

Seroprevalencija infekcija Maedi-visna virusom u ovaca u Zadarskoj županiji

Šuto, Branimir

Master's thesis / Diplomski rad

2025

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:178:230934>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-28**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Veterinary Medicine -
Repository of PHD, master's thesis](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
VETERINARSKI FAKULTET

SVEUČILIŠNI INTEGRIRANI PRIJEDIPLOMSKI I DIPLOMSKI
STUDIJ *VETERINARSKA MEDICINA*

DIPLOMSKI RAD

Branimir Šuto

Seroprevalencija infekcija Maedi-visna virusom u ovaca u Zadarskoj županiji

Zagreb, 2024.

Branimir Šuto

Odjel za veterinarsko javno zdravstvo i sigurnost hrane
Zavod za mikrobiologiju i zarazne bolesti s klinikom

Predstojnik: prof. dr. sc. Vilim Starešina

Mentori: prof. dr. sc. Ljubo Barbić
izv. prof. dr. sc. Maja Maurić Maljković

Članovi povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. Izv. prof. dr. sc. Vladimir Stevanović
2. Prof. dr. sc. Vilim Starešina
3. Doc. dr. sc. Matko Perharić
4. Izv. prof. dr. sc. Maja Maurić Maljković (zamjena)

Rad sadržava 29 stranica, 4 slike, 7 tablica, 38 literaturnih navoda.

ZAHVALA

Ovim putem zahvaljujem prof. dr. sc. Ljubi Barbiću i izv. prof. dr. sc. Maji Maurić Maljković na stručnom mentorstvu i pomoći pri izradi ovog diplomskog rada. Također zahvaljujem dr. sc. Snježani Kovač na pomoći u radu u laboratoriju tokom provođenja testiranja.

Nadalje, velike zahvale upućujem kolegama iz Veterinarske ambulante Benkovac, bez čije pomoći u prikupljanju uzoraka ovaj diplomski rad ne bi bio moguć.

Zahvalnost trebam predati i svojim roditeljima te bratu i sestri, čija potpora mi je omogućila da dođem do kraja studija.

Na kraju, najveću zahvalu dugujem svojoj djevojci, osobi koja me najviše podržavala i tjerala na rad te bez čije pomoći sigurno ne bi bio tu gdje sam sada.

POPIS PRILOGA

Slika 1. Prikaz sela u kojima su prikupljeni uzorci seruma ovaca (Preuzeto i prilagođeno s Atlist.com)

Slika 2. Grafički prikaz seroprevalencije infekcija MVV-om po lokacijama

Slika 3. Prikaz raspodjele uzoraka po pasminama

Slika 4. Grafički prikaz kretanja seroprevalencije infekcija MVV-om prema dobnim skupinama

Tablica 1. Seroprevalencija infekcija MVV-a prema uzorkovanim stadima

Tablica 2. Seroprevalencija infekcija MVV-om po lokacijama

Tablica 3. Prikaz seroprevalencije infekcija MVV-om prema spolu

Tablica 4. Seroprevalencija infekcija MVV-a prema načinu držanja

Tablica 5. Postotak inficiranih jedinki prema kliničkim znakovima

Tablica 6. Postotak pretraženih životinja u pojedinom stadu

Tablica 7. Seroprevalencija infekcija MVV s obzirom na najbližu vodenu površinu

KRATICE

AGID = Agar gel imunodifuzijski test (engl. *Agar gel immunodiffusion test*)

CAEV = Virus artritis encefalitisa koza (engl. *Caprine arthritis encephalitis virus*)

CI = interval pouzdanosti (engl. *Confidence interval*)

ELISA = Imunoenzimni test (engl. *Enzyme-linked immunosorbent assay*)

MV = Maedi-visna

MVV = Maedi-visna virus

OPG = Obiteljsko poljoprivredno gospodarstvo

OR = omjer izgleda (engl. *Odds ratio*)

PCR = Lančana reakcija polimerazom (engl. *Polymerase chain reaction*)

RH = Republika Hrvatska

SAD = Sjedinjene Američke Države

SRLV = Lentivirusi malih preživača (engl. *Small ruminant lentiviruses*)

UK = Ujedinjeno Kraljevstvo

Sadržaj

1. UVOD	1
2. PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA	2
2.1. Kratka povijest i proširenost po svijetu	2
2.2. Etiologija i način prijenosa uzročnika	2
2.3. Klinička slika	3
2.4. Čimbenici rizika i preventiva bolesti	4
3. MATERIJAL I METODE	6
3.1. Uzorci.....	6
3.2. Serološko pretraživanje.....	7
3.3. Statistička obrada podataka	8
4. REZULTATI	9
4.1. Lokacija	9
4.2. Pasma.....	11
4.3. Spol	11
4.4. Način držanja	12
4.5. Klinički znakovi.....	12
4.6. Dob.....	13
4.7. Veličina stada	14
4.8. Vodene površine.....	14
5. RASPRAVA	16
6. ZAKLJUČCI.....	22
7. LITERATURA.....	23
8. SAŽETAK	27
9. SUMMARY	28
10. ŽIVOTOPIS.....	29

1. UVOD

Maedi-visna (MV) je kronična virusna zarazna bolest uzrokovana Maedi-visna virusom (MVV). Uzročnik bolesti pripada porodici *Retroviridae*, rod *Lentivirus*.

MV sa svojom pojavom uzrokuje gospodarske gubitke zbog oboljenja i uginuća, mršavljenja zahvaćenih životinja te zbog uklanjanja inficiranih životinja u svrhu sprečavanja širenja bolesti (KALOGIANNI i sur., 2020.).

Većina inficiranih ovaca ostaju asimptomatski nositelji uzročnika kroz cijeli svoj život, dok 20-30% klinički oboljeva od MV. Virus uzrokuje imunološki posredovane lezije na organima oboljelih životinja. Najčešće zahvaćeni organi su pluća i/ili vime, te se kod takvih slučajeva bolest klinički očituje kao pneumonija i/ili indurativni mastitis. Rjeđe se pojavljuju lezije u zglobovima i/ili mozgu, kada dolazi do pojave artritisa i/ili encefalomijelitisa (VIDIĆ, 2015.). Najranije vidljivi klinički znakovi su mršavljenje i tahipneja, a najčešće se u ovaca pojavljuje mastitis (CHRISTODOULOPOULOS, 2005.).

Kao metode za dijagnostiku ove bolesti se mogu koristiti serološke metode poput agar gel imunodifuzijskog test (engl. *Agar gel immunodiffusion test* - AGID) te imunoenzimni test (engl. *Enzyme-linked immunosorbent assay* - ELISA). Uz njih, moguće je i korištenje molekularnih tehnika kao što je lančana reakcija polimerazom (engl. *Polymerase chain reaction* - PCR) (DE ANDRES i sur., 2005.).

S obzirom da na području Zadarske županije, prema najnovijim podacima iz 2023. godine, obitava najveći broj ovaca u Hrvatskoj (HAPIH, 2024.) te kako Maedi-visna nije redovito praćena bolest u Hrvatskoj, cilj ovog rada je bio odrediti seroprevalenciju infekcije MVV-om na ovom području. U tu svrhu je prikupljeno 319 uzoraka s četrnaest različitih obiteljskih poljoprivrednih gospodarstava (OPG) te su svi serološki pretraženi na MVV koristeći komercijalni ELISA test. Nadalje, analizirajući rezultate ovog istraživanja, određivanjem čimbenika rizika i prepoznajući gospodarske posljedice ove bolesti, može se postaviti znanstveno utemeljena osnova za pokretanje programa za kontrolu i iskorjenjivanje infekcije Maedi-visna virusom na području Zadarske županije, ali i cijele Republike Hrvatske (RH).

2. PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA

2.1. Kratka povijest i proširenost po svijetu

SIGURDSSON (1954.) prvi put opisuje bolest Maedi-visna koja se pojavila na Islandu 1933. godine. Na Island je ova bolest dospjela uvozom karakulske ovce iz Njemačke. Bolest svoje ime dobiva od islandskih riječi *maedi*, koja znači dispneja, i *visna*, što znači smanjenje, u ovom slučaju u kontekstu smanjenja, propadanja, kralježnične moždine.

U početku se mislilo da su Maedi, koja uzrokuje respiratorne lezije, i Visna, koja uzrokuje neurološke lezije, dva različita virusa. Međutim, otkrilo se da su to sojevi istog virusa, kojeg danas poznajemo kao Maedi-visna virus.

U Njemačku su ovce inficirane s MVV-om dospjele 1901. godine te se bolest prometom ovaca iz inficiranog stada proširila u nekoliko obližnjih zemalja, kao što su Island, Ujedinjeno Kraljevstvo (UK), Nizozemska, Francuska i Sjedinjene Američke Države (SAD) (STRAUB, 2004.).

Danas je MV prisutna u većini zemalja svijeta. Prijašnjim istraživanjima se pokazalo da ukupna seroprevalencija u RH, odnosno u Dalmaciji iznosi 29,57%. Na području Zadarske županije, seroprevalencija određena imunoenzimnim testom je bila 10,06%. Međutim, veliki dio pretraživanih jedinki sa područja Zadarske županije u navedenom istraživanju je bio s područja otoka Paga, tako da navedene rezultate treba uzimati s rezervom imajući specifične epizootiološke podatke ove populacije u vidu (VIDIĆ, 2015.). Seroprevalencija u drugim državama varira od 9,00% u Švicarskoj (SCHALLER i sur., 2000.) pa do 52,88% u sjeveroistočnoj Španjolskoj (PÉREZ i sur., 2010.).

2.2. Etiologija i način prijenosa uzročnika

Maedi-visna virus je virus iz roda *Lentivirus*, porodice *Retroviridae*. Zbog sličnosti u strukturi, često se spominje uz virus artritisa encefalitisa koza (CAEV, engl. *Caprine arthritis encephalitis virus*). Zbog te sličnosti, ova dva virusa se svrstavaju u podskupinu virusa koju nazivamo lentivirusi malih preživača (SRLV, engl. *Small ruminant lentiviruses*) (KALOGIANNI i sur., 2020.).

BLACKLAWS (2012.) navodi da primarni tropizam SRLV-i imaju prema stanicama kao što su monociti, makrofagi te dendritičke stanice. Međutim, u određenim ciljnim organima virus

izražava tropizam i prema drugim stanicama kao što su, na primjer, epitelne stanice mliječne žlijezde.

MV je kontagiozna bolest koja se može širiti i vertikalno i horizontalno. Najbitniji način prijenosa je vertikalno preko kolostruma zaraženih majki na mladunčad. Također, bitan izvor zaraze su nosni iscjedci inficiranih životinja. Virus inhalacijom ili direktnim kontaktom zatim dospijeva u neinficirane jedinke. Ovakav način prijenosa je od iznimne važnosti u intenzivnim uzgojima kada se ovce drže skupa u bliskom kontaktu (KALOGIANNI i sur., 2020.; MOSA i sur., 2022.).

Transplacentarni prijenos virusa je mogući način prijenosa s najviše kontroverze. Neka istraživanja potvrđuju da je takav prijenos moguć i da dolazi do infekcije fetusa u manjem broju slučajeva (HOFF-JORGENSEN, 1977.; BRODIE I SUR., 1994.). U drugu ruku, postoje istraživanja gdje nije dokazana infekcija u ojanjene janjadi i fetusima pozitivnih ovaca (DE BOER i sur. 1979.; SIHVONEN, 1980.). Međutim, postoji dovoljno dokaza da možemo zaključiti da je ovakav prijenos virusa moguć, ali njegov utjecaj na sveukupnu stopu infekcija ostaje nepoznat.

Još nema objavljenih podataka o prijenosu virusa prilikom kopulacije. Iako se virus može dokazati u sjemenu zaraženih ovnova koji pokazuju tipične kliničke znakove ili imaju upale testisa, nije zabilježen prijenos virusa sa zaraženog mužjaka na prijemljivu ženku prilikom koitusa (BLACKLAWS i sur., 2004.).

2.3. Klinička slika

Inkubacijsko razdoblje za infekciju MVV-om je poprilično varijabilno. Može trajati od nekoliko tjedana pa do nekoliko godina, dok neke jedinke ostaju klinički zdrave do kraja života. Međutim, značajno je istaknuti da i subklinički inficirane životinje predstavljaju izvor zaraze za druge, neinficirane ovce (NARAYA i CLEMENTS, 1989.).

Maedi-visna je kronična virusna bolest koja se tipično očituje lezijama na plućima, mliječnoj žlijezdi, zglobovima te živčanom sustavu. Lezije se stvaraju zbog imunološkog odgovora na virusni antigen i zbog samog umnažanja virusa. Pneumonija i mastitis su predominantni klinički znakovi u ovaca oboljelih od MV. U zahvaćenih ovaca pojavljuje se gubitak tjelesne mase, kašalj i ostali respiratorni problemi, pobačaji, depresija, mastitis i artritis (BLACKLAWS, 2012.). Rjeđe je moguće pojavljivanje lezija poput hiperplazije limfoidnog tkiva u bubrezima (ANGELOPOULOU i sur., 2006.), jetri i srcu (BRELOU i sur., 2007.).

Prvi klinički znakovi koje vidimo u oboljelih životinja su respiratorni znakovi: nepodnošenje fizičkog napora, dispneja tijekom odmora koju prati abdominalno disanje, širenje nosnica, ispružen vrat te disanje na usta. Iscjedak iz nosa se pojavljuje samo u slučaju sekundarnih bakterijskih infekcija. Životinje također pate od anoreksije, gubitka tjelesne mase i naposljetku kaheksije.

Mastitis je, uz respiratorna oboljenja, iznimno bitan klinički znak bolesti. Primarno dolazi do indurativnog mastitisa, tj. otvrdnuća mliječne žlijezde, pada proizvodnje mlijeka i posljedično slabog prirasta janjadi. Tipično je subkliničkog tijeka te se najčešće klinički očituje u ovaca u dobi između tri i pet godina. Međutim, također se dokazuje i u životinja od godinu dana te je najučestalija u intenzivno držanih životinja u kojih se koristi mehanička mužnja (MOSA i sur., 2022.). JUSTE i sur. (2020.) navode da se proizvodnost mlijeka u seropozitivnih jedinki smanjuje za 6,7%. Nadalje, ARSENAULT i sur. (2003.) navode da, zbog smanjene proizvodnosti mlijeka, tjelesna masa janjadi po odbiću je u prosjeku manja za 0,94 kg, varirajući od 0,3 do 3,0 kg po janjetu.

Artritis obično zahvaća ovce u dobi između dvije i tri godine. Lezije tipično zahvaćaju tarzalne i karpalne zglobove, što dovodi do hromosti (PÉREZ i sur., 2015.). Proces počinje s infiltracijom mononuklearnih stanica kroz sinovijalnu membranu što slijedi hipertrofija, angiogeneza te fibroza, mineralizacija i nekroza sinovije i kapsule zgloba (BLACKLAWS, 2012.)

Neurološki oblik bolesti je najrjeđi oblik bolesti te se pojavljuje sporadično i u visoko inficiranim stadima. Može se pojaviti zajedno s ostalim kliničkim oblicima, kao i zasebno (CHRISTODOULOPOULOS, 2006.). U zahvaćenih jedinki se pojavljuje meningoencefalitis, astrocitoza i fokalna sekundarna demijelinizacija u mozgu i kralježničnoj moždini. Od kliničkih znakova može se vidjeti ataksija, pareza, slabost stražnjih nogu, inkoordinacija te čak i totalna paraliza (KALOGIANNI, 2020.).

PÁLSSON (1990.) navodi da nakon dosezanja kliničkog stadija bolesti, ovce mogu preživjeti od tri do osam mjeseci. Međutim, u nekim slučajevima, kada životinja nije izložena nikakvim stresorima, jedinke mogu preživjeti i do dvije godine.

2.4. Čimbenici rizika i preventiva bolesti

Zbog nepostojanosti specifičnog lijeka i cjepiva za MVV, veliki naglasak se stavlja na prepoznavanje čimbenika rizika te kontrolu i prevenciju pojave bolesti. Veličina stada, intenzitet proizvodnje te raspodjela po dobi uvelike utječu na seroprevalenciju bolesti na

farmama (PÉREZ i sur., 2010.). Nadalje, kasno uklanjanje pozitivnih jedinki, neprofesionalno čišćenje i dezinfekcija pribora za mužnju, korištenje igala i kirurške opreme za više životinja te nepovoljni higijenski uvjeti unutar štala povećavaju rizik od širenja MVV-a (BLACKLAWS i sur., 2004.). Također, uvođenje stoke nepoznatog statusa inficiranosti MVV-om se povezuje s povećanom seroprevalencijom bolesti (LAGO i sur., 2012.).

Kao što ne postoji lijek, tako ne postoji ni učinkovito cjepivo protiv MV. Velike prepreke u proizvodnji cjepiva su potreba za visokim zaštitnim titrom protutijela, a prije svega velika genetska raznolikost i učestale mutacije virusa, svojstvene virusima iz porodice *Retroviridae*. Također ograničavajuća je i činjenica da cijepljenje određenim tipovima cjepiva, npr. atenuiranim cjepivima, ne rezultira zaštitnim titrom protutijela te štoviše može pogodovati razvoju perzistentne infekcije (BLACKLAWS, 2012.).

Istraživanja posvećena uzgoju genetskih rezistentnih ovaca su još u začecu. Međutim, postoje radovi koji povezuju veću rezistenciju na MV s posjedovanjem određenih gena. No potrebno je još mnogo istraživanja na ovu temu kako bi se uzgojila zadovoljavajuće rezistentna linija ovaca (WHITE i KNOWLES, 2013.).

Neke od metoda iskorjenjivanja i sprečavanja ove bolesti su: kontinuirano serološko i molekularno testiranje prijemljivih životinja, primjena zamjenskog kolostruma u ojanjene janjadi kako bi se spriječilo kolostralno širenje, uklanjanje jedinki s vidljivim kliničkim znakovima, uvođenje dodjele statusa farmi službeno slobodnih od MVV-a te dopuštanje prometa životinja samo između farmi s potvrđenim statusom (KALOGIANNI, 2020.).

3. MATERIJAL I METODE

3.1. Uzorci

U svrhu provedbe ovog istraživanja prikupljeno je 319 uzoraka seruma ovaca pasmina dalmatinska pramenka i romanovska ovca s područja Zadarske županije, u razdoblju od 1. svibnja do 1. kolovoza 2024. Uzorci su prikupljeni s 14 različitih gospodarstava, tj. iz 14 različitih stada, a koja se nalaze u selima Banjevci, Bjelina, Bruška, Kula Atlagić, Lisičić, Polača te Radašinovci (Slika 1). Uzorci seruma su prikupljeni iz ostalih uzoraka krvi preostalih po vađenju krvi radi provođenja naređenih mjera u svrhu održavanja statusa stada ovaca slobodnih od bruceloze (*B. melitensis*), a koje je prikupio ovlaštenu veterinar iz Veterinarske ambulante Benkovac. Krv se uzorkovala venepunkcijom *v. jugularis* u sterilne epruvete bez antikoagulansa. Potom je nasumično odabrano 319 uzoraka namijenjenih za provođenje istraživanja. Odabrani uzorci krvi su ostavljeni pri sobnoj temperaturi do zgrušavanja te se iz njih izdvojio serum u ependorff epruvete zapremnine 2 ml. Uzorci seruma su zatim zamrznuti na -18°C te, bez odmrzavanja, transportirani u Virološki laboratorij Zavoda za mikrobiologiju i zarazne bolesti s klinikom Veterinarskoga fakulteta, gdje su ponovno pohranjeni na -18°C do provođenja pretraga.



Slika 1. Prikaz sela u kojima su prikupljeni uzorci seruma ovaca (Preuzeto i prilagođeno s Atlist.com)

U svrhu određivanja čimbenika rizika za infekciju MVV-om, za svaki odabrani uzorak bilježeni su podaci o životinjama, koji su uključivali pasminu, spol, dob, veličinu stada, način držanja, pojavnost kliničkih znakova u zadnjih godinu dana te udaljenost od vodenih površina.

3.2. Serološko pretraživanje

U Virološkom laboratoriju Zavoda za mikrobiologiju i zarazne bolesti s klinikom se provodilo serološko pretraživanje navedenih uzoraka. Za testiranje je korišten komercijalni imunoenzimni test ID Screen® MVV / CAEV Indirect (Innovative Diagnostics, Grables, Francuska). Korišteni dijagnostički komplet služi za dokazivanje protutijela za MVV / CAEV u serumu, plazmi ili mlijeku ovaca i koza, a metoda se temelji na principu neizravne ELISA-e. Pretraživanje je provedeno sukladno uputama proizvođača.

Dno jažica u mikrotitracijskim pliticama, koje su dio komercijalnog kompleta, je obloženo s mješavinom sintetičkih MVV / CAEV peptida, koji služe kao antigen tih virusa. U te plitice smo dodali pozitivnu i negativnu kontrolu, također sadržanu u dijagnostičkom kompletu, te pretraživane serume. U prisustvu protutijela za MVV / CAEV u serumu, ta se protutijela vežu za antigen stvarajući antigen – protutijelo kompleks. Zatim smo, nakon postupka ispiranja automatskim ispiračom ELISA plitica (Hydroflex, Tecan, Männedorf, Švicarska), dodali konjugat iz komercijalnog kompleta, koji se sastoji od specifičnih monoklonskih protutijela koja na sebi nose enzim peroksidazu. U prisustvu protutijela na MVV / CAEV, konjugat se veže na njih te nastaje antigen – protutijelo – konjugat kompleks. Nakon toga, isprali smo plitice, korištenjem automatskog ispirača, otopinom za ispiranje kako bi odstranili sve nevezane komponente. U daljnjem postupku smo dodali supstrat koji u kontaktu s peroksidazom iz konjugata izaziva kolorimetrijsku reakciju, koja dovodi do promjene boje. U slučaju pozitivne reakcije, tj. prisutnosti MVV / CAEV protutijela, pojavljuje se plava boja, dok kod negativne reakcije, tj. odsustva protutijela u pretraživanim serumima, ne dolazi do promjene boje. Nakon dodavanja otopine za zaustavljanje reakcije, plavo obojenje se pretvara u žuto. Nakon obavljene pretrage, dobivene rezultate smo očitali pomoću čitača mikrotitracijskih plitica (Sunrise, Tecan, Männedorf, Švicarska) na valnoj duljini od 450 nm. Rezultati očitavanja su potom izračunati sa pripadajućim računalnim programom (Magellan™ software, Tecan, Männedorf, Švicarska). Rezultati su, ovisno o vrijednosti apsorbancije, tumačeni kao negativni, sumnjivi ili pozitivnu.

3.3. Statistička obrada podataka

Obrada prikupljenih podataka provedena je statističkim programima R 4.4.0 (R CORE TEAM, 2024.), Statistica v14 (TIBCO Software Inc, 2020.) i MedCalc kalkulator omjera izgleda koji je dostupan besplatno na mrežnoj stranici (https://www.medcalc.org/calc/odds_ratio.php). Prilikom izračunavanja utjecaja pojedinačnog čimbenika rizika korišten je test omjera izgleda (engl. *Odds ratio* - OR), a rezultati su prikazani kao omjer izgleda (OR) uz 95% interval pouzdanosti (engl. *Confidence interval* - CI). U analizi tablica koje su sadržavale više od 4 polja (2x2), poput varijabli stado i lokacija, korištena je logistička regresija u izračunu OR-a, a značajnost utjecaja same varijable na ishod testa utvrđena je analizom varijance (ANOVA) tipa II. Statistička značajnost je određivana na razini $p < 0,05$.

4. REZULTATI

Određivanjem seroprevalencije dokazom protutijela za MVV u pretraživanim serumima ELISA metodom, od 319 pretraženih uzoraka, 100 ih je bilo pozitivnih (31,35%), a 219 negativnih (68,65%). Od 14 pretraživanih stada, u šest stada nije bilo serološki pozitivnih životinja (42,86%), u sedam stada je bilo i pozitivnih i negativnih jedinki (50,00%), dok su u jednom stadu sve pretražene životinje bile pozitivne na MVV (7,14%) (Tablica 1). Drugim riječima, seroprevalencija na razini stada je iznosila 57,14%. Seroprevalencija u stadima s pozitivnim životinjama je varirala od 10,00% do 100,00%.

Tablica 1. Seroprevalencija infekcija MVV-a prema uzorkovanim stadima

Stado	Broj pretraženih životinja	Seroprevalencija		OR	95% CI	p
		n	%			
Stado 1*	11	0	0,00	0,10	0,00-0,83	0,03
Stado 2	8	0	0,00	0,14	0,00-1,18	0,08
Stado 3	19	9	47,37	2,12	0,77-5,80	1,14
Stado 4*	11	11	100,00	53,98	6,58-7029,40	<0,0001
Stado 5*	30	3	10,00	0,30	0,08-0,90	0,03
Stado 6*	21	0	0,00	0,05	0,00-0,43	0,002
Stado 7*	37	0	0,00	0,03	0,00-0,24	<0,0001
Stado 8*	12	0	0,00	0,09	0,00-0,77	0,02
Stado 9	9	3	33,33	1,26	0,28-4,86	0,74
Stado 10	9	2	22,22	1,78	0,14-3,20	0,75
Stado 11*	50	40	80,00	9,05	4,08-21,56	<0,0001
Stado 12*	10	8	80,00	7,98	2,02-44,59	0,002
Stado 13	81	24	29,63	REF		
Stado 14*	11	0	0,00	0,10	0,00-0,84	0,03
UKUPNO	319	100	31,35	--	--	--

n – broj pozitivnih uzoraka

OR – omjer izgleda (engl. *odds ratio*)

CI – interval pouzdanosti (engl. *confidence interval*)

REF – referentno stado (najveći uzorak i najbliža seroprevalencija ukupnoj)

* - stada sa statistički značajnim razlika u odnosu na referentno stado

4.1. Lokacija

Seroprevalencija infekcija MVV-a varirala je s obzirom na lokaciju s kojih su prikupljeni uzorci seruma ovaca (Tablica 2, Slika 2). Najveća seroprevalencija infekcija MVV-a je zabilježena u selima Bjelina i Bruška, gdje je postotak inficiranih 80,00%. Sljedeće je Kula

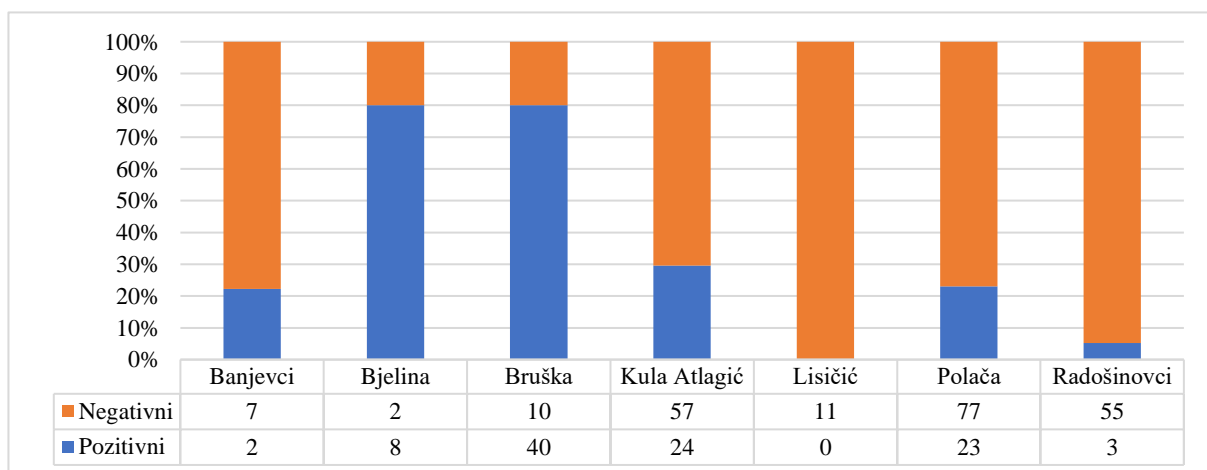
Atlagić s 29,63% pozitivnih jedinki. Zatim slijede Polača s 23,00%, Banjevci s 22,22% te Radašinovci sa 5,17%. U selu Lisičić nije pronađena niti jedna pozitivna jedinka. Statističkom analizom podataka je utvrđeno da lokacija ima statistički značajan utjecaj na seroprevalenciju infekcija MVV-a (ANOVA, $p < 0,001$).

Pojedine lokacije imaju statistički značajniji omjer izgleda da se bolest pojavi na tim područjima. Kao referentnu vrijednost se koristila Polača, zbog najvećeg uzorka i broja stada. Ovce s područja Bjeline imaju 11,21 puta veće šanse da budu inficirane s MVV-om (OR = 11,21; 95% CI = 2,85 – 62,50, $p = 0,0004$), a ovce s područja Bruške 12,72 puta veće šanse (OR = 12,72; 95% CI = 5,78–30,15; $p < 0,0001$) nego ovce s područja Polače. Nadalje, ovce s područja Radašinovaca imaju znatno manju šansu da pojavi infekcija MVV-a (OR = 0,20; 95% CI = 0,05–0,60; $p = 0,003$) (Tablica 2). Za ostale lokacije odstupanje omjera izgleda nije statistički značajno.

Tablica 2. Seroprevalencija infekcija MVV-om po lokacijama

Lokacija	Veličina uzorka	Broj pozitivnih u uzorku	Postotak pozitivnih u uzorku	Broj stada po lokaciji
Banjevci	9	2	22,22%	1
Bjelina*	10	8	80,00%	1
Bruška*	50	40	80,00%	1
Kula Atlagić	81	24	29,63%	1
Lisičić	11	0	0,00%	1
Polača	100	23	23,00%	6
Radašinovci*	58	3	5,17%	3

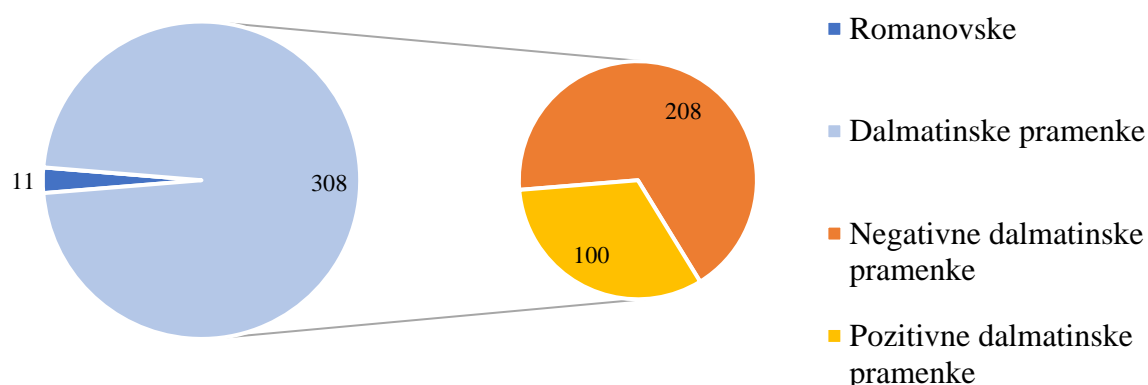
* - lokacije sa statistički značajnom razlikom u usporedbi s lokacijom Polača



Slika 2. Grafički prikaz seroprevalencije infekcija MVV-om po lokacijama

4.2. Pasmina

Od 319 pretraženih ovaca, njih 308 je pasmine dalmatinska pramenka, dok je njih 11 pasmine romanovska (Slika 3). Od 308 seruma dobivenih od dalmatinskih pramenki, njih 100 je bilo pozitivno (32,47%), dok niti jedna ovca pasmine romanovska nije bila pozitivna na infekciju MVV. Međutim, zbog velike razlike u broju uzoraka pojedine pasmine, u ovom istraživanju pasmina nema statističku značajnost u seroprevalenciji infekcija MVV-a (OR = 11,09; 95% CI = 0,65–190,03; p=0,09).



Slika 3. Prikaz raspodjele uzoraka po pasminama

4.3. Spol

S obzirom na spol jedinice, od njih 319, ovnova je bilo 14, dok je ovaca bilo 305. Od 14 ovnova, njih šest je bilo pozitivno (42,86%), dok je pozitivnih ovaca pronađeno 94, odnosno 30,82%. Statističkom obradom podataka se ustanovilo da razlike u seroprevalenciji prema spolu nisu statistički značajne (OR = 1,68; 95% CI = 0,57–4,99; p = 0,35), na što najvjerojatnije utječe velika razlika u broju uzoraka između muških i ženskih jedinica u ovom istraživanju (Tablica 3).

Tablica 3. Prikaz seroprevalencije infekcija MVV prema spolu

Spol	Veličina uzorka	Broj pozitivnih	Postotak pozitivnih prema spolu
Muško	14	6	42,86%
Žensko	305	94	30,82%

4.4. Način držanja

U provedbi istraživanja smo tijekom prikupljanja uzoraka uzimali i podatke o načinu držanja. Ovce su se držale pašno, kombinirano pašno i stajski ili samo stajski. U Tablici 4 su prikazane seroprevalencije infekcija MVV-a s obzirom na način držanja. Statističkom analizom podataka ustanovljeno je da način držanja značajno utječe na seroprevalenciju infekcija MVV (ANOVA, $p < 0,001$). U detaljnijoj analizi, kao referentni način držanja je korišteno kombinirano držanje zbog najvećeg broja ovaca, a dokazano je da ovce koje su držane stajski imaju značajno manju šansu da se inficiraju MVV-om nego ovce koje su držane kombinirano (OR = 0,04; 95% CI = 0,0003–0,32; $p = 0,0002$) dok omjer izgleda za infekciju MVV u ovaca držanih pašno nije statistički značajno odstupao od onoga u ovaca koje su držane kombinirano (OR = 0,63; 95% CI = 0,38–1,03; $p = 0,07$).

Tablica 4. Seroprevalencija infekcija MVV-a prema načinu držanja

Način držanja	Veličina uzorka	Broj pozitivnih jedinki	Postotak pozitivnih prema načinu držanja
P	121	33	27,27%
PIS	179	67	37,43%
S	19	0	0,00%

P – pašno držanje, PIS – kombinirano pašno i stajsko držanje, S – stajsko držanje

4.5. Klinički znakovi

U ovom smo istraživanju, prilikom prikupljanja uzoraka, pratili pojavljivanje respiratornih, reproduktivnih, ortopedskih i/ili neuroloških kliničkih znakova u pretraživanih ovaca. Podatci su dobiveni uzimanjem anamneze od vlasnika te, ukoliko su klinički znakovi bili prisutni u trenutku uzorkovanja inspekcijom životinja. Od 319 jedinki, njih 305 (95,61%) nije pokazivalo nikakve kliničke znakove, a u 12 (3,76%) su uočeni respiratorni klinički znakovi (kašalj, iscjedak iz nosa), dok je po jedna životinja očitovala ortopedske kliničke znakove (hromost) odnosno reproduktivne (pobačaj). U niti jedne životinje nisu zabilježeni neurološki poremećaji. U Tablici 5 je prikazan postotak inficiranih jedinki prema određenim kliničkim znakovima.

Tablica 5. Postotak inficiranih jedinki prema kliničkim znakovima

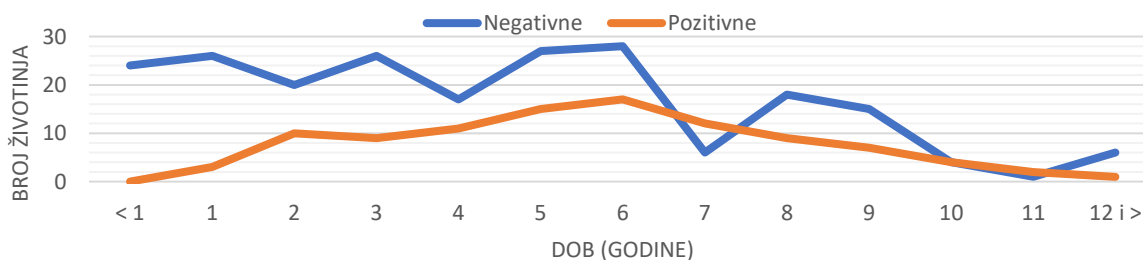
Klinički znakovi	Pozitivne		Ukupno
	n	%	
Bez kliničkih znakova	92	30,16	305
Respiratorni	8	66,67	12
Ortopedski	0	0,00	1
Reprodukcijski	0	0,00	1

n – broj pozitivnih, % - postotak pozitivnih

Po jedna životinja sa zabilježenim ortopedskim, odnosno reproduktivnim kliničkim znakovima bila je serološki negativna na MVV. Zbog pojedinačnog očitovanja navedenih kliničkih znakova, ove dvije jedinke su isključene iz daljnje statističke obrade. Analizirajući rezultate za preostale životinje, s respiratornim kliničkim znakovima i klinički zdrave, ustanovljena je statistički značajna razlika u seroprevalenciji. Naime, omjer izgleda da jedinka s respiratornim kliničkim znakovima bude pozitivna na MVV je 4,63 puta veća nego jedinka bez kliničkih znakova (OR = 4,63; 95% CI = 1,36–15,76; p=0,01).

4.6. Dob

Dob pretraživanih ovaca je varirala od 0,5 godina do 19,8 godina, a za jednu ovcu taj podatak nije bio poznat. Prosječna dob ovaca je bila 5,51 godina. Ovce koje su bile pozitivne na MVV su imale raspon godina od 1,4 do 12,8 godina. Prosjek dobi pozitivnih ovaca je bio 6,27 godina. Seroprevalencija infekcija MVV-a po dobnim skupinama grafički je prikazana na Slici 4. Statističkom obradom dokazano je da dob životinja ima utjecaja na seroprevalenciju infekcija MVV (ANOVA, p=0,005), te je dokazano da se svakim povećanjem broja godine, povećava i omjer izgleda da jedinka bude serološki pozitivna na MVV (OR = 1,10; 95% CI = 1,03-1,19; p=0,006).



Slika 4. Grafički prikaz kretanja seroprevalencije infekcija MVV-om prema dobnim skupinama

4.7. Veličina stada

Zbog nasumičnog uzimanja uzoraka, ukupni broj životinja u pretraživanim stadima nije bio identičan broju pretraženih uzorka nego je pretraženo 64,97% životinja od ukupnog broja životinja u svim stadima. Veličina uzorka po stadu se kretala od 50,00% pa do 92,50% ukupnog broja životinja u stadu (Tablica 6). Sam broj životinja u stadima se kretao od 11 pa do 147 jedinki. Prosječna veličina stada je 66,27. Statističkom analizom se pokazalo da, u ovom istraživanju, veličina stada nije imala utjecaj na seroprevalenciju infekcije MVV, odnosno, porast broja životinja u stadu nije utjecao na seroprevalenciju (OR = 1,00; 95% CI = 0,99-1,01; p=0,15).

Tablica 6. Postotak pretraženih životinja u pojedinom stadu

Stado	Broj životinja u stadu	Broj pretraženih životinja	Postotak pretraženih životinja
Stado 1	15	11	73,33
Stado 2	16	8	50,00
Stado 3	30	19	63,33
Stado 4	12	11	91,67
Stado 5	60	30	50,00
Stado 6	25	21	84,00
Stado 7	40	37	92,50
Stado 8	15	12	80,00
Stado 9	17	9	52,94
Stado 10	14	9	64,29
Stado 11	74	50	67,57
Stado 12	11	10	90,91
Stado 13	147	81	55,10
Stado 14	15	11	73,33
UKUPNO	491	319	64,97

4.8. Vodene površine

U našem istraživanju, utjecaj vodenih površina je bio statistički značajan za seroprevalenciju infekcija MVV (ANOVA, p<0,001). Analizirano je koji oblik vodene površine je bio najbliži pretraživanom stadu, te samu udaljenost tih površina. Za šest stada (od Stada 1 do Stada 6), najbliži oblik vodene površine je bio potok. Za njih četiri (od Stada 7 do Stada 10), to je bilo jezero te isto tako četiri stada (od Stada 11 do Stada 14) su bila najbliža rijeci. Najveći postotak seropozitivnih jedinki se nalazio u blizini rijeka (47,37%), zatim potoka (23,00%) te naposljetku jezera (7,46%). U Tablici 7 je prikazana seroprevalencija infekcija MVV s obzirom

na najbližu vodenu površinu. U analizi omjera izgleda za referentnu vrijednost korištene su ovce u blizini rijeke zbog najvećeg broja životinja u toj skupini. U odnosu na ovce u blizini rijeke, manju šansu da budu seropozitivne imaju ovce u blizini jezera (OR = 0,08; 95% CI = 0,03-0,22; $p < 0,0001$) kao i ovce u blizini potoka (OR = 0,33; 95% CI = 0,18-0,58; $p = 0,0001$).

Tablica 7. Seroprevalencija infekcija MVV s obzirom na najbližu vodenu površinu

Vodena površina	Broj jedinki u blizini	Seroprevalencija	Broj pozitivnih životinja
Jezero	67	7,46%	5
Potok	100	23,00%	23
Rijeka	152	47,37%	72

Promatrajući utjecaj udaljenosti životinja od vodenih površina, pronađena je statistički značajna povezanost između iste i seroprevalencije infekcija MVV tih jedinki. Naime, svakim povećanjem udaljenosti za kilometar, mogućnost prisutnosti seropozitivnih jedinki se povećala za 1,47 puta (OR = 1,47; 95% CI = 1,32-1,65; $p < 0,0001$).

5. RASPRAVA

Rezultatima ovog istraživanja potvrđena je seroprevalencija MVV u 31,35% pretraženih ovaca s područja Zadarske županije. Uspoređujući to s rezultatima prethodnog istraživanja na istom području (VIDIĆ, 2015.), kada je seroprevalencija u Dalmaciji dokazana istom metodom bila 29,75%, a u Zadarskoj županiji 10,06%, ovaj rezultat potvrđuje značajan porast seroprevalencije na ovom području u posljednjih 9 godina. Porast seroprevalencije očekivan je i dokazuje širenja bolesti posljednjih godina koji je rezultat neprovođenja bilo kakvih mjera kontrole i suzbijanja. Dinamika porasta seroprevalencije, odnosno trostruko povećanje, u skladu je s poznatim načinima prijenosa bolesti. Ovakav zaključak ipak se mora razmotriti i uz manju rezervu s obzirom da su uzorci s područja Zadarske županije u prethodnom istraživanju primarno uzorkovani od ovaca s područja otoka Paga, koji zbog specifičnih epizootioloških prilika možda i nije najrelevantniji za procjenu seroprevalencije MVV u cijeloj Zadarskoj županiji provedenim u prethodnom istraživanju. Neovisno o navedenom, ustanovljena visoka seroprevalencija zasigurno potvrđuje potrebu za hitnim uvođenjem sustavnog nadzora i suzbijanja ove gospodarski značajne bolesti na području Zadarske županije.

Seroprevalencija MVV je znatno ovisila o lokaciji u ovom istraživanju. Kako smo naveli, postotak pozitivnih jedinki po selima se kretao u rasponu od 0,00% pa do 80,00%. Međutim, tolike razlike u seroprevalenciji se daju objasniti s nekoliko činjenica. Primarno na lokaciji Lisičić, gdje nije dokazan MVV, je uzorkovano samo jedno stado gdje je prikupljeno 15 uzoraka. Naročito zbog toga, ta razlika nam nije bila statistički značajna. Ako gledamo lokacije Bjelina (80% pozitivnih uzoraka) i Bruška (80% pozitivnih uzoraka), tu postoji 11,21 odnosno 12,72 puta veća vjerojatnost da se ovce inficiraju nego u selu Polača (23% pozitivnih uzoraka). Nadalje, ovce sa područja Radašinovci (5,17% pozitivnih uzoraka) imaju pet puta manju šansu biti inficirane od životinja u Polači. Ovakve razlike u seroprevalenciji mogu biti povezane s brojem gospodarstava s kojih smo prikupili uzorke. Naime, s područja Bjeline i Bruške, uzorci su prikupljeni s jednog OPG-a po lokaciji. U usporedbi, na lokaciji Polača se uzorkovalo sa šest gospodarstava, a na lokaciji Radašinovci s tri gospodarstva. Dakle, na seroprevalenciju u selima Bruška i Bjelina utječu samo po jedno stado, te je moguće da bi postotak bio drugačiji da je više stada uzorkovano na tim lokacijama. S druge strane, s obzirom na načine širenja, izrazite razlike seroprevalencije između pojedinih stada, pa posljedično i na pojedinim lokacijama, su očekivane. Iz navedenog razloga potrebno je provesti istraživanje obuhvaćanjem većeg broja stada i životinja, ako ne i svih ovaca sa spomenutih područja, kako

bi dobili reprezentativnu sliku rasprostranjenosti MVV infekcija po pojedinim lokacijama. To bi se moglo postići uvođenjem godišnjeg serološkog testiranja u svrhu sustavnog nadzora i suzbijanja bolesti koji bi, obzirom na ustanovljenu seroprevalenciju zasigurno bio opravdan. Potrebu za hitnim uvođenjem sustavnog nadzora bolesti dodatno osnažuje i činjenica da još uvijek ima stada u kojima nisu zabilježene infekcije MVV, koje bi, u slučaju zadržavanja takvog statusa, bile značajne za moguće eradikaciju bolesti iz populacije ovaca na istraživanom području. Daljnje neprovođenje mjera kontrole bolesti vrlo vjerojatno će rezultirati daljnjim širenjem te u konačnici dovesti do proširenosti uzročnika na svim lokacijama u svim stadima što će značajno otežati eradikaciju.

Pasminsku predispoziciju prema infekciji MVV-om u ovom istraživanju nismo mogli pouzdano dokazati. To proizlazi iz činjenice da 96,55% našeg istraživanog uzorka su ovce pasmine dalmatinska pramenka, dok su preostale malobrojne bile romanovske ovce, koje su se nalazile u jednom stadu koje je držano isključivo stajski. Međutim, drugim istraživanjima je dokazano postojanje razlike u prijemljivosti između različitih pasmina, npr. ovce pasmine Border Leicester su prijemljivije nego ovce pasmine Columbia (CUTLIP i sur., 1986.). Nadalje, LIPECKA i sur. (2006.) navode da su uvezene pasmine podložnije infekciji nego domaće autohtone, što pretpostavljaju da je rezultat privikavanja životinje na novu okolinu. U RH, od uzgojno valjanih ovaca 24,04% spada na autohtonu dalmatinsku pramenku, a 7,84% na romanovsku ovcu, jednu od češćih uvezenih pasmina. Za dalmatinsku pramenku procijenjena populacija je 280000 (HAPIH, 2024.). Zbog činjenice da dalmatinska pramenka čini skoro četvrtinu uzgojno valjanih grla u RH te da je procijenjena populacija preko četvrtine milijuna, potreba za istraživanjem prijemljivosti pasmina ovaca koje se koriste u stočarstvu na našim područjima je velika. Kako bi se to realiziralo, potrebna su daljnja istraživanja, koja obuhvaćaju što veći broj pasmina.

Utjecaj spola na podložnost infekciji MVV-om, u ovom istraživanju, nam nije bio od statističke značajnosti. Razlog tome može biti i neujednačenost uzorka s obzirom da su 95,61% uzorka činile ovce, dok su ostatak činili ovnovi. Zbog prevelike razlike u veličini uzorka, nismo mogli sa sigurnošću utvrditi spolnu predispoziciju. Međutim, i prijašnja istraživanja pokazuju da spol ne utječe na seroprevalenciju MVV-a (SEYOUM i sur., 2011.).

Način držanja se potvrdio kao značajan čimbenik rizika za infekcije MVV. Naime, u našem istraživanju se pokazalo da najveću šansu za infekciju imaju ovce koje se drže kombinirano, odnosno pašno i stajski. Nešto manju vjerojatnost da budu seropozitivne imale su ovce držane isključivo pašno, dok su ovce držane samo u staji imale statistički značajno najmanju šansu za infekciju te, u ovom istraživanju, u tako držanih životinja nismo dokazali

jedinke inficirane MVV. Kako bi razumjeli ovu raspodjelu, moramo razumjeti i sam oblik stočarstva na područjima gdje je provedeno ovo istraživanje. Stočari koji ovce drže kombiniranim načinom svoju stoku na ispašu vode na neograđene, javno dostupne pašnjake te može doći do izravnog dodira između ovaca iz različitih stada. Kako navode KALOGIANNI i sur. (2020.), ispaša na zajedničkim pašnjacima povećava šanse za infekcijom. Nadalje, takva stada se nakon ispaše zatvaraju u staje koje su često prepunjene, u kojima dolazi do velike vjerojatnosti za horizontalni prijenosa MVV-a, pogotovo tijekom zimskog razdoblja, kada je izlazak na pašu smanjen ili nepostojan (HOUWERS i MOLEN, 1987.; DE LA CONCHA-BERMEJILLO, 1997.). U drugu ruku, pašno držana stada u velikom postotku borave na ograđenim pašnjacima, koji ipak ne jamči nemogućnost izravnog dodira sa životinjama iz drugih stada čime se vjerojatnost infekcija nešto smanjuje u odnosu na prethodno opisanu skupinu, ali ne isključuje. S druge strane, boravak na pašnjacima isključuje rizik horizontalnog prijenosa naglašenog tijekom pretrpavanja u stajama što odgovara nešto manjoj seroprevalenciji. Gledajući te činjenice, potvrda da je u pašno držanim stadima seroprevalencija MVV-a manja nego u onim držanim kombinirano, a u obje skupine značajno viša od seroprevalencije u stadima držanim stajski, je lako objašnjiva. Naposljetku, stada držana isključivo stajski u ovom istraživanju nisu imala niti jednu pozitivnu životinju. To proizlazi iz činjenice da su takva stada uglavnom malena u pogledu broja životinja (u našem istraživanju su bila dva takva stada, jedno sa 15 životinja, a drugo sa 16) te se u njih ne uvode nikakve nove životinje, što PETERHANS i sur. (2004.) u svom istraživanju klasificiraju kao značajan čimbenik rizika u prijenosu ove bolesti. Ovakve populacije također nisu izložene izravnom dodiru sa životinjama iz drugih stada te je izostanak infekcija u njima očekivan.

U ovom istraživanju, osam ovaca inficiranih sa MVV-om je pokazalo znakove poremećaja respiratornog sustava, odnosno kašalj i iscjedak iz nosa. To znači da je 8% (8/100) inficiranih jedinki pokazivalo kliničke znakove. Ovaj podatak se uveliko razlikuje od dosadašnjih istraživanja, gdje navode da se klinički znakovi pojavljuju u 25 – 30% inficiranih jedinki (CHRISTODOULOPOULOS, 2006.). Međutim, u razmatranju ovih rezultata treba uzeti u obzir da su uzorkovane ovce samo u kratkom razdoblju bile dostupne inspekciji veterinaru, tijekom uzorkovanja za naredene mjere, te da je većina podataka dobivena prikupljanjem anamneze od vlasnika. Nastavno, treba uzeti u obzir da su vlasnici skloni prešućivanju podataka o uočenim kliničkim znakovima zbog nerijetkog samostalnog ilegalnog liječenja životinja o čemu ne žele informirati veterinaru. Izostanak mastitisa, koji je drugi najčešći simptom MV-a (KALOGIANNI i sur., 2020.), nije u skladu s uobičajenom kliničkom manifestacijom MV i ustanovljenom visokom seroprevalencijom. Ovo je također u skladu s

ranije istaknutom mogućnošću zatajivanja podataka o oboljenju životinja od strane vlasnika iz prije navedenih razloga. Stoga je potrebno provesti dodatna istraživanja, u kojem bi se prvenstveno fokusirali na dokaz infekcija MVV kroz dulje vrijeme te po mogućnosti pretraživanje oboljelih životinja kako bi objektivno ustanovili povezanost oboljenja i infekcija ovim uzročnikom. Međutim, čak i u ovom istraživanju, uz sva ograničenja, potvrđeno je da ovce s respiratornim kliničkim znakovima imaju 4,63 puta veću vjerojatnost biti inficirane MVV u odnosu na klinički zdrave što može biti smjernica da se sumnja na inficiranost stada može postaviti i uočavanjem respiratornih kliničkih znakova u pojedinim stadima.

Prema našem istraživanju, dob je značajno utjecala na seroprevalenciju infekcija MVV. Dokazano je da se sa povećanjem dobi povećava i vjerojatnost infekcije ovaca. Međutim, proučavajući rezultate detaljnije, dokazano je da najveći postotak pozitivnih jedinki se nalazi u dobnoj kategoriji od sedam do osam godina, sa seroprevalencijom od 66,67% (12/18) unutar te skupine. Isti postotak inficiranih je imala i dobna skupina od 11 do 12 godina, međutim tu ubrajamo samo tri ovce, što ne čini statistički značajnu skupinu. U istraživanju koje su provodili LIPECKA i sur. (2006.) se pokazalo da najveću seroprevalenciju MVV-a ima skupina životinja od tri do pet godina, te da nakon toga seroprevalencija opada. Međutim, navedeno istraživanje je potvrdilo manju sveukupnu seroprevalenciju u svim dobnim skupinama te je u ukupnoj populaciji iznosila 17,3% u odnosu na 31,35% potvrđenu ovim istraživanjem. Jedina iznimka je bila dobna skupina do godine dana, gdje su u navedenom istraživanju dokazali seroprevalenciju od 6% dok u ovom istraživanju nije potvrđena niti jedna pozitivna životinja u toj kategoriji. KEEN i sur. (1997.) su u svom istraživanju najveću seroprevalenciju dokazali u ovaca u dobi od šest godina i više (73,6%). Ti rezultati su nešto sličniji rezultatima ovog istraživanja. Međutim, isto tako navode kako dolazi do velikog porasta seroprevalencije u dobnoj kategoriji od tri do četiri godine (63,6 – 62,6%), dok u našem istraživanju u toj skupini seroprevalencija iznosi 25,71%, a najveći porast je u nešto starijih životinja. Objašnjenje ovih razlika može biti što su u navedenom istraživanju, pretraživanjem obuhvaćene pretežito mlađe ovce. U oba navedena te u našem istraživanju, potvrdio se porast broja seropozitivnih jedinki s povećanjem dobi, do određenog platoa, koji je u našem slučaju bio od 7 do 8 godina. Međutim, zanimljivo je da niti jedna životinja nije bila pozitivna u dobi do godine dana, obzirom da nam je poznato da je infekcija preko kolostruma najčešći oblik širenja bolesti. Ovo otvara pitanje većeg značaja horizontalnog prijenosa u našim epizootiološkim prilikama, što je zasigurno potrebno dodatno istražiti. Drugo objašnjenje može biti što do serokonverzije uobičajeno dolazi za četiri do pet tjedana nakon infekcije, ali moguće je da prođe i dulje vremena do njene potvrde (HOUWERS i VAN DER MOLEN, 1987.). Ta činjenica objašnjava smanjenu seroprevalenciju

u mlađim dobnim kategorijama te polagano povećanje do starijih. Nadalje, povećanjem životne dobi životinje se također povećava izloženost uzročniku te raste vjerojatnost infekcije (KEEN i sur., 1997.). U drugu ruku, DAWSON (1980.) navodi da dob ovaca ne utječe izravno na prijemljivost, već da je utjecaj drugih čimbenika, kao što su bliski kontakt s inficiranim jedinkama te sisanje kolostruma zaražene ovce, značajni za seroprevalenciju infekcija i prevalenciju bolesti.

U našem istraživanju nismo dokazali poveznicu između veličine stada i seroprevalencije MVV, što je u suprotnosti s pojedinim istraživanjima koja navode da veličina stada ima utjecaj na seroprevalenciju ove bolesti. Prema istraživanju koje su proveli SHUAIB i sur. (2010.), stada s više od 70 životinja imala su statistički značajno višu seroprevalenciju infekcije MVV. Nadalje istraživanje koje provode ARSENAULT i sur. (2003.) navodi da je statistička šansa za infekciju veća u stadima s više od 575 jedinki. Iz toga, možemo zaključiti da utjecaj stada na seroprevalenciju MVV-a jest značajan samo za stada sa značajno većim brojem jedinki od ovih obuhvaćenih našim istraživanjem.

Činjenica da je utjecaj vodenih površina bio statistički značajan za seroprevalenciju MV je donekle iznenađujuća. Utjecaj vodenih površina i njihova blizina stadima se pratila kao dodatni čimbenik, značajan za mogućnost testiranja i praćenja primjerice bolesti Zapadnog Nila, pošto je za tu bolest bitan vektorski prijenos (KRAMER i sur., 2007.), a bez jasne poveznice s MV. Naime, dosadašnja istraživanja u vezi prijenosa Maedi-visna virusa se slažu da vektorski prijenos bolesti nije dokazan te da je jedina lentivirusna bolest koja se tako može prenositi infekcijska anemija kopitara (NARAYAN i CLEMENTS, 1989.; DE LA CONCHA-BERMEJILLO, 1997.; HOUWERS, 1990.).

Istraživanjem utjecaja vrsta vodene površine najbliže stadu, ustanovljeno je da životinje u stadima u blizini jezera i potoka imaju manju vjerojatnost za infekciju u odnosu na životinje u blizini rijeke. Ovaj rezultat treba uzeti s rezervom te smatramo da je u ovom istraživanju na ovaj dio statističke obrade značajan utjecaj mogla imati lokacija i status pojedinog stada koje je onda posredno rezultiralo ovakvim rezultatom. Naime, jedino selo u blizini potoka je Polača, dok su u blizini jezera Radašinovci i Banjevci, dok su sve ostale lokacije najbliže rijeci.

Epizootiološki možda je interesantniji dokaz da veći izgled za infekciju imaju životinje na lokacijama udaljenijim od vodenih površina na način da svakim povećanjem udaljenosti za kilometar, mogućnost prisutnosti seropozitivnih jedinki se povećala za 1,47 puta ($<0,0001$). Ovaj rezultat zasigurno ne podržava hipotezu da su vektori mogući prijenosnici bolesti, što i jest u skladu s dosadašnjim spoznajama. Međutim, potvrđeni utjecaj udaljenosti od vodenih površina, dokazom da je veća vjerojatnost infekcije u životinja koje su udaljenije od njih, može

biti u skladu s očito značajnim horizontalnim prijenosom. Naime, na većoj udaljenosti od vodenih površina životinje se napajaju na istim pojilištima, a takvo napajanje podrazumijeva povećanu vjerojatnost izravnog dodira kao i neizravnog preko kontaminiranih pojilišta što moguće olakšava prijenos uzročnika. U svakom slučaju, kako bi se objektivno odredio utjecaj vodenih površina, potrebno je načiniti opsežnije istraživanje te prikupiti i analizirati veći broj podataka o pojedinim stadima, kako bi se pronašla korelacija između pojedinih čimbenika rizika.

Sveukupni rezultati prikazanog istraživanja potvrđuju trostruki porast seroprevalencije infekcija MVV na području Zadarske županije u posljednjih devet godine. Seroprevalencija od 31,35%, te čak 57,14% zaraženih stada, naglašava potrebu žurnog uvođenja opsežnih mjera nadzora i suzbijanja ove izrazito gospodarski značajne bolesti ovaca. Ustanovljavanje lokacija sa značajno većom vjerojatnošću infekcija, kao i potvrđeni čimbenici rizika, poput kombiniranog ili pašnog načina držanja, utjecaja dobi i udaljenosti od vodenih površina, zasigurno pružaju dobru osnovu za optimalno usmjeravanje programa nadzora i suzbijanja MV u specifičnim epizootiološkim prilikama Zadarske županije. Važna smjernica za provođenje programa svakako može biti i dokaz značajno veće seroprevalencije u životinja s respiratornim kliničkim znakovima u odnosu na klinički zdrave, tako da nam respiratorna oboljenja mogu biti indikator za postavljanje sumnje na bolest.

Posredni dokaz većeg značaja horizontalnog prijenos od vertikalnog, koji se uobičajeno smatra najznačajnijim za MV, daje doprinos poznavanju epizootiologije ove bolesti na našim prostorima, ali i globalno. Navedeno naglašava potrebu nastavka istraživanja na većem uzorku kako bi dodatno potvrdili rezultate ovog istraživanja te proširili spoznaje o epizootiologiji MV.

6. ZAKLJUČCI

1. Seroprevalencija infekcija MVV na području Zadarske županije iznosi 31,35% i trostruko se povećala u posljednjih devet godina.
2. Kao čimbenik rizika potvrđen je način držanja životinja s većom vjerojatnošću infekcija u životinja držanih kombinirano, pašno i stajski, kao i pašno držanih u odnosu na stajski držane životinje.
3. Dokazano je da seroprevalencija raste s obzirom na dob, koja je značajan čimbenik rizika.
4. Značajno veća seroprevalencija infekcija MVV u životinja s respiratornim kliničkim znakovima u odnosu na zdrave ističe potrebu pretraživanja stada u slučaju pojave respiratornih oboljenja.
5. Potvrda utjecaja načina držanja, udaljenosti od vodenih površina i izostanak seropozitivnih životinja u dobi mlađoj od jedne godine ukazuje na veći značaj horizontalnog prijenosa uzročnika u odnosu na, prema opće prihvaćenim spoznajama značajniji, vertikalni prijenos putem kolostruma, što je svakako potrebno dodatno istražiti.
6. Dokazana visoka seroprevalencija te njen trostruki porast u posljednjih devet godina, uz dokaz još uvijek negativnih stada, naglašava potrebu za trenutnim uvođenjem programa sustavnog nadzora, praćenja i iskorjenjivanja ove gospodarski značajne bolesti prije nego to nepovoljne epizootiološke prilike i trendovi dodatno otežaju.

7. LITERATURA

1. ANGELOPOULOU, K., G. D. BRELLOU, I. VLEMMAS (2006): Detection of Maedi-Visna Virus in the Kidneys of Naturally Infected Sheep. *J. Comp. Path.* 134, 329–335.
2. ARSENAULT, J., P. DUBREUIL, C. GIRARDA, C. SIMARD, D. BÉLANGER (2003): Maedi-visna impact on productivity in Quebec sheep flocks. *Prev. Vet. Med.* 59, 125–137.
3. BLACKLAWS, B. A. (2012): Small ruminant lentiviruses: Immunopathogenesis of visna-maedi and caprine arthritis and encephalitis virus. *Comp. Immunol. Micro. Infect. Dis.* 35, 259–269.
4. BLACKLAWS, B. A., E. BERRIATUA, S. TORSTEINSDOTTIR, N. J. WATT, D. DE ANDRES, D. KLEIN, G. D. HARKISS (2004): Transmission of small ruminant lentiviruses. *Vet. Microbiol.* 101, 199–208.
5. BRELLOU, G. D., K. ANGELOPOULOU, T. POUTAHIDIS, I. VLEMMAS (2007): Detection of Maedi-Visna Virus in the Liver and Heart of Naturally Infected Sheep. *J. Comp. Path.* 136, 27–35.
6. BRODIE, S. J., K. A. MARCOM, L. D. PEARSON, B. C. ANDERSON, A. DE LA CONCHA-BERMEJILLO, J. A. ELLIS, J. C. DEMARTINI (1992): Effects of virus load in the pathogenesis of lentivirus-induced lymphoid interstitial pneumonia. *J. Infect. Dis.* 166, 531–541.
7. CHRISTODOULOPOULOS, G. (2006): Maedi-Visna: Clinical review and short reference on the disease status in Mediterranean countries. *Small Rum. Res.* 62, 47–53.
8. CUTLIP, R. C., H. D. LEHMKUHL, K. A. BROGDEN, J. M. SACKS (1986): Breed susceptibility to ovine progressive pneumonia (maedi/visna) virus. *Vet. Microbiol.* 12, 283–288.
9. DAWSON, M. (1980): Maedi/Visna: a review. *Vet. Rec.* 106, 212–216.
10. DE ANDRES, D., D. KLEIN, N. J. WATT, E. BERRIATUA, S. TORSTEINSDOTTIR, B. A. BLACKLAWS, G. D. HARKISS (2005): Diagnostic tests for small ruminant lentiviruses. *Vet. Microbiol.* 107, 49–62.
11. DE BOER, G. F., C. TERPSTRA, D. J. HOUWERS, J. HENDRIKS (1979): Studies in epidemiology of maedi/visna in sheep. *Res. Vet. Sci.* 26, 202–208.
12. DE LA CONCHA-BERMEJILLO, A. (1997): Maedi-Visna and ovine progressive pneumonia. *Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract.* 13, 13–33.
13. HAPIH (2024): Ovčarstvo, kozarstvo i male životinje – Godišnje izvješće za 2023. godinu. Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu, Osijek, Hrvatska.

14. JUSTE, R. A., M. VILLORIA, I. LEGINAGOIKOA, E. UGARTE, E. MINGUIJON (2020): Milk production losses in Latxa dairy sheep associated with small ruminant lentivirus infection. *Prev. Vet. Med.* 176, 104886.
15. HOFF-JORGENSEN, R. (1977): Slow virus infection with particular reference to maedi-visna and enzootic bovine leukaemia. *Vet. Sci. Commun.* 1, 251–263.
16. HOUWERS, D. J. (1990): Economic Importance, Epidemiology and Control. U: Maedi-Visna and related diseases. (Pétursson, G., R. Hoff-Jorgensen, Ur.), Kluwer Academic Publishers, Boston/Dordrecht/London, str. 83–119.
17. HOUWERS, D. J., E. J. VAN DER MOLEN (1987): A Five-Year Serological Study on Natural Transmission of Maedi-Visna Virus in a Flock of Sheep, Completed with Post Mortem Investigation. *J. Vet. Med. B* 34, 421–431.
18. KALOGIANNI, A. I., I. BOSSIS, L. V. EKATERINIADOU, A. I. GELASAKIS (2020): Etiology, Epizootiology and Control of Maedi-Visna in Dairy Sheep: A Review. *Animals*, 10, 616.
19. KEEN, J. E., L. L. HUNGERFORD, T. E. WITTUM, J. KWANG, E. T. LITLEDIKE (1997.): Risk factors for seroprevalence of ovine lentivirus in breeding ewe flocks in Nebraska, USA. *Prev. Vet. Med.* 30, 81–94.
20. KRAMER, L. D., J. LI, P. Y. SHI (2007): West Nile virus. *Lancet Neurol.* 6, 171 – 181.
21. LAGO, N., C. LÓPEZ, R. PANADERO, J. CIENFUEGOS, A. PATO, P. PRIETO, P. DÍAZ, N. MOURAZOS, G. FERNÁNDEZ (2012): Seroprevalence and risk factors associated with Visna/Maedi virus in semi-intensive lamp-producing flocks in northwest Spain. *Prev. Vet. Med.*, 103, 163–169.
22. LIPECKA C., J. KUŹMAK, A. JUNKUSZEW, B. KOZACZYŃSKA, T. M. GRUSZECKI (2006): The relationship between breed and age associated susceptibility/resistance of sheep infection with maedi-visna virus (MVV). *Arch. Tierz.* 49, 160–165.
23. MOSA, A. H., M. M. ZENAD, H. A. H. AL-JABORY, S. I. K. AL-ANAWA, M. N. HAMOOD (2022): A new approach for maedi visna virus infections: a review. *Chem. Environ. Sci. Arch.* 2, 1–11.
24. NARAYAN, O., J. E. CLEMENTS (1989): Biology and Pathogenesis of Lentiviruses. *J. Gen. Virol.* 70, 1617–1639.
25. PÁLSSON, P. A. (1990): Maedi-visna. History and Clinical Description. U: Maedi-Visna and related diseases. (Pétursson, G., R. Hoff-Jorgensen, Ur.), Kluwer Academic Publishers, Boston/Dordrecht/London, str. 3–18.

26. PÉREZ, M., E. BIESCAS, X. DE ANDRÉS, I. LEGINAGOIKOA, E. SALAZAR, E. BERRIATUA, R. REINA, R. BOLEA, D. DE ANDRÉS, R. A. JUSTE, J. CANCER, J. GRACIA, B. AMORENA, J. J. BADIOLA, L. LUJÁN (2010): Visna/Maedi virus serology in sheep: survey, risk factors and implementation of a successful control programme in Aragón (Spain). *Vet. J.* 186, 221–225.
27. PÉREZ, M., E. BIESCAS, R. REINA, I. GLARIA, B. MARÍN, A. MARQUINA, L. LUJÁN (2015): Small Ruminant Lentivirus-Induced Arthritis: Clinicopathological Findings in Sheep Infected by a Highly Replicative SRLV B2 Genotype. *Vet. Path.* 52, 132–139.
28. PETERHANS, E., T. GREENLAND, J. BADIOLA, G. HARKISS, G. BERTONI, B. AMORENA, M. ELIASZEWICZ, R. A. JUSTE, R. KRAßNIG, J. P. LAFONT, P. LENIHAN, G. PÉTURSSON, G. PRITCHARD, J. THORLEY, C. VITU, J. F. MORNEIX, M. PÉPIN (2004): Routes of transmission and consequences of small ruminant lentiviruses (SRLVs) infection and eradication schemes. *Vet. Res.* 35, 257–274.
29. R CORE TEAM (2024): R - A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>
30. SCHALLER P., H. R. VOGT, M. STRASSER, P. F. NETTLETON, E. PETERHANS, R. ZANONI (2000): Seroprevalence of maedi-visna and border disease in Switzerland. *Schweizer Archiv fur Tierheilkunde* 142, 145–153.
31. SEYOUM, Z., B. MOLALEGNE, T. MEKONEN, G. ESAYAS (2011): Evaluation of Control Program of Maedi-Visna by Foster Feeding with Cow Colostrum and Other Measures. *Glob. Vet.* 6, 91–96.
32. SHUAIB, M., C. GREEN, M. RASHID, G. DUIZER, T. L. WHITING (2010): Herd risk factors associated with sero-prevalence of Maedi-Visna in the Manitoba sheep population. *Can. Vet. J.* 51, 385–390.
33. SIGURDSSON, B. (1954): Maedi, slow progressive pneumonia of sheep: an epizootiological and pathologic study. *Br. Vet.* 110, 255–270.
34. SIHVONEN, L. (1980): Studies on transmission of maedi virus to lambs. *Acta. Vet. Scand.* 21, 689–698.
35. STRAUB, O. C. (2004): Maedi-Visna virus infection in sheep. History and present knowledge. *Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis.* 27, 1–5.
36. TIBCO Software Inc. (2020): Statistica version 14, Palo Alto, CA, USA. <http://tibco.com>
37. VIDIĆ, Z. (2015): Utvrđivanje infekcije Maedi-visna virusom u ovaca na području Dalmacije. Doktorski rad, Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet, Zagreb, Hrvatska.

38. WHITE, S. N., D. P. KNOWLES (2013): Expanding Possibilities for Intervention against Small Ruminant Lentiviruses through Genetic Marker-Assisted Selective Breeding. *Viruses* 5, 1466–1499.

8. SAŽETAK

Seroprevalencija infekcija Maedi-visna virusom u ovaca u Zadarskoj županiji

Branimir Šuto

Maedi-visna je kronična, kontagiozna, virusna bolest koja zahvaća primarno ovce. Uzročnik je Maedi-visna virus, iz porodice *Retroviridae*, roda *Lentivirus*. Uzrokuje respiratorne poremećaje, mastitis, artritis te neurološke poremećaje. Bolest nije zoonoza, ali uzrokuje značajne gospodarske gubitke u zahvaćenim stadima, izravno zbog obolijevanja i uginuća životinja te prije svega neizravno značajnim negativnim utjecajem na kondiciju, proizvodnju mlijeka te posljedičnog slabljenja i ugibanja janjadi. Kako se Maedi-visna ne nadzire na području RH, tako nije redovito praćena niti na području Zadarske županije, u kojoj se nalazi najveći broj ovaca u cijeloj Republici Hrvatskoj. Stoga je cilj ovog istraživanja bio odrediti trenutnu seroprevalenciju bolesti te ustanoviti čimbenike rizika infekcije.

U tu svrhu smo prikupili 319 uzoraka seruma ovaca iz četrnaest različitih stada, koje smo potom pretražili koristeći komercijalni imunoenzimni test (ELISA). Potvrđeno je da je trenutna seroprevalencija 31,35%, što je trostruko povećanje u usporedbi sa zadnjim istraživanjem iz 2015. godine, kada je seroprevalencija u županiji bila 10,06%. Također smo ustanovili značajnu poveznicu između seroprevalencije MVV te načina držanja ovaca i dobi životinja, kao i udaljenosti od vodenih površina. Sve navedeno ukazuje na mogući veći značaj horizontalnog prijenosa uzročnika od do sada opisivanoga.

Ustanovljena visoka seroprevalencija s jasnim trendom porasta, uz istovremeni dokaz negativnih stada na istraživanom području, potvrđuje potrebu za trenutnim uvođenjem sustavnog nadzora i suzbijanja ove gospodarski značajne bolesti na području Zadarske županije kako epizootiološke prilike ne bi postale još nepovoljnije, a suzbijanje i eradikacija gotovo nemoguća.

Ključne riječi: Maedi-visna, seroprevalencija, čimbenici rizika, ovce, Zadarska županija

9. SUMMARY

Seroprevalence of Maedi-visna virus infection in sheep in Zadar County

Branimir Šuto

Maedi-visna is a chronic, contagious viral disease that mainly affects sheep. It is caused by the Maedi-visna virus from the Retroviridae family, genus Lentivirus. It causes respiratory symptoms, mastitis, arthritis and neurological symptoms. The disease is not a zoonosis, but it causes considerable economic losses in the affected flocks, directly through illness and death of the animals, but above all through the indirect effects on condition, milk production and the subsequent weakening and death of the lambs. As the Maedi-visna is not monitored in the Republic of Croatia, it is also not regularly monitored in Zadar County, which has the highest number of sheep in the entire Republic of Croatia. The aim of this study was therefore to investigate the current seroprevalence of the disease and to determine the risk factors for infection.

To this end, we collected 319 serum samples from sheep from 14 different flocks, which we then tested using a commercial enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The current seroprevalence was confirmed to be 31.35%, a threefold increase compared to the last survey in 2015, when the seroprevalence in the county was 10.06%. We also confirmed a significant correlation between the seroprevalence of MVV and the type of sheep farming as well as the age of the sheep and the distance to water bodies. All this suggests that horizontal transmission of the pathogen may play a greater role than previously described.

The detected high seroprevalence with a clear upward trend and the simultaneous detection of negative herds in the investigated area confirms the need for the immediate introduction of systematic surveillance and control of this economically important disease in the area of Zadar County, so that epidemiological conditions do not deteriorate further and control and eradication in this situation becomes almost impossible.

Key words: Maedi-visna, seroprevalence, risk factors, sheep, Zadar County

10. ŽIVOTOPIS

Rođen sam 27. siječnja 2000. u Zadru. Od svoje četvrte godine živim u Benkovcu te se tamo školujem do kraja srednje škole. Veterinarski fakultet upisujem 2018. nakon završetka srednje škole. Tokom ljeta 2021. počinjem sa volonterskim te studentskim radom u Veterinarskoj ambulanti Benkovac. Od tada, svake godine tamo odrađujem studentski posao, pomažući sa radom u ambulanti te ponajviše sa terenskim radom.