

ZAKLJUČNO POROČILO
O REZULTATIH OPRAVLJENEGA RAZISKOVALNEGA DELA
NA PROJEKTU V OKVIRU CILJNEGA RAZISKOVALNEGA
PROGRAMA (CRP) »KONKURENČNOST SLOVENIJE 2006 – 2013«

I. Predstavitev osnovnih podatkov raziskovalnega projekta

1. Naziv težišča v okviru CRP:

Povezovanje ukrepov za doseganje trajnostnega razvoja

2. Šifra projekta:

V4-0477

3. Naslov projekta:

Rezervoarji in vektorji, sistemi preprečevanja pojava in načini širjenja Coxiella burnetii pri živalih

3. Naslov projekta

3.1. Naslov projekta v slovenskem jeziku:

Rezervoarji in vektorji, sistemi preprečevanja pojava in načini širjenja Coxiella burnetii pri živalih

3.2. Naslov projekta v angleškem jeziku:

Reservoirs, vectors, prevention systems and transmission of Coxiella burnetii in animals

4. Ključne besede projekta

4.1. Ključne besede projekta v slovenskem jeziku:

Coxiella burnetii, Q mrzlica, domače živali, rezervoar, vektor

4.2. Ključne besede projekta v angleškem jeziku:

Coxiella burnetii, Q fever, domestic animals, wild animals, reservoir, vector

5. Naziv nosilne raziskovalne organizacije:

Univerza v Ljubljani (0406 Veterinarska fakulteta)

5.1. Seznam sodelujočih raziskovalnih organizacij (RO):

Univerza v Ljubljani- Medicinska fakulteta
Inštitut za varovanje zdravja Republike Slovenije

6. Sofinancer/sofinancerji:

MKGP

7. Šifra ter ime in priimek vodje projekta:

16214

Doc. dr. Gorazd Vengušt

Datum: 10.9.2010

Podpis vodje projekta:

Doc. dr. Gorazd Vengušt

Podpis in žig izvajalca:

Rektor: Prof. dr. Radovan Stanislav
Pejovnik
Po pooblastilu
Dekan: Prof. dr. Marjan Kosec

II. Vsebinska struktura zaključnega poročila o rezultatih raziskovalnega projekta v okviru CRP

1. Cilji projekta:

1.1. Ali so bili cilji projekta doseženi?

- a) v celoti
 b) delno
 c) ne

Če b) in c), je potrebna utemeljitev.

1.2. Ali so se cilji projekta med raziskavo spremenili?

- a) da
 b) ne

Če so se, je potrebna utemeljitev:

2. Vsebinsko poročilo o realizaciji predloženega programa dela¹:

UVOD

Mrzlica Q je tipična kozmopolitska zoonoza, razširjena po vsem svetu, ki jo povzroča bakterija *Coxiella burnetii*. Glavni rezervoarji so artropodi, farmske živali, male ljubiteljske vrste živali, ptice, divje živali in glodavci. Za mikroorganizem je značilna izjemna odpornost in dolgotrajna obstojnost tako v zunanjem okolju kot tudi v izločkih in proizvodih okuženih živali. Pri domačih živalih običajno ne povzroča kliničnih znakov, lahko pa se pri govedu odraža v obliki reprodukcijskih motenj, pri ovcah in kozah pa z zvriganjem. Okužene živali različno intenzivno in različno dolgo izločajo povzročitelja z obporodnimi produkti, urinom, mlekom in blatom. Pri ljudeh bolezen pogosto poteka v klinično nezaznavni obliki, lahko pa se kaže z akutnimi ali kroničnimi znamenji. Odstotek seropozitivnih reaktorjev, ki pri ljudeh zelo varira, je bil v največji meri ugotovljen pri ljudeh, ki prihajajo v stik z okuženimi živalmi ali njihovimi produkti. Med poklicno izpostavljenimi vročici Q so zlasti kmetje, delavci v klavnicah, veterinarji in osebe, ki se ukvarjajo s predelavo kože. Pri številnih izbruhih po svetu so ugotovili časovno povezanost z obdobjem kotitve, ko tovrstna tkiva in organi kontaminirajo okolico in se človek okuži preko aerosola, kar naj bi bila najpomembnejša pot prenosa okužbe za ljudi. O tem poročajo iz Velike Britanije, Francije, Italije, Nizozemske. Primer takega izbruha vročice Q smo imeli tudi v Sloveniji. Glede na posledice, ki jih mrzlica Q lahko povzroči pri ljudeh, je *C. burnetii* uvrščena tudi med biološke agense primerne za izdelavo biološkega orožja. Na splošno se zadnja leta okužba med farmskimi živalmi geografsko širi. Zaradi tega obstaja veliko tveganje pojava bolezni pri človeku.

Ob izbruhih bolezni je pogosto usmerjena pozornost le na zagotovitev zdravja živali. Vendar je za preprečitev širjenja povzročitelja v čredi in med čredami potrebno preprečiti raznašanje kužnega materiala, kjer imajo pomembno vlogo živalski stranski proizvodi. Poleg poginulih živali med živalske stranske proizvode prištevamo tudi gnoj, gnojevko, gnojnico, odplake in drugo, kar lahko predstavlja vir širjenja bolezni. Posebno problematično je širjenje bolezni, ki se prenaša iz živali na človeka. Takrat je pomen živalskih stranskih proizvodov še toliko večji.

Z veterinarsko sanitarnimi ukrepi poskušamo vzpostaviti zadovoljivo stopnjo biovarnosti. Poleg ustrezne tehnologije reje živali je potrebno zagotoviti zanesljivi nadzor nad preprečevanjem širjenja kužnih bolezni. Pri tem ne moremo mimo ukrepov razkuževanja. Uspešnost razkužbe objektov in opreme je v veliki meri odvisna od količine organske snovi. Organska snov v veliki meri zmanjša učinkovitost biocidov, ki se uporabljajo za razkuževanje. Tehnologija reje živali traja razmeroma dolgo (več mesecev) in med samo rejo se postopki čiščenja ne izvajajo, oziroma se izvaja le grobo čiščenje. Tako imamo opraviti z zasušeno nečistočo, ki je dobro varovalo mikroorganizmov pred razkužili in obenem zmanjšuje učinkovitost razkužil.

Ob pripravi projekta je bilo v Sloveniji zelo malo podatkov o razširjenosti bolezni, virih in možnih prenašalcih povzročitelja. Prav zaradi pomankanja omenjenih podatkov je bil cilj projekta raziskati pojavnost *C. burnetii* pri domačih in divjih živalih, ugotoviti in določiti rezervoarje in vektorje, sisteme preprečevanja pojava in načine širjenja *C. burnetii* pri artropodih, farmskih živalih, pticah, divjih živalih in glodavcih na različnih področjih po Sloveniji. Hkrati smo v projektu skušali ugotoviti povezavo med izbruhi mrzlice Q v

¹ Potrebno je napisati vsebinsko raziskovalno poročilo, kjer mora biti na kratko predstavljen program dela z raziskovalno hipotezo in metodološko-teoretičen opis raziskovanja pri njenem preverjanju ali zavračanju vključno s pridobljenimi rezultati projekta.

Sloveniji ter spremembami klimatskih pogojev, ki bi lahko vplivali na njeno pojavnost in širjenje.

Program projekta smo izvajali v skladu z načrtovanim programom. Pri raziskavi in izdelavi poročila so sodelovali raziskovalci in tehnično osebje iz Veterinarske fakultete, Medicinske fakultete, Inštituta za varovanje zdravja RS, Veterinarske uprave Republike Slovenije in Agencija Republike Slovenije za okolje. V veliko pomoč nam je bilo tudi osebje Prirodoslovnega muzeja Slovenije in Nimroda d.o.o. ter številni lovci.

VSEBINA

1. Analiza podatkov med leti 2008 in 2009

Kot je bilo načrtovano smo v okviru projekta zbrali, uredili in analizirali dosegljive podatke, ki izhajajo iz uvedenega programa spremljanja pojavnosti protiteles v Sloveniji proti *C. burnetii*. Gre za naključno zbrane vzorce govedi in drobnice z različnih lokacij po Sloveniji. Lokacije zbrane v letu 2008 se ne ponavljajo v letu 2009. Tako vzorčenje ima sicer prednost pri ugotavljanju razširjenosti povzročitelja, ne dobimo pa informacij o širitvi oz. perzistiranju povzročitelja na določenem področju.

V letu 2008 je bilo na prisotnost protiteles proti *C. burnetii* pregledanih 4817 vzorcev drobnice, od tega je bilo pozitivnih 53 vzorcev in 1374 vzorcev govedi s 59 pozitivnimi vzorci. V letu 2009 je bilo pregledanih 4330 vzorcev drobnice, od tega je bilo pozitivnih 153 vzorcev in 496 vzorcev govedi s 29 pozitivnimi vzorci. Pozitivni vzorci so razpršeni po celi Sloveniji, ni pa opaženo povečano pojavljanje v določenih regijah.

2. Nadzor nad prisotnostjo *C. burnetii* v gnoju in drugih medijih

Za sanacijo je potrebno upoštevati tudi temperaturno obstojnost povzročitelja, saj prenese temperaturno obdelavo do 60°C. Nevarnost za širjenje bakterije predstavlja predvsem gnoj, saj po navedbah avtorjev lahko preživi v gnoju tudi več kot 10 mesecev.

Za izvajanje samih ukrepov preprečevanja širjenja je potrebno dokazovanje povzročitelja boleznih v naravi. Zaradi lastnosti povzročitelja ni možno uporabiti običajnih mikrobioloških gojiščnih preiskav, kar zelo oteži dokazovanje povzročitelja. Tako lahko dokazujemo prisotnost povzročitelja v okolju z dokazovanjem DNK in sicer s PCR metodo. Omenjena metoda ima manjšo pomanjkljivost, saj nam rezultat ne pove, ali je povzročitelj, ki je sposoben infekcije prisoten, ali pa je prisotna samo njegova DNK v odvzetem vzorcu. Pri periodičnih vzorcih, ki smo jih odzimali iz gnoja drobnice, ki je bila dokazano pozitivna na prisotnost *C. burnetii*, smo ugotavljali prisotnost DNK preko 15 mesecev, kar je bistveno več, kot pa navajajo avtorji drugih raziskovalnih skupin.

Da bi ugotovili obstojnost DNK v gnoju, smo naredili laboratorijski poskus na modelu *Salmonelle typhimurium*. Kot metodo določanja infektivnosti *S. typhimurium*, se je uporabilo gojiščno preiskavo, ki smo jo primerjali s PCR metodo. Testni mikroorganizem smo izpostavili delovanju razkužila, ki naj bi pokončal testni mikroorganizem, vendar naj nebi uničil njegove DNK. V ta namen se je uporabilo 5% formalin. Ugotovili smo, da po uporabi formalina z gojiščno preiskavo kulture testnega mikroorganizma *S. typhimurium* na gojišču ne rastejo. Vendar pa smo lahko s PCR metodo določili prisotnost njene DNK v razkužilni raztopini. Nato smo spremljali, koliko časa je DNK obstojna. Ugotovili smo, da po 21 dneh njene prisotnosti ne zaznamo več. V drugi fazi laboratorijskega poskusa smo raziskavo usmerili v ugotavljanje obstojnosti DNK v postopkih kompostiranja. V ta namen smo uporabili nadzorovane pogoje kompostiranja v bioreaktorju v izenačenih

pogojih. Pri tem je bil uporabljen enak substrat, izenačeno je bilo tudi prezračevanje in temperatura. Substrat smo predhodno natopili s kulturo *S. typhimurium*. Ugotovili smo, da po treh dneh testnega mikroorganizma z gojiščno preiskavo nismo mogli dokazati, njegovo DNK pa smo ugotavljali še 21 dni.

Rezultati testa v laboratorijskih pogojih na modelu *S. typhimurium* so pokazali, da ima metoda PCR diagnostični pomen za določanje prisotnosti *C. brunetti*. Ker je veriga DNK sestavljena iz enakih gradnikov, je lahko PCR metoda določanja prisotnosti specifičnih DNK pomembno diagnostično orodje različnih mikroorganizmov, ki jih z drugimi diagnostičnimi metodami ne moremo ugotoviti. Pri izvajanju sanacijskih ukrepov v primeru *C. brunetti* dobi PCR metoda pomen, ko od zadnje prisotnosti povzročitelja v odvzetem vzorcu, vzorčimo po 21 dnevu oziroma, dokler ni rezultat negativen. Šele takrat lahko potrdimo uspešnost izvedbe sanacijskih ukrepov. Ugotovitev je pomagala pri nadaljnjem ovrednotenju postopkov kompostiranja ob prisotnosti *C. brunetti* ob različnih pogojih. Tako bomo lahko določili čas preživetja povzročitelja pri različnih postopkih higienizacije gnoja, kar je pomembno pri zajezitvi in izkoreninjanju zoonotične bolezni, kamor uvrščamo Q mrzlico. Ugotovitev ima praktični pomen tudi za določanje drugih zoonotičnih povzročiteljev, saj zanesljivost vsake opravljene sanitacije preverimo z odvzemanjem brisov ali vzorcev na 21 dni, če ni mogoče povzročitelja dokazovati z drugimi diagnostičnimi preiskavami.

V nadaljevanju so bili opravljeni postopki kompostiranja v običajnih pogojih in ob dodajanju nekaterih dodatkov, da bi povečali zanesljivost higienizacijskih postopkov gnoja ob prisotnosti *C. brunetti*. Namen ugotovitve je bil preučiti pomen sanacijskih ukrepov ob izbruhu Q mrzlice. Pri dekontaminaciji živinorejskega obrata predstavlja gnoj pomemben rezervoar kužnine, ki predstavlja nevarnost za širjenje patogenih mikroorganizmov. Ob izbruhih zoonoz pa predstavlja razkužba gnoja eno od problematičnih faz sanacijskih postopkov. V poskusu smo preskusili pogosto uporabljeno pakiranje gnoja, ter uporabili kemično obdelavo gnoja. Uspešnost posameznih postopkov smo spremljali s tedenskim vzorčevanjem gnoja na več mestih. Rezultati enoletnega obdobja so pokazali, da pakiranje gnoja ni zanesljiv postopek dekontaminacije in da še vedno obstaja možnost prenosa kužnega materiala tudi po 15 mesecih. Obdobje 15 mesecev bi bilo nekako najdaljše obdobje, ko bi glede na tehnologijo reje, bilo smiselno gnoj od prejšnje sezone uporabiti v naslednji sezoni brez dodajanja dodatkov.

Tako od znanih postopkov razkuževanja gnoja ostaja uporaba kemične dezinfekcije gnoja. Za zanesljivost delovanja biocida so na voljo razkužila iz skupine kvarternih amonijevih spojin in aldehydov. Kvarterne amonijeve spojine imajo bistveno pomanjkljivost, saj jim prisotnost nečistoč bistveno zmanjša učinkovitost delovanja in s tem je vprašljiva uspešnost razkužbe. Tako ostajajo kot zanesljiva skupina za razkuževanje biocidi iz skupine aldehydov, kjer je po lastnostih in ceni najustreznejši izbor formalin.

Povzročitelj se med drugim širi neposredno tudi z zauživanjem kužnega materiala in vdihovanjem okuženega prahu. Poskusi so pokazali, da se z vdihovanjem okuženega zraka (aerosol, prah) lahko okužba prenese tudi iz oddaljenosti do enega kilometra. Posebno pozornost smo namenili prenašanju s prahom. V ta namen smo uporabili poseben vzorčevalnik zraka, ki preko medija za lovljenje (tekoče gojišče) prečrpa zelo velike količine zraka. Sam medij z eventualnimi povzročitelji pa je kot vzorec primeren za delo tako z molekularnimi, imunološkimi kot tudi klasičnimi mikrobiološkimi metodami. Predvsem nas je zanimalo, ali je po izvedenem sanacijskem programu povzročitelj še prisoten. Pri gnoju smo celotno količino premetavali s traktorskim nakladalcem in v smeri dominantnih vetrov vzorčevali vzorce zraka. Vzoredno se je na več mestih odvzelo vzorce gnoja. S PCR metodo ni ugotovljenih prisotnosti DNK povzročitelja. Prav tako so bili odvzeti vzorci zraka v skladiščnih prostorih in vzrejnem objektu, kjer prav tako

povzročiteljevo DNK ne ugotavljamo. Tudi v vzorcih iztrebkov podgan in prostorov, kjer se podgane najraje zadržujejo ni ugotoviti povzročitelja. Glede na klinično sliko zdravstvenega stanja živali in ugotovljenega stanja odvzetih vzorcev iz zraka objektov, vzorcev gnoja in iztrebkov glodavcev lahko zaključimo, da prisotnost povzročitelja po sanaciji ne moremo dokazati.

3. Epidemiološki vzorec in analiza pojavnosti vročice Q pri ljudeh v Sloveniji

Vročico Q je v skladu z Zakonom o nalezljivih boleznih (Ur.l. RS št.33/2006) obvezno prijaviti. Število prijavljenih primerov je v Sloveniji razmeroma majhno, saj je letno prijavljenih od 2 do 5 primerov bolezni. Izjema so leta 1991, 1992 in 2007, ko je bil prijavljen po en izbruh vročice Q s 74, 47 oziroma 93 zbolelimi (Tabela 1).

V sklopu projekta smo na osnovi identificiranih in potrjenih primerov vročice Q pri živalih, kontaktirali lastnike kmetij, kjer so bile reje omenjenih živali. Namen je bil, da opravimo epidemiološko poizvedovanje pri vseh, ki so bili v času raziskave še v kontaktu z obolelimi živalmi. Po pridobitvi podatkov o lokaciji okuženih rej, smo se podali na teren in s pomočjo vprašalnika in terenskega ogleda opravili epidemiološko poizvedovanje/preučevanje pri ljudeh in v njihovi okolici. Anketirali smo vse osebe, ki so prebivale oziroma delale na posamezni okuženi reji (rejci in njihovi družinski člani) in, ki bi lahko v zadnjih mesecih prišli v stik s potrjeno okuženimi rejnimi živalmi (govedo, ovce) in njihovimi produkti. Izvedli smo anketiranje s standardiziranimi vprašanji in opravili terenski ogled okoliščin reje/domačije s ciljem pridobivanja podatkov in informacij o epidemiološkem vzorcu morebitne okužbe pri ljudeh. Osredotočili smo se na epidemiološko poizvedovanje o ključnih prametih za ugotavljanje potencialnih virov okužbe, poti širjenja, vstopnih vrat, dovzetnosti izpostavljenih oseb ter njihovega zdravstvenega stanja. Kot dodano vrednost projekta smo odgovorili še na njihova vprašanja glede prenosa okužbe in tveganja za okužbo ter posredovali napotke glede varovanja pred okužbo.

Potek anketiranja

Vsakemu anketirancu smo razložili namen obiska, podali nekaj podatkov o vročici Q in nevarnosti obolenja pri človeku ter jih podučili o osnovnih postopkih zaščite pri delu z okuženimi živalmi. Vsak anketiranec je prejel tudi pisni material z osnovnimi informacijami. Anketirali smo vse člane gospodinjstva, ki so imeli kakršenkoli dostop do živali in njihovih produktov oz. opravljali potrebno delo pri oskrbi le-teh.

Pred samim začetkom anketiranja smo oblikovali vprašalnik, ki je bil vodilo za pogovor z anketiranci in je vseboval naslednje glavne sklope:

a)splošni podatki o anketirancu:

spol, starost, delo, ki ga opravlja

b)epidemiološki podatki:

vrsta živali, kako pogosto in kje stik s temi živalmi, število živali in kotitev, pogini, klopi pri živalih in eventualna druga obolenja pri živalih. Stik z drugimi vrstami živali v preteklosti, s katerimi in možna obolenja le-teh(zgodovina)

c)vrsta stika z živaljo, izločki in izdelki:

zajema direktne ali indirektne kontakte oz. delo z živino, kontakte s posteljico ob kotitvi, iztrebki živali, striženje parkljev, volne in obdelava kože, ter pitje surovega mleka, uživanje izdelkov iz surovega mleka, izdelava sira.

d)higienski ukrepi:

mesto odlaganja iztrebkov, stelje, posteljice, volne in kože, čiščenje orodja in higiena rok,

osebna varovalna oprema, kakšna in kje oz. pri kakšni vrsti dela je uporabljena.

e) klinični podatki:

klinični podatki o zdravstvenem stanju anketirancev in morebiten obisk zdravnika v zadnjih 6 mesecih in v preteklosti.

Ob zaključku smo anketirance zaprosili za privolitev za odvzem krvi za poglobljene laboratorijske preiskave.

Podatke smo obdelali s statističnim orodjem Epiinfo.

Za izvedbo epidemiološke raziskave smo kontaktirali 11 naslovov kmetij po telefonu ter se dogovorili za obisk pri devetih naslovnih.

Epidemiološko poizvedovanje pri ljudeh in v okolici smo izvedli na naslednjih lokacijah:

Soča, Kobarid, Mislinja, Maribor, Videm ob Ščavnici, Moščanci, Ljutomer, Žirovnica, Senožeče (Slika 1).

a) Splošni podatki

Kontaktirali smo 11 naslovov, na enem so zavrnilo sodelovanje, pri drugem ni bilo možno izvesti anketiranja zaradi smrti gospodarja. Pri enem lastniku pa smo, na njegovo željo, opravili anketiranje po telefonu. Opravili smo pogovore z 18 dosegljivimi osebami, ki so bile ali so člani gospodinjstev na omenjenih naslovih in v vsakodnevnih potencialnih stikih z okuženimi živalmi. Med anketiranimi je bilo 10 moških in 8 žensk. Več kot polovica anketirancev je starejših od 50 let (Slika 2).

Na vseh kmetijah skupaj 11 oseb opravlja zgolj delo kmeta, ostali pa imajo druge glavne zadolžitve oziroma zaposlitve (Slika 3).

b) Epidemiološki podatki

b.1.) Osnovni epidemiološki podatki so prikazani po devetih posameznih kmetijah in so zaobjeli podatke, vezane na vrsto živali, pri katerih je bila ugotovljena vročica Q, na število živali, kotitve na leto, pogine in morebitne druge bolezni živali.

Glede števila živali na kmetijo je velika raznolikost, saj imajo kmetije od 2 do 120 glav živine. Največ jih ima med 25 in 40 glav živine, po številu glav živali prevladuje govedo. Temu ustrezno je tudi število kotitev na leto in se giblje v razmiku med 1 in 50. Na 5 kmetijah navajajo pogine živali, vendar jih ne povezujejo časovno z datumom odkritja vročice Q pri ostalih živalih oziroma ne vedo za konkreten vzrok pogina. Ne opisujejo oziroma poznajo drugih obolenj pri živalih.

Na vprašanja o prisotnosti klopotov pri živalih na posamezni kmetiji je odgovorila več kot tretjina rejcev pritrdilno, 11% pa za prisesane klope ne vedo.

b.2.) Epidemiološki podatki, vezani na osebe-anketirance kažejo, da so vsi anketiranci imeli kontakt z obolelo živino doma na svoji kmetiji, od tega ima polovica vsakodnevno delo in kontakt z živino, ostali občasno, ena oseba pomaga samo pri prevozih materialov in gnoja. V preteklosti je imelo kontakt in delo z drugo živino 6 oseb, vendar niso navedli, da bi imela živina v takratnem času kakršnakoli obolenja.

c) Vrsta stika

Direkten stik z živino ima več kot 80% anketirancev (15 oseb). Nihče ne obdeluje kože, ki po pravilu ostane v klavnici. Stike z iztrebki živali ima 10 anketirancev, trije strižejo

parklje. Stike s posteljico ima 8 oseb, pri ostalih kotijo živali same na planini ali pri kotitvi sodeluje veterinar, ki poskrbi za pravilno odstranitev posteljice. Manjše število anketirancev (2 osebi) zaužije surovo mleko ali izdelke iz surovega mleka. Malo je tudi domače pridelave svežega sira (20% anketirancev). Prav tako manjše število anketirancev (4 osebe) sodeluje ali izvaja striženje volne in striženje parkljev (3 osebe).

d) Higieniski ukrepi

d.1.) Pri odlaganju iztrebkov in stelje na posameznih kmetijah prevladuje mesto odlaganja gnojna jama ali pa ostanejo iztrebki na pašnikih, kjer živina večino leta prebiva. Prav tako se posteljica po kotitvi v večini primerov odlaga v gnojno jamo ali ostane na pašniku, v enem primeru jo zakopljejo kar med sadno drevje in v enem zanjo poskrbi veterinar.

d.2.) Pri opredelitvi higienskih ukrepov, ki jih izvajajo anketiranci smo se osredotočili na čiščenje orodja in higieno rok ter uporabo zaščitne opreme. Izjemno težko je bilo pridobiti konkretne odgovore na vprašanja. V večini primerov orodja po uporabi pri delu z živalmi ne čistijo ali razkužujejo. Navajajo sicer umivanje rok z milom in vodo. Dezinfekcijo omenjajo le po posameznih posebnih opravilih pri živalih npr. pri kotenju.

Večina jih sicer navaja uporabo zaščitne opreme (14 oseb), vendar ob naštevanju podrobnosti te varovalne opreme ugotovimo, da mislijo na obleko, ki ni povsem namenska za opravila v zvezi z rejo živali in da je ta uporaba le delna in nesistematična. Tako nihče ne uporablja zaščitnih očal, manj kot 40% anketirancev uporablja škornje in tudi manj kot 40% namenski kombinezon/zaščitni plašč ali predpasnik. Le dva anketiranca uporabljata rokavice. Glede shranjevanja zaščitne opreme ugotovimo, da le ta nima stalnega mesta niti ni vedno v bližini kjer poteka reja.

e) Klinični podatki

Anketirance smo povprašali o zdravstvenih težavah v zadnjih 6 mesecih in sicer pojavnost naslednjih znakov in simptomov, značilnih za vročico Q:

povišana telesna temperatura, bolečine v prsih, bolečine v mišicah in sklepih, pljučnica, slabost, glavobol, mrzlica, prekomerno potenje, izguba telesne teže, kašelj, bruhanje. Spraševali smo tudi po izpuščajih po koži ter o morebitnih poškodbah in ranah na rokah.

Pri večini vprašanih smo na vse postavke dobili negativne odgovore, pri dveh osebah sta bila navedena simptoma bolečine v prsih in kašlja, vendar imata obe osebi v preteklosti diagnosticirano astmatično obolenje. Nekaj anketirancev navaja pogoste rane/odrgnine na rokah, ki so seveda povezane z vsakodnevnim delom, vendar brez drugih zdravstvenih posebnosti. Tudi hospitalizacij in obiska zdravnika zaradi vprašanih simptomov v zadnjih 6 mesecih ne navajajo, razen že omenjena dva anketiranca zaradi astmatičnih težav oziroma KOPB. Ena oseba je iskala zdravniško pomoč zaradi nevrovegetativnih težav in stresa.

Anketiranim osebam smo ponudili možnost odvzema krvi za ugotovitev morebitne akutne ali kronične okužbe s *C. burnetii*. V teku raziskave je le ena oseba privolila v odvzem za poglobljeno laboratorijsko diagnostiko. Dogovorili smo se z izbranim zdravnikom za odvzem v lokalnem zdravstvenem domu in z Inštitutom za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete v Ljubljani za diagnostiko. Laboratorijski izvid je pokazal, da ne gre za akutno bolezen. Prav tako pa so mejne vrednosti titrov prenizke za potrditev kronične bolezni.

Rezultati epidemiološkega preučevanja kažejo, da so imele osebe tvegano izpostavljenost pozitivnim živalim na kmetijah in da niso pravilno niti sistematično uporabljale zaščitne

opreme niti striktno izvajale higienskih ukrepov. Pri nobenem od anketiranih oseb na kmetijah z drobnico in/ali govedih z visokim deležem pozitivnih na vročico Q, ni bilo prisotnih značilnih bolezenskih znakov ali simptomov, ki bi jih lahko pripisali vročici Q. Žal pa je število oseb, ki smo jih zajeli v poizvedovanje premajhno, da bi lahko statistično ovrednotili zbrane podatke. Zaradi tega, ker ljudje niso privolili v odvzem krvi, tudi nismo mogli ugotavljati morebitne okužbe v preteklosti.

Raziskava je pokazala, da se osebe na okuženih rejah premalo zavedajo potrebe po higieni in pravilni uporabi zaščitne opreme in da so premalo pozorni na možnost okužbe pri svojem delu, saj številne raziskave v tujini kažejo na to, da predstavljajo vire okužbe tudi majhne farme.

V prihodnje bo v prvi vrsti potrebno zagotoviti dobro epidemiološko spremljanje bolezni pri ljudeh z doslednim prijavljanjem sporadičnih primerov z vseh ravni zdravstvenega varstva. Pomembno je tudi pravočasno zaznavanje izbruhov, da se bodo ugotovili epidemiološki vzorci okužbe in s poglobljenimi epidemiološkimi preiskavami pojasnili viri okužbe in poti širjenja okužbe. En sam primer okužbe pri živali lahko povzroči številne okužbe pri ljudeh. Pomembno je tudi nadaljnje poglobljeno sodelovanje veterinarske in zdravstvene stroke z izmenjavo informacij in pri izvajanju ukrepov za obvladovanje širjenja okužbe in preventivnih programov.

Vsekakor se odpirajo vprašanja glede zadovoljive diagnostike bolezni na primarni ravni, zdravstvenega varstva profesionalno pa tudi neprofesionalno izpostavljenih, presejanja oseb z večjim tveganjem za težjo klinično sliko, izločanja dajalcev krvi iz določenih ogroženih območij in še nekatera druga vprašanja, na vse to pa naša raziskava, prav zaradi prenizkega števila vključenih/preiskovanih oseb, ni mogla odgovoriti.

Izjemnega pomena je tudi osveščanje splošne javnosti in profesionalno ogroženih ljudi glede varovanja pred okužbo.

Upamo, da bo naša raziskava pripomogla k povečanemu zavedanju o profesionalnem in neprofesionalnem tveganju za okužbo s *C. burnetii*, saj nam periodični izbruhi vročice Q in tudi sporadični primeri vsekakor nakazujejo enega od pomembnih javno zdravstvenih problemov.

4. Vloga klimatskih razmer in praha na prenos povzročitelja Q mrzlice

Hitre spremembe klimatskih razmer v zadnjem obdobju imajo pomembno vlogo pri večanju izbruhov številnih zoonoz, tudi mrzlice Q. Cilj tega dela projekta je bil, s pomočjo podatkov pridobljenih ob izbruhu Q mrzlice na Vremščici, preučiti ali in kako vplivajo lokalni vremenski pogoji na možnost prenosa Q mrzlice. Študija se je osredotočila na tri vremenske faktorje: veter, padavine in temperaturo. Gre za tri najpomembnejše okoljske dejavnike pri prenosu Q mrzlice. Predhodno je bilo ugotovljeno, da so kontaminirani aerosoli nedvomno glavni mehanizem prenosa *C. burnetii* na človeka. Znano je, da se okužba z *C. burnetii* pojavi, ko so zato primerni pogoji v okolju. Taki pogoji so visoka temperatura, suha zemlja, zadostna hitrost ter smer vetra, ki omogoča, da se kontaminirani prašni delci dvignejo in jih lahko vdihnejo živali in ljudje v bližini. V suhih in prašnih pogojih okuženi lahko aerosol potuje z vetrom tudi več km. Ključno spremembo predstavlja prav dvig povprečne letne temperature, ki ima za posledico mile zime, spremembo zračne vlažnosti, pojavnost vetra, sušo, obilne lokalne padavine in poplave. Večje in hitre vremenske spremembe omogočajo osnovo za prostorsko in časovno pojavnost vektorjev bolezni in intenzivno širjenje bolezni in/ali povečano pogostnost na mestih, kjer jih še ni bilo. Ob zadnjem izbruhu bolezni v Sloveniji v letu 2007 smo v času projekta natančno preučili Center za sonaravno rekultiviranje Vremščica in okolico. Zelo verjetno je, da je velike izbruhe Q mrzlice pri ljudeh mogoče povezati z disperzijo vetra z

mest kjer so gojili okužene živali. Zadnji podatki v literaturi navajajo veliko večjo možnost kontaminacije z bakterijo, ki je posledica skupnega delovanja okoljskih dejavnikov kot pa direktnega kontakta z okuženo živaljo, uživanjem okuženega nepasteriziranega mleka ali kužnine, ki izvira od živali na porodu.

V sodelovanju z Agencijo Republike Slovenije za okolje in prostor smo zato spremljali vremenske pogoje in na osnovi večletnih meritev na lokaciji Škocjan te podatke s pomočjo ustreznega modela interpolirali na lokacijo izbruha Vremščica ($x = 62.800$ m, $y = 423.300$ m) ter opredelili pogoje, ki so vladali v času zadnjega izbruha mrzlice Q. Slovenija ni zelo vetrovna v primerjavi z zahodno Evropo. Na vetrne razmere vplivajo predvsem lega v zmernih geografskih širinah, razgibanost površja in Alpe. Nad Slovenijo v splošnem prevladujejo zahodni vetrovi. Zračni tok, večinoma valovi, zato se odklanjajo tudi proti severu in jugu. Smer in hitrost vetra oblikujejo tudi območja visokega in nizkega zračnega pritiska – zračni vrtinci, v katerih zrak kroži. Na vetrovne razmere vpliva tudi zemeljska površina, njena površinska razgibanost, ki je značilna za Slovenijo. Hribi in gorovja po eni strani ustvarjajo pregrado vetrovom, po drugi pa odklanjajo tok zraka, ki se zato prilagaja površju. Veter je močno odvisen tudi od višine nad tlemi. V gorskem svetu z višino v splošnem narašča in je podoben vetru v prostem ozračju, vendar oslabi v zavetrnih območjih in se okrepi na slemenih in gorskih grebenih (Agencija RS za okolje – Urad za meteorologijo, 2005. Pripravi: Renato Bertalanič). Prenos Q mrzlice s pomočjo aerosola poteka z inhalacijo kontaminiranega prahu, ki lahko izvira iz okužene kmetije ali prahu s površin brez ali s skromno vegetacijo v okolici kmetije. Prenos in posedanje obeh virov prahu je odvisen od hitrosti vetra in turbulenc, ki nastajajo tik nad tlemi. Gibanje vetra smo spremljali s pomočjo vetrnih rož, ki so bile izdelane z uporabo napovednega modela (model WAsP) v mesecih izbruha od aprila do julija v leta 2007 (Graf 3-9). Na bližnji lokaciji Škocjan smo preko arhiviranih podatkov meteorološke postaje Škocjan vremenske pogoje pridobili skozi vse mesece dve leti pred izbruhom (2005-2006) in v letu izbruha v (2007) (Tabela 2-3, Graf 1-9). Delež vetra je bil izračunan v % deleža smeri v sektorju $0-360^\circ$ po hitrostnih razredih (m/s). V času izbruha aprila 2007 je bila prevladujoča smer vetra severo-vzhodna v maju je sledila razpršenost z večinsko porazdelitvijo v sektorju v $30^\circ-210^\circ$ v glavni smeri jug, podobno tudi v juniju le, da je bila tokrat prevladujoča smer jug-jugozahod. V času jagnjitev (februar-april 2007) je prišlo do več statistično značilnih sprememb vremena in sicer: v februarju leta 2007 je bilo vreme izjemno mokro (Tabela 3, Graf 2) saj je padlo v povprečju $204,4$ mm/m² dežja, kar je več kot 2x višje od povprečja ($87,4$ mm/m²). V obdobju od aprila do junija leta 2007 pa je bilo vreme statistično značilno bolj suho ($54,1$ mm/m²) (Tabela 2, Graf 1) saj je bilo padavin približno 2.5x manj ($137,9$ mm/m²) v primerjavi z obdobjem med leti 1971-2000 (Priloga 1). V obeh primerih so bili meteorološki pogoji – močni vetrovi in suho vreme – ugodni za dvigovanje površinskih prašnih delcev, ki so v času jagnjitev lahko vsebovali večjo količino bakterije *C. burnetii*. Omeniti je potrebno, da na prenos kontaminiranih prašnih delcev s pomočjo vetra močno vpliva tudi vrsta vegetacije s katero je pokrita površina. Le ta-lahko kontaminacijo pospeši ali zadrži. Bližina kmetijskih obdelovalnih površin dvigne možnost raznašanja kontaminiranega prahu iz golih površin v suhih vremenskih pogojih medtem, ko bližina gozda zmanjša hitrost vetra in s tem vdor kužnega prahu.

Večina meteoroloških faktorjev je spremenljivih tako v letnih kot tudi dnevnih ciklikih. Iz tega sledi, da povprečna dnevna koncentracija kužnine, ki se prenaša z zrakom lahko niha glede na meteorološke pogoje v krajšem časovnem obdobju drugače kot v daljšem obdobju zato je sezonske in kratkotrajne učinke pogosto težko posploševati. Povprečne dnevne vrednosti na različnih lokacijah v istem časovnem obdobju pa lahko prispevajo k neki splošni informaciji. Izsledki naše raziskave kažejo, da je bila farma na Vremščici možen vir izbruha in prenosa *C. burnetii* v okolico. Jagnjitve so potekale od februarja do

aprila kmalu po tem obdobju je prišlo do izbruha. Prvi primeri bolezni pri ljudeh, kjer so ugotovili prisotnost protiteles IgM, so se pojavili konec aprila. Povprečna inkubacijska doba za Q mrzlico znaša 20 dni. Izbruhi Q mrzlice običajno nastopijo po jagnjitvah, ko med brejostjo pride do ponovne aktivacije bakterije pri ovcah. Mikroorganizem se razmnoži v resicah posteljice in v posteljici. Amnionska tekočina lahko vsebuje bilijon mikroorganizmov v gramu posteljice. Število obolelih je bilo najvišje med ljudmi, ki so v tem času delali na farmi. To dejstvo govori za ubikvitarno izpostavljenost, ki je značilna za prenos *C. burnetii* po zraku. Med jagnjitvami okuženi ostanki poroda (posteljica, amnionska tekočina) onesnažijo tla, za bakterijo pa je značilno, da je izredno odporna na ekstremne pogoje okolja. Suhi vremenski pogoji vodijo v nastanek in prenašanje infektivnih delcev prahu in aerosolov. V našem primeru je šlo v času začetka izbruha za nadpovprečno sušno in vetrovno obdobje. *C. burnetii* pa je za človeka zelo kužna, saj lahko infekcija nastopi že ob vdihu ene same žive bakterije. Nadaljnje preiskave bi bile potrebne za ugotavljanje prenosa kužnega materiala z vetrovi na daljše razdalje in možnost okužbe sosednjih kmetij. Monitoring na prisotnost protiteles proti povzročitelju Q mrzlice, ki se izvaja v Sloveniji že tretje leto je pokazal pozitivne živali tudi na kmetijah v bližini Centra za sonaravno rekultiviranje Vremščica in na številnih kmetijah z drobnico in govedom po celi Sloveniji zato je nemogoče govoriti o primarnem izvoru bolezni. Nadalnje preiskave z uporabo ustreznih metod bi bile potrebne za ugotavljanje primarnih virov okužbe in načinov njihovega prenosa na druge lokacije.

5. Serološke in molekularne preiskave

V zadnjem času poroča tuja literatura o vse več izbruhih Q mrzlice pri živalih in ljudeh, kar kaže na to, da je pojavnost bolezni v porastu ali pa je lahko to tudi posledica razvoja vse boljših metod detekcije povzročitelja. Znano je, da so lahko rezervoarji povzročitelja Q mrzlice številni, vendar pa je dejansko znanih le malo. Mednje štejemo sesalce, ptice in pa členonožce (Arthropoda).

S preiskavo smo skušali pridobiti podatke o ohranjanju bolezni na nekem področju, z večkratnim jemanjem vzorcev v isti čredi ter ugotoviti morebitne rezervoarje povzročitelja, ki bi lahko predstavljali stalni vir okužbe domačih in divjih živali in ljudi. V raziskavo smo zajeli predvsem vzorce tistih živali s katerimi prihajamo pri svojem vsakodnevnem delu oz. življenju najpogosteje v neposredni ali posredni stik. Vzorčili smo govedo, drobnico, divje živali, ptice, podgane in klope.

Raziskavo smo izvedli na petih ovčerejskih in treh govedorejskih kmetijah po Sloveniji, kjer so bile v predhodnih testiranjih že ugotovljene serološko pozitivne živali in sicer: Center za sonaravno rekultiviranje Vremščica (ovčereja), Dolenja vas (ovčereja) in Senadole (ovčereja) iz občine Divača, Volče (ovčereja) in Čiginj (ovčereja) iz občine Tolmin, Smokuč (govodoreja) iz občine Žirovnica, Maribor (govodoreja) iz občine Maribor ter Mačkovci (govodoreja) iz občine Puconci. Govedo in ovce z okuženih kmetij smo pregledali na prisotnost morebitnih kliničnih znakov bolezni in jim odvzeli vzorce krvi prvič v jesenskem in drugič v spomladanskem obdobju, v razmiku 6 mesecev. Skupno smo odvzeli 151 vzorcev krvi. Vzorce serumov divjih živali (divji prašič (n=300), srnjad (n=40), jelenjad (n=10), damjek (n=14)) smo zbirali preko rednega letnega odstrela skozi celo leto. V preiskavo smo zajeli tudi 15 divjih podgan, ki so bile odlovljene na področju Centra za sonaravno rekultiviranje Vremščica ter 30 vzorcev prostoživečih ptic iz zahodne Slovenije. Istočasno smo na 8 izbranih lokacijah pregledali klope (n=701), ki smo jih nabrali pri domačih in divjih živali ter z vegetacije na v okolici okuženih farm. Na zbranem materialu smo z molekularnimi in serološkimi preiskavami poskusili dokazati prisotnost genskega materiala povzročitelja mrzlice Q oz. protiteles proti bakteriji *C.*

burnetii.

Nobena od pregledanih živali ob vzorčenju ni kazala znakov bolezni. Vzorce serumov domačih in divjih živali smo pregledali s serološkimi testi, vzorce klopov in ptic pa z molekularnimi testi. Z molekularno metodo smo dodatno pregledali še vse vzorce domačih živali.

Serološke preiskave krvnih serumov domačih in divjih živali smo opravili z metodo ELISA (CHEKIT Q-Fever Antibody ELISA Test Kit (IDEXX, Liebefeld-Bern, Switzerland)). Metodo smo izbrali zaradi specifičnosti in občutljivosti. Z njo se ugotavlja prisotnost protiteles IgM proti *C. burnetii*, ki temelji na inaktiviranih antigenih faze 1 in 2. Vsi vzorci so bili testirani v duplikatih. Prisotnost protiteles proti *C. burnetii* smo na vseh lokacijah v obeh odvzemih ugotovili pri 51 živalih od 151 živali ter pri nobeni divji živali. PCR metoda je ena najbolj občutljivih in hitrih analitičnih metod, tako za dokaz *C. burnetii* kot tudi identifikacijo prenašalcev. Metodo se lahko uporablja pri širokem spektru bioloških vzorcev. Iz izbranih vzorcev živali in klopov smo izolirali celokupno DNA s pomočjo izolacijskega seta BioSprint 15 DNA Blood Kit (Qiagen, Hilden, Nemčija). Prisotnost bakterije v gostitelju in prenašalcu smo dokazovali s pomočjo občutljive in specifične molekularne metode PCR v realnem času. V vzorcih celic krvnega strdka ovc in goveda z molekularnimi metodami prisotnosti bakterije nismo dokazali. V krvnih vzorcih ptic in podgan z nobeno uporabljeno metodo nismo dokazali prisotnosti povzročitelja. Vsi klopi so bili pregledani na prisotnost *C. burnetii* z molekularnimi metodami. Klopi z vegetacije (nizko rastlinje in grmičevje) so bili zbrani s pomočjo metode, kjer po površini vlečemo plahto v obliki zastave, ki je najpogosteje uporabljena metoda zbiranja (Sonenshine, 1993). Iz domačih in divjih živali smo klope zbirali ročno. Skupno je bilo na vegetaciji ter na domačih in divjih živalih zbranih 701 klopov, od tega 626 klopov vrste *Ixodes ricinus*, 65 klopov vrste *Haemaphysalis punctata* in 10 klopov vrste *Dermacentor reticulatus*. Celokupno DNA smo izolirali po predhodno omenjeni metodi, ter z metodo PCR v realnem času dokazovali prisotnost povzročitelja. Bakterijo *C. burnetii* smo dokazali v klopih vrste *Ixodes ricinus* nabranih na ovcah (1), divjadi (4) in na vegetaciji (3) ti so izhajali iz vseh pregledanih regij z izjemo Štajerske in Pomurja. S sekveniranjem nismo mogli potrditi infekcije, saj je bila koncentracija DNA povzročitelja v klopih zelo nizka.

ZAKLJUČKI IN PRIPOROČILA

1. Glede na podatke dve letnega monitoringa na prisotnost protiteles proti bakteriji *C. burnetii* lahko ugotovimo, da je bolezen prisotna tako pri drobnici, kot tudi pri govedu na različnih lokacijah po Sloveniji, vendar pa zaradi načina monitoringa težko napovemo ali se bolezen širi ali pa pojavnost pada.
2. Vzorčenje v rejah na letni ravni, ki jih leto prej monitoring ni pokrilo, ima sicer prednost pri ugotavljanju razširjenosti povzročitelja, ne dobimo pa informacij o širitvi oz. perzistiranju povzročitelja na določenem področju. Za odpravo te pomanjklivosti bi bilo dovolj v tekočem letu ponovno vzorčiti vse lanske pozitivne reje ali pa samo del le teh.
3. Menimo, da je izvajanje monitoringa in diagnosticiranje prisotnosti povzročitelja nujno potrebno saj gre za pomembno strategijo kontrole, ki omogoči v primeru ugotovitve pozitivne reje potrebne ukrepe za zatiranje in preprečevanja prenosa bolezni.
4. Zaradi patogenosti povzročitelja *Q* mrzlice je delo s *C. burnetii* v laboratoriju z okuženimi živalmi kot tudi z okuženim materialom zelo nevarno, saj se akutno kaže z znaki podobnimi prehladu, kronično pa lahko prizadene organizem šele po nekaj letih. Ker je v naravnem okolju, kjer je povzročitelj prisoten, zelo težko zaščititi ljudi in živali je potrebno stalno osveščanje ljudi o bolezni in možnih ukrepih za preprečevanje širjenja

bolezni.

5. Pogovori z ljudmi iz okuženih rej so pokazali zelo slabo obveščenost in osveščenost ljudi o bolezni. Kljub pozitivnim živalim so se le redki posluževali ukrepov, ki preprečujejo prenos bolezni na druge živali in ljudi. Predvsem v primeru pozitivnih rej bi bilo potrebno rejce z različnimi oblikami informacij seznaniti o bolezni, kar bi zelo pripomoglo k preprečevanju in eradikaciji bolezni.

6. V Sloveniji je bilo v preteklih letih nekaj izbruhov Q mrzlice pri ljudeh, kjer pa je bilo vir okužbe skoraj nemogoče odkriti saj se ni sistematično pregledovalo živali. Prav tako je dokumentacija in informacije o teh dogotkih zelo skopa in je praktično nemogoče izluščiti celostno sliko dogodkov in morebitnih posledic bolezni.

7. Glede na prejšnje izbruhe in današnje stanje pozitivnih živali v Sloveniji lahko pričakujemo takšne izbruhe tudi v prihodnje. Verjetno se bo število izbruhov bolezni po eni strani celo povečalo na račun vse pogostejšega stika ljudi z domačimi živalmi kot posledica kmečkega turizma oz. povečanega pritiska ljudi v naravo, po drugi strani pa so tudi zdravniki bolj pozorni na bolezen in jo hitreje diagnosticirajo.

8. Sanacija črede lahko poteka na različne načine. Raziskave so dolgotrajne, rezultati pa prihajajo v javnost izredno počasi. Po sedaj dostopnih podatkih se vakcinacija bolje obnese preventivno pri neokuženih živalih, pri okuženih živalih pa izločanje patogena ne zaustavimo popolno. Trenutno še ne moremo ločevati necepnih protiteles od cepnih. Uporaba antibiotikov bistveno ne upliva ne zmanjšanje izločanja patogena, je pa njegova uporaba vprašljiva glede ustvarjanja rezistence. Odstranitev pozitivnih živali je še vedno najzaneslivejša metoda sanacije. Pri sanaciji bolezni v Centru za sonaravno rekultiviranje Vremščica potekajo opisane metode že nekaj časa, vendar pa se zaradi zahtevnosti raziskave in zaneslivejših rezultatov delo na tem področju nadaljuje.

9. Pri sanaciji v prvi fazi, že odstranitev okuženega gnoja na drugo lokacijo prepreči nadaljnje širjenje bolezni v reji. Sanacija gnoja se lahko izvaja s pravilnim kompostiranjem, kjer predvsem porast temperature uničuje patogene. Pri neugodnih pogojih kompostiranja kjer temperatura ne doseže zelene temperature se lahko patogen zadrži tudi preko enega leta. Uporaba razkužil je možna, vendar pa moramo biti pri uporabi teh sredstev dosledni. V našem primeru se je izkazal formalin, ki se sicer razgradi na nestrupene komponente, v osnovni obliki pa je ravnanje z njim škodljivo. V tuji literaturi navajajo kot možno in učinkovito razkužilo uporabo kalcijevega cianamida, ki pa ga je pri nas v bodoče potrebno še stestirati.

10. S serološkimi preiskavami nismo ugotovili prisotnost protiteles proti Q mrzlici pri divjih živalih, kar divje živali v Sloveniji, do morebitnih bodočih obsežnejših preiskav, izključuje kot možen vir infekcije. V študiji smo dokazali visok odstotek serološko pozitivnih domačih živali, med njimi tudi večje število mladih živali (manj kot eno leto), kar nakazuje na zelo aktiven prenos infekta na pregledanih področjih. Takšno stanje lahko predstavlja povečano tveganje za okužbe za druge živalske vrste in ljudi.

11. Kljub drugačnim pričakovanjem, vzorčene podgane v našem primeru niso bile okužene in kot take niso odigrale pomembnejše vloge pri vzdrževanju in prenašanju bolezni v reji. Prav tako tudi pri pticah nismo zasledili pozitivnih reaktorjev. Kljub temu, da so rezultati sami po sebi dovolj zgovorni pa je potrebno za potrditev teze, da so glodavci in ptice možni rezervoarji *C. burnetii*, opraviti veliko širše raziskave, kar je v primeru Q mrzlice prav zaradi pomanjkanja znanja nujno potrebno.

12. Prisotnost bakterije *C. burnetii* smo dokazali v klopah nabranih na vegetaciji in na živalih v regijah, kjer so se v preteklosti pojavljale epidemije. Dokazana prevalenca patogena v klopah nabranih na izbranih kmetijah pa tudi regionalno je relativno nizka. Upoštevati je potrebno tudi verjetnost, da je koncentracija patogena v klopah nizka, kar je lahko tudi vzrok zakaj ga ni bilo mogoče dovolj namnožiti za nadaljnje sekveniranje. Da

so klopi sicer potrebni za ohranjanje cikla *C. burnetii* v naravi, vendar pa niso nujno potrebni za prenos bakterije znotraj črede ali na ljudi ugotavljajo tudi tuji raziskovalci.

13. Ker gre v Sloveniji za enega prvih projektov, ki se ukvarja z omenjeno problematiko menimo, da bi bilo potrebno projekt nadaljevati saj smo se tudi sami veliko naučili o, nam prej neznanem področju, ki bi ga bilo prav zaradi pridobljenega znanja mogoče v prihodnje še bolj intenzivno spremljati in iskati nove načine preventive in možnosti zatiranja bolezni.

UPORABLJENA LITERATURA

1. Hunink JE, Veenstra T, van der Hoek W, Droogers P. Q fever transmission to humans and local environmental conditions. *FutureWater, The Netherlands*. 2010.
2. Scientific Opinion on Q fever. *EFSA Journ*. 2010, 8:1595.
3. Angelakis E, Raoult D. Q fever *Vet Microbiol*. 2010, 140:297-309.
4. Tiggert WD, Beneson AS. Studies on Q fever in man. *Trans. Assoc. Am. Phys*. 1956, 69:98-104.
5. Gonder JC, Kishimoto RA, Kastello MD, Pedersen CE Jr, Larson EW. *Cynomolgus* monkey model for experimental Q fever infection. *J Infect Dis*. 1979, 139:191-196.
6. Marrie TJ, Langille D, Papukna V, Yates L. Truckin' pneumonia--an outbreak of Q fever in a truck repair plant probably due to aerosols from clothing contaminated by contact with newborn kittens. *Epidemiol Infect*. 1989, 102:119-127.
7. Hawker JI, Ayres JG, Blair I, Evans MR, Smith DL, Smith EG, Burge PS, Carpenter MJ, Caul EO, Coupland B, Desselberger U, Farrell ID, Saunders PJ, Wood MJ. A large outbreak of Q fever in the West Midlands: windborne spread into a metropolitan area? *Commun Dis Public Health*. 1998, 1:180-187.
8. Tissot-Dupont H, Torres S, Nezri M, Raoult D. Hyperendemic focus of Q fever related to sheep and wind. *Am J Epidemiol*. 1999, 150:67-74.
9. Schimmer B, Morroy G, Dijkstra F, Schneeberger PM, Weers-Pothoff G, Timen A, Wijkmans C, van der Hoek W. Large ongoing Q fever outbreak in the south of The Netherlands, 2008. *Euro Surveill*. 2008, 31:13.
10. Schimmer B, Dijkstra F, Vellema P, Schneeberger PM, Hackert V, ter Schegget R, Wijkmans C, van Duynhoven Y, van der Hoek W. Sustained intensive transmission of Q fever in the south of the Netherlands. *Euro Surveill*. 2009, 14:14.
11. Jones AM, Harrison RM. The effects of meteorological factors on atmospheric bioaerosol concentrations--a review. *Sci Total Environ*. 2004, 326:151-180.
12. Bertalanič R. Klimatografija Slovenije. Značilnosti vetra v Sloveniji. Agencija RS za okolje. Urad za meteorologijo. 2003. (<http://www.arso.gov.si/cd/klima>). (6.9.2010).
13. Maurin M, Raoult D. Q fever. *Clin Microbiol Rev*. 1999, 12:518-553.
14. Sonenshine DE. *Biology of ticks*. Vol 2 Oxford. Oxford University Press. 1993, 488.
15. Sting R, Kopp J, Mandl J, Seeh C, Seemann G, Kimmig P, Schmitt K, Mentrup T. Studies of *Coxiella burnetii* infections in dairy herds with special regard to infections in men. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*. 2002, 115:360-365.
16. Cabassi CS, Taddei S, Donofrio G, Ghidini F, Piancastelli C, Flammini CF, Cavirani S. Association between *Coxiella burnetii* seropositivity and abortion in dairy cattle of Northern Italy. *New Microbiol*. 2006, 29:211-214.
17. Medić A, Dzelalija B, Punda Polić V, Gjenero Margan I, Turković B, Gilić V.
18. Q fever epidemic among employees in a factory in the suburb of Zadar, Croatia. *Croat Med J*. 2005, 46:315-319.
19. van Woerden HC, Mason BW, Nehaul LK, Smith R, Salmon RL, Healy B,

Valappil M, Westmoreland D, de Martin S, Evans MR, Lloyd G, Hamilton-Kirkwood M, Williams NS. Q fever outbreak in industrial setting. *Emerg Infect Dis.* 2004, 10:1282-1289.

20. Berri M, Souriau A, Crosby M, Rodolakis A. Shedding of *Coxiella burnetii* in ewes in two pregnancies following an episode of *Coxiella* abortion in a sheep flock. *Vet Microbiol.* 2002, 85:55-60.

21. Grilc E, Socan M, Koren N, Ucakar V, Avsic T, Pogacnik M, Kraigher A. Outbreak of Q fever among a group of high school students in Slovenia, March-April 2007. *Euro Surveill.* 2007, 12(7): E070719.1.

22. Pojav vročice Q med dijaki in profesorji veterinarske srednje šole ter študenti veterinarske in biotehniške fakultete v Ljubljani. *CNB Novice.* Maj 2007.

(http://www.ivz.si/?ni=104&pi=5&_5_Filename=1441.pdf&_5_MediaId=1441&_5_AutoResize=false&pl=104-5.3). (23.8.2010).

Zahvala

Zahvaljujemo se Ministrstvu za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano in Agenciji za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije za financiranje projekta.

3. Izkoriščanje dobljenih rezultatov:

3.1. Kakšen je potencialni pomen² rezultatov vašega raziskovalnega projekta za:

- a) odkritje novih znanstvenih spoznanj;
- b) izpopolnitev oziroma razširitev metodološkega instrumentarija;
- c) razvoj svojega temeljnega raziskovanja;
- d) razvoj drugih temeljnih znanosti;
- e) razvoj novih tehnologij in drugih razvojnih raziskav.

3.2. Označite s katerimi družbeno-ekonomskimi cilji (po metodologiji OECD-ja) sovpadajo rezultati vašega raziskovalnega projekta:

- a) razvoj kmetijstva, gozdarstva in ribolova - Vključuje RR, ki je v osnovi namenjen razvoju in podpori teh dejavnosti;
- b) pospeševanje industrijskega razvoja - vključuje RR, ki v osnovi podpira razvoj industrije, vključno s proizvodnjo, gradbeništvom, prodajo na debelo in drobno, restavracijami in hoteli, bančništvom, zavarovalnicami in drugimi gospodarskimi dejavnostmi;
- c) proizvodnja in racionalna izraba energije - vključuje RR-dejavnosti, ki so v funkciji dobave, proizvodnje, hranjenja in distribucije vseh oblik energije. V to skupino je treba vključiti tudi RR vodnih virov in nuklearne energije;
- d) razvoj infrastrukture - Ta skupina vključuje dve podskupini:
 - transport in telekomunikacije - Vključen je RR, ki je usmerjen v izboljšavo in povečanje varnosti prometnih sistemov, vključno z varnostjo v prometu;
 - prostorsko planiranje mest in podeželja - Vključen je RR, ki se nanaša na skupno načrtovanje mest in podeželja, boljše pogoje bivanja in izboljšave v okolju;
- e) nadzor in skrb za okolje - Vključuje RR, ki je usmerjen v ohranjanje fizičnega okolja. Zajema onesnaževanje zraka, voda, zemlje in spodnjih slojev, onesnaženje zaradi hrupa, odlaganja trdnih odpadkov in sevanja. Razdeljen je v dve skupini:
- f) zdravstveno varstvo (z izjemo onesnaževanja) - Vključuje RR - programe, ki so usmerjeni v varstvo in izboljšanje človekovega zdravja;
- g) družbeni razvoj in storitve - Vključuje RR, ki se nanaša na družbene in kulturne probleme;
- h) splošni napredek znanja - Ta skupina zajema RR, ki prispeva k splošnemu napredku znanja in ga ne moremo pripisati določenim ciljem;
- i) obramba - Vključuje RR, ki se v osnovi izvaja v vojaške namene, ne glede na njegovo vsebino, ali na možnost posredne civilne uporabe. Vključuje tudi varstvo (obrambo) pred naravnimi nesrečami.

² Označite lahko več odgovorov.

3.3. Kateri so **neposredni rezultati** vašega raziskovalnega projekta glede na zgoraj označen potencialni pomen in razvojne cilje?

Boljše poznavanje, razumevanje in ovrednotenje potencialnih rezervoarjev *C. burnetii* in vplivov okolja na prenos in pojavnost Q mrzlice. Možnosti implementacije programov sanacije okuženih rej ter s tem zaježitev virov za nadaljnji prenos bolezni.

3.4. Kakšni so lahko **dolgoročni rezultati** vašega raziskovalnega projekta glede na zgoraj označen potencialni pomen in razvojne cilje?

Učinkovito preprečevanje prenosa bolezni iz okuženih rej z upoštevanjem vseh dejavnikov prenosa (okoljski vplivi, mikroklima, živali, rezervoarji infekta). Pravočasno prepoznavanje in ugotavljanje bolezni ter uvedba ustreznih zaščitnih ukrepov pri živalih in rizičnih skupinah ljudi. Ozaveščenost ljudi o možnostih okužbe, načinov prenosa, prepoznavanje simptomov bolezni in preventive.

3.5. Kje obstaja verjetnost, da bodo vaša znanstvena spoznanja deležna zaznavnega odziva?

- a) v domačih znanstvenih krogih;
- b) v mednarodnih znanstvenih krogih;
- c) pri domačih uporabnikih;
- d) pri mednarodnih uporabnikih.

3.6. Kdo (poleg sofinancerjev) že izraža interes po vaših spoznanjih oziroma rezultatih?

Rejci okuženih in neokuženih rej ter lovci. Raziskovalci tujih inštitucij, ki se ukvarjajo s podobno tematiko.

3.7. Število diplomantov, magistrov in doktorjev, ki so zaključili študij z vključenostjo v raziskovalni projekt?

4. Sodelovanje z tujimi partnerji:

4.1. Navedite število in obliko formalnega raziskovalnega sodelovanja s tujimi raziskovalnimi inštitucijami.

Številni kontakti z raziskovalci različnih področij, ki se med drugim ukvarjajo tudi z raziskovano tematiko.

4.2. Kakšni so rezultati tovrstnega sodelovanja?

Možnost izmenjave vzorcev potrebnih za zanesljivo diagnostiko. Izmenjava iskušenj o ugotavljanju, diagnosticiranju in zatiranju Q mrzlice, pridobljenih z žarišč okužb in laboratorijev. Sodelovanje pri raziskovanjih v bodoče.

5. Bibliografski rezultati³ :

Za vodjo projekta in ostale raziskovalce v projektni skupini priložite bibliografske izpise za obdobje zadnjih treh let iz COBISS-a) oz. za medicinske vede iz Inštituta za biomedicinsko informatiko. Na bibliografskih izpisih označite tista dela, ki so nastala v okviru pričujočega projekta.

6. Druge reference⁴ vodje projekta in ostalih raziskovalcev, ki izhajajo iz raziskovalnega projekta:

Predstavitev rezultatov projekta bo potekala na dveh kongresih in sicer:

1. "HEALTHY WILDLIFE, HEALTHY PEOPLE", 9th Biennial Conference of the European Wildlife Disease Association, Vlieland, The Netherlands, 13 to 16 September 2010. Naslov: Investigations of *Coxiella burnetii* infections in animals and ticks in Slovenia
2. The 3rd International Symposium "Game & Ecology" - 4th-7th October 2010, Osijek, Croatia. Naslov: Analysis of *Coxiella burnetii* infections in animals and ticks in Slovenia

³ Bibliografijo raziskovalcev si lahko natisnete sami iz spletne strani:<http://www.izum.si/>

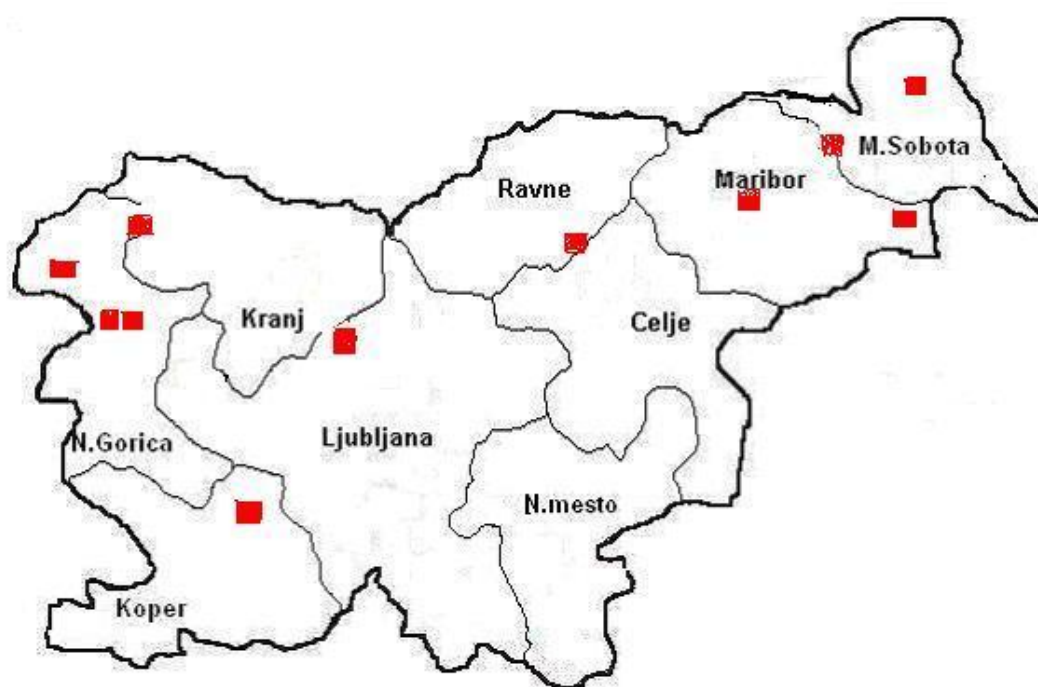
⁴ Navedite tudi druge raziskovalne rezultate iz obdobja financiranja vašega projekta, ki niso zajeti v bibliografske izpise, zlasti pa tiste, ki se nanašajo na prenos znanja in tehnologije.

Navedite tudi podatke o vseh javnih in drugih predstavitev projekta in njegovih rezultatov vključno s predstavitvami, ki so bile organizirane izključno za naročnika/naročnike projekta.

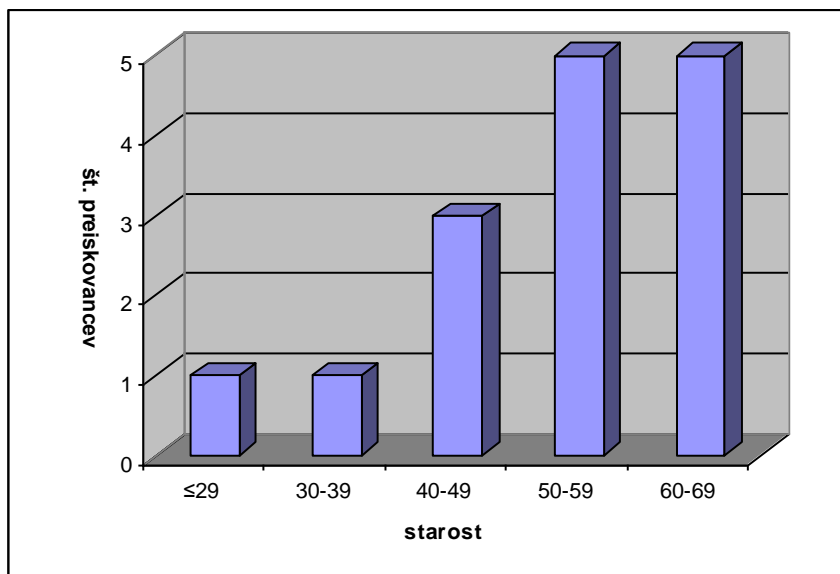
Priloga:

Tabela 1: Prijavljeni primeri vročice Q – po regijah, Slovenija, 1990 – 2009

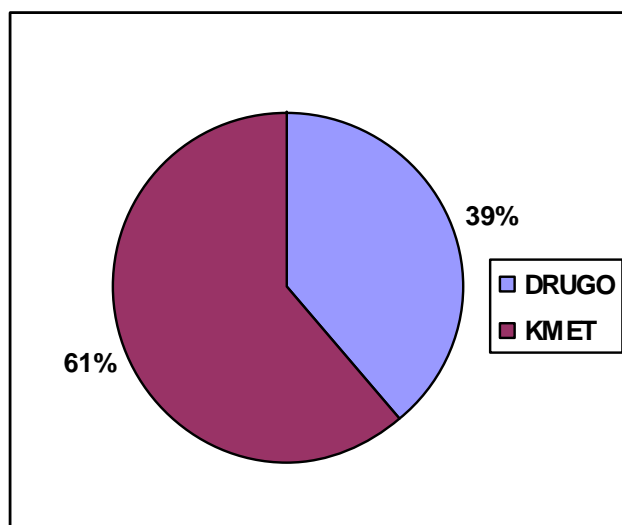
	CE	NG	KP	KR	LJ	MB	MS	NM	RAVNE	SKUPAJ	INC./ 100.000
1990	0	1	0	0	3	0	0	0	0	4	0,2
1991	0	14	59	0	1	0	0	0	0	74	3,7
1992	0	0	46	1	0	0	0	0	0	47	2,35
1993	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1994	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1995	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1996	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1997	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	0,25
1998	0	0	0	0	1	0	0	0	1	2	0,1
1999	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2001	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2002	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0,05
2003	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2004	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2005	1	0	1	0	0	0	0	0	1	3	0,15
2006	0	0	2	0	1	0	0	0	0	3	0,15
2007	7	5	19	6	40	4	4	2	6	93	4,6
2008	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2009	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0



Slika 1. Lokacije kontaktiranih kmetij/anketirancev



Slika 2: Struktura anketiranih glede vročice Q na kmetijah – po starosti








Slika 3: Prikaz zaposlitve anketiranih na kmetiji

Tabela 2: Povprečna mesečna temperatura (x=423320m, y=62825m) v letih 2005-08

mesec	2005	2006	2007	2008	povprečje2005-2008
1	-0,8	-1,4	3,4	2,8	1,0
2	-1,4	0,0	4,2	1,8	1,1
3	3,0	2,7	7,0	4,3	4,2
4	7,7	8,7	11,7	8,1	9,0
5	13,3	12,6	14,5	13,7	13,5
6	17,2	17,3	18,4	17,5	17,6
7	18,5	22,0	19,8	18,9	19,8
8	16,0	15,5	18,1	19,0	17,1
9	14,3	15,6	12,3	13,2	13,8
10	10,0	12,3	8,9	10,4	10,4
11	4,5	6,8	4,0	5,6	5,2
12	-0,5	3,6	0,7	1,4	1,3

Legenda

	ni statistično značilnega odstopanja od povprečja 1971-2000
	statistično značilno topleje (do 1 standardnega odklona)
	statistično značilno topleje (več kot 1 standardni odklon)
	statistično značilno hladneje (do 1 standardnega odklona)
	statistično značilno hladneje (več kot 1 standardni odklon)

Graf 1: Povprečna temperatura v prvih štirih mesecih v letih 2005-08

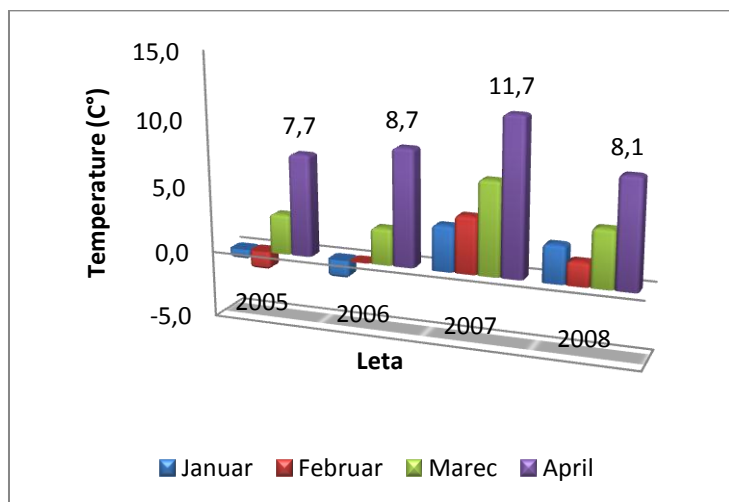


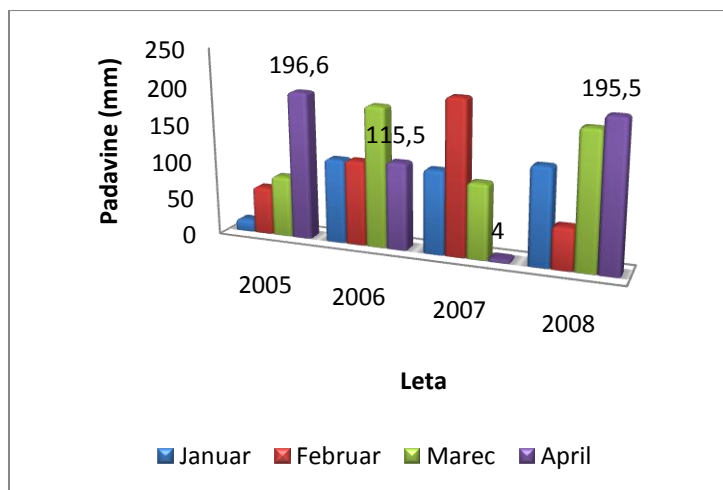
Tabela 3: Povprečne mesečne padavine (x=423320m, y=62825m) v letih 2005-08

mesec	2005	2006	2007	2008	povprečje 1971-2000
1	15,8	111,9	110,5	128,6	100,4
2	63,6	112,5	204,4	55,5	87,4
3	81,1	185,9	99,3	179,5	106,6
4	196,6	115,5	4	195,5	123,9
5	156,5	154,1	102,7	118,2	131,5
6	50	23,6	55,8	134,9	158,3
7	114,5	42,1	83,5	189,2	99
8	242,2	202	124,2	123	119,6
9	159,6	87,3	254	51,3	146,9
10	111,2	22,5	116	109,1	172
11	187,3	78,1	45,3	134,4	171,3
12	110,6	105	46,2	317,3	139,9

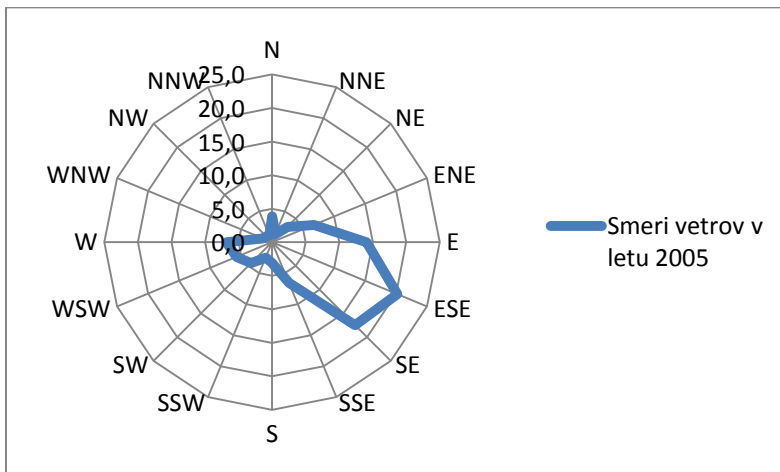
Legenda

	ni statistično značilnega odstopanja od povprečja 1971-2000
	statistično značilno suho (do 1 standardnega odklona)
	statistično značilno suho (1 - 1,5 standardnega odklona)
	statistično značilno suho (več kot 2 standardna odklona)
	statistično značilno mokro (do 1 standardnega odklona)
	statistično značilno mokro (1-1,5 standardnega odklona)
	statistično značilno mokro (več kot 2 standardna odklona)

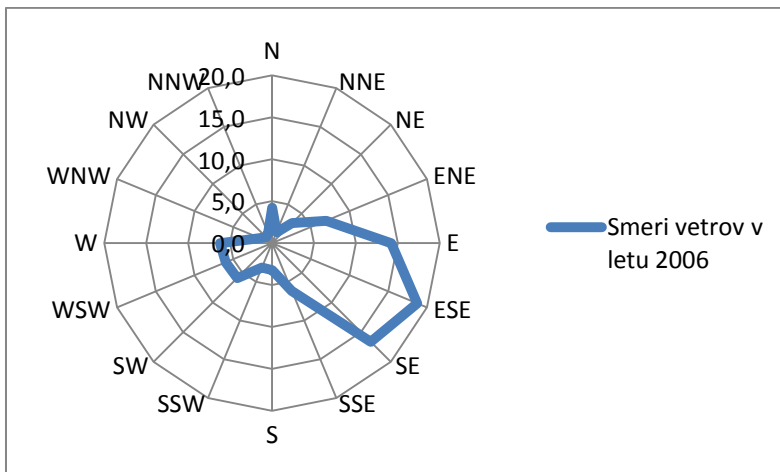
Graf 2: Povprečne mesečne padavine v prvih štirih mesecih v letih 2005-08



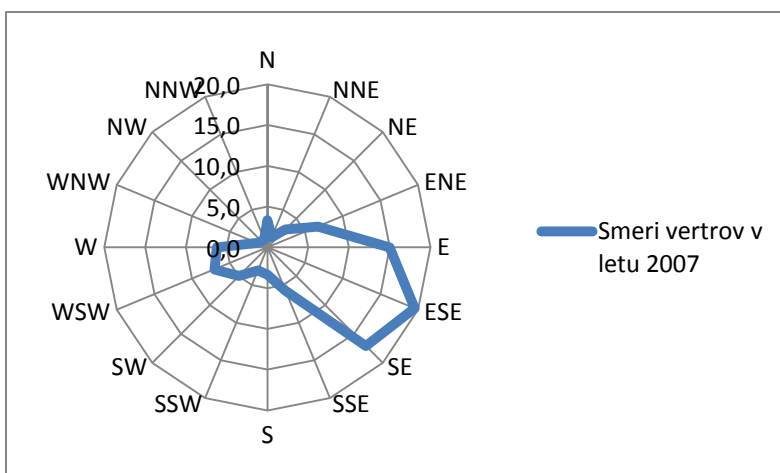
Graf 3: Smer vetrov v letu 2005 na meteorološki točki Škocjan



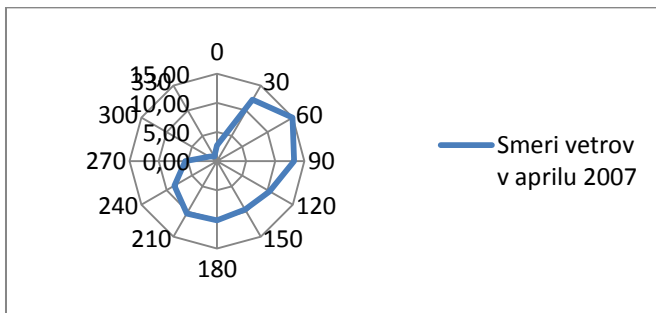
Graf 4: Smer vetrov v letu 2006 na meteorološki točki Škocjan



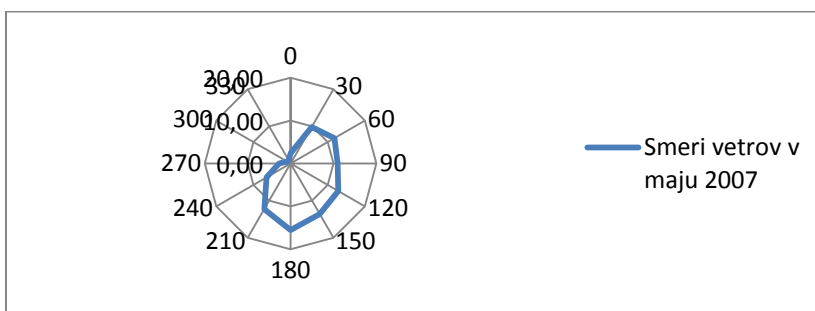
Graf 5: Smer vetrov v letu 2007 na meteorološki točki Škocjan



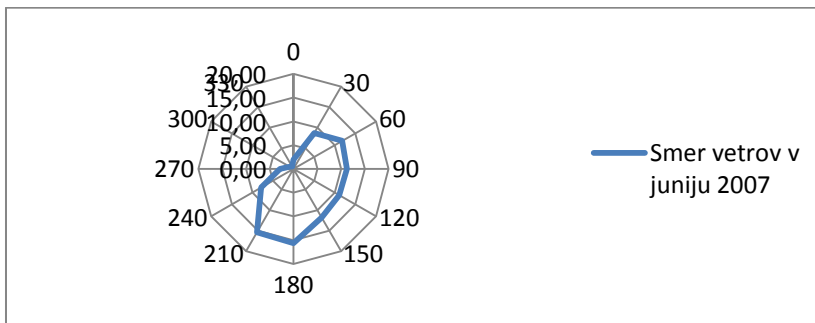
Graf 6: Smer vetrov v aprilu 2007 modelirano na Center za sonaravno rekultivacijo Vremščica



Graf 7: Smer vetrov v maju 2007 modelirano na Center za sonaravno rekultivacijo Vremščica



Graf 8: Smer vetrov v juniju 2007 modelirano na Center za sonaravno rekultivacijo Vremščica



Graf 9: Povprečna smer vetrov od januarja do julija 2007 modelirano na Center za sonaravno rekultivacijo Vremščica

