

Bruceloza u morskih sisavaca (I. dio)

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



Uvod

Bruceloza je prepoznata i dokazana u kitova, dupina, tuljana, morskih lavova, morževa i vidra. Čini se da je široko rasprostranjena u morskih sisavaca, a klinički se po svemu sudeći očituje placentitisom i pobačajem, neonatalnom smrtnošću, meningoencefalitisom, apscesima po koži. Brucele su izdvojene i iz morskih sisavaca bez ikakvih simptoma i tkiva bez patoloških promjena. Bruceloza se može prenijeti na kopnene sisavce koji se hrane morskim sisavcima, poput sjevernog medvjeda. Pokusima je dokazano da mogu inficirati i domaće životinje. Prirodno su se inficirali i ljudi, najčešće oni koji su profesionalno izloženi i rade s morskim sisavcima (Hernandez-Mora i sur., 2013.).

Potencijalni domaćini *Brucella* (*B.*) u vodenim sustavima mogu uključiti čak oko 130 vrsta morskih sisavaca koji žive i hrane se u morima, rijekama i jezerima. Među njima je 86 različitih vrsta kitova iz reda *Cetacea* iz podreda *Odontoceti* (kitovi zubani) i *Mysticeti* (kitovi usani) kojem pripadaju dupini i kitovi, 36 vrsta koje pripadaju u podred *Pinnipedia* (perajari), porodicu *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 dugon*) isto tako čine skupinu morskih sisavaca (Jefferson i sur., 2008. cit. Hernandez-Mora i sur., 2013., Gomerčić, 1998.).

Etiologija

Proučavanje bruceloze u morskih sisavaca započelo je 1994. godine kada je *Brucella* 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*) iz zatočeništva u američkoj saveznoj državi Kaliforniji (Ewalt i sur., 1994., Ross i sur., 1994., 1996.).

Minimalni standardi za opisivanje novih vrsta i biotipova roda *Brucella* predloženi su 1975. godine. Pododbor za taksonomiju bakterija roda *Brucella* je 2003. godine je ponovno evaluirao kriterije za definiranje vrste roda *Brucella*, zbog razvoja novih molekularnih metoda, s posebnim osvrtom na sojeve izdvojene iz morskih sisavaca. Temeljem konvencije o nomenklaturi brucela tradicionalno se vrsta imenuje po glavnom domaćinu. U početku su svi navedeni sojevi nazvani *B. maris*

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 Zagrebu, Hrvatska

(Jahans i sur., 1997.). Kasnije su studije pokazale da se radi o dvije vrste brucela. Izolati iz kitova su prvo nazvani *Brucella cetacea* (Cloeckeaert i sur., 2001.). Godine 2007. preimenovane su u *Brucella ceti* čiji su prirodni domaćini kitovi (*Cetacea*). 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., Osterman i Moriyon, 2006., Cloeckeaert i sur., 2003., Foster i sur., 2002., 2007.).

Veliko istraživanje koje je obuhvaćalo 102 izolata izdvojenih bakterija vrste *B. ceti* i *B. pinnipedialis* pokazalo je da postoje značajne razlike u karakteristikama tih sojeva. Pri čemu je rast pri CO₂ posebno bio značajan u identifikaciji, jer je CO₂ u atmosferi bio potreban za rast izolata iz tuljana, a nije bio potreban izolatima iz kitova (Dawson i sur., 2008.). Isto tako drugim analizama uz primjenu oksidativnog metaboličkog obrasca u različitim supstancama, potvrdila se prvobitna podjela, pri čemu prva podjela obuhvaća izolate iz tuljana i vidri, a druga i treća skupina obuhvaćaju izolate iz kitova. Drugim komercijalnim biokemijskim postupcima lako se razlikuju sojevi izdvojeni iz tuljana i dupina sa specifičnošću od 100% (Jacques i sur., 2007., Al Dahouk i sur., 2010.). Iako svi izdvojeni izolati iz kitova pripadaju *B. ceti*, prepoznate su tri različite skupine prema preferiranom domaćinu, nekim bakteriološkim svojstvima i zasebnim genetskim svojstvima. Navodi se da postoje tri tipa *B. ceti*, onaj izdvojen iz običnog dupina, iz obalnog dupina i iz čovjeka. Smatra se da sojevi izdvojeni iz dupina i obalnog dupina pokazuju promjenjivu infektivnost prilikom pokusa na kopnenim životinjama i nisku infektivnost za ljude. Međutim bruceloza se u nekih običnih dupina i obalnih dupina pokazala teškom kroničnom bolešću, koja pokazuje teške kliničke i patološke znakove vezane

uz pobačaje, neplodnost mužjaka, neurobrucelozu, kardiopatije, lezije kostiju i kože, nasukavanja i u konačnici uginuće (Guzman-Verri i sur., 2012.).

B. pinnipedialis je izdvojena iz tuljana mjhuraša (*Cystophora cristata*) koji su se nasukali ili su ulovljeni u njihovom prirodnom okruženju (Nymo i sur., 2011.). Unatoč visokom omjeru seropozitivnih (31-35%) i bakteriološki pozitivnih (38%) tuljana mjhuraša u populaciji sjeveroistočnog Atlantika, nisu prijavljene nikakve veće patološke promjene (Tryland i sur., 2005.). Od 204 serološki pretražena tuljana mjhuraša na sjeverozapadnom dijelu Atlantika pozitivne serološke reakcije utvrđene su u 10 (5%) životinja (Nielsen i sur., 2001.). Više istraživanja je pokazalo da izolati iz tuljana mjhuraša čine jednu skupinu koja se razlikuje od izolata dobivenih iz drugih vrsta tuljana (Nymo i sur., 2011.).

Sekvencioniranje 16S rRNK izolata bakterije *Brucella* iz kita pokazalo je homolognost od 99,5% sa 16S rRNK šest klasičnih vrsta bakterija *Brucella*. Raspored multiplih sekvenci *recA* i 16S rRNK genskih sekvenci šest klasičnih bakterijskih vrsta roda *Brucella* i izolata iz kita i običnog tuljana pokazao je da su svi identični (Scholz i sur., 2006.). Kasnijim istraživanjima DNK-DNK hibridizacija je pokazala da brucele iz morskih sisavaca pripadaju monospecifičnom rodu *Brucella* (Verger i sur., 2000.).

Brucella ceti

Sojevi *B. ceti* izdvojeni su iz sisavaca dva postojeća podreda kitova: *Mysticetia*, kitovi usani i *Odontoceta*, kitovi zubani. 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 dokazom PCR) u samo četiri porodice: *Balaenopteridae* (brazdasti kitovi), *Phocoenidae* (obalni dupini), *Delphinidae* (šiljatozubi dupini) i *Monodontidae* (dupini pokretnog vrata). *Brucelle* su dokazane u mnogih vrsta poput obalnog dupina (*Phocoena phocoena*), dobrog dupina (*Tursiops truncatus*), plavobijelog dupina (*Stenella coeruleoalba*), bijelokljunog dupina (*Lagenorhynchus albirostris*), kita ubojice (*Orcinus orca*) i drugih. Protutijela su dokazana u sedam porodica i u 35 različitih vrsta, što ukazuje da je infekcija brucelama u morskih sisavaca iz porodica kitova vrlo učestala (Guzman-Verri i sur., 2012.).

Bruceloza u kitova se smatra važnom bolešću koja ugrožava njihovo očuvanje. Zbog migracije kitova, unutar nacionalnih programa kontrole teško je njih uključiti i službeno pratiti i kontrolirati brucelozu ili druge bolesti. U zonama intenzivne ljudske aktivnosti, veća je vjerojatnost interakcije između kitova i ljudi, a samim time je i lakše širenje bruceloze među njima. Praksa poput lova i prekomjernog ribolova, onečišćenje mikroorganizmima i različitim drugim onečišćenjima dovodi u rizik hranidbene resurse kitova. Takve negativne aktivnosti mogu potaknuti grupiranje kitova unutar smanjenog područja uz smanjenu dostupnost hrane što prouzroči prekomjerno natjecanje i nedovoljnu ishranjenost. Tijekom vremena svi ti uvjeti mogu znatno povećati broj prijemljivih životinja i poticati prijenos bruceloze unutar vrste i različitih vrsta iz reda kitova. Budući da je bruceloza bolest koja remeti reproduktivnu funkciju,

njezina prevalencija u sisavaca iz reda kitova mogla bi imati veliki utjecaj u populacijskoj dinamici kitova i dupina. Red kitova (*Cetacea*) ima veliku ekološku i komercijalnu vrijednost, budući da su temeljni dio prehrambenog lanca i izvor proteina i masnoća za mnoge ljude širom svijeta (Endo i sur., 2005.).

Osim navedenog kitovi i dupini su turistička atrakcija u akvarijima i na obalama, a dupini se upotrebljavaju i u medicinsko-terapijske svrhe. Ujedno tzv. "whalewatching" sve više pridonosi kroz taj vid turizma, odnosno gospodarstvu pojedinih zemalja. Red kitova (*Cetacea*) ima veliku ekološku važnost budući da se radi o predatorima na vrhu hranidbenog lanca. Očuvanje kitova je moralna i kulturološka potreba, a u mnogim zemljama i zakonska obveza. Među pojavama koje dovode ljude u bliski dodir s tim životinjama je dolazak na obalu dezorijentiranih dupina i kitova koji pokazuju probleme s plivanjem. Posljednjih godina sve je više takvih događaja i dodira ljudi s nasukanim kitovima i dupinima širom svijeta, čime se povećava rizik od prijenosa patoloških brucela s tih sisavaca na ljude i domaće životinje (Guzman-Verri i sur., 2012.).

Iako nisu izravne neke usporedne analize ukazuju da su pojedine vrste iz reda kitova prijemljivije na infekciju brucelom od drugih vrsta. Među kitovima zubanima bruceloza se najčešće javlja u obalnog dupina (*Phocena phocena*), zatim u plavobijelog dupina (*Stenella coeruleoalba*), atlanskog bjelobokog dupina (*Lagenorhynchus acutus*), dobrog dupina (*Tursiops truncatus*), običnog dupina (*Delphinus delphis*) te patuljastog kita (*Balaenoptera acutostrata*) (Hernandez-Mora i sur., 2013.) (Tabela 1. i 2.).

Tabela 1. Seroprevalencija bruceloze u kitova i konzumacija njihovog mesa (prema Hernandez-Mora i sur., 2013.).

Kitovi (<i>Cetacea</i>) (<i>Balaenidae</i> – glatki kitovi, <i>Neobalae-</i> <i>nidae</i> – mali kitovi, <i>Balaenopteridae</i> – brazdasti kitovi, <i>Eschrichtiidae</i> – sivi kitovi, <i>Physeteridae</i> – prave ulješure, <i>Kogia</i> – patuljaste ulješure)	Brojnost populacije	Seropreva- lencija Pozitivno/ Ukupno	Potrošnja mesa kitova za hranu ljudi
Južni pravi kit (<i>Eubalaena australis</i>)	8.000	1/31	Da
Veliki sjeverni kit (<i>Balaenoptera physalus</i>)	140.000	12/108	Da
Mali sjeverni kit (<i>Balaenoptera borealis</i>)	80.000	7/49	Da
Tropski kit (<i>Balaenoptera brydei</i>)	40.000	4/43	Da
Patuljasti kit (<i>Balaenoptera acutorostrata</i>)	180.000	32/256	Da
Sivi kit (<i>Eschrichtius robustus</i>)	20.000 (b)	1/1	Da
Glavata ulješura (<i>Physeter macrocephalus</i>)	360.000	1/9	Da
Patuljasta ulješura (<i>Kogia breviceps</i>)	Nepoznata	6/22	Da
Jednorogi narval (<i>Monodon monocerus</i>)	50.000	5/77	Da

Tabela 2. Seroprevalencija bruceloze u dupina i konzumacija njihovog mesa (prema Hernandez-Mora i sur., 2013.).

Dupini (<i>Monodontidae</i> – dupini, <i>Ziphiidae</i> – brazdasti dupini, <i>Delphinidae</i> – šiljatozubi dupini, <i>Phocoenidae</i> – obalni dupini, <i>Platanistidae</i> – indijski riječni dupin, <i>Iniidae</i> – južnoamerički riječni dupini, <i>Pontoporiidae</i> – šiljatokljuni riječnomorski dupini)	Brojnost populacije	Seropreva- lencija Pozitivno/ Ukupno	Potrošnja mesa morskih sisavaca za hranu ljudi
Bijeli dupin (<i>Delphinapterus leucas</i>)	150.000	38/635	Da
Krupnozubi dupin (<i>Ziphius cavirostris</i>)	110.000	1/2	Da
Sowerbyov kljunasti dupin (<i>Mesoplodon bidens</i>)	Nepoznata	1/3	Ne
Kit ubojica (<i>Orcinus orca</i>)	90.000	8/9	Da
Bijelogrli dupin (<i>Globicephala melas</i>)	990.000	3/25	Da
Bijelotrbušni dupin (<i>Feresa attenuata</i>)	39.000	1/3	Da
Šiljatoglavi bijeloprsi dupin (<i>Steno bredanensis</i>)	150.000	12/23	Da
Tamnokljuni dupin (<i>Lagenorhynchus abscurus</i>)	Nepoznata	21/27	Da
Bijelokljuni dupin (<i>Lagenorhynchus albirostris</i>)	100.000	2/10	Da
Atlanski bijeloboki dupin (<i>Lagenorhynchus acutus</i>)	150.000	4/12	Da

Glavati dupin (<i>Grampus griseus</i>)	330.000	8/11	Da
Dobri dupin (<i>Tursiops truncatus</i>)	>600.000	60/349	Da
Pacifički dobri dupin (<i>Tursiops aductus</i>)	Nepoznata	17/74	Da
Crnomorski dobri dupin (<i>Tursiops truncatus ponticus</i>)	Nepoznata	40/133	Da
Tropski pjegavi dupin (<i>Stenella attenuata</i>)	>2.000.000	1/6	Da
Dugokljuni tropski dupin (<i>Stenella longirostris</i>)	800.000	7/7	Da
Plavobijeli dupin (<i>Stenella coeruleoalba</i>)	>1.000.000(a)	46/64	Da
Obični dupin (<i>Delphinus delphis</i>)	>3.500.000	14/39	Da
Hoseov dupin (<i>Lagenodelphis hosei</i>)	280.000 (a)	5/24	Da
Sjeverni glatkoledi dupin (<i>Lissodelphis borealis</i>)	>80.000	1/1	Da
Maui dupin (<i>Cephalorhynchus hectori mau</i>)	<100	1/3	Ne
Novozelandski Hectorov dupin (<i>Cephalorhynchus hectori</i>)	7.300	1/1	Ne
Dallov obalni dupin (<i>Phocoenoides dalli</i>)	>1.200.000	2/6	Da
Obalni dupin (<i>Phocoena phocoena</i>)	<675.000	200/808	Da
Južnoamerički Burmeisterov obalni dupin (<i>Phocoena spinipinnis</i>)	Nepoznata	5/25	Da

a) populacija prisutna samo u istočnom tropskom Pacifiku

b) populacija prisutna samo u samo sjevernom Pacifiku

Brucella pinnipedialis

Brucele su izdvojene iz tuljana iz porodice *Phocidae* (tuljani) i *Otariinae* (morski lavovi). Dokazane su u šest vrsta tuljana: tuljan mjhuraš (*Cystophora cristata*), kolutasti tuljan (*Phoca hispida*), grenlandski tuljan (*Phoca groenlandicus*), čunjasti tuljan (*Halichoerus grypus*), pacifički obični tuljan (*Phoca vitulina richardii*), običnog tuljan (*Phoca vitulina*) (Foster i sur., 1996., Forbes i sur., 2000., 2002., Tryland i sur., 2005.). Brucele su isto tako izdvojene iz kalifornijskog morskog lava (*Zalophus californianus*) (Goldstein i sur., 2009.). Protutijela su dokazana u morskih sisavaca iz reda *Carnivora*, podreda *Pinnipedia*, porodica *Otariidae*, *Odobenidae*, *Phocidae*, podreda *Fissipedia*, porodice *Mustelidae* i porodice

Ursidae, u 17 različitih vrsta: 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 iz Sjevernog Atlantika (Sjeverna Irsko, Nova Engleska, Kanada), Sjevernog mora (Škotska, Njemačka) i Pacifičkog Oceana (Kalifornija, SAD) (Hernandez-Mora i sur., 2013.). (Tabela 3).

Tuljani mjhuraši, porodica *Phocidae*, rod *Cystophora cristata*, dužine su od 2 do 2,5 m i težine 200 do 300 kg. Tuljani mjhuraši su životinje specijalizirane za

duboko ronjenje i dosežu dubinu od čak 100 metara i ostaju ispod vode i do jednog sata. Ženka tuljana donosi na svijet jedno mladunče, a razdoblje laktacije i brige za mladunče je iznimno kratko i traje tri do pet dana. Hrane se lignjama te polarnim bakalarom. Čine ga dvije populacije: populacija sjeveroistočnog Atlantika i sjeverozapadnog Atlantika. Populacija tuljana sjeveroistočnog Atlantika se smanjila, ali se stabilizirala na razini 10-15% od one iz 1946. godine. Procjenjuje se da se godišnje okoti oko 15 000 mladunčadi što daje populaciju od oko 83 000 tuljana. Komercijalni lov na tuljane je reguliran u Norveškoj posebnim kvotama tijekom posljednjih 25 godina te je ulov smanjen. Komercijalni lov na tuljane u sjeverozapadnom Atlantiku (Kanada) reguliran je od 1972., i situacija je znatno povoljnija te se smatra da je tamo populacija prilično brojna i iznosi oko 595 000 tuljana. Razlog za porast veličine populacije je nepoznat, ali opadanje broja životinja na istočnoj strani je toliko dramatično da je tuljan mjehuraš klasificiran kao ugrožena vrsta (Nymo i sur., 2011.).

Prijenos bruceloze u morskih sisavaca

Članovi roda *Brucellae* nisu pokretljivi i ne prežive dugo u nepovoljnim uvjetima, zato su za opstanak morskih vrsta iznimno važna oceanografska svojstva poput temperature, saliniteta, gustoće, hranjivih tvari i kisika (Talley i sur., 2011., cit. Hernandez-Mora i sur., 2013.). Razrjeđivanje bakterija ispod infektivne doze može ometati prijenos. Način prijenosa bruceloze u morskih sisavaca nije još utvrđen, smatra se da se infekcija u kitova može širiti između pojedinih jedinki spolnim kontaktom ili prilikom pobačaja u dodiru s pobačenim plodom i tkivom posteljice. Osim toga poznat je i vertikalni način s majke na fetus ili novorođenče. U tuljana je način prijenosa

u pravilu malo poznat, ali zajednički život u skupinama i stalni neposredni dodir pogoduje širenju infekcije među njima (Hernandez-Mora i sur., 2008., 2009., Guzman-Verri i sur., 2012.).

Plućne nematode (*Pseudalius inflexus*) su prepoznati kao mogući vektori bruceloze u morskom okolišu. Brucele su identificirane u maternici i crijevnom lumenu plućnih nematoda izdvojenih iz dupina i tuljana. U životnom ciklusu ovih parazita poznato je da tijekom razvoja migriraju kroz respiratorni sustav morskih lavova, zatim dolaze u probavni sustav, odonuda izmetom odlaze u okoliš. Zelena riba (*Girella nigricans*) i drugi posrednici poput koprofagičnih riba pojedju kontaminirani izmet. Ribe kasnije dospiju u životni ciklus morskih sisavaca te se u probavnom sustavu oslobađaju ličinke, opet migriraju u pluća i nastavljaju ciklus razvoja. Izlučivanje brucela izmetom tuljana isto tako potvrđuje širenje brucela preko koprofagnih riba na tuljane (Garner i sur., 1997., Perrett i sur., 2004., Dawson i sur., 2008.).

Brucella i ribe

Serološke i bakteriološke studije nakon pokusno inficiranih riba vrste nilski som (*Clarias gariepinus*) supkutano s *B. melitensis* (biovar 3), dokazale su prisutnost protutijela već nakon sedam dana poslije inokulacije, a titar protutijela se održavao pet tjedana. Bakteriološki su brucele izdvojene iz različitih organa inficiranih riba (Salem i Mohsen, 1997.).

Bruceloza je endemska bolest među preživačima duž delte Nila u Egiptu. Nedavna izvješća pokazuju da se povećala učestalost bruceloze u ljudi. U tom području postoji praksa bacanja životinjskog otpada u Nil. Rezultat takva onečišćenja može biti infekcija riba vrstom *B. melitensis*. Istraživanja su provedena na 120 somova iz Nila. Pozitivne serološke reakcije utvrđene su u 11 (9,2%) riba, a lančanom reakcijom polimerazom (PCR)

ustanovljene su u 16 (13,3%) uzoraka kožnih briseva, 6 (5%) uzoraka jetara, 5 (4,2%) uzoraka bubrega i 6 (5%) slezene. Prema dosadašnjim spoznajama, ovo je prvo izvješće o izdvojanju *B. melitensis* biovara 3 iz riba. Istraživanje je nedvojbeno pokazalo da je nilski som zaražen vrstom *B. melitensis* biovar 3, što može imati veliku ulogu u epidemiologiji bruceleze u ljudi (El-Tras i sur., 2010.).

U nerazvijenim zemljama životinjski otpad može biti pohranjen u rijeke te rijeka i ribe mogu biti inficirane brucelama. Nije poznato koliko riba može imati ulogu kao rezervoar i u širenju infekcije u vodenim sustavima. Međutim poznate su infekcije ljudi brucelama koji su često konzumirali sirove plodove mora (McDonald i sur., 2006.).

Infekcije ljudi s brucelama iz morskih sisavaca

Bruceleza je svjetska zaraza, rasprostranjena u kopnenih životinja i ljudi. Smatra se da manje od 10% slučajeva bruceleze u ljudi nije klinički prepoznato, niti je odgovarajuće liječeno i nije izvješteno o tome (Mantur i sur., 2007.). Brucele se s morskih sisavaca mogu prenijeti na ljude. Prvi opisani slučaj bruceleze u ljudi prouzročen brucelama podrijetlom iz mora posljedica je profesionalne izloženosti. Ljudi koji love morske sisavce, kitolovci i lovci na tuljane osobito su rizična skupina, a posebice kada obrađuju trupla ili jedu sirovo meso. U ugrožene skupine ubrajaju se zoolozi, veterinari, laboratorijski radnici, ribari ljudi koji rade s morskim sisavcima u različitim centrima, kao i svi oni koji pristupe nasukanim životinjama ili lešini na plaži (Nymo i sur., 2011.). Prvi opisani slučaj u laboratorijskog radnika iz 1999. godine posljedica je profesionalne izloženosti. Laborantica je obrađivala sojeve izdvojene iz morskih sisavaca i inficirala se te se u nje razvila bakterijemija. Imala je blage simptome, poput glavobolje, umor, teški sinu-

sitis i bila je serološki pozitivna, a klinički znaci su nestali nakon antibiotske terapije. Brucele su izdvojene iz njezine krvi i identificirane kao *B. maris* (Brew i sur., 1999.).

U SAD su opisana dva slučaja jedan s neurobrucelezom, a drugi s intracerebralnim granulomima. Jedna osoba je imala višemjesečnu periorbitalnu bol i povremene glavobolje. Druga je imala glavobolje tijekom godine dana, mučnine, povraćanja i progresivno pogoršanje vida. Izvor zaraze se nije mogao točno odrediti, ali oba bolesnika su nedavno emigrirala iz Perua i redovito konzumirala sirovu ribu te imali značajnu izloženost morskim sisavcima (Sohn i sur., 2003.). U Novom Zelandu opisan je i slučaj u čovjeka s osteomijelitisom na kralježnici, koja se klinički očitovala s groznicom, jakim bolovima u lumbalnom dijelu kralježnice. Ovaj pacijent je bio ribar koji je imao stalni dodir sa sirovom ribom koju je koristio kao mamac, a često je i konzumirao sirovu ribu (McDonald i sur., 2006.).

Infekcije u ljudi prouzročene brucelama podrijetlom iz morskih sisavaca slične su infekcijama s klasičnim brucelama izdvojenim iz kopnenih sisavaca. U većine ljudi bruceleza izaziva slične simptome. Infekcija može biti simptomatska i asimptomatska. U slučajevima sa simptomima, bolest je izuzetno promjenljiva i klinički se znaci mogu pojaviti podmuklo i naglo. Najčešće započinje s vrućicom, glavoboljom, slabošću, bolovima u leđima, mišićima i općom slabošću. Jedan od tipičnih simptoma je noćno znojenje. Može doći do spontanog ozdravljenja (rjeđe), a najčešće se bruceleza očituje spondilitisom, artritisom, kroničnim umorom, epididimitisom i orhitisom. Ponekad se jave i neurološki simptomi, meningitis, uveitis, depresija. Može doći i do pojave apscesa na jetri i slezeni, do pojave nefritisa, endokarditisa i dermatitisa. Neurološki se znaci javljaju u manje od 5% bolesnika. Bolest se liječi antibioticima, ali može doći do recidiva

i nekoliko mjeseci nakon početnih simptoma. Stopa smrtnosti nije visoka, u 2% do 5% neliječenih bolesnika, a obično je prouzročena endokarditisom i meningitisom (Brew i sur., 1999.).

Brucele morskih sisavaca u ostalih životinja

Goveda pokusno inficirana intravenoznom aplikacijom kulture *B. pinnipedialis* izdvojene iz pacifičkog običnog tuljana su pobacila i u njih su kasnije utvrđena protutijela (Rhyan i sur., 2001.). U jednom pokusu deset prasadi je inficirano *Brucellom* sp. podrijetlom iz morskih sisavaca, a koja je inficirala ljude (McDonald i sur., 2006.). U prasadi nisu uočene nikakve patološke promjene, niski titrovi protutijela zabilježeni su u tri praseta, a brucele su izdvojene iz limfnog čvora tri druga prašćica (Bingham i sur., 2008.). Pokusnom infekcijom izolatima iz morskih sisavaca izdvojenima iz dobrog dupina, običnog dupina i tuljana inficirane su gravidne ovce i zabilježena je pojava niskog titra protutijela. Nije došlo do značajnih patoloških promjena u inficiranih ovaca. Infekcija zamorčadi s tri ista izolata dovela je do splenomegalije i visokog titra protutijela (Perrett i sur., 2004.). U drugom je istraživanju dokazano da je *B. ceti* manje virulentna od brucela podrijetlom iz preživača i glodavaca (Ewalt i sur., 1994.). Tuljani predstavljaju važnu kariku u prehrani polarnih medvjeda, na Arktiku su u 5 do 10% populacije medvjeda utvrđena protutijela za brucelozu (O'Hara i sur., 2010.). Isto tako opisana je seroprevalencija od 3 do 8% vidre na Aljasci (Hanni i sur., 2003.).

Sažetak

Bruceloza je prepoznata i dokazana u kitova, dupina, tuljana, morskih lavova, morževa i vidra. Klinički se po svemu sudeći očituje placentitisom i pobačajem, neonatalnom smrtnošću, meningoencefalitisom, apscesima po koži. Poznato je da su brucele izdvojene iz

morskih sisavaca bez ikakvih simptoma i tkiva bez patoloških promjena. Potencijalni domaćini *Brucella* u vodenim sustavima mogu uključiti čak oko 130 vrsta morskih sisavaca koji žive i hrane se u morima, rijekama i jezerima. U početku su svi izolati izdvojeni iz morskih sisavaca nazvani *B. maris*. Kasnije su studije pokazale da se radi o dvije vrste brucela. Izolati iz kitova nazvani su *Brucella ceti*, a prirodni domaćini su im kitovi (*Cetaceans*). Izolati iz perajara nazvani su *B. pinnipedialis*, a najčešći domaćini su tuljani (*Phocidae*). Nakon gotovo dva desetljeća istraživanja i pronalaska bruceloze u morskih sisavaca sada je dobro poznato da je bruceloza u morskih sisavaca globalno rasprostranjena. Dokazano je da ljudi iz 114 različitih zemalja često imaju dodir s morskim sisavcima. Profesionalna izloženost ljudi odgovorna je i za prvi opisani slučaj bruceloze prouzročen brucelama podrijetlom iz mora. Ljudi koji love morske sisavce, kitolovci i lovci na tuljane su rizična skupina, a osobito kada obrađuju trupla ili konzumiraju sirovo meso. U druge ugrožene skupine ubrajaju se zoolozi, veterinari, laboratorijski radnici, ribari, ljudi koji rade s morskim sisavcima u različitim centrima, kao i svi oni koji pristupaju nasukanim životinjama ili lešini na plaži.

Ključne riječi: bruceloza, morski sisavci, *Brucella ceti*, *Brucella pinnipedialis*

Literatura

1. AL DAHOUK, S., H. C. SCHOLZ, H. TOMASO, P. BAHN, C. GOLLNER, W. KARGES, B. APPEL, A. HANSEL, H. NEUBAUER and K. NOCKLER (2010): Differential phenotyping of *Brucella* species using a newly developed semi-automated metabolic system. *BMC Microbiol.* 10, 269.
2. BINGHAM, J., T. K. TAYLOR, J. E. SWINGLER, G. MEEHAN, D. J. MIDDLETON, G. F. MACKERET and P. W. DANIELS (2008): Infection trials in pigs with a human isolate of *Brucella* (isolate 02/611 "marine mammals type"). *N. Z. Vet. J.* 56, 10-14.
3. BREW, S. D., L. L. PERRETT, A. P. MACMILLAN and N. J. STAUNTON (1999): Human exposure to *Brucella* recovered from a sea mammal. *Vet. Rec.* 24, 483-484.
4. 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.
5. CLOECKAERT, A., M. GRAYON, O. GREPINET and K. S. BOUMEDINE (2003): Classification of *Brucella* strains isolated from marine mammals by

- infrequent restriction site-PCR and development of specific PCR identification tests. *Microbes Infect.* 5, 593-602.
6. 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.
 7. CORBEL, M. J., K. P. W. GILL and E. L. THOMAS (1983): Methods for the identification of *Brucella*. Central Veterinary Laboratory, New Haw, Weybridge, 1-63.
 8. 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 (2008): Phenotypic and molecular characterisation of *Brucella* isolates from marine mammals. *BMC Microbiol.* 8, 224-227.
 9. EL-TRAS, W. F., A. A. TAYEL, M. M. ELTHOLTH and J. GUITIAN (2000): *Brucella* infection in fresh water fish: evidence for natural infection of Nile catfish, *Clarias gariepinus* with *Brucella melitensis*. *Vet. Microbiol.* 141, 321-325.
 10. ENDO, T. K. HARAGUCHI, Y. HOTTA, Y. HISAMICHI, S. LAVERY, M. L. DALEBOUT and C. S. BAKER (2005): Total mercury, methyl mercury, and selenium levels in the red meat of small cetaceans sold for human consumption in Japan. *Environ. Sci. Technol.* 39, 5703-5708.
 11. EWALT, D. R., J. B. PAYEUR, B. M. MARTIN, D. R. CUMMINS and W. G. MILLER (1994): Characteristic of *Brucella* species from a bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). *J. Vet. Diagn. Invest.* 6, 448-452.
 12. FORBES, L. B., O. NIELSEN, L. MEASURES and D. R. EWALT (2000): Brucellosis in ringed seals and harp seals from Canada. *J. Wildl. Dis.* 36, 595-598.
 13. FOSTER, G., K. L. JAHANS, R. J. REID and H. M. ROSS (1996): Isolation of *Brucella* species from cetaceans, seals and an otter. *Vet. Rec.* 138, 583-586.
 14. 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.
 15. FOSTER, G., B. S. OSTERMAN, J. GODFROID, I. JACQUES and A. CLOECKAERT (2007): *Brucella ceti* sp. nov. and *Brucella pinnipedialis* sp. nov. for *Brucella* strains with cetaceans and seals as their preferred hosts. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 57, 2688-2693.
 16. GARNER, M. M., D. M. LAMBOURN, S. J. JEFFRIES, P. B. HALL, J. C. RHYAN, D. R. EWALT, L. M. POLZIN and N. F. CHEVILLE (1997): Evidence of *Brucella* infection in Parafilzrois lungworms in a Pacific harbor seal (*Phoca vitulina richardsi*). *J. Vet. Diagn. Invest.* 9, 298-303.
 17. GOLDSTEIN, T., T. S. ZABKA, R. L. DEKLONG, E. A. WHEELER, G. YLITARO, S. BARGU, M. SILVER, T. LEIGHFIELD, F. DOLAH, G. LANGLOIS, I. SIDOR, J. L. DUNN and F. M. GULLAND (2009): the role of domoic acid in abortion and premature parturition of California sea lion (*Zalophus Californianus*) on San Miguel Island, California. *J. Wildl. Dis.* 45, 91-108.
 18. GOMERČIĆ, H. (1998): Sistematika i nazivlje morskih sisavaca. U: *Etika u odnosu čovjeka i životinja - Zaštita morskih sisavaca - etika i racionalno pitanje*. Hrvatska akademija znanosti i umjetnosti. Str. 51-73.
 19. 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.
 20. HANNI, K. D., J. A. MAZET, F. M. GULLAND, J. ESTES, M. STAEDLER, M. J. MURRAY, M. MILLER and D. A. JESSUP (2003): Clinical pathology and assesment of pathogen exposure in southern and Alaskan sea otters. *J. Wildl. Dis.* 39, 837-850.
 21. 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.
 22. 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.
 23. 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.
 24. JAHANS, K. L., G. FORSTER and E. S. BROUGHTON (1997): The characterisation of *Brucella* strains isolated from marine mammals. *Vet. Microbiol.* 57, 373-382.
 25. JACQUES, I., M. GRAYON and J. M. VERGER (2007): Oxidative metabolic profiles of *Brucella* strains isolated from marine mammals: contribution to their species classification. *FEMS Microbiol. Lett.* 270, 245-382.
 26. MANTUR, B. G., S. K. AMARNATH and R. S. SHINDE (2007): Review of clinical and laboratory features of human brucellosis. *Ind. J. Med. Microbiol.* 25, 188-202.
 27. McDONALD, W. L., R. JAMALUDIN, G. MAC KERET, 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.
 28. NIELSEN, O., R. E. STEWARD, K. NIELSEN, L. MEASURES and P. DUGNAN (2001): Serology survey of *Brucella* spp. antibodies in some marine mammals of North America. *J. Wildl. Dis.* 37, 89-100.
 29. 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.
30. 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. Wild. Dis. 46, 687-694.
 31. OSTERMAN, B. S. and I. MORIYON (2006): International Committee on Systematics of Prokaryotes. Subcommittee on the taxonomy of *Brucella*. Report of the meeting, Pamplona, Spain. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 56, 1173-1175.
 32. PERRETT, L. L., S. D. BREW, J. A. STACK, A. P. MACMILLAN and J. B. BASHIRUDDIN (2004): Experimental assessment of the pathogenicity of *Brucella* strains from marine mammals for pregnant sheep. Small. Rumin. Res. 51, 221-228.
 33. RHYAN, J. C., T. GIDLEWSKI, D. R. EWALT, S. G. HENNAGER, D. M. LAMBOURNE and S. C. OLSEN (2001): Seroconversion and abortion in cattle experimentally infected with *Brucella* sp. isolated from Pacific harbor seal (*Phoca vitulina richardii*). J. Vet. Diagn. Invest. 13, 379-382.
 34. ROSS, H. M., G. FOSTER, R. J. REID, K. L. JAHANS and A. P. MACMILLAN (1994): *Brucella* species infection in sea-mammals. Vet. Rec. 134, 359.
 35. 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.
 36. SALEM, S. F. and A. MOHSEN (1997): Brucellosis in fish. Vet. Med. 42, 5-7.
 37. SCHOLZ, H. C., H. TOMASO, S. AL DAHOUK, A. WITTE, H., M. SCHLOTTER, P. KÄMPFER, E. FALSEN and M. NEUBAUER (2006): Genotyping of *Ochrobactrum anthropi* by recA-based comparative sequence, PCR-Rflp, and 16S rRNA gene analysis. FEMS Microbiol. Lett. 257, 7-16.
 38. SOHN, A. M., W. S. PROBERT, C. A. GLASER, N. GUPTA, A. W. BOLLEN, J. D. WONG, E. M. GRACE and W. C. MCDONALD (2003): Human neurobrucellosis with intracerebral granuloma caused by a marine mammal *Brucella* spp. Emerg. Infect. Dis. 9, 485-488.
 39. 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.
 40. VERGER, J. M., M. GRAYON, A. CLOECKAERT, M. LEFEVRE, E. AGERON and F. GRIMONT (2000): Classification of *Brucella* strains isolated from marine mammals using DNA-DNA hybridization and ribotyping. Res. Microbiol. 151, 797-802.

Brucellosis in Marine Mammals (Part I.)

Željko CVETNIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor, Full Professor, Maja ZDELAR-TUK, DVM, PhD, Sanja DUVNJAK, 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

Brucellosis has been recognised and confirmed in whales, dolphins, seals, walruses and otters. Clinical signs in marine mammals include placentitis, abortion, neonatal death, meningoencephalitis and skin abscess. *Brucella* has been isolated from marine mammals with no clinical symptoms or from their tissue with no visible pathological changes. As many as 130 mammal species living and/or feeding in aquatic systems can be considered potential hosts of brucellae. Initially, brucellas isolated from marine mammals were classified as *B. maris*. Later studies showed that isolated strains belong to two different brucella species. Strains isolated from whales were designated as *B. ceti*, with whales as their natural hosts. *Brucella* strains isolated from pinnipeds were designated as *B. pinnipedialis*, with dolphins as their natural hosts. After two de-

acades of intensive research, it has become clear that brucellosis is widespread in marine mammals around the world. Frequent contacts of the human population with marine mammals have been recorded in 114 countries. Professional exposure was responsible for the first human case of brucellosis caused by brucellae of marine origin. Marine mammal, whale and seal hunters are at a higher risk for acquiring brucellosis, especially during carcass processing or from eating the raw flesh of marine mammals. Zoologists, veterinary professionals, laboratory staff, fishermen, people working with marine mammals in aqua parks or research centres and people who approach stranded animals or carcasses are also at a higher risk of infection.

Key words: *Brucellosis, Marine mammals, Brucella ceti, Brucella pinnipedialis*