

UDK 619:616.986.7:636.2.034

**LEPTOSPIRA *interrogans* SEROTIP *hardjo* KOD MUZNIH
KRAVA*,
LEPTOSPIRA interrogans SEROTYPE *hardjo* IN DAIRY COWS**

Branka Vidić, S. Boboš**

Podaci o infekciji izazvanoj sa *L. hardjo* kod muznih krava u svetu ukazuju na njenu značajnu ulogu u nastajanju zdravstvenih i ekonomskih problema. *L. interrogans* serotip *hardjo* opisana je kao uzročnik pobačaja, rađanja mrtve ili slabo vitalne teladi, agalaktije, mastitisa i niske plodnosti kod krava. Dva genotipa *L. hardjo* su identifikovana kod krava *hardjopractis* i *hardjobovis*. Serološkim ispitivanjima ustanovljen je drastičan porast inficirnosti ovom leptospirom kod krava. *L. hardjo* je adaptirana za goveda kao primarnog domaćina, tako da se infekcija u zapahtima održava i ukorenjuje zbog permanentnog prisustva izvora infekcije. Smatralo se da su ovce slučajni domaćin, međutim novija ispitivanja sugerišu da su ovce još jedan domaćin za održavanje ovog serotipa leptospira. *L. hardjo* je značajna i sa aspekta zdravlja ljudi, naročito onih koji su profesionalno izloženi infekciji. Infekcija izazvana sa *L. hardjo* otkriva se primenom seroloških testova i dokazivanjem leptospira.

U terapiji leptospiroznih infekcija streptomycin (DSM) smatra se lekom izbora. Terapija sa oksitetraciklinima kod kliničkih mastitisa bila je takođe efikasna. Tretman u ranoj fazi bolesti je najuspešniji. Jednokratna primena streptomicina u inficiranim zapahtima redukuje dužinu trajanja izlučivanja leptospira urinom čime se prevenira širenje infekcije kontaminisanim urinom.

Osnovne komponente plana u kontroli leptospiroza su: serološka ispitivanja, higijensko-zdravstvene mere, eliminacija životinja izlučivača leptospira urinom, terapija, vakcinacija i karantin.

Ključne reči: muzna krava, infekcija leptospirama, L. hardjo

* Rad primljen za štampu 15. 7. 2003. godine

** Dr Branka Vidić, naučni savetnik, Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad”, Novi Sad; dr Stanko Boboš, van. profesor, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

Uvod / Introduction

Podaci o infekciji izazvanoj sa *L. hardjo* kod muznih krava u svetu ukazuju na njenu značajnu ulogu u nastajanju zdravstvenih i ekonomskih problema. *L. interrogans* serotip *hardjo* opisana je kao uzročnik pobačaja [2, 16, 25], rađanja mrtve ili slabo vitalne teladi [2, 30, 42], agalaktije [14, 39], mastitisa [21, 24] i niske plodnosti kod krava [11, 34]. Serološkim ispitivanjima šezdesetih godina ustanovljen je drastičan porast infekcije ovom leptospirom kod krava [14, 27, 39, 42]. Ispitivanja u Engleskoj, Severnoj Irskoj, Australiji, Novom Zelandu i SAD ukazuju da su infekcije izazvane sa *L. hardjo* vrlo rasprostranjene u zaptima krava čija prevalencija prevazilazi pojavu *L. pomona* [4, 8, 18, 19]. *L. hardjo* je adaptirana za goveda kao primarnog domaćina, tako da se infekcija u zaptima održava i ukorenjuje zbog permanentnog prisustva izvora infekcije. Krave inficirane sa *L. hardjo* izlučuju leptospire urinom i u toku nekoliko godina [24].

Dva genotipa *L. hardjo* su identifikovana kod krava *hardjopraitno* i *hardjobovis* [37]. U goveda na području SAD dominira serotip *hardjobovis*, dok su u Velikoj Britaniji potvrđeni izolati koji pripadaju serotipu *hardjopraitno*. Do danas su dokazane dve genotipske varijacije serotipa *hardjopraitno*.

Ellis i sar. [14] prvi su saopštili o izolaciji *L. hardjo* iz mleka i urina krava sa kliničkim mastitisom. Smatralo se da su ovce slučajni domaćin, međutim novija ispitivanja [9, 19, 31] sugerišu da su ovce još jedan domaćin za održavanje ovog serotipa leptospira. U prirodnim uslovima, pored goveda i ovaca mogu da se inficiraju konji [34] i ljudi [20, 46]. *L. hardjo* je značajna i sa aspekta zdravlja ljudi, naročito onih koji su profesionalno izloženi infekciji. U pojedinim zemljama leptospiroza kod ljudi izazvana ovim serotipom leptospira najčešće se serološki evidentira [20, 46]. U Engleskoj, 1978. godine potvrđena su 33 slučaja humane leptospiroze izazvane sa *L. hardjo*, pre svega, kod muzača [18].

Etiologija / Etiology

Patogene leptospire svrstane su u jednu vrstu, *L. interrogans* koja sadrži više od 212 serotipova svrstanih u 23 serološke grupe [34]. Procedura koja već dugo dominira u klasifikaciji leptospira je metoda unakrsne aglutinacije posle apsorpcije heterolognih antigena. Taj sistem je ocenjen kao subjektivan. Alternativna klasifikacija je na osnovu hemijskih ispitivanja, odnosno analize DNA. Gravekamp i sar. [23] primenom polimerazne lančane reakcije (PCR) detektovali su sedam vrsta patogenih leptospira: *L. interrogans*, *L. borgpetersenii*, *L. weilii*, *L. noguchii*, *L. santarosai*, *L. meyeri* i *L. kirschneri* [23]. Za detekciju i identifikaciju serotipova *L. interrogans* koristi se analiza DNA, analizom restriktivne endonukleaze (REA). Ova metoda je veoma osetljiva, jednostavna, postupak je automatizovan i daje pouzdane rezultate [23, 36]. Primenom postupka REA mogu da se diferenciraju različiti sojevi određenih serotipova leptospira, kao i patogenost so-

jeva. Sojevi *L. interrogans* mogu da se identifikuju i primenom specifičnih monoklonskih antitela [35, 36]. Primenom slot-blot hibridizacije DNA ustanovljeno je da *L. interrogans* serotip *hardjo* genotip *hardjopraitno* i genotip *hardjobovis* imaju međusobno malo genetske sličnosti, a genotip *hardjobovis* i u poređenju sa drugim serotipovima *L. interrogans*. Na osnovu ovih ispitivanja razlikuju se *L. interrogans* serotip *hardjo* genotip *hardjopraitno* i *L. borgpetersenii* serotip *hardjo* genotip *hardjobovis* [33].

Rasprostranjenost / Distribution

Podaci o infekciji izazvanoj sa *L. hardjo* kod muznih krava u svetu ukazuju na njenu značajnu ulogu u nastajanju zdravstvenih i ekonomskih problema [2, 4, 18, 24, 27, 43, 45]. Dosadašnja ispitivanja su pokazala da je infekcija izazvana sa *L. hardjo* najčešći uzročnik pobačaja izazvanih leptospirama [16, 30, 34]. *L. interrogans* serotip *hardjo* je adaptirana na goveda kao primarnog domaćina. Karakteristike infekcije kod primarnog domaćina su: visoka osetljivost na infekciju, endemska transmisija agensa u domaćinu rezervoaru, relativno niska patogenost za domaćina, prvenstveno hronični tok infekcije, ređe akutna infekcija. Ekonomski gubici se ispoljavaju kroz reproduktivne poremećaje ili mastitise, i ostaju prikriveni u dužem vremenskom periodu. *L. hardjo* perzistira u bubrezima i genitalnom traktu inficiranih životinja, humoralni odgovor na infekciju je nizak što predstavlja teškoće kod dijagnostikovanja, kao i niska efikasnost vakcinacije kao preventivne mere. Infekcijama izazvanim sa *L. hardjo* kod slučajnih ili povremenih domaćina (ovce i ljudi) manifestuje se češće kao akutna infekcija sa visokom patogenošću za domaćina. Uzročnik kratko perzistira u bubrezima i antitelni odgovor na infekciju je visok, što olakšava postavljanje dijagnoze [4, 34].

Izvor infekcije su inficirane životinje koje zagađuju prostirku, vodu ili preko urina. Preživljavanje leptospira u spoljašnjoj sredini zavisi u mnogome od sastava zemljišta i vodnog režima u endemskom području. Leptospire su osetljive na isušivanje i na promene pH vrednosti, pH vrednost niža od 6 i veća od 8 deluje inhibitorno na leptospire. Temperature niže od 7 do 10 °C ili više od 34 do 36 °C nepovoljne su za preživljavanje leptospira. Vlaga je presudan činiac za održavanje leptospira u zemljištu. Može da opstane čak i 183 dana u vlažnom zemljištu, ali preživi samo 30 minuta posle isušivanja. Na zemljištu, pod prosečnim uslovima, leptospire preživljavaju najmanje 42 dana. Leptospire dugo preživljavaju u otvorenim površinskim vodama, duže u stajaćoj vodi nego u tekućoj. Kontaminacija sredine i mogućnost opstanka u spoljašnjoj sredini pod odgovarajućim uslovima uzrokuje visok stepen pojavljivanja oboljenja kod životinja. Zbog važnosti vode kao jednog od činilaca u lancu infekcije, novi slučajevi bolesti se najčešće javljaju tokom kišnih perioda.

Hronično inficirane životinje izlučuju leptospire urinom i više godina [4, 29]. *L. hardjo* može da bude izolovana iz gravidnog i negravidnog uterusa kod prirodne i veštačke infekcije, kao i iz genitalnog trakta prirodno inficiranih bikova

[14, 16]. Leptospire se izlučuju i posle partusa i pobačaja. Inficirani bikovi leptospire mogu da izlučuju semenom u kome se agens nalazi samo nekoliko dana [34]. *Leptospira hardjo* se izlučuje iz genitalnog trakta 8 dana posle pobačaja ili teljenja, a u jajnicima i uterusu može da se otkrije 90. dana posle eksperimentalne infekcije [17], kao i kod prirodno inficiranih krava [18]. *L. hardjo* predstavlja rizik za ljude, pre svega, mužače. Najverovatniji put infekcije jeste penetracija kroz konjunktive ili preko kožnih lezija.

Patogeneza i klinička slika / Pathogenesis and clinical picture

Leptospire prodiru u organizam kroz lediranu kožu ili sluzokožu. Na mestu inficiranja nema lokalne reakcije već leptospire aktivnim kretanjem prodiru u krvotok i uzrokuju septikemiju. Intenzitet kliničkih manifestacija u toku septikemične faze varira i mogu da se jave groznica, anoreksija ili je infekcija inaparentna. *L. hardjo* ne proizvodi hemolizin i ne izaziva intersticijalni nefritis. Razmnožava se samo u gravidnom uterusu i mlečnoj žlezdi u fazi laktacije, a posledica toga je septikemija, a zatim abortus i/ili mastitis. Kao posledica stvaranja specifičnih antitela u krvi leptospire bivaju fagocitovane i nestaju iz tkiva i organa, izuzev delova tela ili organa u kojima molekuli antitela ne prolaze ili sporije penetriju: lumen bubrežnih tubula, oči, mozak i fetus. Leptospire se najduže zadržavaju u bubrezima. Eksperimentalno životinje mogu da se inficiraju preko konjunktiva [42], intranasalno [5], a intrauterini put infekcije se najčešće koristi [5, 43].

Kliničke manifestacije infekcije izazvane sa *L. hardjo* su pobačaj [15, 30, 39, 43] ili mastitis [13, 24]. U zapaćima krava sa visokim procentom serološki pozitivnih grla, pobaćaji se registruju pojedinaćno i kao osnovna klinićka manifestacija prisustva infekcije izazvanih sa *L. hardjo*. U zapaćima sa hronićno inficiranim grlima pobaćaji se javljaju uglavnom kod junica. Pobaćaji najćešće nastaju u drugoj polovini graviditeta. Vremenski period od inficiranja do pojavljivanja pobaćaja duži je nego kod ostalih serotipova leptospira, od 6 do 8 nedelja. Većina abortusa se javlja krajem godine, kada su prisutni visoka vlažnost i niske temperature, što pogoduje transmisiji leptospira. Pobaćaji mogu da se jave kao jedini dokaz prisustva infekcije u zapatu. Smatra se da *L. hardjo* nije specifićni uzročnik pobaćaja [4, 7]. Eksperimentalnim zaražavanjem gravidnih krava sa *L. hardjo* reprodukovani su pobaćaji, a što je potvrđeno u više radova. Pored pobaćaja ustanovljena je mumifikacija fetusa, rađanje mrtve i avitalne teladi [2, 39, 42]. U pojedinim zemljama ućešće *L. hardjo* kao uzročnika pobaćaja kod krava je oko 2 posto, i ne pridaje mu se veći znaćaj [7, 8]. Nasuprot ovim podacima Ellis i sar. [15] ustanovili su pobaćaje vezane za infekciju izazvanu sa *L. hardjo* u visokom procentu (42%), a što je potvrđeno izolacijom uzročnika iz tkiva fetusa. U zapaćima inficiranim sa *L. hardjo* registrovano je povaćanje u visokom procentu što je dovedeno u vezu sa prisutnom infekcijom. Ispitivanja Dhaliwala i sar [11] ukazala su da je *L. hardjo* uzrok niskog fertiliteta, kada se radi o novim infekcijama u zapatu. Uspostavljanje prirodnog imuniteta u zapaćima krava hronićno inficirana

sa *L. hardjo* reproduktivne sposobnosti se vraćaju na normalu. Ovi podaci ukazuju da primena vakcinacije može da bude veoma značajna u kontroli niskog fertiliteta.

Kliničko stanje kod krava pre bi se označilo kao agalaktija ili „sindrom pada mlečnosti” pre nego pravi mastitis [13, 24]. Ukoliko se infekcija javlja prvi put u zapatu, mastitisi nastaju naglo, i zahvataju do 50 posto krava istovremeno i uzrokuje drastičan pad mlečnosti [24]. Kod životinja se javljaju groznica, anoreksija, otežano kretanje i agalaktija. Mleko je žutonarandžasto, sa primesama krvi i velikim brojem leukocita. Mleko može da sadrži veliki broj grudvica i ima gumastu konzistenciju. Vime je bez spoljašnjih znakova zapaljenja i najčešće su zahvaćene sve četvrti. Proizvodnja mleka je značajno smanjena i to je prvi znak prisustva infekcije izazvane sa *L. hardjo*. Proizvodnja se vraća na normalu za tri nedelje, ponekad i kasnije, međutim ima krava koje zasuše [13, 24]. Prisustvo leptospira u mleku direktno je posledica leptospiremijske, a može da se otkrije i povećanjem broja ćelija u mleku. Porast broja ćelija u mleku i produženo niska proizvodnja mleka znaci su koji govore o mogućoj infekciji izazvanoj sa *L. hardjo* u zapatu krava. Supklinička infekcija izazvana sa *L. hardjo* najčešće se ispoljava u smanjenoj proizvodnji mleka koja može da traje mesecima [24]. Sullivan i Collan [39] utvrdili su da su se samo kod 3 posto krava mogle da ustanove kliničke promene, dok je istovremeno konstatovana velika rasprostranjenost supkliničkih infekcija, i pad proizvodnje mleka do 30 posto.

Laboratorijska dijagnoza / Laboratory diagnostics

Dijagnoza infekcije izazvane sa *L. hardjo* bazira se na primeni seroloških testova i detekcije leptospira. Za direktnu mikroskopiju koriste se krv, homogenat tkiva ili urin. Krv se kod bakterijemije uzima aseptično, a kao antikoagulanse se koristi Na-oksalat, jer Na-citrat sprečava rast leptospira [5]. Za ispitivanje se najčešće koristi urin posle centrifugovanja. Ako se radi o profuznoj leptospiruriji direktna mikroskopija može da bude uspešna. Kada se ispitivanje ne obavlja neposredno uzorcima urina se dodaje 10% formalin. Direktna mikroskopija je neizvesna iz dva razloga: leptospire se ne boje uobičajenim tehnikama bojenja i ne vide se običnim svetlosnim mikroskopom. Mikroskopija u tamnom polju je slabo osetljiv postupak i veoma teško je diferencirati leptospire od artefakta. Specijalnim tehnikama bojenja (Levaditi i Warthin-Starry metoda) leptospire mogu da se ustanove u isečcima tkiva, materijalima dobijenim biopsijom ili pri obdukciji [38]. Test fluorescentnih antitela koristi se za detekciju leptospira u tkivima i urinu, a za ispitivanje može da se koristi svež ili zamrznuti materijal koji se ispituje [5]. Primena ovog postupka zahteva posedovanje kvalitetnog antiseruma. Ovom metodom leptospire se dobro uočavaju, postupak je metodološki prihvatljiv, a bitan nedostatak je taj što ne može da se identifikuje serotip leptospira. Tehnika fluores-

centnih antitela je osetljivija nego mikroskopija u tamnom polju za detekciju leptospira u urinu i tkivima. Preporučuje se i bojenje imunoperoksidazom [4].

Izolacija leptospira je skup postupak, spor za rutinsku dijagnostiku, ali predstavlja najbolji dokaz za postavljanje dijagnoze. *L. hardjo* može da se izoluje kulturelno ili korišćenjem laboratorijskih životinja [1, 4, 5, 24, 26]. Na poteškoće kod izolacije leptospira ukazali su mnogi istraživači a što je posebno karakteristika za *L. hardjo* [1, 5, 18]. Leptospire mogu da se izoluju iz krvi, urina, mleka, tkiva i pobačenih plodova. Za kulturelni pregled potrebno je da se koriste sveži uzorci za ispitivanje. Vrlo izraženi zahtevi za rast ove leptospire uslovili su iznalaženje selektivnih podloga za njenu izolaciju [1, 12, 26]. Preporučuju se podloge koje u svom sastavu sadrže serum kunića (5 - 10%), serumski albumin, Na-piruvat (100 µg/ml). Dodavanjem podlozi 200 µg/ml 5-fluorouracila sprečava se rast ostalih bakterija, ili se u istu svrhu mogu da koriste furazolidon i neomicin (5 µg/ml). Vankomicin i nalidiksična kiselina koriste se za izolaciju leptospira iz sperme. Adler i sar [1] preporučuju selektivnu podlogu koja predstavlja EMJH-medijum sa 6 antibiotika i antimitotika za izolaciju *L. hardjo* iz urina i homogenata tkiva. Inokulisane hranljive podloge inkubišu se na 28 °C i mikroskopski ispituju u nedeljnim intervalima, do tri meseca. U polutečnim podlogama rast leptospira se uočava u obliku prstenova, nekoliko milimetara ispod površine podloge. Kada se želi da izbegne štetan efekat mleka i urina na leptospire materijal koji se ispituje zasejava se na čvrste podloge [43]. Hranljive podloge su neadekvatne u slučaju malog broja leptospira u ispitujućem materijalu i u tim slučajevima, koriste se laboratorijske životinje (kunić, jednodnevni pilići, zlatni hrčak i najčešće, zamorci).

Da bi se potvrdila dijagnoza leptospiroznog pobačaja leptospire moraju da se dokažu u tkivima fetusa ili da se detektuju antitela u tečnostima fetusa. Hibridizacija nukleinske kiseline je osetljiva, brza i serotipski specifična metoda za dokazivanje leptospira u tečnostima i tkivima i ima prednosti u odnosu na kulturelni pregled i dokazivanje leptospira metodom fluorescencije [5, 41]. Polimerazna lančana reakcija (PCR-test) je vrlo osetljiv i specifičan postupak za dokazivanje leptospira u urinu i homogenatu tkiva [21, 36]. Ima sposobnost za otkrivanje malog broja leptospira u ispitujućim materijalima inficiranih krava i za brzo dobijanje rezultata. ELISA test za detekciju leptospira i detekciju *L. hardjo* iz kliničkog materijala pokazao se kao brz, osetljiv, automatizovan i na osnovu toga prihvatljiv postupak za rutinsku dijagnostiku [5, 35]. Radioimunološka proba (RIA) i enzimskoradioimunološka proba (ERIA) zahtevaju specijalne uslove, stručno osoblje i adekvatnu tehničku opremljenost. Pomenute metode su osetljive, ali je njihova primena limitirana za rutinsku dijagnostiku [4, 34].

Veoma izraženi zahtevi za rast ove leptospire uslovili su da se dijagnoza najčešće zasniva na značajnom povećanju titra antitela u parnim uzorcima seruma. Međutim, serološki testovi u dijagnostici leptospiroze imaju i izvesna ograničenja: antitela ne mogu da se otkriju na početku infekcije, imunološki odgovor je slabiji kada se primenjuje antibiotska terapija, pozitivan serološki nalaz ne mora da bude posledica oboljenja, nego i znak prethodne infekcije, aktivne imuni-

zacije, kao i pasivnog imuniteta [4, 34]. Imunološki odgovor posle vakcinacije je težak za diferencijaciju od prirodne infekcije, s obzirom da ne postoje testovi za njihovo razlikovanje. Najviše korišćena serološka metoda je mikroskopska aglutinacija (MA). Kao antigen se koristi živa kultura leptospira, a u upotrebi je i formalizirani antigen (0,3% formalina u krajnjoj koncentraciji). Inaktivisani antigen je pogodan za komercijalne svrhe i može da se koristi i u postupku aglutinacije na predmetnici [4]. Kod životinja u akutnom stadijumu infekcije dijagnoza može da se postavi na osnovu visine titra antitela u akutnoj fazi i rekonvalescenciji. Međutim, ako su u pitanju pobačaji ili rađanje mrtve teladi kada je infekcija usledila 5 do 6 nedelja pre pobačaja, titar specifičnih antitela može da bude nizak, tako da parni uzorci seruma mogu da imaju malu dijagnostičku vrednost kod abortusa izazvanih sa *L. hardjo* [18, 43]. Higgins i sar [24], kod krava koje su pobacile utvrdili su isti ili niži nivo antitela u serumu 14. dana od pobačaja. Kao najbolji indikator pobačaja izazvanih sa *L. hardjo* je dokazivanje infekcije u pobačenom fetusu. Serološki se ispituju uzorci krvi iz srca fetusa tako da su detektovana antitela fetalnog porekla, s obzirom da cirkulišuća antitela ne prolaze placentarnu barijeru. Primenom MA otkrivaju se uglavnom IgM kao i IgG antitela. Metoda je manje osetljiva za detekciju izlučivača leptospira kod hroničnih infekcija, kada je imunološki odgovor nizak [4, 8, 16]. Nizak titar aglutinina može da bude dijagnostički značajan u nevakcinisanim zapaćima krava kao indikator endemske infekcije [34, 40]. RVK je ocenjena kao osetljivija metoda za otkrivanje akutnih infekcija izazvanih sa *L. hardjo* i za detekciju izlučivača leptospira urinom za razliku od mikroskopske aglutinacije [25]. *ELISA*-test (IgM i IgG) ima izvrsnu specifičnost i osetljivost, postupak je automatizovan i pogodan je za ispitivanja šireg obima [6, 9, 36]. *ELISA* je osetljivija metoda od MA za dokazivanje antitela kod prirodno i veštački inficiranih životinja, ali je nepodesna za diferenciranje vakcinalnog od infektivnog imunološkog odgovora, kao i za detekciju sekundarnog imunog odgovora vakcinisanih životinja koje su naknadno inficirane sa *L. hardjo* [44].

Lateks aglutinacija (LA) je metoda koja ima prednost u odnosu na mikroskopsku aglutinaciju i *ELISA*-test (IgM), jer se antitela za *L. hardjo* mogu da otkriju ranije. Za sada se koristi kod ispitivanje uzoraka seruma ljudi [3]. Indirektna hemaglutinacija (IHA) takođe je pokazala veću specifičnost i osetljivost u odnosu na MA [4, 34].

Terapija / Therapy

U terapiji leptospiroznih infekcija streptomycin (DSM) smatra se lekom izbora. Ispitivanjem osetljivosti 18 izolata *L. hardjo* utvrđeno je da je uzročnik bio osetljiv na penicilin G, ampicilin, tetraciklin, eritromicin i streptomycin [32]. Tretman u ranoj fazi bolesti je najuspešniji. U toku pojave leptospiroze kod mlečnih krava meri se temperatura dva puta dnevno i svaka životinja sa povišenom telesnom temperaturom tretira se dihidrostreptomycinom (25 mg/kg). Kod krava sa mastitisom klinički odgovor je bio zadovoljavajući. Istovremeno je smanjen

rizik od mogućih pojavljivanja pobačaja, međutim tretman sa streptomycinom je neefikasan za adekvatno odstranjivanje leptospira iz genitalnog trakta [6, 16, 18]. Jednokratna aplikacija streptomicina kod prirodno inficiranih krava sprečila je izlučivanje *L. hardjo* urinom do 16. nedelje nakon tretmana. Ukoliko se tretira ceo zapaht krava izlučivača leptospira, novi slučajevi infekcije nisu registrovani [22]. Tretiranje krava streptomycinom, jednokratno ili u toku pet uzastopnih dana, posle veštačke infekcije izazvane sa *L. hardjo*, primenom PCR metode uočen je prestanak izlučivanja leptospira urinom već dva dana posle tretmana. Istovremeno, konstatovano je da su te životinje imale nizak serološki odgovor u poređenju sa netretiranim grlima. Tretirane krave nisu ponovo izlučivale leptospire u toku sledeća četiri meseca [21, 22]. Jednokratna primena streptomicina u inficiranim zapahtima redukuje dužinu trajanja izlučivanja leptospira urinom, čime se prevenira širenje infekcije kontaminisanim urinom.

Kontrola i vakcinacija / Control and vaccination

Osnovne komponente plana za kontrolu leptospiroza, a time i infekcije izazvane sa *L. hardjo* su: serološka ispitivanja, higijensko-zdravstvene mere, karantin, vakcinacija i eliminacija životinja-izlučivača leptospira urinom. Iskorenjivanje leptospiroze detekcijom i eliminacijom životinja izlučivača za sada je teško prihvatljiv postupak, s obzirom na probleme identifikacije izlučivača leptospira. Serološki pozitivne životinje intermitentno mogu da izlučuju leptospire, stoga je neophodno obavljati dodatne urinokulture da bi se dobio prihvatljiv nivo tačnosti. To predstavlja problem jer je ispitivanje skupo i zahteva dug vremenski period. S druge strane, životinje koje izlučuju leptospire mogu da imaju nizak nivo antitela u serumu koji se primenjenim serološkim postupkom (MA) ne može da detektuje, posebno ako su životinje tretirane antibioticima. Predlaže se, iz praktičnih razloga, da sumnjive i pozitivne reaktore treba smatrati izlučivačima i odstraniti ih iz zapata ili ih tretirati na odgovarajući način sve dok se ne sprovede odgovarajuće ispitivanje urina. Uspešna kombinacija seroloških ispitivanja, odvajanja starosnih kategorija grla, vakcinacija, primena veštačkog osemenjavanja, utvrđivanje reproduktivnih poremećaja i izolacija zapata od mogućih spoljašnjih izvora infekcije mogu da eliminišu transmisiju *L. hardjo*. Potencijalne junice za remont stada treba da se odgajaju odvojeno od krava iz zapata posle odbijanja, a ako se primenjuje vakcinacija u zapatu moraju da budu vakcinisana mesec dana pre uvođenja u zapaht. Kada se program eradikacije sprovodi kompletno, životinje koje se uvode u zapaht moraju dvokratno da budu serološki pregledane, dve nedelje pre uvođenja životinja u zapaht. Ispitivanje urina je poželjno ukoliko za to postoje adekvatni uslovi. Da bi program eradikacije uspeo, bitna su finansijska sredstva, mere higijene i vakcinacija. Vlažna područja treba da se dreniraju ili ograde, obori i staje kao i pribor, da se dezinfikuju. Kontrola leptospiroze goveda zasniva se na merama prevencije infekcije u i izvan zapata. Priplodne životinje treba da budu vakcinisane i / ili tretirane.

rane antibioticima, a radi svođenja infekcije na minimum goveda treba da se drži dalje od ovaca.

Vakcinacija protiv leptospiroze krava je sada opšte prihvaćena metoda u kontroli ove bolesti, a najefikasnija mera za kontrolu i prevenciju kliničke leptospiroze i pobačaja kod goveda je kombinacija vakcinacije sa terapijom antibioticima (DSM-25 mg/kg) [4, 34]. Vakcine koje su u upotrebi sadrže leptospire inaktivisane formalinom, a kao adjuvans se koristi stipisa ili Al-hidroksid. Leptospire se kultivišu u podlogama bez proteina (sintetički medijum), da bi se pojavljivanje anafilaktičkih reakcija svelo na minimum. Tako pripremljene vakcine kada su testirane na zamorcima mogu da izazovu anafilaktičku reakciju. Saopšteno je više radova koji se odnosi na efikasnost vakcina protiv leptospiroze [5, 6, 10, 18]. Polivalentni bakterini trebalo bi da sadrže enzooske serotipove leptospira, karakteristične za određeno područje, zbog toga što ne postoji unakrsna zaštita između serotipova. Tako vakcinacija petovalentnom vakcinom u kojoj je i *L. hardjo*, nije zaštitila krave ni junice od infekcije izazvane sa *L. hardjo* šest meseci posle vakcinacije. Kod krava je ustanovljeno izlučivanje leptospira urinom, a kod junica su registrovani reproduktivni poremećaji (avitalna ili mrtvorodena telad) [6]. Vakcina pripremljena u SAD (petovalentna) slab je imunogen, stvara nizak nivo aglutinina u serumu kod vakcinisanih krava i ima kratkotrajan imunitet [5]. Vakcina pripremljena od *L. hardjo* genotip *hardjobovis* je bolji antigen nego *L. hardjo* genotip *hardjopraitno*, mereno visinom titra aglutinina kod vakcinisanih životinja [5]. Vakcine koje sadrže kompletan Freundov adjuvans stimulišu stvaranje viših nivoa antitela, ali to nije uticalo na bolju zaštitu [4]. Kada se radi o *L. hardjo* krave moraju da se vakcinišu dva puta godišnje u toku pet godina. Program počinje vakcinacijom junadi u uzrastu od četiri do šest meseci. Ako se radi o endemskim područjima predlaže se vakcinacija bikova, junica i krava. Junice se vakcinišu pre dovođenja u objekte sa starijim kategorijama životinja, a zapat se remontuje iz stada serološki negativnih životinja. Pitanje da li otpočeti sa programom vakcinacije treba da se razmatra paralelno sa ekonomskim štetama koje nastaju u zapatu. Ukoliko je bolest prisutna u kliničkoj formi, sa visokim titrom antitela, ili je veliki broj životinja serološki pozitivan, sve kliničke slučajeve i pozitivne reaktore treba tretirati sa DSM, a negativne životinje vakcinisati. To sve prati odgovarajuća higijena prostora. Jedna od varijanti programa, a koja ima i praktičnu prednost, je vakcinacija svih krava u zapatu i jednokratni tretman sa DSM (25 mg/kg), svih steonih krava.

Problem primene vakcinacije je prisutan i u centrima za VO, pošto se sa trenutno dostupnim serološkim testovima ne mogu da razlikuju vakcinalni od infektivnog imunološkog odgovora. Dokazano je da leptospire preživljavaju u nezamrznutoj spermi, sa ili bez antibiotika, kao i u zamrznutoj spermi bez antibiotika [16, 17, 18, 34]. Kada se punomasno mleko koristi kao razređivač za spermu bikova transmisija leptospira kontaminisanim semenom onemogućena je zbog antileptospiralnog litičnog faktora koji se nalazi u kravljem mleku [4]. U mnogim zemljama preduzete su mere za sprečavanje prenošenja leptospira spermom,

tako bikovi sa titrom aglutinina 1:100 ne mogu da uđu u centar za VO. S druge strane, odluka o isključenju bikova, naročito onih sa izvanrednim genetskim potencijalom na osnovu cirkulišućih antitela može da se dovede pod znak pitanja [34]. Kingscot [28] navodi da perzistencija antitela kod bikova može da bude posledica leptospira koje su prisutne u cerebrospinalnoj tečnosti, u kojoj mogu da budu otkrivene najmanje godinu dana posle infekcije. U zavisnosti od razvitka osetljivih i pouzdanih metoda identifikacije inficiranih bikova, dodavanje antibiotika u spermu ostaje najbolje praktično sredstvo kontrole prenošenja leptospira veštačkim osemenjavanjem.

Preventivna vakcinacija se koristi kada se žele da izbegnu štete nastale kod kliničke forme leptospiroze (pobačaji i mastitisi), ali to je nedovoljno za eliminisanje izlučivača leptospira urinom, a time ostaje prisutan rizik transmisije agensa na mlade životinje [4]. U pojedinim zemljama prisutan je problem humane leptospiroze u vezi sa *L. hardjo*, pre svega kod muzača, gde se prihvata jedan alternativni program: vakcinacija ljudi, zaštita od kontaminisanog urina, vakcinacija životinja vakcinama efikasnim da eliminišu leptospire iz bubrežnih tubula i tretman antibioticima [4, 7, 34].

Literatura / References

1. Adler B., Faine S., Christopher W. L., Chappel R. J.: Vet. Microbiol 12, 377, 1986. - 2. Akkermans J. P., Kreeft H. J.: Tijdschr. Diergeneeskde, 117, 375-9. 1992. - 3. Arimitsu Y., Kmety E., Ananyina Y., Barabton G., Ferguson I. R., Smythe W. J.: Bull. World Health. Organ. 72, 3, 395-9, 1994. - 4. Blobel H., Schlieser T.: Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren VEB Gustav Fischer Verlag, Jena, 125, 1985. - 5. Bolin C. A., Zuerner R. L., Trueba G.: Am J Vet Res 50, 1001-1003, 1989. - 6. Bolin A. C., Cassells J. A., Zuerner R. L., Trueba G.: Am. J. vet. Res. 52, 1639-1643, 1991. - 7. Carter M. E., Cordes D. O., Holland J. T. S., Lewis S. F., Lake D. E.: NZ Vet. J. 30, 136, 1982. - 8. Chappel R. J., Millar B. D., Adler B., Hill J., Jeffers M. J., Jones R. T., Mc Caughan C. J.; Mead L. J., Skilbeck N. W.: Aust. Vet. J. 66, 330-333, 1989. - 9. Cousins D. V., Ellis T. M., Parkinson J., Mc Glashan C. H.: Vet. Rec. 124, 123-124, 1989. - 10. Dhaliwal G. S., Murray R. D., Downham D. Y., Dobson H.: Vet. Res. 25, 2-3, 271-4, 1994. - 11. Dhaliwal G. S., Murray R. D., Ellis W. A.: Vet. Rec 23, 272-276, 1996. - 12. Ellinghausen H. C. Jr., Mc Cullough W. C.: Am. J. Vet. Res. 26, 39-44, 1965. - 13. Ellis W. A., O'Brien J. J., Pearson J. K. L., Collins D. S.: Vet. Rec 99, 368-370. 1976. - 14. Ellis W. A., Michna S. W.: Vet. Rec. 99, 409-412, 1976 b. - 15. Ellis W. A., Brien J. J., Neill S. D., Ferguson H. W., Hanna J.: Vet. Rec. 110, 147, 1982. - 16. Ellis W. A., Neill S. D., O'Brien J. J.: Vet Rec 110, 192-194, 1982. - 17. Ellis W. A. et. al.: Res. vet. Sci. 39, 292, 296, 1985. - 18. Ellis W. A., Thiermann A. B.: Am. J. Vet. Res. 47, 1694-1696. 1986. - 19. Ellis G. R., Partington D. L., Hindmarsh M., Barton M. D.: Aust. Vet. J. 71, 203-206. 1994. - 20. Ezech A. O., Adesiyun A. A., Addo P. B., Ellis W. A., Makinde A. A., Bello C. S.: Cent Afr J Med. 37, 11-15, 1991. - 21. Gerritsen M. J., Olyhoek T., Smits M. A., Bokhout B. A.: J. Clin. Microbiol. 29, 12, 2805-2808, 1991. - 22. Gerritsen M. J., Koopmans M. J., Dekker T. C., De-Jong M. C., Moerman A., Olyhoek T.: Am. J. vet. Res. 55, 3, 339-343, 1994. - 23. Gravekamp C., Van-de-Kemp H., Franzen M., Carrington D., Schoone G. J., Van-Eys G. J., Everard C. O., Hartskeerl R. A., Terpstra W. J.: J. Gen. Microbiol. 139, Pt 8, 1691-700, 1993. - 24. Higgins' R. J., Harbourne J. F., Little T. W. A., Stevens A. E.: Vet. Rec. 27, 307-310. 1980. - 25. Hodges R. T. Day A. M.: NZ Vet. J. 35, 61, 1987. - 26. Johnson R. C., Haris V. G.: J. Bacteriol. 94, 27-31, 1967. - 27. Kaszanyitzky E., Fenyvesi A., Galantai Z.: Allatory Lapja 46615-618, 1991. - 28.

Kingscote B. F.: Can. vet. J. 27, 188, 1986. - 29. Leonard F. C., Quinn P. J., Ellis W. A., O'Farrell K.: Res. Vet. Sci. 55, 195-202, 1993. - 30. Murray R. D.: Vet. Rec. 127, 543-547, 1990. - 31. Pekelder J. J.; Westbrink F., Vellema P., Peterse D. J., Bokhout B. A., Franken P.: Tijdschr Diergeneeskd 118, 433-435, 1993. - 32. Proscott J. F., Nicholson V. M.: Can. J. vet. Res. 52, 286, 1988. - 33. Ramadass P., Marshall R. B., Jarvis B. D.: Res. Vet. Sci. 49, 2, 194-7, 1990. - 34. Rodostits O. M., Blood D. C., Gay C. C.: Tularemia In. Veterinary medicine. A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses. 8 th ed. Bailliere Tindall, London Philadelphia Sydney Tokyo Toronto, 775-777, 1994. - 35. Savio M. L., Pacciarini M. L., Cinco M., Tagliabue S.: Microbiologica, 16, 4, 315-21, 1993. - 36. Savio M. L., Rossi C., Fusi P., Tagliabue S., Pacciarini M. L.: J. Clin. Microbiol. 32, 4, 935-941, 1994. - 37. Smith C. R., Ketterer P. J., McGowan M. R., Corney B.: Aust. Vet J. 71, 290-294, 1994. - 38. Skilbeck N. W., Chappel R. J.: J. Clin. Microbiol. 25, 85, 1987. - 39. Sullivan N. D.: Aust. Vet. J. 50, 1974. - 40. Sullivan N. D.: Aust. Vet J. 46, 123, 1970. - 41. Terpstra W. J., Schoone G. J., Lighthart G. S. J. Gen. Microbiol. 133, 911-914, 1987. - 42. Thiermann A. B.: Am. J. Vet. Res. 43, 780-784, 1982. - 43. Thiermann A. B.: Leptospirosis: current developments and trends. Am. J. Vet. Med. Assoc. 184, 722-725, 1984. - 44. Trueba G. A., Bolin C. A., Thoen C. O.: J. Vet. Diagn. Invest. 2, 4, 323-9, 1990. - 45. Vidić B., Boboš S., Šeguljev Z., Jovičin M.: Vet. glasnik 48, 225-227, 1994. - 46. Zamora J., Riedermann S., Montecinos M. I., Cabezas X.: Rev. Med. Chl. 118, 247-252, 1990.

ENGLISH

LEPTOSPIRA *interrogans* SEROTYPE *hardjo* IN DAIRY COWS

Branka Vidić, S. Boboš

Data on *L. hardjo* infection of dairy cows in the world point out its important role in the occurrence of health and economic problem. *L. interrogans* serotype *hardjo* has been described as the cause of miscarriages, stillbirths, or the births of poorly vital calves, agalactia, mastitis, and low fertility in cows. Two *L. hardjo* genotypes have been identified in cows, namely, *hardjoprairno* and *hardjobovis*. Serological investigations have established a drastic increase in this leptospiral infection in cows. *L. hardjo* has become adapted to cattle as the primary host, so that an infection is maintained in herds and becomes deeply rooted because of the permanent presence of the source of infection. It was believed that sheep were accidental hosts, but the latest research suggests that they are yet another, transitory, host for maintaining this leptospira serotype. *L. hardjo* is also important from the aspect of human health, especially of persons who are professionally exposed to this infection. *L. hardjo* infection is detected using serological tests and by proving the presence of leptospira.

The medicine of choice in the therapy of leptospiral infections is streptomycin (DSM). Therapy using oxytetracyclines for clinical mastitis was also proven effective. Treatment is most successful in the early stage of the disease. A single dose of streptomycin administered in infected herds reduces the duration period of leptospira excretion through urine, thus preventing the spread of infection through contaminated urine.

The basic components of the plan to contain leptospira are the following: serological investigations, sanitary-hygiene measures, the elimination of animals which excrete leptospira through urine, therapy, vaccination, quarantine.

Key words: dairy cow, leptospiral infections, *L. hardjo*

ЛЕПТОСПИРА *interrogans* СЕРОТИП *hardjo* В ДОЙНЫХ КОРОВ

Бранка Видич, С. Бобош

Данные о инфекции с *L. hardjo* в дойных коров в мире указывают на её значительную роль в возникновении здравоохранительных и экономических проблем. *L. interrogans* серотип *hardjo* описан как возбудитель выкидышей, рождения мёртвых или слабо витальных телят, аглактрии, мастита и низкой плодности в коров. Два генотипа *L. hardjo* идентифицированы в коров *hardjoprailno* и *hardjobovis*. Серологическими испытаниями установлен сильнодействующий рост инфекции этой лептоспирой в коров. *L. hardjo* адаптирована для крупного рогатого скота как первичного хозяина, так, что инфекция в племенных приплодах содержит и укореняет из-за перманентного присутствия источника инфекции. Считалось, что овцы случайный хозяин, между тем более новые испытания внушают, что овцы ещё один хозяин для содержания этого серотипа лептоспиров. *L. hardjo* значительная и в аспекте здоровья людей, особенно тех, которые профессионально изложены инфекции. Инфекция с *L. hardjo* открывается применением серологических тестов и доказыванием лептоспиров.

В терапии лептоспирозных инфекций стрептомицин (*DSM*) считается лекарством выбора. Терапия с окситетрациклинами у клинических маститов была также эффективна. Лечение в ранней фазе болезни наиболее успешная. Однократное применение стрептомицина в инфицированных племенных приплодах редуцирует длину излучения лептоспиров мочевиной чем превенирует расширение инфекции контаминированной мочевиной.

Основные компоненты плана в контроле лептоспироза суть: серологические испытания, гигиеническо-здравоохранительные мероприятия, элиминация животных излучения лептоспиров мочевиной, терапия, вакцинация, карантин.

Ключевые слова: дойных коров, лептоспирозных инфекций, *L. hardjo*