



**HRVATSKI VETERINARSKI INSTITUT**  
10000 ZAGREB, Savska cesta 143, P.P. 883  
Telefon 01/6123-666, Telefax 01/6190-841  
www.veinst.hr

**Odjel za bakteriologiju i parazitologiju**

*Laboratorij za bakterijske zoonoze i molekularnu  
dijagnostiku bakterijskih bolesti*

**Ur. broj: 807/17 od 28.2.2017.**

**USTANOVA ZOOLOŠKI VRT GRADA ZAGREBA**  
**Maksimirski perivoj bb**  
**Zagreb**

USTANOVA ZOOLOŠKI VRT GRADA ZAGREBA, Zagreb, Maksimirski perivoj bb, OIB 69262261098 (u daljnjem tekstu: NARUČITELJ), zastupano po ravnateljici mr. sc. Davorki Maljković, zaključili su s HRVATSKIM VETERINARSKIM INSTITUTOM, Savska cesta 143, Zagreb, OIB 29059177553 (u daljnjem tekstu: INSTITUT), zastupan po ravnatelju prof. dr. sc. Borisu Habrunu Ugovor o stručnoj suradnji u kojem je utvrđeno da je predmet ovog ugovora provedba laboratorijskog monitoringa bruceloze pasa (*Canine brucellosis*), anaplazmoze/erlihioze i babezioze u pasa koji se nalaze u Skloništu za nezbrinute životinje Grada Zagreba, Dumovec, Franjavčičeva 43.

Osim provedbe laboratorijskog monitoringa, procjenjivati će se ponašanje životinja obuhvaćenih monitoringom te eventualne promjene u ponašanju životinja pokušati dovesti u vezi sa udomljivošću životinja. Osim navedenog, provodile su se i ostale aktivnosti vezane za unapređenje dobrobiti u skloništu na temelju Shelter QualityProtocol-a te laboratorijska pretraga na leptospirozu metodom mikroskopske aglutinacije.

Cjelokupni laboratorijski monitoring iz ovog Ugovora, odobren je od strane Gradskog ureda za poljoprivredu i šumarstvo Grada Zagreba i Uprave za veterinarstvo, Ministarstva poljoprivrede, Republike Hrvatske (Klasa: UP/I-322-01/15-01/33, Ur.broj: 525-10/0255-15-2 od 29.4.2015.).

Izvođač provedbe laboratorijskog monitoringa iz ovog Ugovora ispred INSTITUTA je Laboratorij za bakterijske zoonoze i molekularnu dijagnostiku bakterijskih bolesti (Z-II-1) Laboratorij za parazitologiju (Z-II-4) i Ured za dobrobit životinja (Z-VI-7).

U provođenju sastavnica monitoringa sa strane Skloništa za nezbrinute životinje Grada Zagreba, Dumovec sudjelovali su djelatnici veterinarske službe Jozo Galić, dr.med.vet. (licenca br. 1950; iskaznica br. 2807), Tatjana Zajec, dr.med.vet. (licenca br. 1551; iskaznica br. 2362), Katarina Matota, vet.tehničarka, Tomislav Dugan, vet.tehničar i ostalo tehničko osoblje Marija Ferenček, Mateo Vinković i Neda Budas.

## **Materijal:**

Provedba monitoringa je trajala od 4. rujna 2015. godine do 7. lipnja 2016.

Radi serološke pretrage na brucelozu (*Brucella canis*) i leptospirozu (sv. Icterohaemorrhagiae, sv. Australis, sv. Ballum, sv. Tarassovi, sv. Pomona, sv. Saxkoebing, sv. Hardjo, sv. Sejroe, sv. Bataviae, sv. Grippotyphosa i sv. Canicola) pretražili smo sveukupno krv i organe 28 pasa, odnosno 15 mužjaka i 13 ženki. Radi bakteriološke pretrage na brucelozu dostavljeni su uzorci organa 14 pasa i to testisi 10 pasa i maternice s jajnicima 3 kuje.

U Laboratoriju za parazitologiju za provedbu istraživanja korištena je puna krv (EDTA antikoagulans) 50 pasa koja je bila pretražena serološki (Snap 4Dx, IDEXX) i molekularnim metodama na prisutnost najznačajnijih bolesti prenosiv vektorima. Molekularnim metodama uzorci krvi su bili pretraženi na prisutnost DNA odjsčaka specifičnih za rodove *Babesia/Theileria* (18S rDNA) te rodova *Anaplasma/Ehrlichia* (16S rRNA). U nekoliko pasa su prilikom udomljavanja dokazane i mikrofilarije oblića *Dirofilaria repens* stoga su svi psi dodatno pretraženi i modificiranom metodom po Knottu kako bi dokazala prisutnost mikrofilarija.

Ured za dobrobit životinja sukladno dogovorenom planu aktivnosti osmislio je anketni upitnik, pripremio ga za provedbu, te sukladno dogovoru i proveo anketu budućih vlasnika pasa (n=48), te će rezultate anketnog ispitivanja publicirati u dogovoru sa djelatnicima Skloništa za nezbrinute životinje grada Zagreba – Dumovec. Aktivnosti procjene ponašanja životinja provedena je pregledom Skloništa sukladno Shelter Quality protokolu. Nažalost, zbog nemogućnosti praćenja dolazaka i odlazaka životinja, nismo bili u mogućnosti provesti sve aktivnosti vezane uz praćenje ponašaja individualnih životinja čiji su organi bili dostavljani na ostale analize.

## **Rezultati:**

Bruceloza pasa (*Brucella canis*)

*Pretrage dostavljenih uzoraka krvi, tkiva i organa provedene su u pasa kod kojih kliničkom pretragom nije prethodno postavljena sumnja na infekciju vrstom B. canis ili leptospirozu.*

Serološke pretrage krvi pasa na brucelozu pasa izvršene su metodom brze aglutinacije „Canine Brucellosis Antibody Test Kit“, proizvođača Synbiotics Corporation, SAD. Pretražene krvi svih 28 pasa reagirale su negativno.

## Leptospiroza pasa

Serološka pretraga krvi pasa na leptospirozu provedena je metodom mikroskopske aglutinacije s 11 serovarova leptospira, zoonotski značajnih za područje R. Hrvatske i to počevši od razrjeđenja seruma 1:50. Pozitivne reakcije utvrđene su u 3 psa (jedan mužjak i 2 ženke). Pozitivne reakcije utvrđene su za serovarove Pomona i Grippotyphosa (Tablica 1).

## Parazitološka istraživanja

Ukupno su prtražene krvi 50 životinja. Mikrofilarije oblića *D. repens* moficiranim Knottovim testom su bile dokazane u 22 psa što je iznosilo 44%. U pretraženim razmazima krvi obojenim po Giemsi nisu dokazani merozoiti protozoona *Babesia canis* dok je lančanom reakcijom polimerzom i sekvenciranjem dokazana u jednom uzorku (pas Haus.) SNAP 4Dx testom su dokazan protutijela na anpalzme *A. phagocytophilum/A. platys* u dvije životinje (4%) dok su protutijela na erlihiju *Ehrlichia canis* dokazan u jednog psa (2%). Protutijela na bakteriju *Borelia burgdorferi* sensu lato nisu dokazana u ovom istraživanju kao niti cirkulirajući antigen srčanog crva *Dirofilaria immitis*. Lančanom reakcijom polimerazom DNA odsječak specifičan za rodove *Anaplasma /Ehrlichia* je bi dokazan u jednog psa (Lajoš), Sekvencioniranjem je u jednoj životinji dokazan vrsta *A. platys* (Tablica 2 i 3).

## Dobrobit životinja

Kroz provedene aktivnosti za procjenu dobrobiti životinja prema Shelter Quality protokolu, Sklonište Dumovec polučilo je vrlo visok rezultat u Emotional State Indexu – 0,74 što ga stavlja u razinu skloništa sa vrlo dobrim uvjetima držanja životinja. Rezultati anketnih ispitivanja biti će publicirani u dogovoru sa djelatnicima Skloništa.

## Mišljenje:

Bruceloza je zoonoza i zarazna bolest raširena gotovo u cijelom svijetu. Bolest u životinja uzrokuju razne vrste iz roda *Brucella (B.)* s karakterističnim znakovima bolesti kao što su pobačaj, zaostajanje posteljice, orhitis i upale sekundarnih spolnih žlijezda. Za bolest u ljudi je karakteristična undulirajuća groznica, zimica, slabost, pojačano znojenje, artralgija, mijalgija, glavobolja, anoreksija, umor i predstavlja ozbiljan javnozdravstveni problem. Brucelozu pasa uzrokuje vrsta *B. canis*. Bolest u pasa uzrokuje probleme u reprodukciji te se stoga opisuje češće kao problem uzgajivačnica i pasa lualica. U kuja je glavni klinički znak pobačaj do kojega može doći u bilo koje vrijeme graviditeta no najčešće od 45. do 55. dana skotnosti. Također nije rijetka rana embrionalna smrtnost kao i protrahirani pobačaji s posljedičnim uginućem avitalne štenadi. U mužjaka, u akutnim slučajevima javlja se orhitis, epididimitis i otečenje skrotuma. Može se pojaviti i šepanje zbog diskospondilitisa i

poliartritis, te glomerulonefritis, meningoencefalitis i rekurentni uveitis. *B. canis* je opisana kao uzročnik izuzetno teške bolesti u ljudi.

Bolest je do sada dokazana u pasa i ljudi širom svijeta, većini zemalja Europske unije, a od susjednih zemalja u R. Srbiji. Za susjednu Federaciju Besne i Hercegovine nemamo epidemiološke podatke. U Hrvatskoj do sada nije dokazana bolest u pasa, kao ni infekcija u ljudi.

Leptospiroza je akutna septikemijska zarazna bolest različitih vrsta domaćih i divljih životinja i ljudi. Bolest uzrokuju brojni patogeni serovarovi (sv.) vrste *Leptospira* (*L. interrogans*). Upotrebom molekularnih metoda tipizacije utvrđeno je dodatno preko 20 genomskih vrsta u rodu *Leptospira* koje se dijele u tri skupine: patogene, nepatogene i leptospire nepoznate patogenosti. Većina u svijetu patogenih serovarova spada u tri vrste: *L. interrogans*, *L. borgpetersenii* i *L. kirschneri*. Bolest ima prirodno žarišni karakter a pojavljuje se širom svijeta, te u različitim vrsta domaćih i divljih životinja i ljudi u Hrvatskoj. Pojedine životinjske vrste smatraju se rezervoarima odnosno nositeljima za pojedine serovare leptospira (npr. štakor za sv. *Icterohaemorrhagiae*; kućni miš za sv. *Saxkoebing*; poljska voluharica za sv. *Grippotyphosa*; poljski miš za sv. *Pomona*; žutogrli miš za sv. *Bratislava*; svinja za sv. *Pomona*, *Tarassovi*, *Bratislava*, *Canicola*, *Icterohaemorrhagiae*; govedo za sv. *Hardjo*; pas za sv. *Canicola*). Leptospiroza na nekom području najčešće pojavljuje enzootski, iznimno u obliku zatvorenih epizootija a bolest uzrokuju serovarovi inače endemski prisutni na tom području. Izvor leptospira su bolesne životinje i životinje kliconoše koje uzročnika šire svojom mokraćom (leptospiurija). Iako se životinje najčešće inficiraju *per os*, mjesto ulaska može biti i oštećena koža i sluznice. Usprkos uvriježenoj vakcinaciji pasa protiv leptospiroze, komercijalne vakcine često ne sadrže sv. *Grippotyphosa* odnosno nikako sv. *Pomona* a upravo su ovi serovarovi najznačajniji uzročnici leptospiroze pasa u Hrvatskoj, te izrazitog zoonotskog značaja. Prema aktualnim podacima Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo od leptospiroze je u 2014. godini oboljelo 105 ljudi, uz jedan smrtni ishod a u 2015. oboljelo je 36 ljudi uz jedan smrtni ishod 1.

Monitoringom su bili obuhvaćeni uzročnici bolesti pasa koji se prenose krpeljima i komarcima. Premda nije bilo planirano, svi psi su bili pretetraženi na prisutnost mikrofilarija što je rezultiralo dokazivanjem visoke invadiranosti od 44%. Ovaj nalaz ukazuje na stalnu izloženost pasa komarcima, a sama učestlost je visoka jer psi u pravilu na pokazuju znakove bolesti što ih čini asimptomatskim rezervoarima *D. repens*, uzročnika potkožne dirofilarioze. Velik broj pasa na jednom mjestu može pospještiti širenja uzročnika a sama zaštita pasa protiv vektorima prenosivih bolesti ne štiti od uboda komaraca ukoliko preparat ne sadrži repelentno

sredstvo. Također postoji i mogućnost postojanja povoljnih uvjeta za razvoj komaraca (vlaga, temperatura) u skloništu što može dodatno pridonijeti prijenosu uzročnika. Temeljem dobivenog nalaza možemo predložiti zaštitu pasa preparatima koji odbijaju vektore, u ovom slučaju komarce. Za razliku od značajne učestalosti *D. repens*, uzročnici prenosivi krpeljima nisu imali niti približno sličnu učestalost. Lančanom reakcijom polimerazom i sekvenciranjem umnoženih odaječaka dokazani su *B. canis* u jednog psa kao i *A. platys*. Serološki su protutijela na vrstu *E. canis* dokazana u jedne životinje (2%) što predstavlja zanimljiv nalaz pošto ova vrsta za sada nije genetski potvrđena već su samo dokazana protutijela. Vektor je krpelj *Rhipicephalus sanguineus* koji je dokazan u pasa iz skloništa. Isti krpelj je predloženi vektor i anaplazme *A. platys* koja je dokazana u jedne životinje. Nalaz protutijela u 4% pasa na anaplazme je očekivan i ukazuje na umjerenu izloženost odnosno na bolju zaštitu pasa od ubode krpelja i prijenosa uzročnika. Ukopno su u 10% pasa dokazani uzročnici (*B. canis*, *A. platys*) odnosno protutijela na anaplazme te na *E. canis*.

Iz svega navedenog može se zaključiti da su psi iz skloništa izloženi vektorima prenosivim bolestima posebice potkožnoj dirofilriozi (*D. repens*) koja se prenosi komarcima stoga možemo predložiti korištenje repelenata u zaštiti od ektoparazita. Također bi bilo dobro životinje koje ulaze u sklonište pretražiti Knottovim testom sa ciljem sprječavanja unosa rezervoara i dodatnog širenja uzročnika.

Smatramo da bi Sklonište u Dumovcu trebalo redovito provoditi pretrage pasa na uzročnike spomenutih zoonoza zbog nepoznatog zdravstvenog statusa životinja koje se zbrinjavaju i činjenice da iste dolaze u neposredni kontakt s ljudima i drugim životinjama.

**Voditelj laboratorija Z-II-1:** \_\_\_\_\_

**dr.sc. Silvio Špičić**

**Voditelj laboratorija Z-II-4:** \_\_\_\_\_

**dr. sc. Relja Beck**

**Voditelj Odjela Z-VI-7:** \_\_\_\_\_

**Tomislav Mikuš, dr. vet. med.**

**Prilog:** Tablica 1: Pretrage izvršene u Laboratoriju za bakterijske zoonoze  
Tablica 2: Pretrage izvršene u Laboratoriju za parazitologiju  
Tablica 3: Pretrage izvršene u Laboratoriju za parazitologiju

**Na znanje:** Sklonište za nezbrinute životinje, Franjčevićeva ul. 43, 10361 Dumovec