

PREGLEDNI RAD – REVIEW PAPER

DOI: 10.2298/VETGL1306395S

UDK 619:616.981.42:636.7

**BRUCELOZA PASA NA TERITORIJI REPUBLIKE SRBIJE U
PERIODU OD 2004. DO 2011. GODINE***
*BRUCELLA CANIS AT THE TERRITORY OF SERBIA IN THE PERIOD
FROM 2004. TO 2011.*

Stević Nataša, Bogunović Danica, Radojičić Sonja, Valčić M.**

*Ovim radom obuhvaćeno je ispitivanje pasa sa teritorije Republike Srbije, u periodu od 2004. do 2011. godine. Većina testiranih pasa poticala je sa teritorije grada Beograda. Na prisustvo antitela protiv *Brucella canis*, ukupno su ispitana 193 uzorka krvnih seruma pasa poznatih vlasnika i 120 uzoraka krvnih seruma pasa lualica. Za dijagnostiku je korišćena metoda spore serumske aglutinacije u epruveti, sa 2-merkaptetanolom. U toku osmogodišnjeg ispitivanja pasa poznatih vlasnika, od 193 ispitana seruma, sigurno pozitivan titar 1/200 imalo je 29 uzoraka seruma ili 15,03%. U toku 2011. godine ispitano je 120 uzoraka krvnih seruma pasa lualica sa teritorije Beograda, od kojih je sigurno pozitivan titar 1/200 imalo 8 uzoraka ili 6,67%. Rezultati ispitivanja ukazuju na vrlo visoku seroprevalenciju antitela protiv *B. canis* u populaciji pasa sa teritorije Republike Srbije.*

*Ključne reči: *Brucella canis*, psi, aglutinacija, Republika Srbija*

Uvod / Introduction

Bruceloza pasa izazvana vrstom *B. canis* prvi put je opisana 1966. godine u SAD, kao uzročnik abortusa kuja i reproduktivnih smetnji kod pasa rase bigl u jednoj odgajivačnici u Nju Džersiju (Carmichael, 1966). Smatra se da su domaći psi i divlje *Canidae* jedini pravi domaćini za *B. canis* (Green i Carmichael, 2006). Uzročnik ima i zoonozni potencijal, ali su infekcije kod ljudi uglavnom blagog toka. Većina prirodnih infekcija kod ljudi je zabeležena kao posledica bliskog kontakta sa inficiranim psima ili slučajne laboratorijske infekcije (Carmichael, 1990). Vrata infekcije kod pasa su najčešće genitalni trakt, oronazalna ili konjunktivalna sluznica (Carmichael i Joubert, 1988). Infekcija nastaje prilikom parenja ili ingestije

* Rad primljen za štampu 17. 10. 2012. godine

** Nataša Stević, DVM, istraživač pripravnik, Danica Bogunović, DVM, istraživač pripravnik, dr sc. vet. med. Sonja Radojičić, redovni profesor, dr sc. vet. med. Miroslav Valčić, redovni profesor, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu

jom kontaminiranih placenti, abortiranih fetusa ili vaginalnog sekreta zaraženih kuja, u estrusu ili nakon abortusa. Uzročnik može dugo da se izlučuje u semenu i vaginalnom sekretu (Carmichael, 1970; George, 1979). Urin može biti manje važan put kod prirodnog širenja uzročnika, ali sadrži značajan broj bakterija tokom prvih nedelja do tri meseca od infekcije (Serikawa i sar., 1978). Treba napomenuti da, za razliku od infekcije drugim uzročnicima iz roda *Brucella*, infekcija vrstom *B. canis* dovodi do produžene bakterijemije. Intermitentna bakterijemija, a samim tim i kliconoštvo, može da traje mesecima i godinama (Hollett, 2006).

Bruceloza pasa izazvana vrstom *B. canis* endemski se javlja u Južnoj i Centralnoj Americi (Lucero i sar., 2008) i južnim delovima SAD (Lovejoy i sar., 1976). Bruceloza pasa je retka u Kanadi ali je 2008. godine zabeležen slučaj infekcije u jednoj odgajivačnici (Brennan i sar., 2008). U serološkom ispitivanju bruceleze pasa sprovedenom na 341 psu iz različitih regiona pokrajine Kvebek, značajan titar je otkriven u šest seruma (1,6%) testom aglutinacije u epruveti sa 2-merkaptetanolom (Higgins i sar., 1979). Takođe, serumi 2000 pasa iz jugozapadnog Ontarija testirani su na antitela protiv *B. canis* sporom aglutinacijom u epruveti. Od ispitanih seruma, 31 je pokazao sumnjiv, a jedan pozitivan titar (Bosu i Prescott, 1980). U ispitivanju sprovedenom u Turskoj, od ukupno 362 seruma, poreklom iz provincija Istanbul i Izmir, ispitanih ELISA testom, 27 (7,45%) je bilo pozitivno na prisustvo specifičnih antitela protiv *B. canis* (Taner i sar., 2005). Ispitivanjima u 23 provincije i jednom gradu u Kini, sprovedenim primenom osam različitih seroloških metoda, izvršenim na 12.949 pasa dokazana je infekcija kod 0,3-42,7% slučajeva (Shang, 1989). Retrospektivnim istraživanjem izvedenim na uzorku od 135 pasa koji su bolovali od diskospondilitisa, otkriveno je 14 pasa istovremeno inficiranih *B. canis* (Kerwin i sar., 1992). Od ukupno 1549 pasa ispitanih na prisustvo specifičnih antitela protiv *B. canis* u Japanu (Miyagi Prefecture) tokom godine, 173 psa (11,2%) su bila seropozitivna (Kikuchi et al. 1979). Antitela protiv *B. canis* su detektovana kod 16 od 219 pasa (7,3%) u Buenos Airesu (Boeri i sar., 2008). Slobodne zemlje od bruceleze pasa su Novi Zeland i Australija (Green i Carmichael, 2006).

U Jugoslaviji prvi seropozitivni psi otkriveni su 1999. godine, a prva uspešna izolacija *B. canis* je izvedena iste godine (Radojičić i sar., 1999). U prvom ispitivanju pasa lualica na teritoriji grada Beograda od 184 ispitana seruma, 49 (26,63%) seruma je imalo titar 1/50, 25 seruma je imalo titar 1/100 (13,58%), dok je 20 seruma imalo titar jednak ili veći od 1/200 (10,87%). Prevalencija kod pasa lualica sa teritorije Podgorice je bila izuzetno visoka, 9,37% na uzorku od 96 ispitanih seruma (Radojičić i sar., 2002). Na teritoriji opštine Požarevac ispitan je 151 pas. Pozitivan rezultat brzim aglutinacionim testom dalo je 16,55% ispitanih uzoraka, a sporim aglutinacionim testom 11,25% (Živojinović i sar., 2006).

Najvažniji klinički znak kod kuja je abortus naizgled zdravih jedinki, u periodu posle 45-55. dana gestacije. Moguća je rana embrionalna smrt i resorpcija plodova ili abortus 10-20 dana nakon parenja (Carmichael, 1990). Nakon pobačaja dolazi do pojave viskoznog, serohemoragičnog braon do sivozelenog

vaginalnog iscetka, koji može trajati 1-6 nedelja. Sa aspekta širenja infekcije, značajan je podatak da se u ovakvom sadržaju nalazi veliki broj bakterija, što može biti opasno po vlasnika ili druge pse (Holleth, 2006).

Kod mužjaka najčešći klinički simptomi su epididimitis i prostatitis. U akutnim fazama, epididimis je uvećan i bolan, usled čega psi ližu skrotum, što doводи do nastanka skrotalnog edema i dermatitisa. Takođe, može nastati orhitis i ulcerativni skrotalni dermatitis (Schoeb i Morton, 1978). Hronična infekcija konačno vodi do uni- ili bilateralne atrofije testisa, uz odbijanje parenja i/ili gubitka libida zbog prisutnog bola (Greene i Carmichael, 2006).

Uz opisane simptome, kod obolelih pasa se može ispoljiti i povišena telesna temperatura, koja nije uobičajen simptom, zbog specifične antigene strukture *B. canis* (Serikawa i sar., 1978; Myer, 1969). Takođe, može doći do uvećanja retrofaringealnih i ingvinalnih limfnih čvorova ili generalizovane limfadenopatije (Carmichael i Kenney, 1968). U nekim slučajevima se može otkriti endoftalmitis i rekurentni uveitis, usled prisustva nataloženih imunih kompleksa u oku (Gwin i sar., 1980), kao i hronični meningitis i negnojni encefalitis (Carmichael i Kenney, 1970).

Dijagnostikovanje infekcija izazvanih bakterijom *B. canis* veoma je problematično iz nekoliko razloga - najčešće su to nepotpuni epizootiološki podaci, nespecifična klinička slika, intermitentna bakterijemija slabog intenziteta, upotreba antibiotika pre postavljanja dijagnoze, što otežava ili sprečava izolaciju uzročnika. Dijagnoza može da se postavi izolacijom uzročnika iz krvi ili unutrašnjih organa. Mada su za to potrebni posebni uslovi, visok stepen obučenosti, kao i vreme, ovakav način dijagnostikovanja se preporučuje uvek kada je to moguće (Radojičić i sar., 2005). Međutim, u praksi se najčešće koriste serološki testovi kojima se otkriva prisustvo specifičnih antitela protiv *B. canis*.

Brzo postavljanje dijagnoze je naročito važno da bi se izolovali zaraženi psi i prevenirala infekcija drugih prijemčivih životinja. Brzi aglutinacioni test na pločici (RSAT), 2-merkaptetanol (2ME) aglutinacioni test u epruveti (TAT) i ELISA su testovi koji se obično koriste u dijagnostici bruceloze (Hinić i sar., 2008).

U proceni statusa inficiranosti, svi serološki testovi mogu da budu nepouzdana tokom prve četiri nedelje posle inficiranja, a neki dve do tri nedelje posle početka bakterijemije. Nakon toga, u serumu se održava visok titar antitela na bakterijski LPS i proteinske antigene *B. canis*. Posle prestanka bakterijemije, titri antitela opadaju tokom četiri do šest meseci, a zatim postaju negativni ili sumnjivi u različitim testovima. Životinje koje su bile pod antibiotskim tretmanom takođe mogu da u dužem vremenskom periodu imaju niske titre antitela (1:25 i 1:50).

Preporučena dijagnostička procedura obuhvata upotrebu brzog aglutinacionog testa sa homotipskim antigenom. Rezultati se dobijaju za dva minuta, a test ima vrednost kao trijažni. Serumi sa pozitivnom reakcijom dalje se ispituju sporim aglutinacionim testom sa 2-merkaptetanolom. Reakcija se izvodi na temperaturi od 37°C i očitava posle 24 i 48 časova. Reakcija se procenjuje na osnovu stepena razbistravanja tečnosti u epruveti. U zavisnosti od visine titra, procenjuje

se status inficiranosti. Titar od 1/50 se uzima kao sumnjiv i obavezno je testiranje parnih seruma. Takođe i titar 1/100 se uzima kao sumnjiv. Titar 1/200 znak je aktivne infekcije i kod takvih životinja bi trebalo da se pokuša izolacija bakterija iz dostupnog materijala. Na osnovu analize rezultata preporučeni protokol bi pored ova dva testa, trebalo da obuhvati i upotrebu AGID testa sa citoplazmatskim proteinima, zbog visoke specifičnosti i usaglašenosti sa rezultatima imunoenzimskih testova (Radojičić, 2000; Hollet, 2006).

Materijal i metode / *Material and methods*

Za potrebe seroloških ispitivanja krv je uzorkovana u sterilne vakutaj-nere iz *vena cephalica antebrachii*. Nakon centrifugovanja serum je odvajan, razli-van u odgovarajuće epruvete i zamrzavan na -20°C do dalje obrade. Serumi su is-pitani metodom spore serumske aglutinacije i testirani u razređenjima od 1/50, 1/100 i 1/200 kao što je preporučeno (Alton i sar., 1988). Antigen za sporu agluti-naciju pravljen je od referentnog soja *B. canis* RM 6/66 po opisanoj proceduri (Al-ton i sar., 1988). Ukratko, posle uzgajanja *B. canis* na triptoznom agaru u Roux-ovim bocama, kolonije su spirane formalin-fiziološkim rastvorom. Suspenzija je fil-trovana kroz nekoliko slojeva sterilne gaze da bi se otklonili delovi agara, a zatim je bakterijska suspenzija inaktivisana zagrevanjem na temperaturi od 70°C tokom jednog časa. Posle hlađenja suspenzija je centrifugovana na 1000xg 30 minuta, supernatant je odbacivan, a istaložene bakterije resuspendovane u formalin-fosfatnom slanom puferu. Nakon podešavanja vrednosti pakovane ćelijske zapre-mine, antigen je čuvan na temperaturi od +4°C do upotrebe.

Spora serumska aglutinacija je rađena u epruvetama na temperaturi od +37°C. Razređenja seruma su pravljeni u 3,5% rastvoru NaCl uz dodatak formalin-fiziološkog rastvora i 2-merkaptoetanol, koji je kao disulfid-redukujući agens imao ulogu u razaranju antitela IgM klase. Svaki uzorak krvnog seruma je testiran u tri razređenja. Reakcija je izvođena na temperaturi od 37°C i očitavana dvokratno, posle 24 i 48 časova. Kao pozitivno označavano je svako razređenje seruma u kome je nastalo potpuno razbistravanje tečnosti u epruveti. Sledeći pre-poruke u literaturi za ovaj tip testova (Alton i sar., 1988), titri 1/50 i 1/100 su označavani kao sumnjivi, dok je razređenje 1/200 označavano kao znak aktivne infekcije (Alton i sar., 1988).

Rezultati i diskusija / *Results and discussion*

U tabeli 1. prikazani su rezultati ispitivanja krvnih seruma pasa pozna-tih vlasnika sa teritorije Republike Srbije sporim aglutinacionim testom, u periodu od 2004. do 2011. godine. Najveći broj seruma je poticao od pasa sa teritorije grada Beograda. Kao što se u tabeli 1. vidi, 2004. godine, od ukupno 24 ispitana seruma titar od 1/50 ustanovljen je u jednom uzorku ili 4,17%, a titar od 1/200 kod

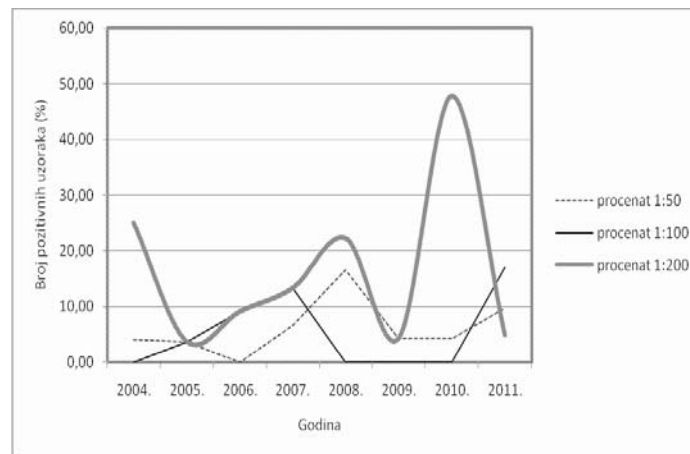
6 uzoraka, odnosno 25%. U 2005. godini, od 27 ispitanih pasa, titar 1/50, 1/100 i 1/200 imao je isti broj pasa, tj. po jedan, odnosno 3,70%. Tokom 2006. godine ispitana su 22 uzorka, od kojih je isti broj pasa imao i titar 1/100 i 1/200, tj. po dva psa (9,09%). U 2007. godini, od ispitanih 15 seruma, ustanovljen je titar od 1/50 kod jednog psa (6,67%), a titar 1/100, kao i 1/200 kod istog broja uzoraka, tj. kod dva ili 13,33%. Naredne godine, 2008. ispitano je 18 uzoraka, od kojih je titar od 1/50 ustanovljen kod tri psa (16,67%), a titar 1/200 kod četiri psa (22,22%). U 2009. godini ispitana su 23 seruma, a isti broj uzoraka imao je titar 1/50 i 1/200, po jedan uzorak (4,35%). U 2010. godini ispitana su 23 seruma. Titar od 1/50 ustanovljen je kod jednog psa (4,35%), dok je sigurno pozitivnih (titar 1/200) bilo jedanaest pasa ili 47,83%. Tokom 2011. godine, od 41 ispitanih uzorka, kod četiri uzorka krvnih seruma ili 9,76% ustanovljen je titar od 1/50, kod sedam uzoraka ili 17,07% otkriven je titar od 1/100, a kod dva uzorka ili 4,88% titar od 1/200. Grafički prikaz rezultata istraživanja, po godinama, prikazan je na grafikonu 1.

Tabela 1. Rezultati dobijeni testiranjem krvnih seruma pasa poznatih vlasnika, na prisustvo antitela protiv *B.canis* metodom spore serumske aglutinacije sa 2-merkaptetanolom, u periodu od 2004-2011. godine

Table 1. Results obtained by testing blood serums of owners dogs for the presence of antibodies against *B. canis*, by the method of slow serum agglutination with 2-mercaptoethanol in the period from 2004 to 2011.

Godina / Year	Broj pozitivnih uzoraka u titru / Number of sera in titer 1:50 (%)	Broj pozitivnih uzoraka u titru / Number of sera in titer 1:100 (%)	Broj pozitivnih uzoraka u titru / Number of sera in titer 1:200 (%)	Ukupan broj ispitanih uzoraka / Total number of tested sera
2004.	1 (4,17)	0 (0,00)	6 (25,00)	24
2005.	1 (3,70)	1 (3,70)	1 (3,70)	27
2006.	0 (0,00)	2 (9,09)	2 (9,09)	22
2007.	1 (6,67)	2 (13,33)	2 (13,33)	15
2008.	3 (16,67)	0 (0,00)	4 (22,22)	18
2009.	1 (4,35)	0 (0,00)	1 (4,35)	23
2010.	1 (4,35)	0 (0,00)	11 (47,83)	23
2011.	4 (9,76)	7 (17,07)	2 (4,88)	41
Ukupno / Total	12	12	29	193

U toku osmogodišnjeg ispitivanja pasa poznatih vlasnika sa teritorije Republike Srbije, na prisustvo antitela protiv *B. canis* ispitana su ukupno 193 krvna seruma pasa. Sigurno pozitivnih seruma, koji su imali titar 1/200, bilo je ukupno 29. To iznosi 15,03%, što predstavlja izuzetno visok procenat inficiranih pasa poznatih vlasnika na teritoriji Republike Srbije. Pri interpretaciji rezultata trebalo bi uzeti u obzir da je većina seruma poticala od pasa koji su ispoljili kliničke simptome na osnovu kojih se može posumnjati na brucelozu pasa.



Grafikon 1. Grafički prikaz rezultata osmogodišnjeg ispitivanja seruma pasa poznatih vlasnika na prisustvo antitela protiv *B. canis* u periodu 2004-2011. godine

Graph 1. Graphic presentation of eight years investigation results of owners dogs serums for presence of antibodies against *B.canis* during the period 2004-2011.

Tokom 2011. godine vršeno je ispitivanje krvnih seruma pasa lualica sa teritorije grada Beograda. Rezultati su prikazani u tabeli 2. Ispitano je ukupno 120 uzoraka krvnih seruma pasa lualica. Titar 1/50 imalo je 6 pasa ili 5%, titar 1/100 imalo je 6 pasa ili 5%, dok su sigurno pozitivni serumi, koji su imali titar 1/200 ustanovljeni kod 8 pasa ili 6,67%. Iz prikazanih rezultata može se zaključiti da je prevalencija antitela protiv *B. canis* kod pasa lualica takođe vrlo visoka.

Tabela 2. Rezultati ispitivanja krvnih seruma pasa lualica sa teritorije grada Beograda, na prisustvo antitela protiv *B.canis* metodom spore serumske aglutinacije sa 2-merkaptetanolom, u toku 2011. godine

Table 2. Results of investigations of stray dogs serums at the teritory of Belgrade for presence of antibodies against *B. canis* by method of slow serum agglutination with 2-mercaptoethanol in 2011.

Titar / Titer	Broj ispitanih seruma / Number of tested sera	Procenat, % / Percent, %
1:50	6	5,00
1:100	6	5,00
1:200	8	6,67
Negativno / Negative	100	83,33
Ukupno / Total	120	100

S obzirom da IgM unakrsno reaguje sa drugim bakterijama češće nego IgG, uzorak se tretira sa 2-merkaptetanolom (2ME) zato što on razara disulfidne veze u IgM pentamerima (Keid i sar., 2009). Na utvrđivanje seroprevalencije u velikoj meri utiče i način testiranja, kao i interpretacija rezultata. Naime, *B. canis*

deli antigene determinante ne samo sa svim R formama drugih vrsta brucela, već i sa nekoliko drugih vrsta bakterija. Ovaj fenomen vezan za antigensku strukturu omogućava pojavljivanje unakrsne reaktivnosti i dobijanje lažno pozitivnih rezultata. Ova pojava je posebno prisutna kod metoda kod kojih se detektuju antitela na R spoljašnje antigene determinante, na primer, aglutinacionih ili imunodifuzionih testova (Radojičić, 2005).

Brucella canis pokazuje neke jedinstvene karakteristike (izrazita mukoidnost i antigeno izmenjen lipopolisaharidni omotač - RLPS) u odnosu na ostale članove roda *Brucella*. Zbog antigene strukture koja je drugačija u odnosu na takozvane S klasične brucele (uz *B. canis* samo je *B. ovis* primarno patogena u R formi), serološka dijagnostika je vezana za upotrebu homotipskog antigena. Klasičnim testovima za detekciju antitela specifičnih za ostale vrste brucela nije moguće ustanoviti antitela protiv *B. canis*.

Titri 1/50 i 1/100 se označavaju kao sumnjivi i u slučaju ovakvog rezultata potrebno je testirati parne serume. U slučaju da parni serum ima viši titar od prvobitnog, smatra se da je u pitanju aktivna infekcija. Ukoliko je titar antitela parnog seruma isti ili niži od prvobitno dobijenog, smatra se da je u pitanju rezidualni titar ili da je došlo do unakrsne reakcije sa vrstama bakterija koje pokazuju antigenu sličnost sa vrstom *B. canis*. To znači da se ovom metodom sa sigurnošću može utvrditi infekcija samo kada je titar antitela 1/200 ili veći, odnosno odsustvo infekcije, kada se uopšte ne nađu antitela u serumu.

U ovom istraživanju u periodu od osam godina testirana su samo 193 psa koji potiču od poznatih vlasnika, a za godinu dana čak 120 pasa lualica. Procenat pasa poznatih vlasnika koji su imali visok titar antitela protiv *B. canis* iznosi 15,03%, a pasa lualica 6,67%. Upoređivanjem rezultata zapaža se da je procenat inficiranih pasa znatno veći kod pasa poznatih vlasnika nego kod pasa lualica. Zbog činjenice da se psi poznatih vlasnika drže u boljim zoohigijenskim uslovima od pasa lualica, da je kontrolisano njihovo kretanje i parenje, očekuje se da psi poznatih vlasnika imaju znatno manju prevalenciju antitela protiv *B. canis*. Ovako visoka prevalencija antitela protiv *B. canis* (15,03%) kod pasa poznatih vlasnika posledica je odabira uzorka i nije realna. U obzir treba uzeti to što u Republici Srbiji ne postoji rutinska kontrola testiranja pasa na infekciju vrstom *B. canis*. Na testiranje se uglavnom šalju serumi pasa koji su ispoljili kliničke simptome koji prate brucelozu pasa. Samim tim je verovatnoća dobijanja pozitivnih rezultata kod takvog uzorka veća nego kod testiranja seruma nasumično odabranih pasa. Kod pasa lualica ispitanih u periodu od samo jedne godine zabeležena je prevalencija od 6,67%. Testirani uzorak obuhvata nasumično odabrane pse lualice, nepoznatog zdravstvenog stanja. Iz rezultata dobijenih ispitivanjem pasa lualica možemo videti da je prevalencija antitela protiv *B. canis* kod pasa lualica na teritoriji grada Beograda vrlo visoka.

Zaključak / Conclusion

Na osnovu dobijenih rezultata utvrđena je visoka prevalencija antitela protiv *B. canis*, kako kod pasa poznatih vlasnika, tako i kod pasa lotalica sa teritorije Republike Srbije. Smatra se da psi lotalice predstavljaju značajan izvor širenja infekcije. Iz tog razloga, ovariohisterektomija i kastracija pasa lotalica predstavljaju jedan od osnovnih metoda sprečavanja širenja zaraze među psima. U slučaju potvrde prisustva oboljenja kod pasa poznatih vlasnika, pored primene adekvatne terapije, radi sprečavanja širenja infekcije, kako na druge pse, tako i na samog vlasnika, potrebno je uraditi i kastraciju ili ovariohisterektomiju životinje. Zbog činjenice da je bruceloza pasa zoonoza, dijagnostika ovog oboljenja, pored epizootiološkog ima i epidemiološki značaj. U cilju eradikacije bruceloze pasa, potrebno je aktivno učešće veterinara, što podrazumeva obavezna testiranja pasa i primenu odgovarajućih mera za eradikaciju oboljenja kod pasa inficiranih sa *B. canis*, ali i edukacija samih vlasnika pasa od strane veterinara.

NAPOMENA / ACKNOWLEDGEMENT:

Deo istraživanja koji se odnosi na ispitivanje seroprevalencije kod pasa lotalica u 2011. godini finansiran je sredstvima projekta TR31088, Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije /

Part of investigation regarding investigation of seroprevalence in stray dogs in 2011. has been funded by Project TR31088 by Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia

Literatura / References

1. Alton GG, Jones LM, Angus RD, Verger JM. Tehniques for the brucellosis laboratory, INRA 1988; 169-74.
2. Boeri E, Escobar GI, Ayala SM, Sosa-Estani S, Lucero NE. Canine brucellosis in dogs in the city of Buenos Aires. *Medicina (Buenos Aires)* 2008; 68: 291-7.
3. Bosu WT, Prescott JF. A serological survey of dogs for *Brucella canis* in southwestern Ontario. *Can Vet J*, 1980; 21: 198-200.
4. Brennan SJ, Ngeleka M, Philibert HM, Forbes LB and Allen AL. Canine brucellosis in a Saskatchewan kennel. *Can Vet J*, 2008; 49: 703-8.
5. Carmichael LE In: Nielsen, K. Duncan JR., Eds. *Animal brucellosis*. CRC: Boca Raton 1990; 335-50.
6. Carmichael LE, Joubert JC. Transmission of *Brucella canis* by contact exposure. *Cornell Vet* 1988; 78: 63-73.
7. Carmichael LE, Kenney RM. Canine brucellosis: the clinical disease, pathogenesis and immune response. *J Am Vet Med Assoc* 1970; 156: 1726-34.
8. Carmichael LE, Kenney RM: Canine abortion caused by *Brucella canis*. *J Am Vet Med Assoc*, 1968; 152: 605-16.
9. Carmichael LE. Abortion in 200 Beagles (News Report). *JAVMA*, 1966; 149: 1126.
10. George LW, Duncan JR, Carmichael LE, Semen examination in dogs with canine brucellosis. *Am J Vet Res*, 1979; 40: 1589-95.

11. Greene CE, Carmichael LE. Canine brucellosis. In: Greene, CE (Ed.), Infectious diseases of the dog and cat. (3rd Edn.), Philadelphia, W. B. Saunders Co., 2006; 369-81.
12. Gwin RM, Kolwalski JJ, Wyman M, Winston S. Ocular lesions associated with *Brucella canis* infection in dog. J Am Anim Hosp Assoc 1980; 16:607-10.
13. Higgins R, Hoquet F, Bourque R and Gosselin Y. A serological survey for *Brucella canis* in dogs in the province of Quebec. Can Vet J 1979; 20: 315-7.
14. Hinić V, Brodard I, Thomann A, Cvetnić Z, Makaya PV, Frey J, Abril C. Novel identification and differentiation of *Brucella melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. ovis*, *B. canis* and *B. neotomae* suitable for both conventional and real-time PCR systems. J Microbiol Methods 2008; 75: 375-8.
15. Hollett R. Bruce. Canine brucellosis: Outbreaks and compliance. Theriogenology 66, 2006; 575-87.
16. Kerwin SC, Lewis DD, Hribernik TN, Partington B, Hosgood G, Eilts BE. Discospondylitis associated with *Brucella canis* infection in dogs: 14 cases (1980-1991). J Am Vet Med Assoc 1992; 201: 1253-7.
17. Kikuchi YK, Sakuma YS, Sato K, Nobunaga T, Isayama Y, Machishima Y, Ishida N. A survey of *Brucella canis* infection in dogs sheltered in Tohoku University School of Medicine. Jikken Dobutsu 1979; 28: 279-86.
18. Lovejoy GS, Carver HD, Moseley IK, Hicks M. Serosurvey of dogs for *Brucella canis* infection in Memphis, Tennessee. Am J Public Health 1976; 66: 175-6.
19. Lucero NE, Ayala SM, Escobar GI, Jacob NR. *Brucella* isolated in humans and animals in Latin America from 1968 to 2006. Epidemiol Infect 2008; 136: 496-503.
20. Myer ME. *Brucella* organisms isolated from dogs: comparison of characteristics of members of the genus *Brucella*. Am J Vet Res 1969; 39:175-1.
21. Radojčić S, Čilerdžić M, Dimić B, Kirčanski J. Ispitivanje prevalencije antitela na *B. canis* kod pasa litalica na teritoriji grada Beograda. Vet glasnik 2006; 60(1-2): 43-9.
22. Radojčić S. Bruceloza – epizootiološki i dijagnostički izazov. Vet glasnik 2005; 59(1-2): 79-87.
23. Radojčić S. Imunodijagnostički testovi u otkrivanju infekcija pasa izazvanih sa *B. canis* i njihov značaj u proceni epizootiološke situacije. Doktorska disertacija, Beograd, 2000.
24. Radojčić S, Lako B, Valčić M. Bruceloza pasa stanje i mogućnost praćenja trenutne epizootiološke slike. I jugoslovenski epizootiološki dani, Žabljak, 10-13 oktobra, Zbornik radova, 1999; 120-2.
25. Schoeb T, Morton R. Scrotal and testicular changes in canine brucellosis: a case report. J Am Vet Med Assoc 1978; 172: 598-600.
26. Serikawa T, Muraguchi T, Nakao N, Irie Y. Significance of urine culture for detecting infection with *Brucella canis* in dogs. Jpn J Vet Sci 1978; 40: 353.
27. Shang DQ. Investigation of *B. canis* infection in China. Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi 1989; 10: 24-9.
28. Taner O, Mehmet A, Baris SO, Yasar T, Alper C. Seroprevalence of *Brucella canis* infection of dogs in two provinces in Turkey. Turk J Vet Anim Sci 2005; 29: 779-83.
29. Živojinović S, Radojčić S, Živojinović M, Kirčanski J. Ispitivanje rasprostranjenosti bruceloze pasa izazvane bakterijom *Brucella canis* na teritoriji opštine Požarevac. Vet glasnik 2006; 60(5-6): 337-44.

ENGLISH

BRUCELLA CANIS AT THE TERRITORY OF SERBIA IN THE PERIOD FROM 2004. TO 2011.

Stević Nataša, Bogunović Danica, Radojičić Sonja, Valčić M.

This study includes examination of dogs from the territory of Serbia during the period from 2004. To 2011. Most of the dogs were from the territory of Belgrade. The total of 193 blood serum samples of proprietary dogs and 120 blood serum samples of stray dogs were tested for the presence of antibodies against *Brucella canis*. For diagnostics there was used the method of slow serum agglutination in test tubes with 2-mercaptoethanol. During eight years' period of investigation, out of 193 tested serums taken from proprietary dogs, 29 serum samples, or 15.03%, had undoubtedly positive titre of 1/200. During 2011. Out of 120 tested blood samples taken from stray dogs from Belgrade territory, positive titre of 1/200 had 8 samples, or 6.67%. The results of this investigation point out to a very high seroprevalence of antibodies against *B.canis* in dogs population from the territory of the Republic of Serbia.

Key words: *Brucella canis*, dogs, agglutination, Republic of Serbia

РУССКИЙ

БРУЦЕЛЕЗ СОБАК НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ СЕРБИИ В ПЕРИОД С 2004 ДО 2011 ГОДА

Стевич Наташа, Богунович Даница, Радойич Соня, Валчич М.

В этой статье показаны результаты тестирования собак на территории Республики Сербии в период с 2004 до 2011 года. Большинство тестированных собак были со территории Белграда. На антитела к *Brucella Canis* испытали 196 образцов сыворотки крови собак имеющих хозяина и 120 образцов сыворотки бродячих собак. Для диагностики использовали метод медленной агглютинации со 2-меркаптоэтанолом. В течение восьмилетнего исследования собак, из 193 имеющих хозяина с положительным титром 1/200 было 29 из них т.е. 15,03%. В течение 2011 года испытали 120 образцов сыворотки, с положительным титром 1/200 было 8 из них т.е. 6,67%. Результаты исследования показывают высокую серопревалентность антитела *Brucella Canis* у собак на территории Республики Сербии.

Ключевые слова: *Brucella Canis*, собаки, агглютинация, Республика Сербия