

Mišoliki glodavci kao rezervoari leptospiroze



Small rodents as reservoirs of leptospirosis

Čordaš, R., V. Mojčec Perko, Z. Štritof, S. Hadina, N. Turk, I. Zečević, M. Perharić, Z. Milas, J. Margaletić, M. Vucelja, M. Boljfečić, J. Habuš

Sažetak

Leptospiroza je (re)emergentna zarazna bolest mnogih domaćih i divljih životinja i čovjeka uzrokovana patogenim bakterijama iz roda *Leptospira*. Epizootiologija ove bolesti usko je vezana uz različite životinjske vrste koje nose i izlučuju pojedine serovare leptospira u okoliš. Ipak, glavni su rezervoari leptospiroze glodavci koji nakon infekcije ne obolijevaju i ostaju doživotni kliconoše. Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi učestalost infekcije u mišolikih glodavaca u endemijskim područjima leptospiroze u Republici Hrvatskoj. Metodom lančane reakcije polimerazom u stvarnom vremenu pretraženi su bubrezi 186 mišolikih glodavaca, a specifičan odsječak DNK patogenih leptospira dokazan je u 20 pretraženih uzoraka, dajući nam prosječan stupanj kliconoštva od 10,75 %. Bakterije iz roda *Leptospira* utvrđene su u pet od sedam pretraženih vrsta glodavaca i lokaliteta izlova, što potvrđuje ulogu mišolikih glodavaca u održavanju endemijskih žarišta leptospiroze. Najviši stupanj kliconoštva (30 %) utvrđen je na širem području Velike Gorice. Takav se rezultat može pokušati objasniti činjenicom da to područje pripada u sliv rijeke Save i da ima velik poplavljeni potencijal, a vlažna područja omogućuju dulji opstanak leptospira u okolišu. Potrebna su daljnja longitudinalna istraživanja kako bi se ustvrdili biotički i abiotički čimbenici koji utječu na brojnost populacije mišolikih glodavaca te postotak inficiranosti leptospirama, odnosno kliconoštvo.

Ključne riječi: *Leptospira*, mišoliki glodavci, lančana reakcija polimerazom

Abstract

Leptospirosis is a (re) emerging zoonosis of many domestic and wild animals and humans, caused by pathogenic bacteria from the genus *Leptospira*. It is a natural foci disease with epizootiology and epidemiology closely linked to reservoir species that excrete certain serovars of *Leptospira* into the environment. Rats and small rodents are the main reservoirs and lifelong carriers of pathogenic *Leptospira*. The aim of this study was to estimate the prevalence of infection of small rodents in areas where leptospirosis appears endemic. Real-time polymerase chain reaction (qPCR) was used to test kidney specimens of 186

Roberta ČORDAŠ, dr. med. vet., Veterinarska ambulanta Ogulin d.o.o., dr. sc. Vesna MOJČEC PERKO, ing. biol. mol., stručna suradnica, dr. sc. Zrinka ŠTRITOF, dr. med. vet., izvanredna profesorica, dr. sc. Suzana HADINA, dr. med. vet. izvanredna profesorica, Iva ZEČEVIĆ, dr. med. vet. doktorantica, dr. sc. Matko PERHARIĆ, dr. med. vet. postdoktorant, dr. sc. Nenad TURK, dr. med. vet., profesor u trajnom zvanju, dr. sc. Zoran MILAS, dr. med. vet. profesor u trajnom zvanju, dr. sc. Josipa HABUŠ,*, dr. med. vet., docent, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, dr. sc. Josip MARGALETIĆ, dipl. ing. šum., profesor u trajnom zvanju, dr. sc. Marko Vucelja, dipl. ing. šum., docent, dr. sc. Marko BOLJFEČIĆ, dipl. ing. šum. docent, Šumarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. *Dopisni autor: jhabus@vef.hr

animals, that were trapped in seven endemic regions of Croatia. Using this method, we obtained 20 positive samples, giving a *Leptospira* shedding rate of 10.75%. During this investigation *Leptospira* spp. were detected in five out of seven small rodent species, with the highest degree of shedding (30%) detected in the Velika Gorica municipality. These findings may be explained by the fact that this area belongs to the River Sava basin. High flooding potential and humid areas allow the longer survival of *Leptospira* in the environment. Further longitudinal studies are needed in order to identify all the abiotic and biotic factors that can affect the density of rodent population and shedding rates.

Key words: *Leptospira*, small rodents, polymerase chain reaction

Uvod

Leptospiroza je tipična bolest prirodno žarišnog tipa čija je epizootologija i epidemiologija usko vezana uz pojedine životinjske vrste koje nose i izlučuju pojedine serovare leptospira u okoliš. Glavni izvor leptospira jesu mišoliki glodavci i štakor (rezervoari leptospiroze) koji od leptospiroze ne obolijevaju i doživotni su kliconoše. Mnoge se domaće i divlje životinje također mogu inficirati leptospirama, nakon čega dolazi do vremenski ograničenog naseljavanja leptospira unutar proksimalnih bubrežnih kanalića i njihova izlučivanja u okoliš.

Tijekom 50-godišnjeg opsežnog, multidisciplinarnog proučavanja leptospiroze u Republici Hrvatskoj zamijećene su određene osobitosti u njezinoj epidemiologiji i epizootologiji, a vezane su ponajprije uz vrlo visoku pojavnost leptospiroze u ljudi te razliku u pojavi vjerojatno infektivnih serovara. Te se specifičnosti objašnjavaju razlikama u postojanju određenog tipa prirodnog žarišta leptospiroze. U ostatku Europe glavni je izvor infekcije štakor, koji je rezervoar serovara *Icterohaemorrhagiae* i Copenhageni (sinatotropna prirodna žarišta). S druge strane, u Hrvatskoj su u ljudi češće infekcije izazvane sojevima iz seroloških skupina *Australis*, *Grippothyphosa* i *Sejroe*, što upućuje na mišolike glodavce kao glavne izvore infekcije (arhaična prirodna žarišta).

Povećan rizik od obolijevanja domaćih životinja i ljudi usko je povezan s brojnošću populacije mišolikih glodavaca, što je osobito izraženo na gospodarstvima gdje se ne provode mjere deratizacije ili tijekom takozvanih mišjih godina, kad broj slobodnoživućih mišolikih glodavaca višestruko poraste. Povećana brojnost glodavaca povećat će mogućnost kontakta i neminovno dovesti do veće kontaminacije okoliša. Gustoća populacije rezervoara ovisi o povoljnim klimatskim uvjetima, staništu i izvorima hrane, prirodnim neprijateljima i bolestima (Korpimaki i Krebs, 1996.). Povoljni klimatski uvjeti utjecat će i na produljeno preživljavanje leptospira u okolišu. Epidemije leptospiroze tako su često povezane s poplavama i jakim kišama (Park i sur., 1990.; Ko, 1999.).

S obzirom na navedeno, smatramo da praćenje populacije mišolikih glodavaca može biti iznimno korisno u predviđanju povećane incidencije leptospiroze u domaćih životinja, ali i ljudi. Razvoj prediktivnih modela rizika složen je proces koji uključuje brojna bazna istraživanja. Jedno je od njih svakako i utvrđivanje proširenosti infekcije unutar populacije rezervoara.

Stoga je cilj ovog istraživanja bio utvrditi učestalost kliconoštva u mišolikih glodavaca u područjima u kojima se leptospiroza pojavljuje endemijski.

Materijal i metode

Ovo je istraživanje provedeno na uzorcima bubrega mišolikih glodavaca koji su tijekom petomjesečnog razdoblja (od 2. lipnja do 27. listopada 2017. godine) izlovljeni u endemijskim područjima leptospiroze u Republici Hrvatskoj. Na odabrana mjesta izlova (Velika Gorica, Šiljakovačka Dubrava, Turopoljski Lug, Lekenik, Lipovljani, Sljeme i Koprivnica) u tom su razdoblju postavljene ukupno 854 mrtvolovke i uhvaćeno je 257 mišolikih glodavaca. Od ukupnog broja uhvaćenih glodavaca za ovo je istraživanje odabrano njih 186 kod kojih autolitički procesi nisu bili izraženi i čiji su bubrezi bili uzorkovani za istraživanje. Za svakoga ulovljenog mišolikog glodavca prikupljeni su i analizirani podaci o mjestu i datumu ulova, vrsti i spolu. Postotak punjenosti klopki izračunali smo tako da smo ukupan broj ulovljenih glodavaca podijelili s ukupnim brojem postavljenih klopki i tako dobili prosječnu gustoću populacije.

Izdvajanje DNK iz tkiva bubrega životinja

Bubrezi koji su bili pohranjeni u arhivi Laboratorija za leptospire Veterinarskoga fakulteta na -80 °C prvo su odmrznuti te nakon toga u mikrobiološkoj biozaštitnoj komori usitnjeni sterilnim instrumentima. Nakon homogenizacije iz svakog je uzorka odvagano 25 mg tkiva. Za izdvajanje DNA korišten je komercijalni kit (NucleoSpin®Tissue, QIAGEN) prema uputama proizvođača. Nakon izdvajanja DNA uzorci su do daljnje obrade bili pohranjeni na temperaturi od -20 °C.

Lančana reakcija polimerazom u stvarnom vremenu

U svrhu dokazivanja prisutnosti specifičnih odsječaka DNA patogenih bakterija iz roda *Leptospira* izdvojena DNA svakog pojedinog uzorka analizirana je lančanom reakcijom polimerazom u stvarnom vremenu (engl. *real-time polymerase chain reaction*, qPCR) gdje su produkti reakcije obilježeni fluorescencijskom bojom i analiziraju se prilikom nastanka u stvarnom vremenu. Za izvođenje *Real time* PCR reakcije korišten je komercijalni komplet QuantiFast Pathogen PCR +IC Kit, Qiagen kod kojega nije potrebno optimizirati koncentraciju početnica, Mg²⁺ ili enzima DNA polimeraze budući da je 5x QuantiFast Pathogen Master Mix posebno optimiziran za visoko osjetljivu detekciju nukleinske kiseline ciljanog patogena u kombinaciji s DNA koji služi kao unutarnja kontrole uspješnosti provedbe PCR reakcije. Svaki je uzorak pretražen u dvije zasebne reakcije. Za negativnu kontrolu u PCR smjesu dodana je sterilna voda, a za pozitivnu kontrolu DNA izdvojena iz kulture bakterija leptospira, serovar Tarrasovi, soj Mus 127.

Za dokaz prisutnosti DNA leptospira u *Real Time* PCR reakciji korištene su uzvodna LipL32-45F i nizvodna LipL32-286R početnica, koje su specifične za umnažanje dijela gena za lipoprotein vanjske membrane, Lip L32. Uz početnice u *Real Time* PCR reakciji korištena je i proba LipL32-189P fluorescentno obilježena na krajevima (Stoddard i sur., 2009.). Reakcije su izvođene u uređaju Roto-Gene® Q, Qiagen koji se koristi naprednim sustavom za grijanje i hlađenje uzorka te postizanje optimalnih uvjeta reakcije. U uređaju za *Real Time* PCR postavljeni su sljedeći uvjeti PCR reakcije. Prva aktivacija enzima polimeraze počela je na 95 °C tijekom 2 minute, potom je uslijedilo 40 ciklusa tijekom kojih se izmjenjivala denaturacija DNA (5 sekundi na 95 °C) i hibridizacija (30 sekundi na 60 °C).

Za analizu podataka korišten je informatički program Software Version Roto-Gene 2. 1. 0. 9. Umnažanje DNA u uzorku očituje se porastom krivulje u programu koji prati reakciju u stvarnom vremenu. Za analizu uzoraka koristi se Ct-vrijednost (*cycle threshold*) koja određuje ciklus u kojemu linija amplifikacije prelazi prag detekcije. Postavljanjem praga detekcije dobivene su točke križanja sa svakom od krivulja umnažanja za pojedine uzorke, odnosno Ct-vrijednost. Pozitivnim uzorkom – uzorak kod kojega je zabilježena prisutnost dijela gena koji kodira vanjskomembranski protein patogenih bakterija iz roda *Leptospira*, smatrali smo onaj kod kojega je Ct-vrijednost bila niža od 36 u obje reakcije.

Rezultati

Relativna brojnost glodavaca i zastupljenost pojedinih vrsta

Analizom dobivenih podataka utvrđene su razlike u zastupljenosti pojedine vrste glodavaca u ukupnom uzorku te razlike u gustoći populacije mišolikih glodavaca s obzirom na lokalitet i razdoblje izlova. Od ukupnog broja uhvaćenih životinja miševi su činili 77,41 %, voluharice 21,50 % a rovke 1,07 %. Najzastupljenija vrsta u ovom istraživanju bila je žutogrli miš – *Apodemus flavicollis* (30,1 %), dok je raspodjela ostalih vrsta bila sljedeća: obični šumski miš (*A. sylvaticus*) 26,88 %, prugasti poljski miš (*A. agrarius*) 20,4 %, šumska voluharica (*M. glareolus*) 17,74 %, poljska voluharica (*M. agrestis*) 2,15 %, livadna voluharica (*M. arvalis*) 1,61 % te rovka (*Sorex* spp.) 1,07 %. Prosječna relativna brojnost za cjelokupno istraživanje iznosila je 30,76 %, no kad smo analizirali podatke s obzirom na godišnje doba ukupna prosječna relativna brojnost u proljeće iznosila je 19 %, ljeti 46 % a početkom zime 32,41 % (tablica 1).

Analiza učestalosti kliconoštva u mišolikih glodavaca

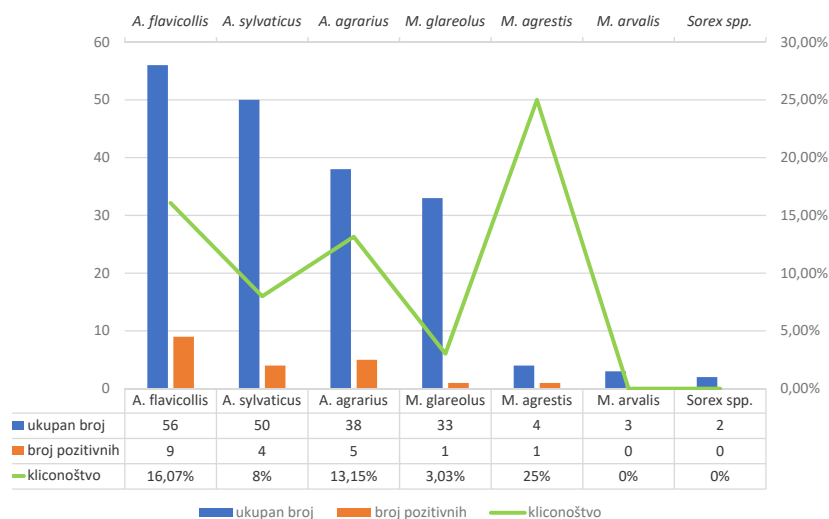
Od ukupno 186 pretraženih uzoraka u njih je 20 utvrđen specifičan odsječak DNA leptospira (10,75 %). Devet pozitivnih uzoraka (45 %) utvrđeno je u žutogrlog miša, pet (25 %) u poljskog miša, četiri (20 %) u običnog šumskog miša, jedan (5 %) pozitivan uzorak potjecao je od livadne i jedan (5 %) od šumske voluharice (tablica 2). Stupanj kliconoštva razlikovao se s obzirom na vrstu pretraženih glodavaca (slika 1), no te podatke treba uzeti s rezervom s obzirom na relativno mali broj pretraženih jedinki i nerazmjer u broju ulovljenih i pretraženih vrsta glodavaca.

Nije bilo značajne razlike u kliconoštva s obzirom na spol, DNK leptospira utvrđena je u 11 (55 %) muških i 9 (45 %) ženskih životinja. U ovom istraživanju nije dokazana ni povezanost između relativne brojnosti glodavaca i učestalosti infekcije (slika 2), no analiza dobivenih rezultata uputila je na izrazitu razliku u kliconoštva s obzirom na lokaciju izlova. Pozitivni uzorci utvrđeni su na pet od sedam istraživanih lokacija: u Velikoj Gorici (4/11; 36 %), Lipovljanima (5/41; 12 %), Lekeniku (6/27; 22 %; 17 %), Turopoljskom Lugu (2/12; 17 %) i Šiljakovačkoj Dubravi (3/7; 43 %). Razlika u postotku kliconoštva bila je očita i kad smo uzorke grupirali uzevši u obzir nešto šire geografsko područje (grad, općinu) (slika 3). Analizom tako grupiranih podataka utvrdili smo kliconoštvo u skoro trećine životinja (9/30; 30 %) na području općine Velika Gorica te nešto niže postotke inficiranih glodavaca u općinama Lekenik (6/27; 22 %) i Lipovljani (5/41; 12 %).

Tablica 1. Prikaz mjesta, lokaliteta i datuma ulova, broja uhvaćenih glodavaca i njihove relativne brojnosti

Mjesto ulova	Lokalitet	Datum ulova	Br. PK	Br. UG	R. B.
Velika Gorica	79a	2.6.2017.	50	5	12 %
Velika Gorica	7a	2.6.2017.	50	7	
Lipovljani	119B	7.6.2017.	50	12	26 %
Lipovljani	175A	7.6.2017.	50	14	
Sljeme	L1	12.7.2017.	50	11	46 %
Sljeme	L2	12.7.2017.	50	30	
Sljeme	L3	12.7.2017.	50	22	
Sljeme	L4	12.7.2017.	50	29	
Koprivnica	29A	12.10.2017.	100	25	24,5 %
Koprivnica	32D	12.10.2017.	100	18	
Lekenik	51A	19.10.2017.	50	14	27 %
Lekenik	37B	19.10.2017.	50	13	
Lipovljani	119B	26.10.2017.	27	9	42,59 %
Lipovljani	175A	26.10.2017.	27	14	
Turopoljski lug	7A	27.10.2017.	50	13	26 %
Šiljakovačka Dubrava	69C	27.10.2017.	50	21	42 %
UKUPNO			854	257	30,76 %

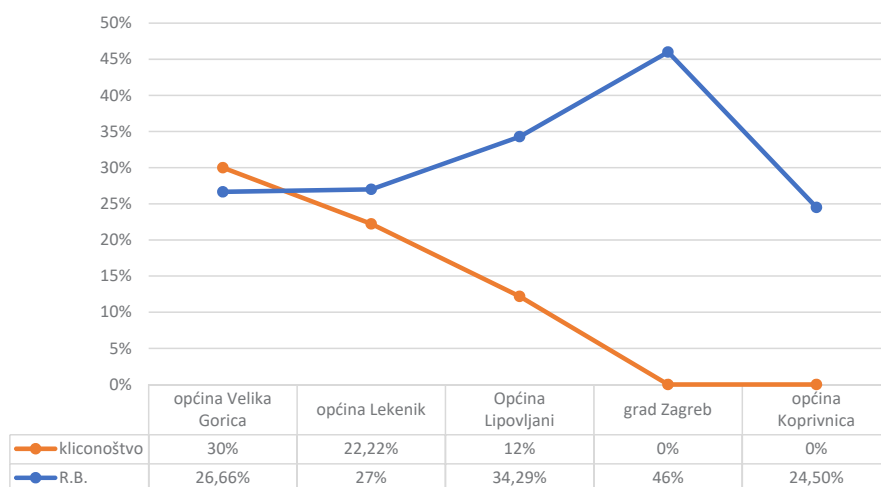
Br. PK – broj postavljenih klopki
Br. UG – broj ulovljenih glodavaca
R.B. – relativna brojnost



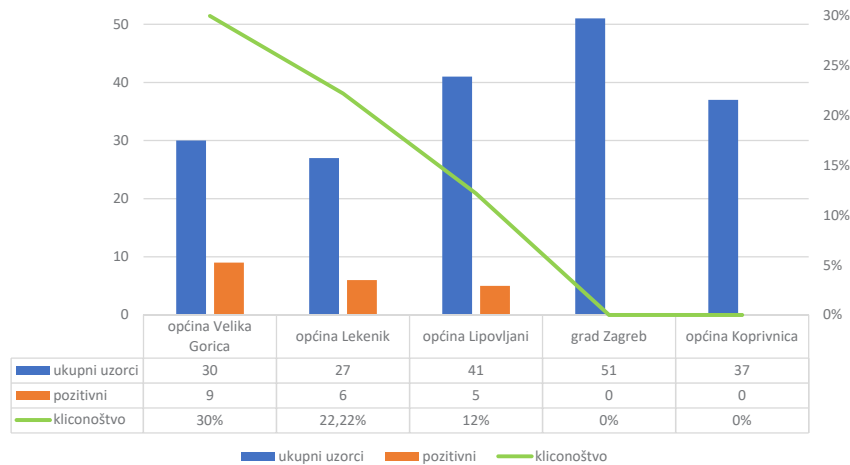
Slika 1. Prikaz klicionoštva prema vrstama mišolikih glodavaca

Tablica 1. Prikaz mjesta, lokaliteta i datuma izlova, broja uhvaćenih glodavaca i njihove relativne brojnosti

R. br.	Oznaka miša	Vrsta	Spol	Lokalitet	Ct 1	Ct 2
1	M 2002	<i>Apodemus flavicollis</i>	M	79a, Velika Gorica	30,33	30,95
2	M 2008	<i>Apodemus sylvaticus</i>	Ž	79a, Velika Gorica	25,54	25,64
3	M 2010	<i>Apodemus sylvaticus</i>	Ž	79a, Velika Gorica	27,01	27,15
4	M 2012	<i>Apodemus sylvaticus</i>	M	79a, Velika Gorica	25,76	25,89
5	M 2013	<i>Apodemus flavicollis</i>	Ž	119b, Lipovljani	26,6	35,43
6	M 2019	<i>Myodes glareolus</i>	Ž	119b, Lipovljani	35,9	35,24
7	M 2030	<i>Microtus agrestis</i>	M	175a, Lipovljani	32,89	32,11
8	M2123	<i>Apodemus agrarius</i>	Ž	37B, Lekenik	34,08	33,51
9	M 2125	<i>Apodemus sylvaticus</i>	M	37B, Lekenik	25,25	25,56
10	M 2128	<i>Apodemus flavicollis</i>	M	37B, Lekenik	28,14	32,13
11	M2133	<i>Apodemus agrarius</i>	M	51A, Lekenik	31,99	31,7
12	M 2139	<i>Apodemus flavicollis</i>	Ž	51A, Lekenik	32,37	32,61
13	M 2141	<i>Apodemus flavicollis</i>	M	51A, Lekenik	32,99	33,08
14	M 2148	<i>Apodemus agrarius</i>	M	175A, Lipovljani	26,53	26,59
15	M 2158	<i>Apodemus agrarius</i>	M	119B, Lipovljani	29,22	28,8
16	M 2176	<i>Apodemus flavicollis</i>	Ž	7A, Turopoljski lug	26,25	26,54
17	M 2179	<i>Apodemus flavicollis</i>	Ž	7A, Turopoljski lug	31,76	31,89
18	M 2182	<i>Apodemus flavicollis</i>	M	69C, Šiljakovačka Dubrava	28,22	27,2
19	M 2183	<i>Apodemus agrarius</i>	M	69C, Šiljakovačka Dubrava	32,03	31,94
20	M 2186	<i>Apodemus flavicollis</i>	Ž	69C, Šiljakovačka Dubrava	28,64	28,27



Slika 2. Prikaz odnosa relativne brojnosti mišolikih glodavaca i kliconoštva



Slika 3. Prikaz kliconoštva po grupiranim lokalitetima

Rasprava

Dosad je objavljeno svega nekoliko radova o istraživanju prosječne relativne brojnosti i kliconoštva populacije mišolikih glodavaca u Republici Hrvatskoj. Rezultate vrlo slične našima, s prosječnom gustoćom populacije od 28,2 % opisuje Štritof (2010.) koja je istraživala kliconoštvo u populaciji mišolikih glodavaca izlovljenih u istočnoj Slavoniji. No u oba istraživanja radi se o prosjecima koji obuhvaćaju rezultate dobivene s različitih lokaliteta. Tijekom našeg, ali i nekih drugih istraživanja dokazano je da se brojnost populacije glodavaca može znatno razlikovati ovisno o mjestu, ali i vremenu izlova. S obzirom na to da je većina izlova tijekom kojih su prikupljeni uzorci za ovo istraživanje provedena samo jednokratno, zaključke treba donositi oprezno. Ipak, relativno niska relativna brojnost glodavaca na lokalitetu Velika Gorica u lipnju (12 %) poklapa se s već provedenim istraživanjima gustoće populacije u različita godišnja doba (Margaletić i sur., 2008.) koja su, na istoj lokaciji, zabilježila vrlo sličan trend. Prema podacima dobivenim istraživanjem mišolikih glodavaca u općini Lipovljani (Vučurinec, 2018.) njihova relativna brojnost 2014. godine iznosila je visokih 91 %, dok je 2016. godine bila vrlo slična onoj utvrđenoj tijekom našeg istraživanja provedenog godinu dana poslije (33 % odnosno 34,29 %). Ovakav trend kretanja gustoće populacije može se objasniti činjenicom da na nju utječe količina hrane dostupne na pojedinim lokalitetima. Urod bukve u jesen ima važnu ulogu u produljenju sezone razmnožavanja mišolikih glodavaca i stoga povećanju njihove brojnosti u proljeće (Bjedov i sur., 2016.). U razdoblju od 2015. do 2017. zabilježen je izostanak i nepravilnost uroda sjemena obične bukve sa samo jednom plodnom godinom (Gavranović i sur., 2018.), što može objasniti

trend smanjenja gustoće populacije mišolikih glodavaca na istom lokalitetu u odnosu na 2014. godinu.

Tijekom našeg istraživanja dominantna vrsta glodavca u uzorku bio je žutogrli miš (56/186; 30,1 %), kao i u istraživanju Bjedov i sur., 2016. (53 %), dok je u prijašnjim istraživanjima najčešće ulovljena vrsta bio prugasti poljski miš (Štritof, 2010.; Borčić i sur., 1982.). Dominantnost određene vrste u izlovu ovisit će opet o dostupnosti hrane, ali i tipu staništa na kojemu se postavljaju klopke. Za poljskoga miša karakteristično je da za vrijeme rasta vegetacije najčešće obitava na poljoprivrednim površinama, a preko jeseni migrira u šumu. Žutogrli miš češći je stanovnik šume jer uglavnom nastanjuje manje vlažna područja s velikom količinom listinica i slabije razvijenim slojem grmlja. Utvrđeno je da poslije obilnog uroda žira u većini slučajeva povećava se brojnost populacije žutogrlog miša (Margaletić i sur., 2008.). Prema podacima Agrokлуба Hrvatska u 2016. godini hrast kitnjak imao je natprosječan urod što možda možemo povezati s povećanjem brojnosti žutogrlog miša u toj, ali i sljedećoj godini.

Smatra se da određivanje stupnja kliconoštva i brojnosti same populacije mišolikih glodavaca ima važnu ulogu u procjeni rizika infekcije za životinje i ljude te bi taj aspekt trebao biti dodatno istražen (Turk i sur., 2003., Turk i sur., 2006., Habuš i sur., 2017.). Tijekom ovog istraživanja iz pet (71,4 %) od ukupno sedam pretraženih vrsta mišolikih glodavaca izdvojene su leptospire, a prosječan stupanj kliconoštva iznosio je 10,75 %. Ovakav nalaz potvrđuje važnu ulogu mišolikih glodavaca u održavanju leptospira unutar endemijskih područja Republike Hrvatske. Za razliku od većine prijašnjih, u ovome istraživanju nije ustanovljena povezanost između gustoće populacije i povećanog kliconoštva u glodavaca. Ovakav se

rezultat može objasniti iznimno kompleksnom epizootologijom leptospiroze. Naime, na širenje, ali i održavanje bolesti u prirodi utječe klima, sastav tla, poplavnost područja, nadmorska visina, a možda i neki drugi, još neistraženi čimbenici.

Tijekom ovog, ali i nekih prijašnjih istraživanja utvrđena je velika raznolikost u postotku inficiranosti s obzirom na geografske lokacije izlova (0 – 30 %). Tako je u dolinama rijeka Save i Drave dokazano kliconoštvo u 7,0 % odnosno 8,9 % mišolikih glodavaca (Borčić i sur., 1982.; Borčić i sur., 1983.). Milas i suradnici (2002.) ustanovili su kliconoštvo od 7,5 %, Turk i suradnici (2003.) ustanovili su stupanj kliconoštva od 7,0 %, a Štritof (2010.) u istočnoj Slavoniji stupanj kliconoštva od 29,9 %. U našem istraživanju u općini Velika Gorica ustanovljen je stupanj kliconoštva od 30 %. Ovakav velik postotak kliconoštva možemo pokušati objasniti položajem ovoga lokaliteta. Naime to područje pripada u sliv rijeke Save i ima velik poplavljeni potencijal, a vlažna područja omogućuju dulji opstanak leptospira u okolišu, izvan rezervoara. Provedeno je istraživanje premalog opsega da bi se moglo tvrditi da je ovo područje iznimno rizično, no dobiveni rezultati upućuju na to da bi svakako trebalo napraviti longitudinalno istraživanje koje bi pratilo kliconoštvo te ostale biotičke i abiotičke čimbenike na istim lokalitetima, ali dulje vrijeme.

Literatura

- BJEDOV, L., P. SVOBODA, A. TADIN, J. HABUŠ, Z. ŠTRITOF, N. LABAŠ, M. VUCELJA, A. MARKOTIĆ, N. TURK, J. MARGALETIĆ (2016): Utjecaj uroda sjemena obične bukve (*Fagus sylvatica* L.) na populacije sitnih glodavaca i pojavnosti hantavirusa u šumama nacionalnog parka „Plitvička jezera“ i parka prirode „Medvednica“. Šumarski list 9-10, 455-464.
- BORČIĆ, B., H. KOVAČIĆ, Z. ŠEBEK, B. ALERAJ, N. TVRTKOVIĆ (1982): Small terrestrial mammals as reservoir of leptospores in Sava Valley (Croatia). *Fiola Parsitol.* 29, 177-182.
- BORČIĆ, B., H. KOVAČIĆ, Z. ŠEBEK, B. ALERAJ, N. TVRTKOVIĆ (1983): Small terrestrial mammals as reservoir of leptospores in Drava Valley. *Vet. Arhiv* 53, 41-49.
- GAVRANOVIĆ, A., S. BOGDAN, M. LANŠČAK, M. GRADEČKI-POŠTENJAK, I. ČEHULIĆ, M. IVANKOVIĆ (2018): Dinamika plodonošenja i morfološke značajke plodova odabranih provenijencija obične bukve (*Fagus sylvatica* L.) u Hrvatskoj. *Međ. znan. konf. "Šumarska znanost: sjećanje na prošlost, pogled u budućnost"* (Jastrebarsko, 9. Veljače 2018). Zbornik sažetaka. Jastrebarsko, (82-83).
- HABUŠ, J., Z. PERŠIĆ, S. ŠPIČIĆ, S. VINCE, Z. ŠTRITOF, Z. MILAS, Z. CVETNIĆ, M. PERHARIĆ, N. TURK (2017): New trends in human and animal leptospirosis in Croatia, 2009-2014. *Acta Tropica* 168, 1-8.
- KO, A. I., M. GALVAO REIS, C. M. RIBEIRO DOURADO, W. D. JOHNSON, L. W. RILEY (1999): Urban epidemic of severe leptospirosis in Brazil. *Salvador Leptospirosis Study Group. Lancet* 353, 820-825.
- KORPIMAKI, E., C. J. KREBS (1996): Predation and population cycles of small mammals. *Bioscience* 46, 754-764.
- MARGALETIĆ, J., M. BOŽIĆ, M. GRUBEŠIĆ, M. GLAVAŠ, W. BÄUMLER W. (2008): Distribution and abundance of small rodents in Croatian forests. *J. Pest. Sci.* 78, 99-103.
- MILAS, Z., N. TURK, V. STAREŠINA, J. MARGALETIĆ, A. SLAVICA, D. ŽIVKOVIĆ, Z. MODRIĆ (2002): The role of myomorphous mammals as reservoirs of leptospira in the pedunculate oak forests of Croatia. *Vet. arhiv* 72, 119-129.
- PARK, Y. K., S. K. PARK, Y. K. RHEE, S. K. KANG (1990): Leptospirosis in Chonbuk province of Korea in 1987. *Korean J. Intern. Med.* 5, 34-43.
- STODDARD, R. A., J. E. GEE, P. P. WILKINS, K. MCCAUSTLAND, A. R. HOFFMASTER (2009): Detection of pathogenic *Leptospira* spp. through TaqMan polymerase chain reaction targeting the LipL32 gene. *Diag. Micro. and Inf. Dis.* 64, 247-255.
- ŠTRITOF, Z. (2010): Molekularna epizootologija leptospiroze u mišolikih glodavaca. *Disertacija, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.*
- TURK, N., Z. MILAS, J. MARGALETIĆ, V. STAREŠINA, A. SLAVICA, N. RIQUELMESERTOUR, E. BELLENGER, G. BARANTON, D. POSTIC (2003): Molecular characterisation of *Leptospira* spp. strains isolated from small rodents in Croatia. *Epidemiol. Infect.* 130, 159-166.
- TURK, N., MILAS, Z., MOJCEC, V., RUZIC-SABLJIC, E., STAREŠINA, V., STRITOF, Z., HABUŠ, J., POSTIC, D. (2009): Molecular analysis of *Leptospira* spp. isolated from humans by restriction fragment length polymorphism, real-time PCR and pulsed-field gel electrophoresis. *FEMS Microbiol. Lett.* 300, 174-179.
- VUGRINEC, M. (2018): Utvrđivanje proširenosti bakterije *Francisella tularensis* u populaciji mišolikih glodavaca. *Diplomski rad. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.*