

**СЕКЦИЈА ЗА ЗООНОЗЕ
СРПСКО ВЕТЕРИНАРСКО ДРУШТВО**

**XXII / XXIII СИМПОЗИЈУМ
ЕПИЗООТИОЛОГА И ЕПИДЕМИОЛОГА
(XXII / XXIII Епизоотиолошки дани)**

**XXII / XXIII SYMPOSIUM OF
EPIZOOTIOLOGIST AND EPIDEMIOLOGIST**



**ЗБОРНИК
КРАТКИХ САДРЖАЈА
- BOOK OF ABSTRACTS -**



**„ON-LINE“ Симпозијум
Београд, 26 - 28. април 2021. год.**

Издавач / Publisher

Српско ветеринарско друштво / Serbian Veterinary Society
Секција за зоонозе / Section for Zoonoses
Београд / Belgrade

за Издавача / for the Publisher

Проф др Милорад Мириловић

Главни и одговорни уредник / Editor in Chief

Др Тамаш Петровић, научни саветник

Технички уредник / Technical Editor

Др Тамаш Петровић, научни саветник

Штампа / Printed

SAGITTARIUS D.O.O. Суботица

Година издања / Year: 2021

Тираж / Copies: 250 примерака

ISBN-978-86-83115-41-9

ЗНАЧАЈ МОЛЕКУЛАРНИХ МЕТОДА У ДИЈАГНОСТИЦИ КРПЕЉИМА ПРЕНОСИВИХ БОЛЕСТИ ПАСА- МОЛЕКУЛАРНА ПОТВРДА МОНОЦИТНЕ ЕРЛИХОЗЕ ПАСА УЗРОКОВАНЕ СА *EHRLICHIA CANIS*

Ратко Сукара^{1*}, Ненад Андрић², Јелена Француски Андрић²,
Снежана Томановић¹

¹ Универзитет у Београду, Институт за медицинска истраживања, Центар изузетних вредности за зоонозе преносене храном и векторима, Група за медицинску ентомологију, Београд, Србија

² Ветеринарски факултет Универзитета у Београду, Београд, Србија

* Аутор за кореспонденцију: ratko.sukara@imi.bg.ac.rs

Кратак садржај

Моноцитна ерлихиоза паса (МЕП) једна је од важнијих крпељима преносивих болести у јужној Европи. Главни узрочник је грам негативна бактерије *Ehrlichia canis*, која у цитоплазми инфицираних леукоцита формира структуре зване моруле. У Европи се смеђи псећи крпељ - *Rhipicephalus sanguineus* сматра главним вектором. Различите фазе и вишеструке клиничке манифестације МЕП, као и потенцијалне коинфекције другим патогенима који се преносе крпељима (*Babesia* spp., *Hepatozoon canis*, *Anaplasma phagocytophilum*, *A. platys*) компликују постављање поуздане дијагнозе. Иако су хематолошке, серолошке и цитолошке дијагностичке технике од велике важности за МЕП, молекуларне методе (*PCR*, *qPCR*) су често неопходне за коначну дијагнозу.

Тромесечно власничко женско штене ротвајлера из околине Београда без историје путовања у ендемска подручја, доведено је на клинику Ветеринарског факултета у Београду због летаргије, анорексије и генерализоване лифаденопатије. Девет дана пре довођења на преглед извађен је крпељ. Хематолошке анализе потврдиле су присуство нормоцитно нормохромне анемије, лимфоцитозе и тромбоцитопеније. На крвном размазу и размазу издвојених леукоцита (buffy coat) уочено је присуство гранулираних лимфоцита. Брзи антителио тест (*Bionote*, *Korea*) указао на изложеност *E. canis*. Да би се потврдила дијагноза, изолована је укупна ДНК из ЕДТА крви и изведен је конвенционални *PCR* праћен секвенцирањем. Упоређивањем добијене секвенце са секвенцама депонованим у *GenBank*®, потврђено је присуство *E. canis*. Иако серолошке методе могу указивати на изложеност *E. canis* (индиректна имунофлуоресценција- ИФА, ЕЛИСА тест), *PCR* са великом специфичности и осетљивости је од суштинског значаја за детекцију ДНК *E. canis* и овај налаз указује на активну инфекцију. Поред тога, детекција ДНК је могућа и пре сероконверзије. Недостатак серолошких испитивања такође је и појава унакрсне реактивности *E. canis* са другим врстама из породице *Anaplasmacataceae* (*E. chaffeensis*, *E. ewingii*, *A. phagocytophilum*). Описани случај је прва молекуларна потврда МЕП и присуства *E. canis* у Србији и указује на важност примене молекуларних метода у циљу успостављања поуздане дијагнозе код крпељима преносивих болести паса.

Кључне речи: *Ehrlichia canis*, молекуларна дијагностика, Србија, крпељима преносиве болести паса

Захвалница: Објављивање овог рада је подржано од стране Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије (број уговора: 451-03-9/2021-14/200015)

IMPORTANCE OF MOLECULAR METHODS IN DIAGNOSTIC OF CANINE TICK-BORNE DISEASES - MOLECULAR CONFIRMATION OF CANINE MONOCYTTIC EHRLICHIOSIS CAUSED BY *EHRLICHIA CANIS*

Ratko Sukara^{1*}, Nenad Andrić², Jelena Francuski Andrić², Snežana Tomanović¹

¹ University of Belgrade, Institute for Medical Research, Centre of Excellence for Food and Vector-Borne Zoonoses, Department for Medical Entomology, Belgrade, Serbia

² Faculty of Veterinary Medicine, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

* Corresponding author: ratko.sukara@imi.bg.ac.rs

Summary

Canine monocytic ehrlichiosis (CME) is one of the major tick-borne diseases in southern Europe. The main causative agent is gram-negative bacteria *Ehrlichia canis*, which in the cytoplasm of infected leukocytes forming structures called morulae. In Europe, brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus*, is considered as the main vector. Different phases and multiple clinical manifestations of CME, as well as potential co-infections with other tick-borne pathogens (*Babesia* spp., *Hepatozoon canis*, *Anaplasma phagocytophilum*, *A. platys*) complicate reliable diagnosis. Even haematological, serological and cytological diagnostic techniques are of great importance for CME, molecular methods (PCR, qPCR) are often necessary for a definitive diagnosis.

Proprietary, three months old female Rottweiler puppy from the vicinity of Belgrade city without a history of travel to the endemic area was brought to the clinic of the Faculty of Veterinary Medicine in Belgrade due to the presence of lethargy, anorexia and generalized lymphadenopathy. Nine days before presentation tick was removed from the dog. Haematological analyses showed the presence of normocytic normochromic anemia, lymphocytosis and thrombocytopenia. On blood and buffy coat smears granular lymphocytes were noted. Antibody SNAP test (Bionote, Korea) indicated exposure to *E. canis*. To confirm the diagnosis, total DNA was extracted from EDTA blood and conventional PCR followed by sequencing was performed. By comparing the obtained sequence with the sequences deposited in GenBank®, the presence of *E. canis* was confirmed.

Although serological methods may indicate exposure to *E. canis* (indirect fluorescent antibody- IFA, enzyme-linked immunosorbent assays- ELISA), PCR with high specificity and sensitivity is essential to detect DNK of *E. canis* indicating active infection. Also, DNA detection is possible before seroconversion. The ambiguity of serological assays may be also the appearance of cross-reactivity among *E. canis* and other species of the Anaplasmataceae family (*E. chaffeensis*, *E. ewingii*, *A. phagocytophilum*). The described case was the first molecular confirmation of CME and *E. canis* in Serbia, pointing to the importance of molecular methods in reliable diagnosis.

Keywords: *Ehrlichia canis*, molecular diagnostic, Serbia, canine tick-borne diseases

Acknowledgements: This publication was supported by the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia (contract number: 451-03-9/2021-14/200015)

CIP - Каталогизација у публикацији - Народна библиотека Србије,
Београд

636.09:616(048)

СИМПОЗИЈУМ епизоотиолога и епидемиолога (22 ; 2021 ; Београд)
Зборник кратких садржаја = Book of Abstracts / XXII / XXIII
Симпозијум епизоотиолога и епидемиолога (XXII / XXIII Епизоотиолошки
дани), „ON-LINE“ Симпозијум Београд, 26 - 28. април 2021. год. ;
[главни и одговорни уредник Тамаш Петровић]; [организатор] Секција за
зоонозе, Српско ветеринарско друштво, Министарство пољопривреде,
шумарства и водопривреде, Управа за ветерину. - Београд:
Српско ветеринарско друштво, Секција за зоонозе, 2021 (Суботица:
Sagittarius). - 202 стр. ; 24 cm

Кор. насл. - Тираж 250. Стр. 4: Предговор / Тамаш Петровић. - "У
периоду од 26. до 28. априла 2021. године се у 'on-line' вебинер
формату одржава спојени 22. и 23. Симпозијум епизоотиолога и
епидемиолога ..." --> Предговор.- Апстракти упоредо на срп. и енгл.
језику.

ISBN 978-86-83115-41-9

1. Симпозијум епизоотиолога и епидемиолога (23 ; 2021 ; Београд) 2.
Секција за зоонозе СВД (Београд) 3. Министарство пољопривреде
шумарства и водопривреде (Београд). Управа за ветерину
а) Ветеринарска епизоотиологија - Апстракти

COBISS.SR-ID 40003593