. Izolati u Europi uglavnom potječu iz obala sjevernog Atlantika i sjevernog mora Škotske, Španjolske, Engleske i Walesa. Na američkoj strani brucele su izdvojene iz sisavaca Atlantskog oceana na južnoj strani Nove Engleske i Meksičkog zaljeva i duž cijele obale SAD-a. Izdvojena je i iz morskih sisavaca u istočnom i jugozapadnom Pacifiku (Van Bressem i sur., 2001., Maratea i sur., 2003., Guzman-Verri i sur., 2012.). Davison i sur. (2013.) navode da su infekcije brucelama u morskih sisavaca globalno rasprostranjene. Infekcije vrstom *B. ceti* su specifične za živčani sustav, a opisane su



Slika 1. Proširenost *B. ceti* infekcije u svijetu s prikazom broja kitova i dupina s pozitivnim serološkim nalazom [prema Guzman-Verri i sur., 2012.].

u dvije vrste dupina: plavobijelog dupina (*Stenella coeruleoalba*) u Europi i Kostariki i u atlansko-bjelobokog dupina u Velikoj Britaniji (Slika 1.).

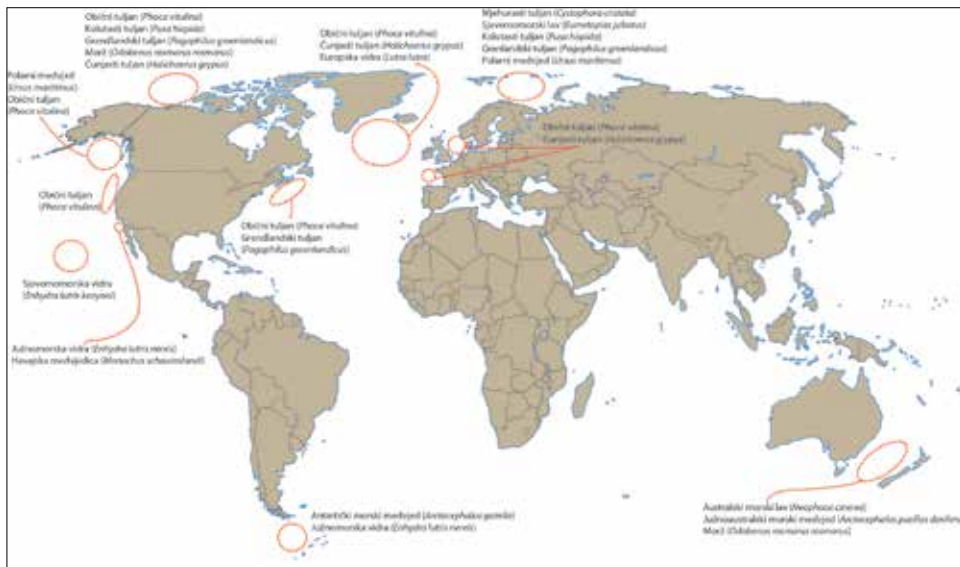
Van Bresseem i sur. (2001.) su na prisutnost protutijela pretražili 58 uzoraka seruma podrijetlom iz kitova zubana ulovljenih u Peruu u razdoblju od 1993. do 1995. i od 24 kita nasukana uz španjolsku obalu u razdoblju od 1997. od 1999. Pozitivne serološke reakcije utvrđene su u 21 (77,8%) od 27 uzoraka podrijetlom od tamnokljunog dupina (*Lagenorhynchus obscurus*), u 3 (50%) od 6 uzoraka običnog dupina (*Delphinus capensis*), u 8 (35%) od 23 dobrog dupina (*Tursiops truncatus*), u 5 (25%) od 20 južnoameričkih Burmeisterovih obalnih dupina (*Phocoena spinipinnis*) i u 2 (33%) od 6 plavobijela dupina (*Stenella coeruleoalba*). Hernandez-Mora i sur. (2008.), opisuju izdvajanje *B. ceti* iz 6 plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*) u Kostarici na obali Pacifika. Maio i sur. (2014.) u razdoblju od 2008. do 2011. godine uz Nizozemsku obalu našli su 112 obalnih dupina (*Phocaena phocaena*) i pretražili ih na brucelezu. U 5 (4,5%) od 112 dokazali su *Brucella* sp. Molekularnim analizama dokazano je da se radi o *B. ceti* ST 23. Jauniaux i sur. (2010.) su u obalnih dupina (*Phocoena phocoena*) koji su se nasukali na obalama Belgije dokazali *B. ceti*.

Brucella pinnipedialis

B. pinnipedialis se izdvaja iz tuljana iz porodice *Phocidae* (tuljani) i *Otariinae* (morski lavovi). Dokazana je u šest vrsta tuljana: tuljana mjhuraša (*Cystophora cristata*), kolutastog tuljana (*Phoca hispida*), grenlandskog tuljana (*Phoca groenlandicus*), čunjastog tuljana (*Halichoerus grypus*), pacifičkog običnog tuljana (*Phoca vitulina richardii*) i običnog tuljana (*Phoca vitulina*). Ova vrsta brucela je isto tako izdvojena iz kalifornijskog morskog lava (*Zalophus californianus*). Protutijela su dokazana u 17 različitih vrsta morskih sisavaca reda *Carnivora*, podreda *Pinnipedia*, porodica *Otariinae*, *Odobenidae*, *Phocidae*,

podreda *Fissipedia*, porodica *Mustelidae* i porodica *Ursidae*: sjevernog morskog lava, australskog morskog lava, antarktičkog morskog medvjeda, australskog morskog medvjeda, morža, običnog tuljana, pacifičkog tuljana, grenlandskog tuljana, čunjastog tuljana, havajske medvjedice, mjhurastog tuljana, leopardskog tuljana, Wedellovog tuljana, aljaške vidre, južne morske vidre, europske vidre i u polarnog medvjeda. Izolati su izdvojeni iz životinja na sjevernom Atlantiku (Sjeverna Irska, Nova Engleska, Kanada), Sjevernom moru (Škotska, Njemačka) i Pacifičkom oceanu (Kalifornija, SAD). Izdvajanje *B. pinnipedialis* iz tuljana mjhuraša provedeno je ili iz nasukanih životinja ili iz naizgled zdravih jedinki ulovljenih u njihovom prirodnom okruženju (Tryland i sur., 2005., Nymo i sur., 2011., Hernandez-Mora i sur., 2013.) (Slika 2.).

Nakon izdvajanja *Brucella* iz obalnih dupina i kitova u Škotskoj i na sjeveru Engleske, serološke pretrage vršene su i u drugih vrsta morskih sisavaca koje su mogle biti izložene infekciji brucelama diljem obale Engleske i Velsa. U razdoblju od 1989. do 1995. godine prikupljena su 153 uzorka seruma morskih sisavaca. Pozitivne serološke reakcije zabilježene su u 6 (10%) od 62 čunjastih tuljana (*Halichoerus grypus*), u 1 (8%) od 12 običnog tuljana (*Phoca vitulina*), u 11 (31%) od 35 uzoraka obalnog dupina (*Phocoena phocoena*) i u 9 (20%) od 44 uzoraka običnog dupina (*Delphinus delphis*) (Jepson i sur., 1997.). Protutijela za *B. pinnipedialis* najčešće su dokazana u običnog tuljana (*Phoca vitulina*) u 3 (14%) od 21 uzoraka te u 4 od 53 (8%) grenlandskog tuljana (*Phoca groenlandica*). Osobito je visok nalaz serološki pozitivnih životinja (35%) utvrđen u mjhurastog tuljana (*Cystophora cristata*) u sjevernom dijelu Atlanskog oceana i Barentsovog mora. Maratea i sur. (2003.), su dokazali protutijela za brucelezu u 49% uzoraka običnog tuljana iz Škotske, u 21% uzoraka iz Sjeverne Amerike te iz



Slika 2. Proširenost *B. pinnipedialis* u tuljana, vidre i polarnog medvjeda u svijetu (prema Hernandez-Mora i sur., 2013.).

75% pretraženih uzoraka morskih lavova u Australiji. Tryland i sur. (1999.) su protutijela za brucelozu dokazali u 35% uzoraka mješurastog tuljana (*Cystophora cristata*), u 2% grenlandskog tuljana (*Phoca groenlandica*) i u 10% kolutastog tuljana (*Phoca hispida*). Istraživanja su pokazala da je bruceloza prilično rasprostranjena u morskih sisavaca u sjevernom Atlantiku. Tryland i sur. (2001.) su ustvrdili protutijela u 16 (5,4%) od 297 pretražena krvna seruma polarnih medvjeda (*Ursus maritimus*) iz otočja Svalbard i u Barentsovom moru. Protutijela na brucelozu su na istom području pronađena i u kolutastog tuljana (*Phoca hispida*) i grenlandskog tuljana (*Phoca groenlandica*), a te vrste tuljana predstavljaju važan izvor prehrane za medvjede te za njih mogu biti važan izvor infekcije. Tryland i sur. (2005.) su u naizgled zdravih tuljana uhvaćenih u njihovom prirodnom staništu u sjevernom Atlantskom moru i Grenlandu dokazali brucelozu u 11 (38%) od 29 mješurastog tuljana (*Cystophora cristata*). O'Hara i sur. (2010.) dokazali

su protutijela na brucelozu u polarnih medvjeda (*Ursus maritimus*) na Aljasci u rasponu od 6,8% do 18,5% obrađenih uzoraka.

Rasprostranjenost bruceloze u morskih sisavaca u Sredozemnom moru

Do sada je na području Sredozemnog mora bruceloza u morskih sisavaca dokazana u Italiji, Španjolskoj i Hrvatskoj (Slika 3). *Brucella* sp. prvi je put u Sredozemnom moru izdvojena iz plavobijelog dupina (*Stenella coeruleoalba*) 2012. godine u Italiji na području Tirenskog mora (Tuscany) (Slika 3., oznaka 1). Izdvojena je iz mozga, pluća i limfnih čvorova. Izolat je klasificiran kao *Brucella ceti* tip 1, a multilokusnim sekvenciranjem (MLST) dokazano je da pripada tipu *B. ceti* ST 26 (Alba i sur., 2013.). Drugi opisani slučajevi bruceloze bili su u dva plavo-bijela dupina (*Stenella coeruleoalba*) pronađena na južnom dijelu Italije na jonskoj obali Sredozemnog mora. Bruceloza izdvojena iz



Slika 3. Prikaz rasprostranjenosti bruceloze u dupina u Sredozemnom moru. U Italiji (oznake 1 i 2), u Španjolskoj (oznaka 3) i u Hrvatskoj (oznaka 4).

dupina na području Galipolli Lido Pizzo u ožujku 2012. i nešto kasnije u studenom 2012., iz dupina na području Porto Cesareo Bacino. Oba izolata molekularnim tehnikama tipizirani su kao *B. ceti* ST 26. (Garofolo i sur., 2014.), (Slika 3., oznaka 2). Isidoro-Ayza i sur. (2014.) opisuju brucelozu dva plavobijela dupina (*Stenella coeruleoalba*) pronađenih na području obala Katalonije (Salou i Badalona) i dobrog dupina (*Tursiops truncatus*) (Qunit) u Španjolskoj. Dva plavobijela dupina pronađena su živa, jedan sa znacima neurobruceloze, smanjenom pokretljivošću, bočnim plivanjem i nekoordiniranošću, a drugi nije pokazivao kliničke znakove bolesti. Tijelo dobrog dupina pronađeno je mrtvo na obali. Iz obrađenih organa iz sva tri dupina izdvojena je *B. ceti*, a multilokusnim sekvencioniranjem (MLST) dokazano je da izolat pripada tipu *B. ceti* ST 26 (Slika 3., oznaka 3.).



Slika 4. Uginuli dobri dupin (*Tursiops truncatus*) na obali Jadranskog mora.

Bruceloza u morskih sisavaca u Republici Hrvatskoj

Dobri dupin (*Tursiops truncatus*) je široko rasprostranjen u Sredozemnom moru. Jedini je stalno živući dupin u Hrvatskoj. Pokazuje vezanost (rezidentnost) području u kojem prebiva tvoreći zajednice različitih veličina. Osim dobrog dupina u Jadransko more zalaze plavobijeli dupin (*Stenella coeruleoalba*), glavati dupin (*Grampus griseus*), krupnozubi dupin (*Ziphius cavirostris*). S obzirom na malu površinu i veliku zatvorenost Jadranskog mora te veliki pritisak stanovništva, osobito turista ljeti, dupini u Jadranu suočeni su s više uzroka ugroženosti. Dupini u Hrvatskoj u 50% slučajeva stradavaju od djelovanja ljudi. Ulov i zapetljavanje u ribarske mreže, namjerno ubijanje od strane ribara ili ubijanje iz drugih razloga, a jedan dio uginu prirodnom smrću (Slike 4, 5 i 6.).

Prva istraživanja bruceloze u dupina u Republici Hrvatskoj započela su u ljeto 2015. godine. Tijekom 2015. i 2016. obrađeno je 9 uginulih dupina koji su pronađeni na sljedećim lokacijama: Rovinj (oznaka dupina 348), Poreč (350), Ošljak (355), Molat (356), Lošinj (358), Vir (367), Lošinj (371), Rijeka (373), Pula (374) (Slika 7.). *Brucella* sp. izdvojena je iz limfnih čvorova dobrog dupina oznake 350 koji je nađen na području Poreča (Slike 8 i 9).



Slika 5. Uginuli plavobijeli dupin (*Stenella coeruleoalba*) na obali Jadranskog mora.



Slika 6. Lešina uginulog dobrog dupina. Vidljivo je da uginuli dupini nemaju repnu peraju koja je po svemu sudeći odrezana nakon što se dupin zapleo u ribarsku mrežu.

Izolat (broj 350) izdvojen je peti dan nakon naciepljivanja na hranilištu po Farrellu pri 37 °C (Slika 10). Dostupnim molekularnim metodama potvrđena je pripadnost soja rodu *Brucella*. Konvencionalnim PCR-om utvrđen je gen BCSP-31, a 100%-tna homologija s poznatim vrstama brucela, uključujući i vrste izdvojene iz morskih sisavaca potvrđena je temeljem sekvence 16S rRNK. Identifikacija vrste unutar roda provedena je multipleks PCR metodom *Bruce-ladder*. S ciljem razlikovanja vrsta *B. ceti* i *B. pinnipedialis* korištene su dodatno kreirane početnice te je utvrđen profil kojim se još uvijek sa sigurnošću ne može odrediti pripadnost ni jednoj od poznatih vrsta. Stoga su dalje započete genotipizacijske analize soja metodom MLVA radi utvrđivanja vrste, zatim analiza sekvenci devet

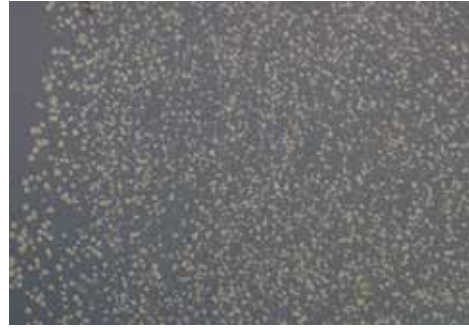
genskih lokusa metodom MLST radi detaljnijih filogenetskih analiza i važnih epidemioloških podataka.



Slika 7. Prikaz lokacija u Jadranskom moru u Republici Hrvatskoj gdje su pronađene lešine uginulih dobrih dupina obrađenih na brucelozi.



Slike 8 i 9. Dobri dupin (*Tursiops truncatus*) oznake 350 na Zavodu za anatomiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu neposredno prije razudbe.



Slika 10. Vidljiv je rast glatkih prozirnih kolonija brucela izdvojenih iz dupina na hranjivoj podlozi Farell.

Dijagnostika bruceloze u morskih sisavaca

Nema specifičnog kliničkog simptoma koji bi upućivao 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 sistavne bolesti. Brucele su izdvojene i iz organa zdravih životinja. Radi razumijevanja patogenoze, epizootologije i epidemiologije bruceloze, izvora infekcije u morskih sisavaca u oceanima i morima diljem svijeta, potrebno je provesti objektivnu dijagnostiku i kada god je to moguće izdvojiti i identificirati brucele.

Liječenje i nadzor bruceloze u morskih sisavaca

Pokušaji liječenja dupina u zatočeništvu antibioticima pokazali su se neuspješnima. Zbog dugotrajnog unutarstaničnog opstanka brucela u organizmu i rizika od širenja infekcije na druge životinje i ljude, smatra se nužnim i opravdanim neškodljivo uklanjanje pozitivnih životinja, a osobito onih s kliničkim komplikacijama. Ne postoji sustavni nadzor bruceloze u morskih sisavaca, a moguće posljedice su infekcije ljudi i širenje bolesti. Rijetko se kontroliraju meso i organi radi daljnje

potrošnje. Najčešće su morski sisavci ulovljeni i obrađeni bez ikakvih mjera opreza. Ne postoji sustavna kontrola nasukanih i uginulih morskih sisavaca te takve životinje često dolaze u izravan dodir s domaćim životinjama i ljudima te postoji moguća opasnost od infekcije (Hernandez-Mora i sur., 2013.).

Sažetak

Nakon gotovo dva desetljeća istraživanja i dokaza bruceloze u morskih sisavaca, opće je poznato da je bruceloza u morskih sisavaca globalno rasprostranjena. Bakteriološki ili serološki pozitivne životinje pronađene su u Sjevernom Atlantiku, Sredozemnom moru i na Arktiku, uključujući i Barentsovo more. Zaražene ili zarazi izložene životinje otkrivene su duž atlanske i pacifičke obale Sjeverne Amerike, obale Perua, Australije, Novog Zelanda, Havaja i na Solomonskim otocima te Antarktici. Među kitovima zubanima najčešće se bruceloza javlja u obalnih dupina (*Phocoena phocoena*), zatim u plavobijelog dupina (*Stenella coeruleoalba*), atlanskog bjelobokog dupina (*Lagenorhynchus acutus*), dobrog dupina (*Tursiops truncatus*) i običnog dupina (*Delphinus delphis*) te patuljastog kita (*Balaenoptera acutorostrata*). Pokazalo se da je oko 4% pretraženih morskih sisavaca serološki pozitivno na području Atlantika, Pacifika i Arktika. U manje opsežnim istraživanjima seroprevalencije kretala se od 0 do 80%. Pozitivne serološke reakcije utvrđene su u 35 vrsta kitova i u 14 vrsta perajara, dvije podvrste morskih vidri, jedne vrste slatkovodnih vidri i polarnog medvjeda.

Do sada je na području Sredozemnog mora bruceloza u morskih sisavaca dokazana u Italiji, Španjolskoj i Hrvatskoj. Prva istraživanja bruceloze u dupina u Republici Hrvatskoj započela su u ljeto 2015. godine. Tijekom 2015. i 2016. obrađeno je 9 uginulih dupina, a *Brucella* sp. izdvojena je iz limfnih čvorova dobrog dupina koji je nađen na području Poreča.

Ključne riječi: morski sisavci, bruceloza, prevalencija, Hrvatska

Literatura

1. ALBA, P., G. TERRACCIANO, A. FRANCO, S. LORENZETTI, C. COCUMELLI, G. FICHI, C. ELENI, M. S. ZYGMUNT, A. CLOECKAERT and A. BATTISTI (2013): The presence of *Brucella ceti* ST 26 in a striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) with meningoencephalitis from the Mediterranean Sea. *Vet. Microbiol.* 164, 158-163.
2. CLOECKAERT, A., J. M. VERGER, M. GRAYON, J. Y. PAQUET, B. GARIN-BASTUJI, G. FORSTER and J. GODFROID (2001): Classification of *Brucella* spp. isolated from marine mammals by DNA polymorphism at the omp2 locus. *Microbes. Infect.* 3, 729-738.
3. CORBEL, M. J. and W. J. B. MORGAN (1975): Proposal for minimal standards for descriptions of new species and biotypes of the genus *Brucella*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 25, 83-89.
4. CORBEL, M. J., K. P. W. GILL and E. L. THOMAS (1983): Methods for the identification of *Brucella*. Central Veterinary Laboratory, New Haw, Weybridge, pp. 1-63.
5. DAGLEISH, M. P., J. BARLEY, J. FINLAYSON, R. J. REID and G. FORSTER (2008): *Brucella ceti* associated pathology in the testicle of harbour porpoise (*Phocoena phocoena*). *J. Comp. Pathol.* 139, 54-59.
6. DAVISON, N. J., J. E. BARNETT, L. L. PERRETT, C. E. DAWSON, M. W. PERKINS, R. C. DEAVILLE and P. D. JEPSON (2013): Meningoencephalitis and arthritis associated with *Brucella ceti* in a short-beaked common dolphin (*Delphinus delphis*). *J. Wildl. Dis.* 49, 632-636.
7. DAWSON, C. E., E. J. STUBBERFIELD, L. L. PERRETT, A. C. KING, A. M. WHATMORE, J. B. BASHIRUDDIN, J. A. STACK, A. P. MACMILLAN (2008a): Phenotypic and molecular characterisation of *Brucella* isolates from marine mammals. *BMC Microbiol.* 8, 224-227.
8. DAWSON, C. E., L. L. PERRETT, E. J. STUBBERFIELD, J. A. STACK, S. S. FARRELLY, W. A. COOLEY, N. J. DAVISON and S. QUINNEY (2008b): Isolation and characterization of *Brucella* from the lungworms of a harbour porpoise (*Phocoena phocoena*). *J. Wildl. Dis.* 44, 237-246.
9. 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.
10. FOSTER, G., A. P. MACMILLAN, J. GODFROID, F. HOWIE, H. M. ROSS, A. CLOECKAERT, R. J. REID, S. BREW and I. A. PATTERSON (2007): A review of *Brucella* spp. infection of sea mammals with particular emphasis on isolates from Scotland. *Vet. Microbiol.* 90, 563-580.
11. GAROFOLO, G., K. ZILLI, P. TROIANO, A. PETRELLA, F. MARROTTA, G. DI SERAFINO, M. ANCORA and E. DI GIANNATALE (2014): *Brucella ceti* from two striped dolphins stranded on the Apulia coastline, Italy. *J. Med. Microbiol.* 63, 325-329.
12. 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.
13. GUZMAN-VERRI, C., R. GONZALES-BARRIENTOS, G. HERNANDEZ-MORA, J. A. MORALES, E. BAQUERO-CALVO, E. CHAVES-OLARTE and E. MORENO (2012): *Brucella ceti* and brucellosis in cetaceans. *Front. cell. Infect. Microbiol.* doi:10.3389/fcim.2012.00003.
14. 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. *Emerg. Infect. Dis.* 14, 1430-1433.
15. 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.
16. HERNANDEZ-MORA, G., J. D. PALACIOS-ALFARO and R. GONZALES-BARRIENTOS (2013): Wildlife reservoirs of brucellosis: *Brucella* in aquatic environments. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 32, 89-103.
17. ISIDORO-AYZA, M., N. RUIZ-VILLALOBOS, L. PEREZ, C. GUZMAN-VERRI, P. M. MUNOZ, F. ALEGRE, M. BARBERAN, C. CHACON-DIAZ, E. CHAVEZ-OLARTE, R. GONZALES-BARRIENTOS, E. MORENO, J. M. BLASCO and M. DOMINGO (2014): *Brucella ceti* infection in dolphins from the Western Mediterranean Sea. *BMC Vet. Rec.* 10, 206.
18. JAHANS, K. L., G. FORSTER and E. S. BROUGHTON (1997): The characterisation of *Brucella* strains isolated from marine mammals. *Vet. Microbiol.* 57, 373-382.
19. JAUNIAUX, T. P., C. BRENEZ, D. FRETIN, J. GODFROID, J. HAETERS, T. JACQUES, F. KERCKHOF, 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.* 141, 513-515.
21. MAIO, E., L. BEGEMAN, Y. BISSELINK, P. VAN TULDEN, L. WIERSMA, S. HIEMSTRA, R. RUULS, A. GRONE, H. I. ROEST, P. WILLEMSEN and J. VAN DER GIESSEN (2014): Identification and typing of *Brucella* spp. in stranded harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) on the Dutch coast. *Vet. Microbiol.* 173, 118-124.
22. MARATEA, J., D. R. EWALT, S. J. FRASCA, J. L. DUNN, S. DE GUISE, L. SZKUDLAREK, D. J. STAUBIN and R. A. FRENCH (2003): Evidence of *Brucella* sp. infection in marine mammals stranded along the coast of southern New England. *J. Zoo Wildl. Med.* 34, 256-261.

23. 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.
24. 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.
25. 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.
26. 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.
27. 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.
28. O'HARA, T. M., D. HOLCOMB, P. ELZER, J. ESTEPP, Q. PERRY, S. HAGIUS and C. KIRK (2010): *Brucella* species survey in polar bears (*Ursus maritimus*) of northern Alaska. J. Wildl. Dis. 46, 687-694.
29. OSTRMAN, B. and I. MORIYON (2006): International committee on systematic of prokaryotes. Subcommittee on the taxonomy of *Brucella*. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 56, 1173-1175.
30. ROSS, H. M., K. L. JAHANS, A. P. MACMILLAN, R. J. REID, P. M. THOMPSON and G. FOSTER (1996): *Brucella* species infection in Nort Sea seal and cetacean populations. Vet. Rec. 138, 647-648.
31. TRYLAND, M., L. KLEIVANE, A. ALFREDSSON, M. KJELD, A. ARNASON, S. STUEN and J. GODFROID (1999): Evidence of *Brucella* infection in marine mammals in the North Atlantic Ocean. Vet. Rec. 144, 588-592.
32. TRYLAND, M., A. E. DEROCHE, Y. WIIG and J. GODFROID (2001): *Brucella* sp. antibodies in polar bears from Svalbard and Barents Sea. J. Wildl. Dis. 37, 523-531.
33. TRYLAND, M., K. K. SORENSEN and J. GODFROID (2005): Prevalence of *Brucella pinnipediae* in healthy hooded seals (*Cystophora cristata*) from the North Atlantic Ocean and ringed seals (*Phoca hispida*) from Svalbard. Vet. Microbiol. 105, 103-111.
34. VAN BRESSEM, M. F., K. WAEREBEEK, J. A. RAGA, J. GODFROID, S. D. BREW and A. P. MACMILLAN (2001): Serological evidence of *Brucella* species infection in odontocetes from the South Pacific and the Mediterranean. Vet. Rec. 148, 657-661.

The Prevalence of Brucellosis in Marine Mammals with a Special Review to Croatia

Željko CVETNIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor, Full Professor, Maja Zdelar-Tuk, DVM, PhD, Scientific Advisor, 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

The global distribution of brucellosis in marine mammals has been confirmed after almost two decades of research. *Brucella* sp. have been isolated, or serological evidence of infection reported, in animals from the North Atlantic Ocean, Mediterranean Sea, and Arctic Ocean, including the Barents Sea. Infected animals, and animals exposed to infection with *Brucellae* have been recorded along the Atlantic coastline, along the Pacific coastline of North America, *i.e.* Peru; off the Australian coastline, New Zealand, Hawaiian, Solomon Islands, and off the Antarctic coastline. Among the toothed whales, brucellosis is most frequently detected in harbour porpoise (*Phocoena phocoena*), striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*), Atlantic white-sided dolphin (*Lagenorhynchus acutus*), and minke whale (*Balaenoptera acutostrata*). Serological evidence of brucellosis

among marine mammals from the Atlantic, Pacific and Arctic Oceans was found in 4% of tested animals. At a smaller scale of study, the range of seroprevalence varied from 0% to even 80%. To date, serological evidence of brucellosis has been found in 35 species of whales, 14 species of fin-footed animals, two subspecies of marine otters, one species of freshwater otter and in polar bear. In the Mediterranean area, brucellosis in marine mammals has been reported in Italy, Spain and Croatia. The first investigation of brucellosis in marine mammals in Croatia began in summer 2015. During 2015–2016, nine dead dolphins were submitted for analysis, and *Brucella* sp. was isolated from the lymph nodes of one of these animals.

Key words: Marine mammals, Brucellosis, Prevalence, Croatia