

Rizici od otrovanja domaćih životinja zmijskim otrovima (ophitoxemia) u Republici Hrvatskoj

Maja Lang Balića¹, Marija Brgles¹, Beata Halassy¹

¹Sveučilište u Zagrebu, Centar za istraživanje i prijenos znanja u biotehnologiji,
Rockefellerova 10, Zagreb

Sažetak

Otrovanja zmijskim otrovima (grč. *ophitoxemia*) predstavljaju problem i u humanoj i u veterinarskoj medicini. Morbiditet od zmijskih ugriza je visok, uz relativno nizak mortalitet. U veterinarskoj medicini klinička slika otrovanja zmijskim otrovom vrlo se teško prepoznaje, pa često blaže i umjerene simptome otrovanja vlasnici životinja pripisuju nekom drugom uzroku. Od 16 vrsta zmija koje žive na području Republike Hrvatske najveći rizik od otrovanja zmijskim otrovom za životinje i ljude predstavljaju ugrizi poskoka (*Vipera ammodytes*) i riđovke (*Vipera berus*). Ovaj rad ima za cilj dati pregled postojećih znanja glavnih rizika od ugriza zmija otrovnica na području Republike Hrvatske, opisati biologiju i ponašanje otrovnica zastupljenih u Republici Hrvatskoj, te ukratko navesti glavne komponente njihovog otrova koji su odgovorni za epidemiologiju i razvoj kliničkih znakova u domaćih životinja uz moguće posljedice i komplikacije zmijskih ugriza.

Ključne riječi: zmije, otrov, domaće životinje, Republika Hrvatska

Uvod

U Republici Hrvatskoj živi 16 vrsta zmija od kojih je dvanaest iz porodica guževa (*Colubridae*), tri iz porodice ljutica (*Viperidae*) i jedna iz porodice sljeperica (*Typhlopidae*). Otrovnice su iz porodice ljutica, dok je preostalih 13 neotrovno i gotovo bezopasno. Pravilnikom o strogo zaštićenim vrstama (NN 144/13) u Republici Hrvatskoj je zaštićeno 10 vrsta zmija iz porodice *Colubridae* i 2 vrste zmija iz porodice *Viperidae*. Rizik od otrovanja domaćih životinja zmijskim otrovima (ophitoxemia) povezan je s geografskom rasprostranjenosti zmija otrovnica, njihovom aktivnošću u pojedinom periodu, a klinička slika o dubini ugriza, količini ispuštenog otrova i njegovom sastavu.

Karakteristike i rasprostranjenost otrovnica u Republici Hrvatske

Ljutice (*Viperidae*) pripadaju skupini tzv. cjevozubica (lat. solenoglyphae). Imaju vrlo razvijeni otrovni aparat koji se sastoji se od otrovne i pomoćne žlijezde (modificirane slinovnice), okružene kanalom koji iznad zuba tvori džep. Otrovnica žlijezda može pohraniti znatnu količinu otrova pa ovaj mehanizam djeluje poput brizgalice i injekcijske igle. Cjevasti zubi, kada nisu u upotrebi, sklopljeni su u gornjoj čeljusti, u zaštitnom naboru sluznice. Ljutice (*Viperidae*) su u Republici Hrvatskoj zastupljene s tri vrste: poskok (*Vipera ammodytes* (Linnaeus, 1758)), riđovka (*Vipera berus* (Linnaeus, 1758)) i planinski žutokrug (*Vipera ursinii* (Bonaparte, 1835)) (ANON, 2018.; JELIĆ i sur., 2012., 2013.) (Tablica 1.)

Poskok (*Vipera ammodytes* L.) je jedna od najvećih ljutica jugoistočnog dijela Europe, a Republici Hrvatsku nastanjuje podvrsta *V. a. ammodytes*. Odrasle jedinke rijetko premašuju 85 cm, s tim da su mužjaci nešto veći od ženki, maksimalno do 110 cm (DE SMET, 2004.; osobno iskustvo). Naša podvrsta na trokutastoj glavi ima karakterističan roščić usmjeren prema naprijed. Varijabilnost u temeljnoj boji tijela je vrlo izražena, od svijetlo sive do crne, preko žute do tamno smeđe. Kod mužjaka je uzorak na glavi izraženiji nego kod ženki. Tamna, vijugava cik-cak pruga proteže se duž cijelih leđa, a rijetko može biti i isprekidana. Vrh repa je s donje strane obojen crveno ili narančasto, što je isto karakteristika ove podvrste. Živi na svim nadmorskim visinama, od razine mora do najviših vrhova planina (do 1 800 m n/v). Njegova

prirodna staništa su poluotvorena suha, osunčana krška staništa. **Riđovka (*Vipera berus* L.)** je kao najrasprostranjenija otrovnica Europe u kontinentalnim krajevima Republike Hrvatske zastupljena sa dvije podvrste: *V. b. berus* koja nastanjuje planinske predjele (800 – 1600 m n/v) Gorskog kotara (tzv. „talijanski/alpski haplotip“) i *V. b. bosniensis* koja obitava u nizinama (0 - 400 m n/v) velikih rijeka (Save, Drave, Mure i Dunava) i vrlo rijetko na planinskom lancu Dinare (JELIĆ i sur., 2013.). Odrasla riđovka naraste oko 60 - 70 centimetara. Tijelo joj je kratko, korpulentnije, deblje od ostalih otrovnica. Mužjaci su uglavnom manji, elegantniji. Planinske populacije uglavnom su manje od nizinskih. Glava je široka i vidljivo odvojena od vrata. Zbog šara na glavi vrlo ju se često zamjenjuje s neotrovnom smukuljom (*Coronella austriaca*), ali od nje se razlikuje po okomitoj zjenici i izgledu pločica na glavi, te uočljivom redu bijelih nadusnih ljuski. Osnovna boja tijela može biti od sive i smeđe, preko smeđe-žute i crvenkaste, pa do sasvim crnih primjeraka kod kojih cik-cak pruga nije ni vidljiva (JELIĆ i sur. 2012). Može ju se vidjeti na raznim vrstama staništa. Općenito za razliku os poskoka naseljava vlažnija staništa. Većinu dana miruje, a najaktivnija je u sumrak kad lovi. Iako veći dio vremena provodi na kopnu, vrlo dobro pliva pa joj se i prehrana sastoji od malih sisavaca, žaba i guštera. **Planinski žutokrug (*Vipera ursinii*)** čini kompleks planinskih i nizinskih podvrsta koje danas obitavaju na vrlo fragmentiranim lokalitetima. Populacija koja je teritorijalno odvojena u sjeverozapadnom dijelu krškog područja Dinarida jest i genetski odvojena od ostalih populacija vrste i čini zasebni haplotip najbližnji zapadnoeuropskoj nominalnoj podvrsti (FERCHAUD i sur. 2012), još neopisanu podvrstu, *V. ursinii* ssp.. Planinski žutokrug je najmanja europska zmija otrovnica prosječne veličine do 54 cm. Glava je jasno odvojena od vrata, a tijelo je kratko i zdepasto kao i kod ostalih otrovnica. Na osnovnom svijetlo sivosmeđem do žutom obojenju ističe se tamna cik-cak šara duž leđnog dijela tijela, na prvi pogled je slična riđovki. Živi na planinskim rudinama i uglavnom se hrani kukcima (zrikavcima i skakavcima), a odrasle jedinke vjerojatno i gušterima te sitnim sisavcima.

Sve naše ljutice tijekom zime hiberniraju dok se dnevna temperatura ne ustali na više od 10 °C. Na proljeće prvo izlaze mužjaci, 2-3 tjedna prije ženki. To je važno zbog poticanja spermatogeneze. Tijekom travnja i svibnja okupljaju se radi parenja. Graviditet traje do 120 dana, kada ženke izlegu žive mlade (ovoviviparne) koji odmah po izvali napuštaju majku i spremni su za samostalan život. Otrovnice su aktivne danju (proljeće i jesen), dok su ljeti aktivnije u jutarnjim satima i u sumrak kad su temperature niže. Kad su uznemirene ili ugrožene prvo palucaju jezikom i glasno sikću, a tek onda se brane ugrizom. Poskok je u pravilu spora i troma zmija, dok su riđovka i planinski žutokrug aktivniji.

Pojavnost otrovanja i klinička slika

Razvoj i težina kliničke slike otrovanja uvelike ovisi o količini i sastavu ispuštenog otrova (Tablica 2.), dužini zuba i mjestu ugriza. Otrovnica ne mora uvijek ispustiti otrov i tada govorimo o suhom ugrizu (NAIK, 2017.). Prema količini i toksičnosti izlučenog otrova, i prema dužini zuba, poskok se smatra najotrovnijom zmijskom Europe. S druge strane riđovka je najraširenija otrovnica Europe. Stoga ove dvije ljutice predstavljaju značajan medicinski i veterinarski problem u Republici Hrvatskoj i Europi. Malobrojni su izvještaji koji opisuju kliničke znakove, kliničku patologiju, terapijski pristup i ishod liječenja životinja od posljedica zmijskih ugriza. SUTTON i sur. (2011.) su objavili opsežnu studiju o izgledu i težini kliničke slike otrovanja pasa nakon ugriza riđovke te o njihovom liječenju, na temelju prijavljenih slučajeva u Centar za prijavu otrovanja (Veterinary Poisons Information Service, Velika Britanija) u razdoblju od 25 godina. U studiji se navodi da je 2/3 pasa razvilo sustavne i lokalne promjene, a samo 1/3 lokalne. Antivenom je korišten u 55,9% slučajeva, nakon čega je vrlo brzo došlo do smanjenja lokalnog edema i ozdravljenja. Ustanovljeno je da je morbiditet vrlo visok (97% pasa razvije simptome bolesti), ali s niskim mortalitetom (4,6% je smrtnost nakon

ugriza). U Republici Hrvatskoj ne postoji sustavno praćenje i izvještavanje o ugrizima otrovnica. Jedinim podacima kojima raspolaže Ministarstvo zaštite prirode i energetike, Uprava za zaštitu prirode, bazira se na prijavama za naknadu štete koje su počinile zaštićene životinje. U periodu 2015 - 2017. godine za naknadu štete je prijavljeno 15 ugriza poskoka s područja Ličko-senjske i Zadarske županije (osobna komunikacija). Stoga smo za potrebe ovog rada proveli internetsko anketiranje 50-ak ambulanti diljem Republike Hrvatske, na koju je odgovorilo njih 40%. Takvom djelomičnom procjenom dobiveni su slični rezultati kakve navode i GODDARD i sur. (2011.). I u Republici Hrvatskoj su ugrizi domaćih životinja najčešći od proljeća i početkom ljeta, kada zmije postaju aktivne, s vrhuncem otrovanja tijekom ljeta do kasne jeseni. Najčešće žrtve otrovanja su psi i ovce, iako ima zabilježenih otrovanja mačaka, konja i krava. Pojavnost ugriza u Republici Hrvatskoj najveća je na područjima na kojima obitava poskok, dok na područjima distribucije riđovke ugrizi nisu zabilježeni. Ne postoji niti jedan opis kliničke slike otrovanja životinja otrovom poskoka. Iskustvo možemo graditi jedino na temelju komparacije i sličnosti kliničkih simptoma otrovanja životinja otrovom *V. b. berus* kod pasa (SUTTON i sur., 2011.) i/ili člancima koji opisuju kliničke simptome i liječenje kod ljudi. Ipak, treba imati na umu da otrov zmija otrovnica ne mora jednako djelovati u različitim životinjskim vrstama. Poznato je, naime, da u ljudi primarno djeluje hemoragički, remećenjem hemostaze, dok je npr. u miša dominantno neurotoksično djelovanje (KURTOVIĆ i sur., 2012.).

O otrovima i otrovanjima

Zmijski otrovi sadrže obilje različitih bioaktivnih molekula varijabilne toksičnosti i patofizioloških funkcija koje ostvaruju bilo pojedinačno, bilo u sinergiji s drugim molekulama u tom svom „koktelu“. Izražena heterogenost omogućuje im da pokažu izrazito širok spektar farmakoloških učinaka na različite organske sustave i životne funkcije plijena s krajnjim ciljem da ga onesposobe, usmrte i/ili probave. Analiza transkriptoma venomskih žlijezdi zmija iz porodice *Viperidae* (CALVETE, 2011.), te proteoma otrova poskoka (GEORGIEVA i sur., 2008.) i riđovke (LATINOVIĆ i sur., 2016.) upućuje da su u otrovima prisutni predstavnici najviše 15 različitih proteinskih obitelji. Enzimski aktivne komponente su fosfolipaze A₂ (eng. *phospholipase A₂*; PLA₂) iz grupe I ili II, Zn²⁺-ovisne metaloproteinaze, serinske proteinaze, oksidaze lijevih aminokiselina (eng. *L-amino acid oxidase*; LAAO) te acetilkolinesteraze, dok su katalitički inaktivne komponente prepoznate kao 3FTX (eng. *three-finger toxin*), α -neurotoksini, disintegrini, lektin C-tipa, natriuretski peptidi, miotoksini, sekrecijski proteini bogati cisteinom (eng. *cystein rich secretory protein*, CRIPS), faktor rasta živaca i krvožilnog endotela, te cisteini i inhibitori proteinaza Kunitzovog tipa. Opisani su neurotoksični, hemoragično, kardiotoksični ili citototoksični učinci ovakvih složenih koktela. Kakav će otrov zaista imati učinak ovisi o nizu faktora: količini ispuštenog otrova, mjestu ugriza, sastavu otrova, životinjskoj vrsti.

SDS PAGE analiza otrova svih podvrsta iz porodice *Viperidae* koje žive na području Republike Hrvatske (Slika 1.) pokazuje da postoje razlike u sastavu i zastupljenosti komponenata u pojedinim vrstama, o čemu ovise i biološki učinci (Tablica 2.) i težina kliničke slike. Osnovne proteinske obitelji na elektroforegramu označene prema MASKESSY (2010.). Naizgled se čini da je broj linija i intenzitet vrpce vrlo sličan između Vaa i Vbb otrova, no detaljnija analiza 2D elektroforezom uz identifikaciju masenom spektrometrijom (LATINOVIĆ i sur., 2016.) pokazala je da se razlikuju u gotovo 100 proteinskih točaka. Otrovi Vum od svih otrova ljutica s našeg područja sadrži najmanji broj proteinskih linija, ukazujući na najmanje složen sastav. Otrovi ove zmije je najslabije toksičnosti i hemoragičnosti, a i doza koju zmija kod ugriza ispušta je najmanja među otrovnicama (Tablica 2.). Stoga ova zmija ne predstavlja značajan medicinski problem. Interesantna je razlika između otrova podvrste *V.b. berus* i *V.b. bosniensis*. U otrovu Vbbos dominiraju proteini male molekulske mase, kamo pripadaju i neurotoksične i

miotoksične fosfolipaze. Takav nalaz je u skladu s pojavnosću neuroloških simptoma kod otrovanja ljudi nakon ugriza ove zmije (WESTERSTRÖM i sur., 2010.) za razliku od kliničke slike otrovanje Vbb otrovom gdje slikom dominiraju hemolitički simptomi (LATINOVIĆ i sur., 2016.).

Zaključak

Klinička slika otrovanja životinja zmijskim otrovom rijetko se prepoznaje, već često blaže i umjerene simptome otrovanja vlasnici pripisuju nekom drugom uzroku. Ne postoji niti jedan objavljeni opis kliničke slike otrovanja životinja otrovom poskoka. Ne postoje sustavni podaci o pojavnosti ugriza/otrovanja domaćih životinja u Republici Hrvatskoj.

Snake envenomation (*ophitoxemia*) of domestic animals in Croatia - risk factors

Abstract

Envenomation (gr. *ophitoxemia*) is a problem both in human and veterinary medicine. Morbidity is high, with relatively low mortality. In veterinary medicine, the clinical picture of envenomation with snake venom is very difficult to detect, and very often milder and moderate symptoms of envenomation are attributed to some other cause. Of the 16 species of snake living in Croatia, the largest risk of envenomation for animals and humans are the two most important types of snakes: long-nosed viper (*Vipera ammodytes* L.) and common European adder (*Vipera berus* L.). The purpose of this paper is to give a novel overview of the main risks of snake bites in Croatia, to describe the biology and behaviour of venomous snakes in Croatia, and to briefly list the main components of their venoms responsible for epidemiology and development of clinical signs in domestic animals with possible consequences and complications of snake bites.

Key words: snake, venom, domestic animals, Croatia

Popis literature

1. HALASSY B., M. BRGLES, L. HABJANEC, M. LANG BALIJA, T. KURTOVIĆ, M. MARCHETTI-DESCHMANN, I. KRIŽAJ, G. ALLMAIER (2011.): Intraspecies variability in *Vipera ammodytes ammodytes* venom related to its toxicity and immunogenic potential Comp. Biochem. Physiol. C 153, 223–230.
2. CALVETE J.J. (2011) Proteomic tools against the neglected pathology of snake bite envenoming. Expert Rev. Proteomics 8(6), 739–758.
3. DE SMEDT, J. (2006.) The Vipers of Europe, JDS Verlag, Halblach.
4. FERCHAUD A.-F., S. URSENBACHER., M. CHEYLAN, L. LUISELLI., D. JELIĆ, B. HALPERN, A. MAJOR, T. KOTENKO, N. KEYAN, R. BEHROOZ, J. CRNOBRNJA-ISAILOVIC, LJ. TOMOVIC, I. GHIRA, Y. IOANNIDIS, V. ARNAL, C. MONTGELARD (2012) Phylogeography of the *Vipera ursinii* complex (Viperidae): mitochondrial markers reveal an east–west disjunction in the Palaearctic region. Journal of Biogeography 39, 1836-1847
5. JELIĆ D., M. KULJERIĆ M., T. KOREN, D. TREER., D. ŠALAMON, M. LONČAR, M. PODNAR LEŠIĆ, B. JANEV HUTINEC, T. BOGDANOVIĆ, S. MEKINIĆ, K. JELIĆ (2012) Crvena knjiga vodozemaca i gmazova Hrvatske, Ministarstvo zaštite okoliša i prirode, Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb, pp 232

6. JELIĆ D., R. AJTIĆ, B. STERIJOVSKI, J. CRNOBRNJA-ISAILOVIĆ, S. LELO, LJ. TOMOVIĆ (2013) Distribution of the genus *Vipera* in the western and central Balkans. *Herpetozoa* 25 (3/4), 109-132
7. GEORGIEVA D., M. RISCH, A. KARDAS, F. BUCK, V. VON BERGEN, C. BETZEL C. (2008.) Comparative Analysis of the Venom Proteomes of *Vipera ammodytes ammodytes* and *Vipera ammodytes meridionalis*. *Journal of Proteome Research* 7, 866–886.
8. GODDARD A., J.P. SCHOEMAN, A.L. LEISEWITZ, S.S.NAGEL, I. AROCH (2011.) Clinicopathologic abnormalities associated with snake envenomation in domestic animals. *Vet Clin Pathol* 40/3, 282–292.
9. KURTOVIĆ, T., A. LEONARDI, M. LANG BALIJA, M. BRGLES, L. HABJANEC, I. KRIŽAJ, B. HALASSY (2012.) Standard mouse assay of antivenom quality does not measure antibodies neutralising the haemorrhagic activity of the *Vipera ammodytes* venom. *Toxicon* 59, 709-717.
10. LATINOVIĆ Z., A. LEONARDI, J. ŠRIBAR, T. SAJEVIĆ, M.C. ŽUŽEK, R. FRANGEŽ, B. HALASSY, A. TRAMPUŠ-BAKIJA, J. PUNGERČAR, I. KRIŽAJ (2016.) Venomics of *Vipera berus berus* to explain differences in pathology elicited by *Vipera ammodytes ammodytes* envenomation: Therapeutic implications. *Journal of Proteomics* 146 34–47.
11. MACKESSY, S.P. (2010.) The field of reptile toxinology: snake, lizards and their venoms. pp. 3-23. U: Mackessy, S.P. (ed.) *Handbook of venoms and Toxins of Reptiles*, Taylor&Francis, Boca Raton, London, New York,
12. NAIK B.S. (2017.) “Dry bite” in venomous snakes: A review. *Toxicon* 133:63-67
13. SUTTON N.M., A. BATES, A. CAMPBELL (2011.) Canine adder bites in the UK: a retrospective study of cases reported to the Veterinary Poisons Information Service. *Veterinary Record* 196,607.
14. UETZ, P. FREED, J. HOŠEK (ur.) The Reptile Database, <http://www.reptile-database.org/> (preuzeto 12.03.2018)
15. WESTERSTRÖM A., B. PETROV, N. TZANAKOV (2010.) Envenoming following bites by the Balkan adder *Vipera berus bosniensis* – First documented case series from Bulgaria. *Toxicon* 56, 1510-1515.

Tablica 1. Zastupljenost medicinski važnih zmija u Republici Hrvatskoj

naziv	vrsta / podvrsta	podvrste u Hrvatskoj	rasprostranjenost u Hrvatskoj	status ugroženosti
poskok	<i>Vipera ammodytes</i> L. <i>V.a. ammodytes</i> <i>V.a. meridionalis</i> <i>V.a. montandoni</i> <i>V.a. transcaucasiana</i>	<i>V.a. ammodytes</i>	cijeli mediteranski dio, Gorski Kotar, Lika, Kordun, SZ Hrvatskoj - južna padina Žumberak i Samoborsko gorje, Medvednica, Strahinjačica, Ivanščica i Kalnik, zatim Hrvatsko zagorje i Istra; otoci – nalaz potvrđen samo Krku, Pagu, Viru, Braču, Hvaru, Korčuli i Mljetu	NT ¹
ričovka	<i>Vipera berus</i> L. <i>V.b. berus</i> <i>V.b. bosniensis</i> <i>V.b. sachalinensis</i> <i>V.b. nikolskij</i>	<i>V.b. berus</i>	planinski predjeli Gorskog kotara te Velike i moguće Male Kapale	LC ²
		<i>V.b. bosniensis</i>	nizinski krajevi Hrvatske, u nizinama velikih rijeka (Sava, Drava, Mura i Dunava)	LC
planinski žutokrug (livadna ljutica)	<i>Vipera ursini</i> B. <i>V.u. macrops</i> <i>V.u. graeca</i> <i>V.u. moldavica</i> <i>V.u. rakosiensis</i>	<i>V. ursinii</i> ssp. (Cro)	strogo ograničeni lokaliteti: Južni Velebit, Poštak, Lisac, Dinara, Troglav i Kamešnica	EN ³ , VU ⁴ /endem

¹NT (eng. near threatened species) – gotovo ugrožena vrsta

²LC (eng. last concern species) – najmanje zabrinjavajuća

³EN (eng. endangered species) – ugrožena vrsta

⁴VU (eng. vulnerable species) – osjetljiva vrsta

Tablica 2. Podaci o letalnoj toksičnosti (LD₅₀ u µg), hemoragičnoj aktivnosti (MHD u µg), prosječnoj količini ispuštenog otrova, te dužini zuba ljutica s područja Republike Hrvatske

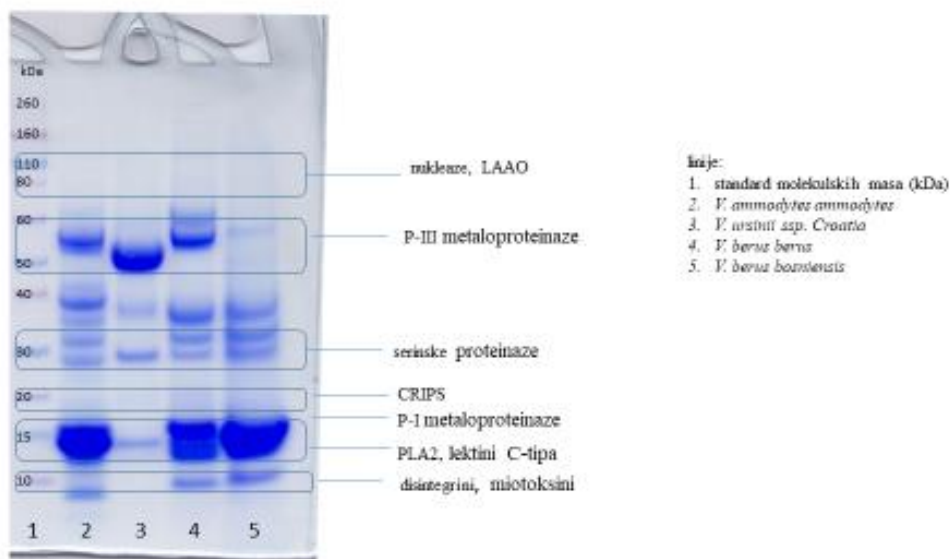
	<i>V. ammodytes ammodytes</i>	<i>V. ursinii</i> ssp. (CRO)	<i>V. berus berus</i>	<i>V. berus bosniensis</i>
LD ₅₀ (µg)	4,4 - 13,7 ¹	37,01 ± 0,05 (n=3) ²	11,1 - 12,9 ³	9,15 - 11,1 ⁴
MHD (µg)	21,6 - 42,8	34,12 ± 4,75 (n=4)	> 12	> 50
dužina zuba (mm)	8-12	2-2,5	4-6	4-6
količina otrova (mg suhe tvari)	10-45	0,5-4	4-10	4-10

¹ovisno o geografskoj lokaciji (HALASSY et al, 2011.)

²mjereno samo za zbuini uzorak s lokacije Poštak

³mjereno za *in house* standard Imunološkog zavoda d.d.

⁴mjereno samo za uzorke s lokacije Šumeće kroz više godina



Slika 1.

Prikaz rezultata odvajanja otrova SDS-PAGE elektroforezom - oznaka legende na gela: 1. standard molekularnih masa (kDa); 2. *V. ammodytes ammodytes* (Vaa); 3. *V. ursini* sp. Croatia (VuCRO); 4. *V. berus berus* (Vbb); 5. *V. berus bosniensis* (Vbbo); svi otrovi nanošeni su u količini od 40 µg; SDS-PAGE elektroforeza napravljena je pod reducirajućim uvjetima (osnovne proteinske obitelji označene prema Maskesky, S.P. (2010))