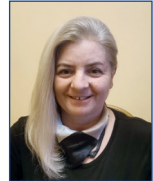


Praćenje transmisivnih spongiformnih encefalopatija u Republici Hrvatskoj

K. Branović Čakanić, B. Šošćarić, Ž. Mihaljević, Š. Naletilić, N. Bilandžić, D. Vlahović, A. Bagarić, A. Jungić, D. Brnić, K. Vretenar Špigelski, T. Miškić, T. Kiš, Ž. Acinger Rogić i S. Šeparović*



Sažetak

Transmisivne spongiformne encefalopatije su grupa rijetkih, progresivnih neurodegenerativnih bolesti od kojih obolijevaju ljudi i veći broj životinjskih vrsta, a prouzročih ih prion. Infekcija je dugi vremenski period asimptomatska, a bolest je progresivna i neminovno letalnog ishoda. U skupinu transmisivnih spongiformnih encefalopatija spadaju: klasična i atipična goveđa spongiformna encefalopatija, klasični i atipični grebež u ovaca i koza, spongiformna encefalopatija jelena, transmisivna encefalopatija američke vidrice, mačja spongiformna encefalopatija, Creutzfeldt-Jakobova bolest, varijanta Creutzfeldt-Jakobove bolesti, Gersmann-Sträussler-Scheinker sindrom, familiarna fatalna insomnija i kuru. Za postojanje ove bolesti na ovcama zna se već gotovo tri stoljeća. Predmetne bolesti su se izučavale tijekom 20. stoljeća, ali su se tek pojavom epizootije goveđe spongiformne encefalopa-

tije 80-ih godina prošlog stoljeća u Ujedinjenom Kraljevstvu (UK) te otkrivanjem novih dijagnostičkih metoda, istraživanjem intenzivirala. Otkriven je i uzročnik bolesti - prion (proteinska zarazna čestica). Prion je normalni stanični protein pronađen prije svega na površini neurona, ali i drugih stanica u organizmu, koji se zbog još uvijek neobjašnjivih razloga u biokemijskim procesima sinteze proteina promijeni i postaje uzročnik encefalopatije. U ovom članku prikazani su rezultati praćenja goveđe spongiformne encefalopatije i grebeža ovaca u Republici Hrvatskoj od 2001. do kraja 2021. godine. Goveđa spongiformna encefalopatija se sistematski nadzire od 2001., dok se grebež ovaca nadzire od 2002. godine. Do kraja 2021. godine ukupno je pretraženo 454.822 uzoraka moždanog tkiva goveđa, a tijekom navedenog perioda nije utvrđeno niti jedan pozitivan uzorak. Na grebež ovaca pretraženo je ukupno 25.332

Dr. sc. Karmen BRANOVIĆ ČAKANIĆ*, mag. med. biokem., znanstvena suradnica, (dopisni autor, email: branovic@veinst.hr), dr. sc. Branko ŠOŠĆARIĆ, dr. med. vet., znanstveni savjetnik u trajnom zvanju u mirovini, dr. sc. Željko MIHALJEVIĆ, dr. med. vet., znanstveni savjetnik u trajnom zvanju, Šimun NALETILIĆ, dr. med. vet., dr. sc. Nina BILANDŽIĆ, dipl. ing. biotehnol., znanstvena savjetnica u trajnom zvanju, Hrvatski veterinarski institut Zagreb, Hrvatska; dr. sc. Dunja VLAHOVIĆ, dr. med. vet., Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska; Antonela BAGARIĆ, dr. med. vet., dr. sc. Andreja JUNGIĆ, dr. med. vet., dr. sc. Dragan BRNIĆ, dr. med. vet., viši znanstveni suradnik, Katja VRETENAR ŠPIGELSKI, dr. med. vet., Hrvatski veterinarski institut, Zagreb, Hrvatska; Tihana MIŠKIĆ, dr. med. vet., Tomislav KIŠ, dr. med. vet., Žaklin ACINGER ROGIĆ, dr. med. vet., Ministarstvo poljoprivrede, Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane, Zagreb, Hrvatska; dr. sc. Sanja ŠEPAROVIĆ, dr. med. vet., Samostalni konzultant, Direktor, Altmond d.o.o. Zagreb, Hrvatska

uzoraka moždanog tkiva koza i ovaca. Laboratorijskim pretraživanjem nije utvrđen niti jedan pozitivan uzorak na klasični grebež ovaca, ali su potvrđena četiri slučaja atipičnog grebeža u ovaca. Na temelju svih provedenih aktivnosti i nadziranja goveđe spongiformne encefalopatije u Republici Hrvatskoj

je od strane Svjetske organizacije za zdravlje životinja 2014. godine dodijeljen status zemlje sa zanemarivim rizikom u odnosu na goveđu spongiformnu encefalopatiju, što je ujedno i najviši zdravstveni status u odnosu na ovu bolest.

Gljučne riječi: TSE, GSE, grebež

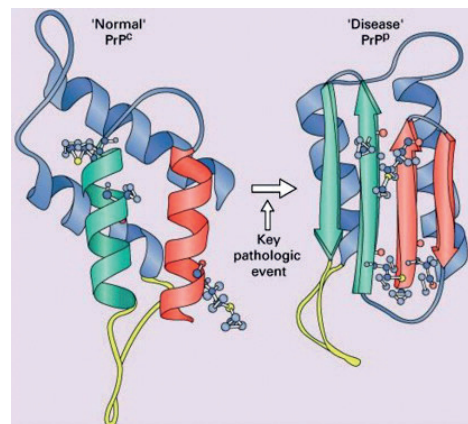
Uvod

Transmisivne spongiformne encefalopatije (engl. *Transmissible spongiformn ecephalopathies*, TSE) ili prionske bolesti su neurodegenerativne bolesti od kojih oboljevaju sisavci, a karakterizira ih ireverzibilna degeneracija moždanog tkiva s neminovno letalnim ishodom (Aguzzi, 2001.). Najčešće bolesti iz te skupine su: goveđa spongiformna encefaloptija (GSE), grebež u malih preživača (ovce i koze), spongiformna encefalopatija jelena (SEJ), spongiformna encefalopatija američke vidrice (TME), a u ljudi su opisane sljedeće bolesti: Creutzfeldt-Jakob-ova bolest (CJD), varijanta Creutzfeldt-Jakob-ove bolesti (vCJD) i kuru. Osim navedenih, u skupinu TSE bolesti u ljudi spadaju još i neke vrlo rijetke genetske bolesti kao što su Gerstmann-Sträussler-Scheinker-ova bolest, famijarna fatalna insomnija, itd. (Belay, 1999., Šoštarić i Mihaljević, 2010.).

Uzročnik svih bolesti iz skupine TSE-a je proteinska molekula zvana prion (engl. *prion*, skraćeno od *proteinaceous infectious particle*) (Prusiner, 1982., Smith i Bradly, 2003.). Riječ „prion“ uveo je nobelovac Stanley Prusiner (Prusiner, 1982.). To je protein koji se normalno nalazi u organizmu (tzv. stanični prion protein, *Prion Protein Cellular*, PrP^C) (Hedge i sur., 1998.), a uloga mu još nije do kraja objašnjena (Linden, 2017.) Prion, kao i svaka proteinska molekula sintetizira se u stanici; najprije se stvara primarna sekvenca (sastoji se od slijeda aminokiselina), koja se u sekundarnoj strukturi prevodi ili u *alfa*-uzvojniciu ili

u *beta*-ploče. Prilikom sinteze priona u sekundarnoj strukturi, neke molekule umjesto uobičajene *alfa*-uzvojnice stvaraju naborane *beta*-ploče (Du Plessis, 2008., slika 1). Takva konformacijska promjena u sekundarnoj strukturi posljedično prouzroči nastanak abnormalne molekule priona u terciarnoj strukturi (Aguzzi i sur., 2001., Kupfer i sur., 2009.), koja se označava kao PrP^{Sc} ili PrP^{res} (Sc-skraćeno *Scrapie*, res-skraćeno *resistant*). Ona je ključna u akumulaciji amiloida u središnjem živčanom sustavu što dovodi do neurodegeneracije moždanog tkiva (Goldfarb i Brown, 1995., Sabate i sur., 2015.)

Karakteristike PrP^{Sc} molekule su da su otporne na enzime iz skupine proteaza. To znači da proteinaza K normalnu



Slika 1. Prikaz razlike u konformaciji između normalnog i abnormalnog priona (preuzeto iz Du Plessis, 2008.)

molekulu priona pocijepa do najsitnijih ostataka, dok molekulu PrP^{Sc} razgradi do određenih fragmenata veličine oko 30 kD (Grassi i sur., 2008.) To je ključna činjenica u dijagnostici abnormalnog priona, jer su na te fragmente od 30 kD napravljena monoklonska protutijela. Dijagnostika abnormalnog priona temelji se na metodama poput Western blota, imunoenzimnog testa, imunohistokemije i slično (Lukan i sur., 2013.).

Za bolesti iz skupine TSE-a zna se još od 18. stoljeća kada je opisan grebež ovaca (engl. *Scrapie*, grebež) (Brown i Bradley, 1998.). U 20. stoljeću, veliki doprinos otkrivanju TSE-a i njegovih uzročnika dao je Daniel Carleton Gajdusek koji je otkrio da je upravo prion uzročnik bolesti kuru u ljudi i da se bolest može prenijeti na primata (Gajdusek i sur. 1966., Liberski i sur., 2019.). Pojavom epizootije GSE-a u Ujedinjenom Kraljevstvu (UK) sredinom osamdesetih godina prošlog stoljeća, bolest je poprimila svjetsku opasnost (Lee i sur., 2013.). Najznačajniji događaj epizootije GSE u UK dogodio se 1996. godine kada je utvrđeno da je nova varijanta Creutzfeldt-Jakob-ove bolesti kod ljudi povezana s GSE kod goveda te je time GSE potvrđen kao zoonoza. Posljedica tog otkrića bilo je donošenje europskog zakonodavstva o utvrđivanju pravila za sprječavanje, kontrolu i iskorjenjivanje određenih bolesti iz skupine TSE-a 2001. godine. Stupanjem na snagu Uredbe (EZ) br. 999/2001 Europskog parlamenta i Vijeća od 22. svibnja 2001. o utvrđivanju pravila za sprječavanje, kontrolu i iskorjenjivanje transmisivnih spongiformnih encefalopatija (EC, 2001.), započelo je službeno nadziranje i kontrola TSE-a u Europskoj uniji. Kao jedan od izvora bolesti smatra se mesno-koštano brašno (MKB) podrijetlom od oboljelih preživača, koja se kao jedna od mjera kontrole te bolesti, između ostalog, uvodi i zabrana uporabe MKB u hranidbi

životinja, a određena su i tkiva visokog rizika podrijetlom od preživača (goveda, ovaca i koza) da bi se u potpunosti uklonila mogućnost kontaminacije ostalih tkiva i mesa. Takva specifična tkiva visokog rizika (primjerice mozak, leđna moždina i sl.) moraju se s trupova prilikom klanja odstraniti i neškodljivo uništiti s ciljem sprječavanja mogućeg unošenja uzročnika TSE-a u prehrambeni lanac.

Za razliku od GSE-a, do danas nije dokazan zoonotski potencijal grebeža, ali rezultati novijih znanstvenih spoznaja sve više ukazuju na tu mogućnost (Cassard i sur., 2014.). Europska agencija za sigurnost hrane, (engl. *European Food Safety Authority*, EFSA), dala je mišljenje o toj znanstvenoj spoznaji. Kao glavnu činjenicu utvrdila je da, što se tiče prijenosa TSE-a, nema apsolutne barijere među različitim vrstama te da istraživanja o tome tek predstoje (EFSA, 2015.).

I GSE i grebež postoje u dva osnovna oblika: klasični i atipični (Casalone i Hope, 2018., Greenlee, 2019.) Za prijenos TSE-a važni su samo klasični GSE i klasični grebež, dok se atipični slučajevi smatraju sporadičnim i posebnim bolestima upitne infektivnosti. Zato se klasični GSE i klasični grebež nalaze na listi bolesti koje podliježu obaveznom prijavljivanju Svjetskoj organizaciji za zdravlje životinja (*World Organization for Animal Health*, OIE), koja je ujedno dala preporuke za postupke utvrđivanja statusa pojedine zemlje u odnosu na rizik od GSE-a. OIE utvrđuje koji od tri moguća statusa zemlje u odnosu na rizik od pojave GSE-a neka zemlja može ostvariti, dok Europska komisija potvrđuje isti. Na temelju OIE Priručnika za kopnene životinje (članci 3.4.5. i 14.8.), pojedina država može ostvariti status države zanemarivog ili kontroliranog rizika, dok se ostale države smatraju državama s neutvrđenim rizikom u odnosu na GSE (OIE, 2021.). Status države u odnosu na GSE pozitivno utječe na olakšavanje

trgovinskih barijera te utječe i na sustav nadziranja u pojedinoj državi.

Tako je i veterinarsko nadležno tijelo Republike Hrvatske, Ministarstvo poljoprivrede- Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane, zatražilo od OIE-a priznavanje statusa zemlje u odnosu na rizik od GSE-a. Na temelju dostavljenih podataka, Republika Hrvatska ostvarila je 2014. godine status zemlje sa zanemarivim rizikom od GSE-a (EC, 2014.).

Početak praćenja TSE-a u Hrvatskoj

Prvi propis u Republici Hrvatskoj vezan za TSE bio je „Pravilnik o mjerama za otkrivanje, suzbijanje i iskorjenjivanje goveđe spongiformne encefalopatije“ iz 1996. godine (Pravilnik, 1996.). U Pravilniku je bilo propisano obvezno prijavljivanje sumnje i oboljenja koja ukazuju na GSE kao i obavezno dijagnostičko ispitivanje takvih goveda.

Hrvatski veterinarski institut i Uprava za veterinarstvo, 2000. godine su izdali publikaciju u obliku priručnika: „Preventiva, dijagnostika i kontrola goveđe spongiformne encefalopatije“. Priručnik je bio namijenjen veterinarima praktičarima i veterinarskoj inspekciji, a po prvi put su u domaćoj literaturi bili izneseni i opći podatci o bolestima iz TSE skupine. Naglasak je bio na GSE-u, kako u veterinarskom, tako i u javnozdravstvenom i zakonodavnom aspektu (Jukić i sur., 2001., Šeparović, 2020.).

Ministarstvopoljoprivredeišumarstva je donijelo „Naredbu o mjerama zaštite životinja od zaraznih i nametničkih bolesti i njihovom financiranju u 2001. godini“ prema kojoj se goveda pretražuju u skladu s Programom za pretraživanje na GSE-a (Naredba 2000.). U 2001. godini izdana je i „Naredba o obaveznom pretraživanju goveda na prisutnost

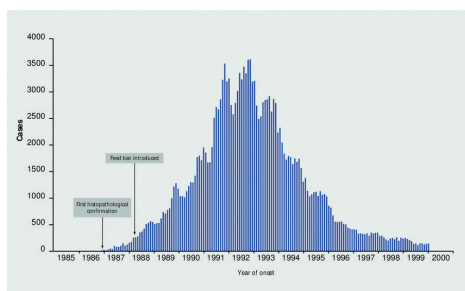
uzročnika goveđe spongiformne encefalopatije (GSE)“ (Naredba 2001.a). Početkom 2001. godine, Uprava za veterinarstvo i Hrvatski veterinarski institut izradili su prvi „Program praćenja i dijagnostike animalnih spongiformnih encefalopatija“, koji je Vlada Republike Hrvatske iste godine prihvatila (Acinger-Rogić i sur., 2010.).

Sukladno svim donesenim propisima, organizirana je i terenska obuka ovlaštenih veterinaru u klaonicama koji su bili zaduženi za uzimanje i slanje uzoraka u laboratorij. Hrvatski veterinarski institut je bio nositelj ove obuke te je samo tijekom 2001. godine za predmetne poslove obučeno preko 200 veterinaru.

Laboratorij za TSE-e Hrvatskog veterinarskog instituta

Epizootija GSE-a u UK poprimila je velike razmjere čiji je vrhunac bio 1991.-1992. (slika 2.). Republika Hrvatska je već tijekom 1995. godine započela sa sustavnom dijagnostikom GSE-a, na Odjelu za patologiju Hrvatskog veterinarskog instituta, a zasnivala se na tada jedinoj poznatoj dijagnostičkoj metodi u to vrijeme, histopatološkoj pretrazi. Nakon prihvaćanja „Programa za praćenje i dijagnostiku animalnih spongiformnih encefalopatija“ od strane Vlade Republike Hrvatske, Hrvatski veterinarski institut osnovao je Laboratorij za brzu dijagnostiku GSE-e koji je započeo s radom 14. svibnja 2001. godine. Uvođenje akreditiranih metoda prema normi HRN EN ISO/IEC 17025:2007 na Hrvatskom veterinarskom institutu započelo je 2007. godine. Laboratorij za TSE-e je 2008. godine akreditirao dvije metode: PrionicsCheck Western blot i PrionicsCheck PrioSTRIP. Uvjet za akreditaciju tih dviju metoda bilo je sudjelovanje u međulaboratorijskom

testiranju koje je organizirao *Canadian Food Inspection Agency* za grebež (2006. godine) i *OIE NRL Neurocenter* Bern za GSE-e (2008. godina). Ulazak Republike Hrvatske u Europsku uniju 2013. godine, omogućio je Laboratoriju za TSE-e sudjelovanje u međulaboratorijskim testiranjima koje je organizirao *European Reference Laboratory for Transmissible Spongiform Encapalopathies* (EURL) iz *Weybridge*-a (UK). Tada je uvedena i imunohistokemija kao konfirmacijska metoda za GSE i grebež. Delegacija EURL-a iz *Weybridge*-a posjetila je 2015. Laboratorij za TSE-e u svrhu provjere imunohistokemijske metode koju je Laboratorij uspješno prošao.



Slika 2. Potvrđeni slučajevi GSE u UK (preuzeto iz Aguzzi, 2001.)

Ministarstvo poljoprivrede ovlastilo je Laboratorij za TSE-e kao službeni i referentni Laboratorij za GSE 2012. godine sukladno Pravilniku o ovlašćivanju službenih i referentnih laboratorija u području provedbe veterinarske djelatnosti (Pravilnik, 2010.) dok je danas Laboratorij za TSE-e službeni i referentni Laboratorij za dijagnostiku GSE-a i grebeža (Rješanje, 2020.).

Prvi test koji se koristio za dijagnostiku GSE-a bio je *PrionicsCheck Western-blot*. Iako *Western-blot* nije metoda koja se uobičajeno koristi za brzu dijagnostiku, u ovom slučaju je to bio izuzetak jer pouzdanih brzih testova za dijagnostiku

GSE-a u to vrijeme još nije bilo (Ramljak i sur., 2001.). Tek u ožujku 2007. godine, u rad Laboratorija uveden je novi brzi test - *PrionicsCheck PrioSTRIP* koji se temelji na principu imunokromatografije i koji je bitno olakšao dijagnostiku velikog broja uzoraka koji su se u to vrijeme obrađivali u Laboratoriju. U isto vrijeme, za brzu dijagnostiku grebeža koristio se *PrionicsCheck Western blot SR* (SR - skraćenica od *small ruminants*). Novi brzi test za dijagnostiku GSE-a i grebeža, *BSE/Scrapie Antigen Test Kit, EIA, HerdChek IDEXX*, uveden je 2011. godine. Nakon provedene validacije i sudjelovanja u međulaboratorijskim testiranjima i taj je test akreditiran.

Osim dijagnostike GSE-a i grebeža, Laboratorij za TSE-e uveo je 2013. godine i genotipizaciju krvi ovaca u svrhu dobivanja podataka o genotipu životinje. Genotip životinje određen na PRNP genu (na alelima 136, 141, 154 i 171) daje podatak je li životinja sklona razviti grebež ili je otporna na tu bolest (Hunter, 2007.).

Laboratorij za TSE-e je sa svim spomenutim metodama sudjelovao u više od 60 međulaboratorijskih testiranja, u raznim institucijama i prolazio sve testove sa 100 % uspješnosti (Tabela 1.).

Dijagnostika GSE

U prvoj godini sustavnog testiranja (Tabela 2), pretraženo je 9.176 uzoraka moždanog tkiva zaklanih goveda starijih od 30 mjeseci: osam uzoraka zaklanih goveda mlađih od 30 mjeseci, 222 uzoraka bolesnih životinja, 309 uzoraka prisilno zaklanih životinja i samo 13 uzoraka uginulih životinja (ukupno 9.728 uzoraka). Sljedećih godina broj testiranih zaklanih goveda je kontinuirano rastao (s manjim oscilacijama), a maksimum testiranja bio je 2010. godine kada je testirano 35.869 uzoraka zaklanih goveda od ukupno pretraženih 47.426 uzoraka te godine.

Tablica 1. Sudjelovanje Laboratorija za TSE u međulaboratorijskim testiranjima od 2006. do kraja 2021. godine

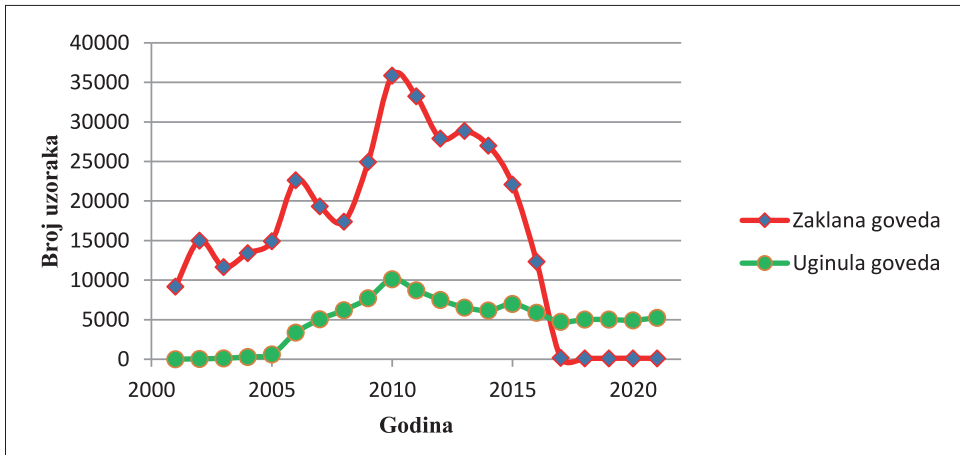
Organizacija	Godina	Područje ispitivanja	Test (Brzi / Konfirmativni)	Ukupno testova	Uspješnost
Canadian Food Inspection Agency	2006.	Grebež	Prionics WB	1	100 %
Neurocenter Bern OIE NRL	2008.	GSE	Prionics WB, PrionicsPrio STRIP	1	100 %
Neurocenter Bern OIE NRL	2009.	GSE	Prionics WB, PrionicsPrio STRIP	1	100 %
Neurocenter Bern OIE NRL	2010.	GSE	Prionics WB, PrionicsPrio STRIP	1	100 %
Neurocenter Bern OIE NRL	2011.	GSE	Prionics WB, PrionicsPrio STRIP	1	100 %
Neurocenter Bern OIE NRL Animal Health and Veterinary Laboratories Agency (AHVLA), EURL, UK	2012.	GSE Grebež	Prionics WB, PrionicsPrio STRIP BSE-Scrapie IDEXX HerdChek	3	100 %
Neurocenter Bern OIE NRL Animal Health and Veterinary Laboratories Agency (AHVLA), EURL, UK	2013.	GSE, Grebež	Prionics WB, PrionicsPrio STRIP BSE/Scrapie IDEXX HerdChek Interpretacija histoloških i imunokemijskih preparata	6	100 %
Neurocenter Bern OIE NRL Animal Health and Veterinary Laboratories Agency (AHVLA), EURL, UK	2014.- 2018.	GSE, Grebež	Prionics WB, PrionicsPrio STRIP BSE/Scrapie IDEXX HerdChek Interpretacija histoloških i imunokemijskih preparata Tehnička provjera imunohistokemijske reakcije uz interpretaciju rezultata Genotipizacija (real-time PCR)	37	100 %
Neurocenter Bern OIE NRL Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, (IZSTO), EURL, IT	2019.- 2021.	GSE, Grebež	TFS WB, TFS Prio STRIP TeSeE Western blot (BIORAD) BSE/Scrapie IDEXX HerdChek Interpretacija histoloških i imunokemijskih preparata Tehnička provjera imunohistokemijske reakcije uz interpretaciju rezultata Genotipizacija	13	100 %

Tabela 2. Prikaz pretraženih goveda od 2001. do kraja 2021. u Laboratoriju za TSE

Vrsta klanja	Starija od 24 (30) mjeseci	Mlađa od 24 (30) mjeseci	Bolesne	Prisilno klanje	Eutana-zirane	Uginule	UKUPNO
Godina							
2001.	9.176	8	222	309	0	13	9.728
2002.	14.986	25	410	501	0	50	15.972
2003.	11.670	7	724	603	0	131	13.135
2004.	13.417	5	866	509	0	304	15.101
2005.	14.914	3	477	698	0	632	16.724
2006.	22.622	10	696	731	5	3.366	27.430
2007.	19.323	0	402	240	0	5.046	25.011
2008.	17.403	0	809	496	0	6.219	24.927
2009.	24.927	0	863	778	7	7.703	34.278
2010.	35.869	0	855	555	26	10.121	47.426
2011.	33.253	0	739	632	14	8.736	43.374
2012.	27.914	0	606	1.144	6	7.506	37.176
2013.	28.866	0	2	1.146	6	6.551	36.571
2014.	27.028	0	6	832	7	6.173	34.046
2015.	22.100	0	0	361	1	6.983	29.445
2016.	12.327	0	0	403	1	5.880	18.611
2017.	184	0	0	198	0	4.735	5.117
2018.	121	0	0	28	1	5.010	5.160
2019.	118	0	0	22	0	5.011	5.151
2020.	132	0	0	10	0	4.931	5.073
2021.	108	0	0	13	1	5.244	5.366
UKUPNO:	336.458	58	7.677	10.209	75	100.345	454.822

Uvidom u broj testiranih goveda i podrijetlo uzoraka u odnosu na kategoriju goveda koja su testirana, uočava se određeni nerazmjer u testiranju između broja uzoraka podrijetlom od zdravih zaklanih goveda i uzoraka podrijetlom od uginulih goveda (slika 3). Na početku provođenja testiranja broj uzoraka podrijetlom od uginulih goveda bio je izuzetno malen (svega 13 uzoraka u 2001. godini). Prekretnica u testiranju uginulih goveda bila je 2006. godina od

kada znatno raste broj testiranih uzoraka podrijetlom od uginulih goveda. Ovaj se porast povezuje s prvom sumnjom na GSE u Republici Hrvatskoj iz veljače iste godine 2006. Tada dostupnom analitičkom metodom u Laboratoriju je postavljena sumnja na GSE potvrđena i u tadašnjem EURL u Weybridge-u. Međutim, daljnjim pretraživanjem prema propisanoj shemi dijagnostike na GSE, EURL je dao konačni procjenu da se radi o negativnom rezultatu.



Slika 3. Prikaz broja zaklanih i uginulih goveda testiranih na GSE (2000.-2020.)

Zahvaljujući toj sumnji, značajno je podignuta svijest svih uključenih u nadziranje GSE-a te je već iste godine broj pretraženih uginulih goveda bio pet puta veći nego prethodne godine.

Druga važna prekretnica u broju testiranih uzoraka podrijetlom od zaklanih goveda je 2016. godina tijekom koje je program nadziranja GSE-a s obzirom na status države zanemarivog rizika od GSE-a, sukladno čemu prestaje pretraživanje goveda pri redovnom klanju za ljudsku prehranu revidiran, a dobna granica za pretraživanje goveda rizičnih skupina (uginula, usmrćena ili goveda zaklana iz nužde, odnosno koja pri *ante mortem* pregledu pokazuju znakove, na temelju kojih se može posumnjati da su zaražena ili pokazuju fiziološke ili funkcionalne poremećaje, uključujući poremećaje središnjeg živčanog sustava) pomiče s 24 mjeseca na 48 mjeseci starosti goveda.

Zbog toga se broj testiranih uzoraka podrijetlom od zaklanih goveda znatno smanjio. Broj uzoraka podrijetlom od uginulih goveda tijekom istog razdoblja prilično je konstantan (oko 5.000 uzoraka u godini) (Miškić, 2015.). Ukupno je u razdoblju od 2001. godine do kraja 2021. testirano 454.822 uzoraka podrijetlom od goveda (Tabela 2.).

Laboratorijskom dijagnostikom u Republici Hrvatskoj i u danas potvrđen nijedan pozitivan slučaj GSE-a. Eventualno dobivene laboratorijske sumnje eliminirane su dodatnim pretraživanjem drugim brzim testom i konfirmacijom pomoću metode Western-blot.

Za bolje razumijevanje odnosa GSE-a u Republici Hrvatskoj i u Europskoj uniji (EU), u Tabeli 4. prikazan je broj pozitivnih slučajeva TSE-a u zemljama članicama EU. Prema izvješću EFSA-e, u 2019. godini u cijeloj EU potvrđeno je ukupno sedam atipičnih slučajeva GSE-a i nijedan klasičan slučaj (EFSA, 2020.). Međutim, 2018. godine ponovo je potvrđen i klasičan slučaj GSE-a. S obzirom na dugu inkubaciju bolesti, vrlo je nezahvalno predviđati daljnji tijek i razvoj pojave klasičnog GSE-a te je sustavno praćenje jedini način kako se bolest može otkriti.

Dijagnostika grebeža u ovaca i koza

Već od 2002. godine temeljem propisa "Naredba o mjerama zaštite životinja od zaraznih nametničkih bolesti i njihovom

financiranju u 2002. godini" (Naredba, 2001.b), uvedeno je obvezno pretraživanje svih ovaca i koza na grebež ovaca, za životinje koje su starije od 12 mjeseci, a pokazuju kliničke znakove poremećaja središnjeg živčanog sustava ili neke druge znakove općeg promijenjenog zdravstvenog stanja. Iz Tablice 3. vidljivo je da je taj broj u početku provođenja Naredbe bio praktično zanemariv. Međutim, u "Naredbi o mjerama zaštite životinja od zaraznih nametničkih bolesti i njihovom financiranju u 2008. godini" (Naredbi, 2008.), uvedeno je testiranje

uginulih životinja (iz bilo kojeg razloga), kod redovnog klanja te od životinja s kliničkim znacima, a koje su starije od 18 mjeseci. To je dovelo do porasta broja testiranih životinja od 2010. godine na dalje. Vrhunac testiranja na grebež ovaca bio je 2012. godine kada je pretraženo 3.234 uzoraka moždanog tkiva ovaca i 864 uzoraka moždanog tkiva koza, odnosno ukupno 4.098 uzoraka. Već sljedeće godine, broj uzoraka je bio manji jer se pristupilo testiranju prema "Uputi o nadziranju ovaca i koza na grebež ovaca u Republici Hrvatskoj" u kojoj su unaprijed bila određena gospodarstva koja podliježu uzorkovanju (Ministarstvo poljoprivrede, 2013.).

Tablica 3. Prikaz pretraženih ovaca i koza od 2002. do kraja 2021. u Laboratoriju za TSE

VRSTA	OVCE	KOZE	UKUPNO
Godina			
2002.	21	6	27
2003.	11	5	16
2004.	22	4	26
2005.	7	1	8
2006.	2	3	5
2007.	9	0	9
2008.	8	0	8
2009.	59	5	64
2010.	912	57	969
2011.	2.290	624	2.914
2012.	3.234	864	4.098
2013.	1.118	227	1.345
2014.	1.743	624	2.367
2015.	1.618	508	2.126
2016.	1.758	348	2.106
2017.	1.478	353	1.831
2018.	1.390	322	1.712
2019.	1.353	332	1.685
2020.	1.586	412	1.998
2021.	1.506	512	2.018
UKUPNO	20.125	5.207	25.332

Od 2018. godine, uzorkovanje ovaca i koza provodi se prema "Programu nadziranja ovaca i koza na grebež ovaca u Republici Hrvatskoj u 2018. godini" (Ministarstvo poljoprivrede, 2018.). Programom je predviđeno aktivno nadziranje grebeža ovaca, s godišnjim uzorkovanjem namanje 1.500 uzoraka od uginulih i/ili usmrćenih ovaca i do 500 uzoraka uginulih i/ili koza starijih od 18 mjeseci.

U Tabela 3. je vidljivo da je od 2002. godine do kraja 2021. ukupno pretraženo 20.125 uzoraka moždanog tkiva ovaca i 5.207 uzoraka moždanog tkiva koza, ukupno 25.332 uzoraka.

Prilikom navedenih testiranja, Laboratorij za TSE-e Hrvatskog veterinarskog instituta nije dokazan niti jedan slučaj klasičnog grebeža ovaca, već su dokazana četiri slučaja atipičnog grebeža. Prvi slučaj je utvrđen 2013. godine. Uzorak pozitivan na brzom testu u Laboratoriju za TSE podrijetlom od uginule ovce uzorkovan u okviru „Programa nadziranja ovaca i koza na grebež ovaca“, solčavsko-jezerska pasmine, stare sedam godina potvrđen je kao atipični grebež ovaca u EUURL Weybridge, UK.

Drugi slučaj je iz 2015. godine. Radilo se također o uginuloj životinji

koja je uzorkovana prema „Programu nadziranja ovaca i koza na grebež ovaca“, pasmine *njemačka merino* ovca, staroj 11 godina. Uzorak je reagirao pozitivno na brzom testu u Laboratoriju za TSE (HVI) te naknadno u EURL potvrđen kao atipični grebež ovaca. Genotipizacijom prion-proteinskog gena (PRNP gena), utvrđen je genotip ALRQ/AFRQ. Taj genotip pripada skupini životinja koje su genetički slabo otporne na grebež, a karakterističan je i za atipični grebež (Fediaevsky i sur., 2010.).

S obzirom da je atipični grebež ovaca potpuno odvojena bolest od klasičnog grebeža ovaca i smatra se sporadičnom pojavom u starijih životinja (Simmons i sur., 2009., Grenlee, 2019.), dokazivanje atipičnih slučajeva nema isto značenje kao dokazivanje klasičnog grebeža ovaca u smislu provođenja obveznih mjera kontrole ove bolesti.

Treći i četvrti slučajevi atipičnog grebeža ovaca utvrđeni su 2021. godine. Oba uzorka podrijetlom su od uginulih životinja uzorkovanih prema „Programu nadziranja ovaca i koza na grebež ovaca“. Prva ovca utvrđena je u listopadu 2021. Radilo se o ovci *solčavsko-jezerske* pasmine, staroj 8 godina. Drugi uzorak utvrđen je u studenom 2021. Pozitivna ovca bila je stara 16 godina, pasmine *njemačka merino* ovca. Oba slučaja potvrđena su u EURL. Utvrđivanje genotipa na PRNP genu pokazalo je da je životinja *solčavsko-jezerske* pasmine imala ALRR/ALHQ genotip. Taj genotip spada u skupinu životinja koja su genetički otporne na grebež i zato on nije karakterističan genotip za atipični grebež, ali je moguć (Fediaevsky i sur., 2010.). U zadnjem slučaju atipičnog grebeža kod životinje pasmine *njemačka merino* ovca, utvrđen je na PRNP genu AFRQ/ALRQ genotip. Taj genotip spada u skupinu genetički slabo otpornih životinja na grebež i karakterističan je za atipični grebež.

Iako u Republici Hrvatskoj nije dokazan klasičan grebež, situacija u EU

je puno ozbiljnija. Tako je 2019. godine utvrđeno 911 pozitivnih slučajeva klasičnog grebeža u ovaca i 379 pozitivnih slučajeva klasičnog grebeža u koza (Tablica 4.). Atipični grebež u ovaca utvrđen je u 86 životinja, dok je atipični grebež koza utvrđen u 11 koza (EFSA, 2020.).

„Naredbom o mjerama zaštite zdravlja životinja od zaraznih i nametničkim bolesti i njihovim financiranju u 2021.“ (Naredba, 2021.), između ostaloga, određeno je da na grebež ovaca moraju biti pretražene sve ovce i koze starije od 18 mjeseci koje su pokazivale kliničke znakove bolesti uključujući poremećaje središnjeg živčanog sustava, odnosno znakove bolesti uočene tijekom patoanatomske pretrage, kao i uginule ovce i koze starije od 18 mjeseci, sukladno „Programu nadziranja ovaca i koza na grebež ovaca u Republici Hrvatskoj u 2021. godini“ (Ministarstvo poljoprivrede, 2021.a). Navedena mjera financira se iz državnog proračuna. Istom Naredbom određeno je i da gospodarstvo s ovcama i kozama može ostvariti status gospodarstva sa zanemarivim/kontroliranim rizikom u odnosu na klasični grebež ovaca ukoliko je ispunilo uvjete u skladu s „Programom o dodjeljivanju statusa gospodarstva u odnosu na klasični grebež ovaca u Republici Hrvatskoj u 2021. godini.“ (Ministarstvo poljoprivrede, 2021.b). Uvjet za nesmetan EU promet, odnosno premještanje živih životinja u druge države članice EU (rasplodnih ovaca i koza za daljnji uzgoj-tov) je zdravstveni status gospodarstva u odnosu na klasični grebež. S obzirom da se predmetni Program provodi na dragovoljnoj osnovi i na zahtjev posjednika, pojedine troškove za dodjelu statusa sukladno tome također podmiruje posjednik. Uzevši u obzir slab interes hrvatskih proizvođača za premještanje ovaca i koza u druge države članice EU, trenutno u Hrvatskoj ne postoji nijedno

Tabela 4. Prikaz ukupnog broja pozitivnih slučajeva TSE-a u zemljama članicama EU do 2019. (preuzeto iz EFSA, 2020.)

TSE		Ukupan broj pozitivnih slučajeva do 2014.	2015.	2016.	2017.	2018.	2019.	Ukupno
GSE	Klasični	190.001	2	1	0	1	0	190.005
	Atipični	108	3	4	6	3	7	131
Grebež (Ovce)	Klasični	17.395	581	563	839	820	911	21.109
	Atipični	2.088	125	120	94	113	86	2.626
Grebež (Koze)	Klasični	9.806	1.040	621	558	517	379	12.921
	Atipični	121	14	13	9	6	11	174
UKUPNO		219.519	1.765	1.322	1.506	1.460	1.394	226.966

gospodarstvo s dodijeljenim statusom i nijedno gospodarstvo u postupku dodjeljivanja statusa.

Zaključak

Sustavno pretraživanje uzoraka podrijetlom od goveda započelo je u svibnju 2001. godine. Do kraja studenog 2021. godine, ukupno je pretraženo 454.822 uzoraka goveda te nije potvrđen niti jedan pozitivan slučaj GSE-a.

Budući da je nadziranje GSE-a bilo uspostavljeno sukladno EU propisima i OIE preporukama te obzirom na broj pretraženih uzoraka, s velikom sigurnošću se može zaključiti da od 2001. godine GSE nije bio prisutan u populaciji goveda u Republici Hrvatskoj, ali nije moguće isključiti da je bolest (možda) bila prisutna i prije početka nadziranja, ali u vrlo niskoj prevalenciji. S obzirom na karakteristike ove bolesti, posebno vrlo dugu inkubaciju, potrebno je i dalje provoditi odgovarajuće nadziranje, primjenjivati propisane mjere te održavati visoku razinu svijesti o ovoj bolesti.

Pretraživanje ovaca i koza u Republici Hrvatskoj na grebež ovaca započelo je 2002. godine. Do kraja studenog 2021. godine ukupno je pretraženo 25.332 uzoraka moždanog tkiva ovaca i koza

i nije pronađen niti jedan pozitivan slučaj klasičnog grebeža ovaca. U četiri navrata (2013., 2015. te dva puta u 2021. godini), utvrđen je atipični grebež u ovaca, a budući da se radi o atipičnim slučajevima koji se tretiraju kao zasebne bolesti u odnosu na klasični grebež, njihovo značenje nije tako veliko u odnosu na provođenje obveznih mjera kontrole. Prema zadnjem izvješću EFSA-e iz 2019. godine, vidljiva je značajna prisutnost klasičnog grebeža ovaca u EU (EFSA, 2020., Tabela 4.). S obzirom na tu činjenicu, potrebno je i dalje nastaviti njegovo nadziranje. Višom razinom svijesti o grebežu pridonijelo bi se uključivanju većeg broja stada ovaca za ostvarivanje statusa u odnosu na grebež, čime bi zbog većeg broja pretraženih uzoraka ujedno dobili i jasniju epidemiološku sliku o grebežu ovaca u Republici Hrvatskoj.

Literatura

1. ACINGER-ROGIĆ, Ž., B. ŠOŠTARIĆ, S. ŠEPAROVIĆ i Ž. MIHALJEVIĆ (2010): Propisi i neke aktivnosti vezane uz problematiku transmisivnih spongiformnih encefalopatija (TSE-a) u Republici Hrvatskoj. Vet. stn. 41, 117-126.
2. AGUZZI, A. (2001): Recent developments in the pathogenesis, diagnosis and therapy of prion diseases. Dialog. Clin. Neuro. 3, 25-36. 10.31887/DCNS.2001.3.1/aaguzzi

3. AGUZZI, A. and A. M. CALELLA (2009): Prions: protein aggregation and infectious diseases. *Physiol. Rev.* 89, 1105-1152. 10.1152/physrev.00006.2009
4. BELAY, E. D. (1999): Transmissible spongiform encephalopathies in humans. *Ann. Rev. Microbiol.* 53, 283-314. 10.1146/annurev.micro.53.1.283
5. BROWN, P. and R. BRADLEY (1998): 1755 and all that: a historical primer of transmissible spongiform encephalopathy. *BMJ* 317, 19-26. 10.1136/bmj.317.7174.1688
6. CASALONE, C. and J. HOPE (2018): Atypical and classical bovine spongiform encephalopathy. In: POCCHIARI, M. and J. MANSON.: *Handbook of Clinical Neurology*. Elsevier, Netherlands (121-134). 10.1016/B978-0-444-63945-5.00007-6
7. CASSARD, H., J.-M. TORRES, C. LACROUX et al. (2014): Evidence for zoonotic potential of ovine scrapie prions. *Nat. Commun.* 5:5821. doi: 10.1038/ncomms6821 10.1038/ncomms6821
8. DU PLESI, D. G. (2008): Prion protein disease and neuropathology of prion disease. *Neur. Clin. Nor. Am.* 18, 163-182. 10.1016/j.nic.2007.12.003
9. EC (2001): Uredba komisije br. 999/2001 od 22. svibnja 2001. o utvrđivanju pravila za sprečavanje, kontrolu i iskorjenjivanje određenih transmisivnih spongiformnih encefalopatija. *Off. J. Eur. Commun.* L147, 3-42.
10. EC (2014): Provedbena odluka komisije o izmjeni Odluke 2007/453/EZ o utvrđivanju GSE statusa Bugarske, Estonije, Hrvatske, Latvije, Luksemburga, Mađarske, Malte, Poljske i Slovačke. *Off. J. Eur. Commun.* L302, 58-61.
11. EFSA (2015): Scientific Opinion on a request for a review of a scientific publication concerning the zoonotic potential of ovine scrapie prions. *EFSA J.* 13(8): 4197, 1-58. 10.2903/j.efsa.2015.4197
12. EFSA (2020): The European Union summary report on surveillance for the presence of transmissible spongiform encephalopathies (TSE) in 2019. *EFSA J.* 18(11):6303 doi:org/10.2903/j.efsa.2020.6303 10.2903/j.efsa.2020.6303
13. FEDIAEVSKY, A., D. CALAVAS, P. GASKUI, K. MOAZAMI-GOUDARZI, P. LAURENT, J.-N. ARSAC, C. DUCROT and C. MORENO (2010): Quantitative estimation of genetic risk for atypical scrapie in French and potential consequences of the current bleeding programme for resistance to scrapie on the risk of atypical scrapie. *Gen. Sel. Evol.* 42, 1-14. 10.1186/1297-9686-42-14
14. GAJDUSEK, D. C., C. J. M. GIBBS and M. ALPERS (1966): Experimental transmission of a kuru-like syndrome to chimpanzees. *Nature* 209, 794-796. 10.1038/209794a0
15. GOLDFARB, L. G. and M. D. P. BROWN (1995): The transmissible spongiform encephalopathies. *Ann. Rev. Med.* 46, 56-65. 10.1146/annurev.med.46.1.57
16. GRASSI, J., S. MAILLET, S. SIMON and N. MOREL (2008): Progress and limits of TSE diagnostic tool. *Vet. Res.* 39, 2-12. 10.1051/vetres:2008009
17. GREENLEE, J. J. (2019): Review: Update on classical and atypical scrapie in sheep and goats. *Vet. Path.* 56, 6-16. 10.1177/0300985818794247
18. HEDGE, R. S., J. A. MASTRIANNI, M. R. SCOTT, K. A. DEFEA, P. TREMBLAY, M. TORCHIA, S. J. DEARMOND, S. B. PRUSINER and V. R. LINGAPPA (1998): A transmembrane from the prion protein in neurodegenerative disease. *Science* 279, 827-834. 10.1126/science.279.5352.827
19. HUNTER, N. (2007): Scrapie-uncertainties, biology and molecular approaches. *Biochim. Biophys. Acta.* 1772, 619-628. 10.1016/j.bbadis.2007.04.007
20. JUKIĆ, B., M. BRSTILO, M. LOJKIĆ, B. ŠOŠTARIĆ i B. NJARI (2001): Prionske bolesti-trajna opasnost. Veterinarski dani 2001 (Opatija, 17.-20. listopada). Zbornik radova (ur. Balenović, T.), HVK 2001, str. 13-25.
21. KUPFER, L., W. HINRICHES and M. H. GROSCHUP (2009): Prion protein misfolding. *Curr. Molec. Med.* 9, 826-835. 10.2174/156652409789105543
22. LEE, J., S. Y. KIM, K. J. HWANG, Y. RAN JU and H.-J. WOO (2013): Prion diseases as transmissible zoonotic diseases. *Osong. Pub. Heal. Res. Persp.* 4, 57-66. 10.1016/j.phrp.2012.12.008
23. LIBERSKI, P. P., A. GAJOS, B. SIKORSKA and S. LINDENBAUM (2019): Kuru, the first human prion disease. *Viruses* 11, 232-257. 10.3390/v11030232
24. LINDEN, R. (2017): The biological function of the prion protein. A cell surfaces scaffold of signaling modules. *Front. Mol. Neurosci.*, 1-19. 10.3389/fnmol.2017.00077
25. LUKAN, A., T. VRANAC and V. ČURIN ŠERBEC (2013): TSE Diagnostic: Recent advances in immuno assaying prions. *Clin. Devel. Immun.* 2013: 360604. 10.1155/2013/360604
26. Ministarstvo poljoprivrede (2013): Uputa o nadziranju ovaca i koza na grebež ovaca u Republici Hrvatskoj (Klasa: 322-02/13-01/167, Urbroj: 525-10/0595-13-2).
27. Ministarstvo poljoprivrede (2018): Program nadziranja ovaca i koza na grebež ovaca u Republici Hrvatskoj u 2018. godini (Klasa: 322-02/17-01/130).
28. Ministarstvo poljoprivrede (2021a): Program nadziranja ovaca i koza na grebež ovaca u Republici Hrvatskoj u 2021. godini (Klasa: 322-02/20-01/53).
29. Ministarstvo poljoprivrede (2021b): Program o dodjeljivanju statusa gospodarstva u odnosu na klasični grebež ovaca u Republici Hrvatskoj u 2021. godini (Klasa: 322-02/20-01/54).
30. MIŠKIĆ, T. (2015): Kontrola i iskorjenjivanje transmisivnih spongiformnih encefalopatija - strategija provedba mjera u budućnosti. Veterinarski dani 2015 (Opatija, 20.-23. listopada). Zbornik radova (ur. Harapin, I.), HVK 2015, 11-15.
31. Naredba (2000): Naredba o mjerama zaštite životinja od zaraznih i nametničkih bolesti i njihovom financiranju u 2001. godini. *N. N.* 132.
32. Naredba (2001a): Naredba o obaveznom pretraživanju goveda na prisutnost uzročnika govede spongiformne encefalopatije (GSE). *N. N.* 45.
33. Naredba (2001b): Naredba o mjerama zaštite životinja od zaraznih i nametničkih bolesti i njihovom financiranju u 2002. godini. *N. N.* 118.
34. Naredba (2008): Naredba o mjerama zaštite životinja od zaraznih nametničkih bolesti i njihovom financiranju u 2008. godini. *N. N.* 151.
35. Naredba (2021): Naredba o mjerama zaštite zdravlja životinja od zaraznih i nametničkim bolesti i njihovim financiranju u 2021. *N. N.* 2.
36. OIE (2021): Terrestrial Animal Health Code. World Organization for Animal Health.
37. PRUSINER, S. B. (1982): Novel proteinaceous infection particles cause Scrapie. *Science* 216, 136-144. 10.1126/science.6801762
38. RAMLJAK, S., N. BILANDŽIĆ, Ž. MIHALJEVIĆ i B. ŠOŠTARIĆ (2001): Prikaz razvoja novih brzih tehnika za dijagnostiku govedeg spongiformnog

- encefalitisa. Veterinarski dani 2001 (Opatija, 17.-20. listopada). Zbornik radova (ur. Balenović, T.), HVK 2001, 36-37.
39. Rješenje (2020): Rješenje Ministarstva poljoprivrede Klasa: UP/I-322-01/18-01/39; Ur. broj: 525-10/1304-20-4, Hrvatski veterinarski institut odnosno laboratoriji u sustavu instituta i njegovih zavoda ovlašteni kao referentni laboratoriji u području provedbe veterinarske djelatnosti, 15. lipanj 2020. Klasa: UP/I-322-01/18-01/39, Urbroj: 525-10/1304-20-4).
40. SABATE, R., F. ROUSSEAU, J. SCHYMKOWITZ, K. BATLLE and S. VENTURA (2015): Amyloids or prions? That is the question. *Prion*. 9, 200-206. 10.1080/19336896.2015.1053685
41. SIMMONS, H. A., M. M. SIMMONS, Y. SPENCER, M. CHAPLIN, G. POVEY, A. DAVIS, A. ORTIZ-PELAEZ, N. HUNTER, D. MATTHEWS and A. WRATHALL (2009.) Atypical scrapie in sheep from a UK research flock which is free from classical scrapie. *BMC Vet. Res.* 5:8. 10.1186/1746-6148-5-8
42. SMITH, P. G. and R. BRADLEY (2003): Bovine spongiform encephalopathies and its epidemiology. *British. Med. Bull.* 66, 185-198. 10.1093/bmb/66.1.185
43. ŠEPAROVIC, S. (2020): Analiza sustava kontrole govede spongiformne encefalopatije u Republici Hrvatskoj i procjena javnozdravstvenih rizika. Disertacija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
44. ŠOSTARIĆ, B. i Ž. MIHALJEVIĆ (2010): Transmisivne spongiformne encefalopatije (TSE). *Vet. stn.* 41, 57-63.

Monitoring of transmissible spongiform encephalopathies in the Republic of Croatia

Karmen BRANOVIĆ ČAKANIC, Mag. Med. Biochem., PhD, Scientific Associate, Branko ŠOSTARIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor Tenure in Retirement, Željko MIHALJEVIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor Tenure, Šimun NALETILIĆ, DVM, Nina BILANDŽIĆ, DVM, BSc, Scientific Advisor Tenure, Croatian Veterinary Institute, Zagreb, Croatia; Dunja VLAHOVIĆ, DVM, PhD, Faculty of Veterinary Institute University of Zagreb, Croatia; Antonela BAGARIĆ, DVM, Andreja JUNGIC, DVM, PhD, Dragan BRNIC, DVM, PhD, Senior Scientific Associate, Katja VRETENAR ŠPIGELSKI, DVM, Croatian Veterinary Institute, Zagreb, Croatia; Tihana MIŠKIĆ, DVM, Tomislav KIŠ, DVM, Žaklin ACINGER ROGIĆ, DVM, Ministry of Agriculture, Directorate for Veterinary and Food Safety, Zagreb, Croatia; Sanja ŠEPAROVIC, DVM, PhD, Independent Consultant, Director, Altmond d.o.o. Zagreb, Croatia

Transmissible spongiform encephalopathies are a group of rare and progressive neurodegenerative disorders that affect humans and animals. Transmissible spongiform encephalopathies are caused by a transmissible agent called a prion (*proteinaceous infectious particle*). Although these infections typically remain asymptomatic for a long time, the disease is always progressive with an inevitably lethal outcome. Transmissible spongiform encephalopathies include: classical and atypical bovine spongiform encephalopathy, classical and atypical scrapie in sheep and goats, chronic wasting disease, transmissible mink encephalopathy, feline spongiform encephalopathy, Creutzfeldt-Jakob disease, variant Creutzfeldt-Jakob disease, Gerstmann-Sträussler-Scheinker syndrome, Fatal familial insomnia, and kuru. Transmissible spongiform encephalopathy in sheep was first recognised almost three centuries ago and the disease was widely studied during the 20th century. The bovine spongiform encephalopathy epidemic in the United Kingdom in the mid-1980s prompted more extensive research, which led to the discovery that the causative agent of disease is a protein-

aceous particle called a prion. A prion is a normal cellular protein found mostly on the surface on neurons and other cells throughout the body, but transforms to cause disease as the result of changes in the biochemical process during protein synthesis, though this process has been poorly understood. This article presents the results of monitoring of transmissible spongiform encephalopathies in Croatia from 2001 until the end of 2021. Systematic monitoring of bovine spongiform encephalopathy began in 2001, while monitoring for scrapie began in 2002. Until the end of 2021, 454,822 samples of bovine brain tissue were tested and no positives were found. In scrapie monitoring, 25,332 brain tissue samples were screened and no positives to classical scrapie were found, however four atypical scrapie cases in sheep were detected. Based on all implemented activities and bovine spongiform encephalopathy surveillance, the Republic of Croatia achieved the status of bovine spongiform encephalopathy negligible risk, the highest possible status according to the World Organization for Animal Health.

Key words: TSE, BSE, scrapie