

NALAZ SPECIFIČNIH ANTITELA PROTIV *Leptospira interrogans* U KRVNOM SERUMU GOVEDA*
FINDINGS OF SPECIFIC ANTIBODIES AGAINST *Leptospira interrogans* IN CATTLE BLOOD SERA

**Ž. Grgić, Branka Vidić, Bosiljka Đuričić, Sara Savić-Jevđenić,
I. Stojanov****

U petogodišnjem periodu na području devet opština Južnobačkog regiona serološki je ispitano 24208 uzoraka krvnih seruma goveda, što čini 31,18 posto od ukupnog reproduktivnog fonda goveda. Uzorci su ispitani metodom mikroskopske aglutinacije, živim antigenima 9 serotipova leptospira: L. pomona, L. icterohaemorrhagiae, L. grippotyphosa, L. sejroe, L. tarassovi, L. australis, L. bataviae, L. canicola i L. hardjo.

Specifična antitela protiv leptospira utvrđena su kod 286 ili 1,18 posto uzoraka seruma goveda. Nivo seroprevalencije infekcije izazvane leptospirama na godišnjem nivou bio je od 2,56 posto do 0,05 posto. Najveći broj seropozitivnih grla iznosio je 151 grlo, ili 3,54 posto i ustanovljen je u opštini Novi Sad. Tokom posmatranog perioda kod goveda je dijagnostikovano prisustvo četiri serotipa leptospira: L. pomona, L. icterohaemorrhagiae, L. grippotyphosa i L. hardjo. Najzastupljeniji serotip je L. hardjo 41,02 posto, dok su serotipovi L. grippotyphosa 34,61 posto, L. icterohaemorrhagiae 14,74 posto i L. pomona 9,61 posto dijagnostikovani u nižem procentu.

Zapažen je trend porasta broja inficiranih grla leptospirama za 0,195 posto na godišnjem nivou. Na osnovu prikazane analize može da se predvidi sa verovatnoćom od 95 posto da će leptospiroza kod goveda za naredni period u Južnobačkom epizootiološkom području biti u intervalu od 0,09 posto do 3,50 posto.

Ključne reči: leptospiroza, goveda, rasprostranjenost

* Rad primljen za štampu 16. 9. 2005. godine

** Mr Živoslav Grgić, istraživač saradnik, dr Branka Vidić, viši naučni saradnik, Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad”, Novi Sad; dr Bosiljka Đuričić, profesor, Katedra za zarazne bolesti i bolesti pčela, Fakultet veterinarske medicine, Beograd; mr Sara Savić-Jevđenić, istraživač saradnik, mr Igor Stojanov, istraživač saradnik, Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad”, Novi Sad

Uvod / Introduction

Leptospiroza je zarazno oboljenje domaćih, divljih životinja i glodara. Rezervoari infekcije u prirodi su sitni glodari: vodeni miš, poljski miš, voluharice i drugi koji u spoljašnju sredinu izlučuju leptospire urinom. Leptospire se u prirodi održavaju i razmnožavaju na vlažnom zemljištu, vodama močvara i ritova. Domaće životinje i ljudi inficiraju se leptospirama direktnim kontaktom sa izvorom infekcije, a „vrata” infekcije su koža i sluzokoža. Pojedini serotipovi leptospira ispoljavaju svoje patogeno delovanje za određenu vrstu životinja, koje su primarni domaćini, dok ostale vrste predstavljaju povremene ili prolazne domaćine. Kod goveda najčešće su utvrđeni serotipovi: *L. pomona*, *L. hardjo* i *L. grippotyphosa*, dok se infekcije izazvane sa *L. canicola* i *L. icterohaemorrhagiae* javljaju povremeno. I ostali serovarijeteti leptospira mogu da se dokažu kod goveda, ali tada su u pitanju samo sporadični slučajevi. Ispitivanja koja su rađena poslednjih godina ukazuju da se serovarijeteti leptospira, koji pripadaju grupi *hebdomadis*, češće javljaju.

Leptospiroza kod goveda javlja se kod svih kategorija životinja. Infekcija se ispoljava u akutnoj, subakutnoj ili inaparentnoj formi. Kliničke manifestacije oboljenja su povišena temperatura u trajanju od četiri do pet dana, pojava anoreksije, konjunktivitisa i dijareje. Kao posledica infekcije može da se javi neplodnost i pobačaj. Kada se javi infekcija izazvana sa *L. hardjo* u zapatu muznih krava mogu da se dijagnostikuju mastitisi, mleko dobija izgled kolostruma sa primesama krvi, a u nekim slučajevima i zasušenje [1]. Kada se radi o težim slučajevima infekcije javljaju se ikterus, abortus i hemoglobinurija. Pobačaji se javljaju najčešće između prve i treće nedelje od pojavljivanja oboljenja. Infekcija izazvana leptospirama u zapatima krava u određenim područjima brzo se i lako širi, naročito ako je prisutan visok procenat inficiranih životinja, leptospire pasiraju sa jednog grla na drugo, a što značajno utiče i na virulenciju uzročnika.

Na osnovu dosadašnjih ispitivanja na području Vojvodine leptospiroza je dijagnostikovana kod goveda [4, 2, 6, 7, 8, 9, 10]. Navedeni podaci ukazuju na potrebu stalnog nadzora ove zoonoze, utvrđivanje rasprostranjenosti i distribucije serotipova leptospira kod svih vrsta životinja, u ovom slučaju goveda.

Materijal i metode rada / Materials and methods

U petogodišnjem periodu na području 9 opština Južnobačkog regiona pregledano je 24208 uzoraka krvnih seruma ili 31,18 posto ukupnog fonda goveda. Uzorci krvnih seruma goveda ispitani su metodom mikroskopske aglutinacije u tamnom polju sa devet serotipova leptospira: *L. pomona*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. grippotyphosa*, *L. sejroe*, *L. tarassovi*, *L. australis*, *L. bataviae*, *L. canicola* i *L. hardjo*. Pozitivnim rezultatom smatran je nalaz specifičnih antitela u razblaženju seruma 1:100 i viši.

U toku analize rezultata naših ispitivanja korišćeni su statistički podaci o brojnom stanju životinja u Južnobačkom epizootiološkom području dobijeni od Zavoda za statistiku Republike Srbije. Za izračunavanje kretanja i predviđanja prevalencije korišćena je analiza trenda.

Rezultati i diskusija / Results and discussion

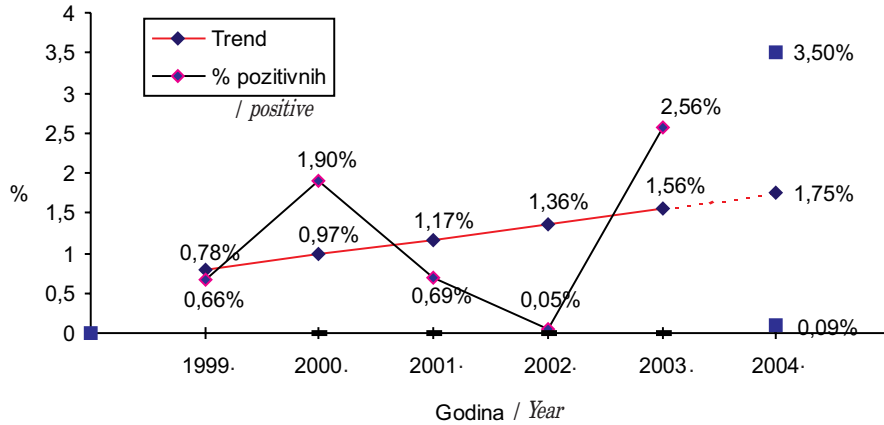
Ispitivanjem je obuhvaćeno 24208 uzoraka seruma goveda, a pozitivni nalazi dobijeni su kod 286 uzoraka ili 1,18 posto od ispitanih uzoraka. Specifična antitela za leptospire kod goveda utvrđena su na području svih 9 opština Južnobačkog regiona. Najveći stepen seroprevalencije zabeležen je kod goveda u opštini Novi Sad, odnosno 151 seropozitivno grlo ili 3,54 posto.

Tabela 1. *Leptospiroza goveda u Južnobačkom epizootiološkom području*
Table 1. *Cattle leptospirosis in Southern Bačka epizootiological district*

Opština / Community	Bač	Bačka Palanka	Bački Petrovac	Bečej	Novi Sad	Srbo- bran	Temerin	Titel	Žabalj	Ukupno / Total	
Pregledano / Examined	1263	2036	1114	8609	4256	750	816	2847	2517	24208	
N o.	5	15	2	7	151	3	2	32	69	286	
Pozitivno / Positive	%	0,39	0,73	0,17	0,08	3,54	0,4	0,24	1,12	2,74	1,18

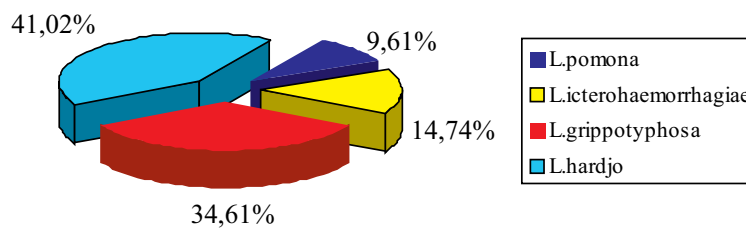
Analizirajući dobijene rezultate tokom posmatranog petogodišnjeg perioda zapažen je trend porasta broja goveda inficiranih leptospirama za 0,195 posto na godišnjem nivou. Nivo seroprevalencije za pojedine godine u toku ispitivanog perioda bio je od 0,05 posto do 2,56 posto. Na osnovu prikazane analize može da se predvidi sa verovatnoćom od 95 posto da će broj seropozitivnih životinja u narednom periodu na području Južnobačkog epizootiološkog regiona biti u intervalu od 0,09 posto do 3,50 posto inficiranih grla (grafikon 1).

Prateći distribuciju serotipova leptospira tokom posmatranog perioda kod goveda utvrđeno je prisustvo 4 serotipa leptospira: *L. pomona*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. grippotyphosa* i *L. hardjo*. Analizirajući ukupan broj seropozitivnih goveda, evidentirano je da je najzastupljeniji serotip *L. hardjo* dijagnostikovao u 41,02 posto slučajeva. Ostali serotipovi leptospira bili su zastupljeni u nižem procentu: *L. grippotyphosa* 34,61 posto, *L. icterohaemorrhagiae* 14,74 posto i *L. pomona* 9,61 posto (grafikon 2). Miller i sar [5], kao i Lange [3] takođe su kod goveda u najvećem procentu dijagnostikovali leptospiru serotip *hardjo*. Do sličnih rezultata u svojim ispitivanjima došli su i Vidić i sar [6, 7, 8, 9, 10].



Grafikon 1. Kretanje nivoa prevalencije za leptospirozu kod goveda u Južnobačkom epizootiološkom području
Graph 1. Range of seroprevalence for leptospirosis in cattle in Southern Bačka epizootiological district

Leptospiroze su značajno zarazno oboljenje domaćih životinja i ljudi kako kod nas tako i u svetu. Na području Vojvodine enzootije su u prethodnom periodu ustanovljene na farmama svinja, ređe goveda. Leptospiroza kod ljudi na području Vojvodine registruje se sporadično, pre svega kod osoba profesionalno izloženih infekciji. Na osnovu podataka iz literature evidentno je dugogodišnje interesovanje istraživača za proučavanje leptospiroza. Cilj našeg rada bio je da se utvrdi prisustvo leptospiroze kod goveda i da na osnovu dobijenih rezultata dâ doprinos u sagledavanju rasprostranjenosti ove infekcije kod goveda, zastupljenost određenih serotipova, zdravstveni značaj kao i incidenciju oboljenja.



Grafikon 2. Distribucija serotipova leptospira kod goveda u Južnobačkom epizootiološkom području
Graph 2. Distribution of leptospires serotypes in cattle in epizootiological district of Southern Bačka

Metodom mikroskopske aglutinacije specifična antitela protiv leptospire u serumu inficiranih životinja mogu se dokažu najranije od petog do desetog dana nakon inficiranja. Primenom ove metode može da se postavi tačna dijagnoza, uzimanjem parnih uzoraka seruma u razmaku od dve nedelje. Za otkrivanje i suzbijanje leptospiroze važno je i poznavanje izvora infekcije. Poznato je da serotipovi leptospira imaju različite domaćine (rezervoare), a to su u prvom redu glodari i divlje životinje, kao i domaće životinje u čijim se populacijama leptospire permanentno održavaju. Tako su primarni domaćini za serotip *L. hardjo* goveda, a u novije vreme ukazuje se i na značaj ovaca. Na određenim područjima leptospiroza može da se javlja endemski. Međutim, savremeni način življenja, uvoz životinja, migracija glodara i divljih životinja i drugo, omogućavaju da se određeni serotipovi leptospira prošire i na nova područja ili države.

Ukupan procenat seropozitivnih goveda u našim ispitivanjima bio je 1,18 posto. Interval seropozitivnih goveda bio je od 0,05 posto do 2,56 posto. Ustanovljen je trend rasta broja seropozitivnih goveda na godišnjem nivou za 0,195 posto. Kod seropozitivnih goveda na području Južnobačkog epizootiološkog područja registrovana su 4 serotipa leptospira: *L. pomona*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. grippotyphosa* i *L. hardjo*. Kao najzastupljeniji serotip u goveda je *L. hardjo*, 41,02 posto, zatim *L. grippotyphosa* (34,61 posto), dok su *L. pomona* i *L. icterohaemorrhagiae* dijagnostikovani u znatno nižem procentu 9,61 posto, odnosno 14,74 posto. Miller i sar [5] takođe su kod goveda u najvišem procentu dijagnostikovali leptospiru serotip *hardjo*. Serološkim ispitivanjem ustanovili su prisustvo specifičnih antitela protiv leptospire kod 49 posto ispitanih krvnih seruma. Metodom imunofluorescencije su dokazali u četrdeset prvom uzorku tkiva bubrega, odnosno u 0,8 posto ispitanih uzoraka prisustvo leptospira. Od ukupnog broja izolovanih leptospira, 73 izolata identifikovano je kao serovarijetet *hardjo* (83%), 11 izolata kao serovarijetet *pomona* (12,5%), a 4 izolata kao serovarijetet *grippyphosa* (4,5 posto). Koristeći REA-test istraživači su odredili genotipsku pripadnost izolovanih leptospira i dokazali da 85 posto pripada genotipu *hardjobovis*, dok je 11 uzoraka identifikovano kao genotip *hardjobovis* ili 15%. Ispitujući 4484 uzorka krvnih seruma goveda sa pobačajem, Lange [3] je utvrdio leptospirozu kod 2,5 posto ispitanih uzoraka, sa sledećim serotipovima leptospira: *L. hardjo*, *L. saxkoebing* i *L. sejroe*. Do sličnih rezultata u svojim ispitivanjima su došli i Vidić i sar [7, 8 i 9]. Autori su utvrdili da je najzastupljeniji serotip leptospira kod goveda *L. hardjo*, i da se infekcija kod krava manifestovala u vidu mastitisa i pobačaja. Vidić i sar. [9] ispitali su 19965 uzoraka krvnih seruma krava na prisustvo specifičnih antitela protiv leptospira. Uzorci su sakupljeni sa farmi i iz privatnog sektora na području Vojvodine. Specifična antitela protiv leptospira utvrđena su kod 822 ispitana uzorka ili 4,12 posto. Najzastupljeniji serotip leptospira kod krava na farmama bio je *L. hardjo*, 84,79 posto, dok je kod krava iz privatnog sektora dominirao serotip *L. pomona*, 52,53 posto. Kod krava iz četiri zapata u kojima je dijagnostikovana leptospira *hardjo* nisu registrovani klinički znaci leptospiroze, dok su kod seropozitivnih krava u dva zapata ustanovljeni mastitisi. Autori su tokom ovih istraživanja prvi put

izolovali *L. hardjo* iz urina serološki pozitivnih krava. Vidić i sar [10] za izolaciju *L. hardjo* koristili su navedene podloge: EJMH sa dodatkom 5 µg/ml furazolidona i neomicina, EJMH sa dodatkom 200 µg/ml 5-FU, čvrsta podloga bovini albuminopolisorbat 80 (Tween 80) sa 1% agara i polučvrsta podloga sa bovini albuminopolisorbat 80, sa i bez dodatka 5-FU. *L. hardjo* je izolovana i identifikovana upotrebom specifičnih antiseruma. *L. hardjo* je izolovana iz tri uzorka mleka i pet ispitivanih uzoraka urina. Autori navode da su najbolje rezultate za izolaciju leptospira iz mleka i urina krava dobili primenom polučvrste BAP 80 podloge sa dodatkom 5-FU i sa EJMH podlogom sa dodatkom 5-FU.

Praćenjem programa kontrole i usavršavanjem dijagnostičkih metoda leptospiroze, došlo se do mnogobrojnih saznanja o prirodi i posledicama ove infekcije, kao i o njenom zdravstvenom značaju kako u veterinarskoj tako i u humanoj medicini. Leptospiroza i danas predstavlja ozbiljan zdravstveni problem, kako za ljude tako i životinje. U stočarskoj proizvodnji ona se javlja kao uzgojni ali i kao selekcijski problem. U novije vreme, tehnološkim razvojem i ekonomskim napretkom društva uvećane su mogućnosti migracije stanovništva i životinja što ima kao posledicu veću mogućnost unošenja i širenja novih serotipova leptospira. To ukazuje na potrebu permanentnog praćenja epizootiološke situacije, kao i pronalaznje i usavršavanje novih dijagnostičkih metoda i mera kontrole leptospiroza.

Literatura / References

1. Higgins R. J., Harbourne J. F., T. W. A., Stevens A. E.: Mastitis and abortion in dairy cattle associated with leptospira of the serotype hardjo; Vet. Rec. 107, 307-310, September 27, 1980. - 2. Galić M., Trbić B., Karakašević B., Kajić S.: Leptospiroza kod domaćih životinja i ljudi u Vojvodini. 5. italijansko - jugoslovenski dani, Poreč, 21-25, 10, 1979. - 3. Lange S.: Seroepidemiological studies of the detection of leptospire of the sejroe group in cattle in middle Thuringia. Berl-Munch-Tierarztl-Wochenschr. 1; 105, 11, 374-377, Nov. 1992. - 4. Marković R., Nikolić B., Gaslić M.: Raširenost leptospiroza kod svinja na području Vojvodine. Savremena poljoprivreda 9, 658-662, 1963. - 5. Miller D. A., Wilson M. A., Beran G. W.: Survey to estimate prevalence of *Leptospira interrogans* infection in mature cattle in the United States. Am. J. Vet. Res., 52, 11, 1761-1765, Nov. 1991. - 6. Vidić Branka, Boboš S., Jovičin M., Šeguljev Zorica, Lazić S., Čekić N.: Leptospiroza krava: Izolacija *L. hardjo* iz urina inficiranih krava. Zbornik radova Naučni skup „Unapređenje zdravstvene zaštite životinja i proizvodnja zdravstveno ispravnih namirnica animalnog porekla” Novi Sad., 117-121, 1995. - 7. Vidić Branka, Ž. Grgić, S. Boboš.: Serološko ispitivanje leptospiroza u domaćih životinja i ljudi u periodu 1994-1995. god. Zbornik rezimeja, VII kongres infektologa Jugoslavije, Priština, 34. 1996. - 8. Vidić Branka, Boboš S., Grgić Ž., Šeguljev Zorica, Lalić M.: *Leptospira interrogans* serološki tip hardjo u krava. Vet. glasnik, 50, 5-6, 341-349. 1996. - 9. Vidić Branka, Lalić M., Šeguljev Zorica, Grgić Ž.: Seroprevalence of *Leptospira interrogans* serovar hardjo in cows and isolation from urine. Acta vet., 1, 47, 15-22, 1997. - 10. Vidić Branka, Boboš S.: *Leptospira interrogans* serovar hardjo causative agent of mastitis in dairy cows; 10. Magyar buiatricks kongresszus - Middle-European Buiatrics Congress, Siofok, Hungary, Proceeding, 272-274, 1998.

ENGLISH

FINDINGS OF SPECIFIC ANTIBODIES AGAINST *LEPTOSPIRA INTERROGANS* IN CATTLE BLOOD SERA

Z. Grgic, Branka Vidic, Bosiljka Djuricic, Sara Savic-Jevdjenic, I. Stojanov

Serological investigations were performed on 24,208 samples of cattle blood serum, representing 31.18% of the reproductive cattle fund in the territory of nine municipalities in the Southern Backa region over a period of five years. The samples were examined using the method of microscopic agglutination, with live antigens of nine leptospira serotypes: *L.pomona*, *L.icterohaemorrhagiae*, *L.grippotyphosa*, *L.sejroe*, *L.tarassovi*, *L.australis*, *L.bataviae*, *L.canicola*, and *L.hardjo*.

Specific antibodies against leptospira were established in 286 or 1.18% samples of cattle serum. The level of seroprevalence of leptospira infection at an annual level ranged from 2.56% to 0.05%. The biggest number of seropositive cattle were registered in the municipality of Novi Sad – 151 cattle, or 3.54%. In the course of the observation period, the presence of four serotypes of leptospira were diagnosed in cattle: *L.pomona*, *L.icterohaemorrhagiae*, *L.grippotyphosa*, *L.hardjo*. The most represented serotype was *L.hardjo*, 41.02%, while the serotypes *L.grippotyphosa* (34.61%), *L.icterohaemorrhagiae* (14.74%) and *L.pomona* (9.61%) were diagnosed in smaller percentages.

An increasing tendency was observed in the number of cattle infected with leptospira at an annual level of 0.195%. On the basis of the presented analysis, it can be predicted with a probability of 95%, that leptospirosis in cattle will appear within the range of 0.09% to 3.50% in the epizootiological region of Southern Backa in the coming period.

Key words: Leptospirosis, cattle, seroprevalence

РУССКИЙ

Leptospira interrogans В КРОВЯНОМ СЕРУМЕ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Ж. Гргич, Бранка Видич, Босилька Джуричич, Сара Савич-Евдженич, И. Стоянов

Лептоспироз у крупного рогатого скота является у всех категорий животных. Инфекция проявляется в острой, подострой, или инapparентной форме. Клинические проявления заболевания повышенная температура в продолжительности от 4-5 дней, явление инорексии, конъюнктивита и диареи. Как следствие инфекции может явиться неплодовитость, выкидыш, маститы, а в некоторых случаях и засушение.

В пятилетнем периоде на подведомственной обалсти 9 общин Южнобачкого региона серологически испытано 24208 образчиков кровяных серумов крупного рогатого скота, что составляет 31,18% из совокупного репродуктивного фонда крупного рогатого скота. Образчики испытаны методом микроскопической агглютинации, с живыми антигенами 9 серотипов лептоспир: *L. pomona*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. grippotyphosa*, *L. sejroe*, *L. tarassovi*, *L. australis*, *L. bataviae*, *L. canicola* и *L. hardjo*.

Специфические антитела против лептоспир утверждены у 286 или 1,18% образчиков сыворотки крупного рогатого скота. Уровень серопревалентности инфекции, вызванной лептоспирами на годовом уровне двигался от 2,56% до 0,05%. Наибольшее число сероположительных голов записано в общине Нови Сад, и составляло 151 голова, или 3,54%. В течение наблюдаемого периода у крупного рогатого скота диагностировано присутствие 4 серотипа лептоспир: *L. pomona*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. grippityphosa*, *L. hardjo*. Наиболее представленный серотип *L. hardjo* 41,02%, пока серотипы *L. grippityphosa* 34,61%, *L. icterohaemorrhagiae* 14,74% и *L. pomona* 9,61% диагностированы в более низком проценте.

Замечена тенденция роста инфицированных голов лептоспирами за 0,195% на годовом уровне. На основе показанного анализа можно предвидеть с вероятностью от 95%, что лептоспироз крупного рогатого скота для очередного периода в Южнобачком эпизоотологическом районе будет двигаться в интервале от 0,09% до 3,50%.

Ключевые слова: лептоспироз, крупный рогатый скот, распространённость