



MINISTARSTVO POLJOPRIVREDE
UPRAVA ZA VETERINARSTVO I SIGURNOST HRANE

KLASA: 322-02/18-01/08
URBROJ: 525-10/0246-18-1
Zagreb, 26. siječnja 2018. godine

Program
utvrđivanja prevalencije *Francisella tularensis* u
Republici Hrvatskoj

Zagreb, veljača 2018.

Sadržaj

1. Uvod	3
2. Zakonodavni okvir	5
3. Cilj Programa	5
4. Populacija životinja uključena u provedbu Programa	6
5. Trajanje programa	6
6. Geografsko područje provedbe Programa	6
7. Nadležna tijela i organizacije uključene u provedbu Programa	6
8. Laboratoriji	7
9. Uzorkovanje	7
10. Mjere biosigurnosti te preporuke za veterinare, posjednike životinja i lovce	9
Dodatak I Uzorkovanje ovaca sukladno točki 9., podtočki 9.3. Programa	11
Dodatak II Uzorkovanje goveda sukladno točki 9., podtočki 9.3. Programa	11
Dodatak III Uzorkovanje konja sukladno točki 9., podtočki 9.3. Programa.....	12

1. Uvod

1.1. Tularemija

Tularemija je zoonoza koju uzrokuje mala, nepokretna, nesporulirajuća, gram negativna kokobacilarna bakterija *Francisella tularensis*. Na osnovi biokemijskih razlika i virulencije *F. tularensis* smo podijeli na 4 podvrste (subsp. *tularensis*, *holarctica*, *mediasiatica* i *novicida*) od kojih su dvije značajne jer najčešće uzrokuju bolest u ljudi i domaćih životinja. *F. tularensis* subsp. *holarctica* javlja se širom sjeverne polutke (Europa, Azija i Sjeverna Amerika) dok *F. tularensis* subsp. *tularensis* uglavnom nalazimo u Sjevernoj Americi.

F. tularensis je jedna od najinfektivnijih bakterija i svega 10 do 50 bakterijskih stanica može uzrokovati bolest u ljudi i životinja. Radi ovako velike infektivnosti te mogućnosti prijenosa zrakom može se koristiti kao biološko oružje. Do danas je *F. tularensis* izdvojena iz 190 vrsta sisavca, 88 vrsta beskralježnjaka, 23 vrste ptica i tri vrste vodozemaca. Ipak, glavnim rezervoarima tularemije smatramo lagomorfe (zečevi i kunići) i glodavce dok krpelji imaju ulogu vektora.

Tularemija je bolest sjeverne hemisfere čija je pojavnost uglavnom vezana uz pojedina endemska područja. Iako su značajnija oboljenja ljudi uglavnom vezana uz ratne prilike, u posljednje vrijeme zabilježena je povećana pojavnost i pojava epidemija u nekoliko europskih država u kojima nije bilo većih socio-ekonomskih previranja (Njemačka, Mađarska). Razlog izbijanja navedenih epidemija nije u potpunosti razjašnjen, no pretpostavlja se da bi mogao biti vezan uz klimatske prilike (globalno zatopljenje) koje pogoduju održavanju populacije divljih glodavaca. Naime dokazano je da povećanje gustoće populacije glodavaca podržava izbijanje epizootija tularemije u glodavaca, što pak uzrokuje izbijanje epidemija u ljudi.

Bolest se može prenijeti na čovjeka ili domaće životinje direktnim kontaktom s bolesnom životinjom, ingestijom kontaminiranog mesa ili vode, inhalacijom infektivnog aerosola ili prašine te hematofagnim člankonošcima. Krpelji koji ostaju inficirani tijekom cijelog životnog ciklusa predstavljaju naročito važan izvor infekcije. U ljudi se bolest očituje jednim od šest kliničkih sindroma ovisno o načinu na koji je bakterija ušla u organizam (ulceroglandularni, glandularni, orofaringealni, okuloglandularni, plućni i tifoidni oblik tularemije).

U domaćih životinja kliničko očitovanje bolesti, koje je najčešće nespecifično, (povišena temperatura, limfadenopatija, ulceracije) najčešće je u mačaka i ovaca. U mačaka osim već navedenih simptoma možemo uočiti anoreksiju, letargiju, dehidraciju, pneumoniju, hepatomegaliju, splenomegaliju i ikterus. Ulceracije su najčešće po jeziku i ustima. Nema karakterističnih promjena u bijeloj krvnoj slici gdje broj leukocita može biti manji, normalan ili viši od referentnih vrijednosti. Mogu se uočiti toksične promjene u neutrofilima, trombocitopenija, povišenje serumskih transaminaza i bilirubinemija. U ovaca se osim povišene temperature i povećanih limfnih čvorova uočavaju i letargija, mršavljenje te proljev. Iako je kliničko očitovanje bolesti u pasa rijetko, brojna istraživanja seroprevalencije dokazala su da su psi unutar endemskih područja zapravo relativno često inficirani. Opisani su i rijetki slučajevi tularemije u svinja i konja, dok je u goveda zabilježena samo serokonverzija no bez vidljivih kliničkih znakova bolesti. U oboljelih pašnih životinja (ovaca i konja) vrlo je često zamijećena i jaka infestacija krpeljima.

1.2. Dosadašnje spoznaje o pojavnosti tularemije u Republici Hrvatskoj

Zadnja sustavna istraživanja tularemije u Hrvatskoj datiraju iz sedamdesetih i osamdesetih godina prošloga stoljeća kada je zabilježeno širenje endemskih područja tularemije i potvrđena korelacija između brojnosti mišolikih glodavaca s izbijanjem epidemija u ljudi. Nakon ovih istraživanja samo je nekoliko publikacija vezanih uz opise pojedinih slučajeva tularemije u ljudi. Stoga danas ne postoje čak niti okvirni podatci o prevalenciji ove bolesti u divljih, ali ni u domaćih životinja (česti subklinički oblici), a znanja o geografskim područjima koja smatramo endemskim samo su anedoktalna i vezana uz povremene epidemije bolesti u ljudi. Analizom objavljenih članaka od strane infektologa i epidemiologa vidljivo je da je broj humanih slučajeva najveći na području Banije, Turopolja, Međimurja, Podravine, Posavine i Moslavine.

U prilog navedenome ide i činjenica da je i Svjetska zdravstvena organizacija (WHO) u svojim smjernicama (WHO/CDS/EPR/2007.7) istaknula potrebu praćenja pojave ove bolesti kroz obavezu prijavljivanja bolesti u ljudi i domaćih životinja, ali i praćenjem pojavnosti bolesti u glodavaca, lagomorfa i krpelja u endemskim područjima.

U sklopu provođenja Programa utvrđivanja prevalencije *Francisella tularensis* u Republici Hrvatskoj u 2016. godini, zaprimljeno je i pretraženo ukupno 236 uzoraka krvi porijeklom od domaćih životinja iz Zagrebačke, Međimurske, Koprivničko-križevačke i Brodsko-posavske županije. Sukladno Programu uzorci su pretraženi serološkom pretragom agutinacije no u niti

jednom serumu nisu nađena specifična protutijela za *F. tularensis*. Molekularnom metodom (lančana reakcija polimerazom u stvarnom vremenu) pretraženi su uzorci organa 449 mišolika glodavca izlovljenih u šumarijama Hrvatskih šuma te 9 skupnih uzoraka hematofagnih insekata (većinom krpelja i buha) prikupljenih tijekom sekcije mišolikih glodavaca. Prisutstvo DNK bakterije *F. tularensis* dokazano je u ukupno tri miša (*Apodemus agrarius* N=2, *A. sylvaticus* N=1) ulovljenih na području Lipovljana (Sisačko- moslavačka županija) što daje prevalenciju od 3,13% (3/96) na području ulova odnosno 0,67% (3/449) ukoliko promatramo ukupan broj pretraženih glodavaca.

Sukladno izvještaju Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo u posljednje tri godine potvrđeno je ukupno 15 slučajeva tularemije u ljudi sa područja osam županija; Grada Zagreba (2), Zagrebačke (5), Sisačko-moslavačke (2), Koprivničko-križevačke (2), Međimurske (1), Bjelovarsko-bilogorske (1), Osječko-baranjske (1) i Vukovarsko-srijemske (1) županije.

2. Zakonodavni okvir

Program utvrđivanja prevalencije *Francisella tularensis* u Republici Hrvatskoj u 2018. godini provodi se temeljem:

- članka 12., stavaka 1. i 4. Zakona o veterinarstvu („Narodne novine“, broj 82/13 i 148/13), i
- Naredbe o mjerama zaštite životinja od zaraznih i nametničkih bolesti i njihovom financiranju u 2018. godini („Narodne novine“, broj 10/18)- Dio III, točka 7., podtočka 7.1.

3. Cilj Programa

Ciljevi ovog Programa su:

- Utvrditi učestalost infekcije u glodavaca i hematofagnih insekata te utvrditi područja u kojim se tularemija javlja endemski,
- Utvrditi najčešće rezervoare bolesti u Republici Hrvatskoj,
- Na određenom uzorku utvrđivanjem specifičnih protutijela utvrditi učestalost infekcije u domaćih životinja,
- Korelirati pojavnost tularemije u glodavaca u određenom geografskom području sa pojavnošću tularemije u ljudi iz istog područja,

- Istražiti i ustanoviti rizične čimbenike (brojnost populacije glodavaca, vremenski uvjeti) koji dovode do povećane pojavnosti ove bolesti u glavnih domaćina.

4. Populacija životinja uključena u provedbu Programa

Obzirom na etiologiju tularemije ovim Programom biti će obuhvaćene slijedeće životinjske vrste:

- **Populacija šumskih glodavaca (rezervoara tularemije),**
- **Hematofagni insekti,**
- **Domaće životinje bez vidljivih kliničkih znakova bolesti,**

U ovu kategoriju spadaju domaće životinje (mačke, ovce, psi, pašno držani konji ili pašno držana goveda) kod kojih nema vidljivih kliničkih znakova bolesti, a koje se serološki pretražuju s ciljem utvrđivanja izloženosti ovih životinja bakteriji *F. tularensis*.

5. Trajanje programa

Program utvrđivanja prevalencije *Francisella tularensis* u Republici Hrvatskoj u 2018. godini provodi se do 15. prosinca 2018. godine.

6. Geografsko područje provedbe Programa

Tijekom 2018. godine program će se provoditi na području:

- Grada Zagreba,
- Zagrebačke županije,
- Sisačko-moslavačke županije,
- Koprivničko-križevačke županije,
- Međimurske županije,
- Bjelovarsko-bilogorske županije,
- Osječko-baranjske županije, i
- Vukovarsko-srijemske županije.

7. Nadležna tijela i organizacije uključene u provedbu Programa

Nadležno tijelo za provedbu Programa utvrđivanja prevalencije *Francisella tularensis* u Republici Hrvatskoj je Ministarstvo poljoprivrede - Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane.

Uzorkovanje i dostavu uzoraka provode ovlaštene veterinarske organizacije te djelatnici Veterinarskog fakulteta sveučilišta u Zagrebu.

8. Laboratoriji

Laboratorijsko pretraživanje uzoraka prikupljenih u okviru ovoga Programa provodi se u Laboratoriju za leptospire (LEPTOlab) – Zavoda za mikrobiologiju i zarazne bolesti s klinikom, Veterinarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Heinzelova 55, Zagreb.

Laboratorijska dijagnostika

Za potrebe ovog programa provoditi će se:

- a) *Serološka dijagnostika* – kojom će utvrditi prisutstvo protutijela na *F. tularensis* u serumu ispitivanih jedinki (domaćih životinja koje ne pokazuju znakove bolesti). Titar od 1:40 i 1:80 smatrati će se rezidualnim, dok će se titar od $\geq 1:160$ smatrati potvrdom akutne infekcije.
- b) *Molekularna dijagnostika* - molekularnim metodama dokazivati će se prisutnost genoma *F. tularensis* u uzorcima homogenizirane jetre glodavaca i homogeniziranim grupnim uzorcima hematofagnih insekata.

Molekularna dijagnostika temeljiti će se na lančanoj reakcije polimerazom u stvarnom vremenu (TaqMan real-time PCR) čijom će se uporabom dokazati prisutstvo uzročnika (*F. tularensis*) u pretraživanim uzorcima.

9. Uzorkovanje

9.1. Populacija šumskih glodavaca (rezervoara tularemije)

Na područjima županija predviđenih ovih Programom koje se smatraju visokorizičnim u odnosu na pojavu bolesti (određeno obzirom na prijavljene slučajeve tularemije u ljudi) vršiti će se izlov mišolikih glodavaca.

Pretražiti će se ukupno 300 glodavaca. Glodavci će biti lovljeni mrtvolovkama postavljenim metodom linearnog transeka što će omogućiti utvrđivanje brojnosti glodavaca unutar populacije. Prije razudbe temeljem morfoloških osobina utvrditi će se vrsta glodavaca.

Izlove i uzorkovanje šumskih glodavaca provoditi će, u dogovoru sa Veterinarskim fakultetom, djelatnici Šumarskog fakulteta u sklopu njihovih tekućih izlova i procjene brojnosti glodavaca u Hrvatskim šumama.

Ulovljeni glodavci dostavljati će se na Zavod za mikrobiologiju i zarazne bolesti s klinikom gdje će se vršiti prikupljanje hematofagnih insekata i uzorkovanje organa.

Organizaciju prikupljanja uzoraka određenih ovom podtočkom Programa provode djelatnici Laboratorija za leptospire - Veterinarskog fakulteta, Sveučilišta u Zagrebu.

9.2. Hematofagni insekti

Sa mišolikih glodavaca će tijekom razudbe biti prikupljeni svi uočeni hematofagni insekti koji će se dalje obrađivati kao skupni uzorci od maksimalno 20 jedinki.

Uzorkovanje hematofagnih insekata provoditi će djelatnici Zavoda za mikrobiologiju i zarazne bolesti s klinikom Veterinarskog fakulteta.

9.3. Domaće životinje bez vidljivih kliničkih znakova bolesti

Kako bismo utvrdili učestalost ove bolesti u domaćih životinja serološki će se pretražiti po 30 uzoraka seruma pojedinih vrsta domaćih životinja podrijetlom iz određenih županija koje se smatraju visokorizičnim u odnosu na pojavu bolesti (određeno obzirom na prijavljene slučajeve tularemije u ljudi).

Ukupno će biti pretraženo 240 uzoraka seruma porijeklom od mačaka pasa, ovaca, pašno držanih konja i goveda.

Uzorkovanje će biti provedeno kako slijedi:

- a) 30 uzoraka podrijetlom od pasa i mačaka iz grada Zagreba i 30 uzoraka podrijetlom od pasa i mačaka iz grada Zagrebačke županije.

Uzorkovanje se provodi na Klinici za zarazne bolesti Veterinarskog fakulteta, a uzorke prikupljaju djelatnici Veterinarskog fakulteta.

- b) 30 uzoraka ovaca sa područja Međimurske županije.

Uzorkovanje provodi ovlaštena veterinarska organizacija sukladno popisu iz Dodatka I.

- c) 30 uzoraka ovaca s područja Koprivničko-križevačke županije.

Uzorkovanje provodi ovlaštena veterinarska organizacija sukladno popisu iz Dodatka I.

- d) 30 uzoraka podrijetlom od ovaca sa područja Bjelovarsko-bilogorske županije.

Uzorkovanje provodi ovlaštena veterinarska organizacija sukladno popisu iz Dodatka I.

- e) 30 uzoraka podrijetlom od ovaca sa područja Osječko-baranjske županije.

Uzorkovanje provodi ovlaštena veterinarska organizacija sukladno popisu iz Dodatka I.

f) 30 uzoraka podrijetlom od pašnih goveda sa područja Sisačko-moslavačke županije.

Uzorkovanje provodi ovlaštena veterinarska organizacija sukladno popisu iz Dodatka II.

g) 30 uzoraka podrijetlom od konja sa područja Vukovarsko-srijemske županije.

Uzorkovanje provodi ovlaštena veterinarska organizacija sukladno popisu iz Dodatka III.

Napomena: Serološki pozitivne životinje potrebno je ponovno uzrokovati kako bi se dokazalo prisutstvo odsječka specifičnog gena *F. tularensis*. Pretraživanje uzoraka u ovu svrhu provodi se uporabom molekularnih metoda.

10. Mjere biosigurnosti te preporuke za veterinare, posjednike životinja i lovce

a) Opće preporuke za mjere biosigurnosti za veterinare, lovce i posjednike životinja:

Obzirom na izrazitu infektivnost *F. tularensis* te činjenice da se čovjek može zaraziti kontaktom sa zaraženom životinjom, ali i kontaminiranom vodom, hranom, zrakom te putem ugriza zaraženih krpelja (te i drugih hematofagnih insekata) potrebno je poduzeti povećane mjere biosigurnosti.

Slijedom navedenog, prilikom boravka u endemskom području treba rabiti zaštitnu odjeću (dugih rukava i nogavica) i repelente protiv insekata.

Nakon povratka iz prirode tijelo treba pažljivo pretražiti na prisutnost krpelja, te ih po nalasku odmah ukliniti.

Prilikom baratanja sa zečevima i glodavcima, treba nositi zaštitnu odjeću, uključujući i gumene rukavice i maske za lice, jer se uzročnici mogu nalaziti i u izmetu životinje ili na krznu.

Meso divljači se prije konzumacije potrebno je dobro termički obraditi. Vodu koja može biti zagađena nije preporučljivo konzumirati.

Prilikom razudbe uginulih životinja preporuča se rad u duplim rukavicama uz uporabu zaštitne maske.

Sve uzorke životinja sumnjivih na tularemiju koje se šalje na laboratorijsku pretragu treba slati u nepropusnim, hermetički zatvorenim transportnim kutijama.

Rad sa glodavcima i njihovim organima unutar laboratorija potrebno je provoditi isključivo unutar mikrobioloških biozaštitnih komora kako bi se zaštitilo laboratorijsko osoblje.

b) Dodatne preporuke posjednicima životinja:

Na gospodarstvima treba redovito provoditi preventivnu deratizaciju i dezinfekciju u skladu sa tehnološkim i drugim propisanim zahtjevima te zaštititi hranu i vodu od glodavaca. Posjednici pasa i mačaka trebaju redovito provoditi dostupne mjere preventivne zaštite od krpelja te koliko je to moguće smanjiti kontakt svojih ljubimaca sa glodavcima.

c) Dodatne preporuke lovcima:

S povećanim oprezom potrebno je pristupiti prema zečevima koji su izgubili ponašanje svojstveno vrsti tj. izgledaju kao da su izgubili strah od ljudi i izrazito lako ih je uloviti. Također preporuka je primijeniti jednake mjere opreza kada naiđu na lešinu zeca. U takvim slučajevima lešine životinja treba, poduzimajući sve opće mjere biosigurnosti (rad sa rukavicama i maskom), staviti u dvostruku plastičnu vreću i dostaviti u nadležnu ovlaštenu veterinarsku stanicu koja će takve uzorke, ne otvarajući vreće bez uporabe zaštitnih maski, uputiti u Laboratorij za leptospire -Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu na daljnje pretraživanje.

Dodatak I Uzorkovanje ovaca sukladno točki 9., podtočki 9.3. Programa

Županija	Naselje	Broj uzoraka po naselju	Ovlaštena veterinarska organizacija
Bjelovarsko-bilogorska	Berek	10	Veterinarska ambulanta Sedlić d.o.o.
	Hercegovac	10	Veterinarska stanica d.o.o. Garešnica
	Rovišće	10	Veterinarska stanica Bjelovar d.o.o.
Međimurska	Čehovec	10	Veterinarska stanica d.o.o. Prelog
	Donja Dubrava	10	Veterinarska stanica d.o.o. Prelog
	Dunjkovec	10	Bioinstitut d.o.o.
Koprivničko-križevačka	Bogačevo Riječko	10	Veterinarska stanica Križevci d.o.o.
	Bogovljani	10	Veterinarska stanica Koprivnica d.o.o.
	Ferdinandovac	10	Veterinarska Stanica Đurđevac d.o.o.
Osječko-baranjska	Andrijevac	10	Veterinarska stanica Našice d.o.o.
	Bijelo Brdo	10	Veterinarska stanica Osijek d.o.o.
	Kneževi Vinogradi	10	Veterinarska stanica Beli Manastir d.o.o.

Dodatak II Uzorkovanje goveda sukladno točki 9., podtočki 9.3. Programa

Županija	Naselje	Broj uzoraka po naselju	Ovlaštena veterinarska organizacija
Sisačko-moslavačka	Donji Klasnić	10	Veterinarska ambulanta Glina d.o.o.
	Gornja gračenica	10	Veterinarska stanica Kutina d.o.o.
	Madžari	10	Veterinarska stanica Sisak d.o.o.

Dodatak III Uzorkovanje konja sukladno točki 9., podtočki 9.3. Programa

Županija	Naselje	Broj uzoraka po naselju	Ovlaštena veterinarska organizacija
Vukovarsko-srijemska	Njemci	10	Veterinarska ambulanta d.o.o. Vinkovci
	Štitar	10	Veterinarska stanica Županja d.o.o.
	Bogdanovci	10	Veterinarska stanica Vukovar d.o.o.