

# Seroprevalencija leptospiroze goveda u Republici Hrvatskoj



Maja Zdelar-Tuk\*, S. Špičić, Sanja Duvnjak, Irena Reil, Marija Cvetnić i Ž. Cvetnić

## Uvod

Leptospiroza je re-emergentna zoonoza rasprostranjena po čitavom svijetu, s izuzetkom polarnih krajeva, a najčešća je u tropskim i subtropskim područjima s velikom količinom padalina (Levett, 2001., Ahern i sur., 2005.). Obzirom na aktualne klimatske promjene, leptospiroza je i u Europi bolest od osobitog interesa te je preporučen njezin osobit nadzor i mjere kontrole od strane Svjetske organizacije za zdravlje životinja (Engl. *World Organisation for Animal Health* - OIE) (Dufour i sur., 2008.). Bolest je prisutna u jednakoj mjeri i u razvijenim zemljama i u zemljama u razvoju (Meites i sur., 2004.). Svoj životni ciklus leptospira održava cirkulacijom u prirodi među domaćim i divljim životinjama, što ju svrstava u skupinu bolesti prirodnih žarišta. Svaka zemlja ovisno o klimatskim, geološkim i ekološkim odnosima ima odgovarajuća enzootska područja. U Hrvatskoj je najčešća u dolinama velikih rijeka Save i Drave, u središnjoj i sjeverozapadnoj Hrvatskoj. Leptospirozu goveda u Hrvatskoj prvi je ustvrdio Zaharija

1955. godine i to klinički, serološki i izdvajanjem leptospira u jednom uzgoju teladi. U svijetu je utvrđena u gotovo svim zemljama s različitom učestalošću i serovarovima leptospira (Burriel i sur., 2003., Koizumi i sur., 2008., Moshkelani i sur., 2011., Sanhueza i sur., 2013.).

Svi sisavci mogu oboljeti od najmanje jedne vrste leptospira. Primarni rezervoar većine serovarova su divlje životinje, osobito glodavci (Adler i Moctezuma, 2010.). Od domaćih životinja kao rezervoari navode se goveda, svinje, ovce i psi. Specifičnost primarnih rezervoara varira ovisno o serovaru leptospira i o zemljopisnom području.

Kod primarnih rezervoara bolest prolazi asimptomatski te u blagom ili kroničnom obliku. Goveda su najčešći primarni rezervoar za serovare Hardjo, Grippotyphosa i Pomona (Bolin, 2003.). U Hrvatskoj, u razdoblju od 2009. do 2014. u goveda se seroprevalencija kretala od 8,07-22,66%, a najzastupljenija je bila serogrupa Sejroe (Habus i sur., 2017.). Ekonomsko značenje ove bolesti očituje se pobačajima, mrtvorodenčadi

Dr. sc. Maja ZDELAR TUK\*, dr. med. vet., znanstvena savjetnica, (dopisni autor, e-mail: zdelar-tuk@veinst.hr), dr. sc. Silvio ŠPIČIĆ, dr. med. vet., znanstveni savjetnik, dr. sc. Sanja DUVNJAK, mag. ing. mol. biolog., postdoktorandica, Irena REIL, dr. med. vet, asistentica, Hrvatski veterinarski institut Zagreb, Hrvatska; Marija CVETNIĆ, dr. med. vet., Hrvatska; dr. sc. Željko CVETNIĆ, dr. med. vet, akademik, Hrvatski veterinarski institut Zagreb, Hrvatska

te smanjenom proizvodnjom mlijeka (Lilenbaum i Martins 2014.). Zbog svega navedenog, provođenje nadzora i mjera kontrole od osobite je važnosti za suzbijanje te važne zoonoze.

## Materijali i metode

Sukladno Naredbi o mjerama zaštite životinja od zaraznih i nametničkih bolesti i njihovom financiranju tijekom 2015. i 2016. godine na leptospirozu su pretražene krvi krava i junica kod pobačaja. Isto tako, prema Pravilniku o mjerama za suzbijanje i iskorjenjivanje leptospiroze životinja (NN 89/2011) u uzgoju u kojem je utvrđeno postojanje leptospiroze životinja, provodi se dijagnostičko-serološka pretraga krvi svih živih životinja u zaraženom dvorištu, odnosno zaraženom objektu dva puta u razmaku od 21 dan nakon završenog liječenja i provedbe svih naređenih mjera.

Tijekom 2015. godine na leptospirozu je pretraženo 1 617 uzoraka, a u 2016. godini 1 265 uzoraka krvi goveda. Svi su krvni serumi testirani serološkom metodom mikroskopske aglutinacije (MAT) prema standardnoj proceduri (Dikken i Kmety, 1978., Hartskeerl i sur., 2006.) na prisutnost 12 različitih serovarova leptospira. Kao antigeni za testiranje seruma poslužili su nam sljedeći seroaroni (sv.): sv. Icterohaemorrhagiae – RGA, sv. Ballum – Mus 127, sv. Australis – Ballico, sv. Pomona – Pomona, sv. Grippotyphosa – Moscow V, sv. Sejroe – M84, sv. Saxkoebing – M24, sv. Tarassovi – Perepelicin, sv. Canicola – Hond Utrecht IV, sv. Bataviae – Van Tienen, sv. Hardjo – Hardjoprajitno and sv. Hardjo – Hardjobovis. Početno razrjeđenje seruma 1:100 smatra se graničnom vrijednosti rezultata testiranja za pozitivnu reakciju.

## Rezultati

Tijekom 2015. i 2016. godine na leptospirozu je pretraženo 2 882 krvnih se-

ruma goveda podrijetlom iz 19 županija u Republici Hrvatskoj. Pozitivne reakcije u 2015. godini utvrđene su u 349 goveda (21,6%), a 2016. u 192 goveda (15,2%). Tijekom 2015. godine, županije s najvećim brojem pretraženih uzoraka bile su: Bjelovarsko-bilogorska 349 (21,6%), Zagrebačka 231 (14,3%), Vukovarsko-srijemska 174 (10,8%) i Koprivničko-križevačka 172 (10,6%). Najviše pozitivnih uzoraka utvrđeno je u Sisačko-moslavačkoj 88 (53,7%), Bjelovarsko-bilogorskoj 47 (13,5%), Zagrebačkoj 39 (16,9%) i Ličko-senjskoj županiji 35 (46,1%). Najzastupljeniji seroaroni bili su: sv. Saxkoebing 136 (19,4%), sv. Sejroe 131 (18,7%), sv. Hardjo 107 (15,3%), i sv. Hardjobovis 104 (14,8%). U 2016. godini pretražili smo 1 265 uzoraka, a županije s najvećim brojem dostavljenih krvi goveda bile su: Bjelovarsko-bilogorska 207 (16,4%), Koprivničko-križevačka 173 (13,7%), Zagrebačka 165 (13%) i Osječko-baranjska 128 (10,1%) županija. Najveća prevalencija zabilježena je u Osječko-baranjskoj 39 (30,5%), Bjelovarsko-bilogorskoj 36 (17,4%), Vukovarsko-srijemskoj 31 (27,4%) i Zagrebačkoj županiji 27 (16,4%), a od serovarova najzastupljeniji su bili sv. Saxkoebing 67 (17,4%), sv. Sejroe 65 (16,9%), sv. Hardjobovis 61 (15,8%), i sv. Hardjo 60 (15,6%). Pozitivne reakcije na leptospirozu goveda tijekom istraživanog dvogodišnjeg razdoblja, nisu utvrđene u Istarskoj, Primorsko-goranskoj, Zadarskoj, Šibensko-kninskoj, Splitsko-dalmatinskoj, Dubrovačko-neretvanskoj i Međimurskoj županiji. U ispitivanim serumima goveda protutijela nisu utvrđena za seroaroni Ballum i Bataviae tijekom 2015., a seroaroni Ballum i Bataviae i Canicola tijekom 2016. godine (Tabela 1).

## Rasprava

Rezervoari ili vektori uzročnika leptospiroze su različite vrste domaćih i divljih životinja. Pojedini seroaroni smatraju se značajnima za određeno

**Tabela 1.** Prikaz broja i postotka pozitivnih krvi goveda na leptospirozu u pojedinim županijama.

ŽUPANIJA	2015.			2016.		
	ukupno	pozitivnih	%	ukupno	pozitivnih	%
Bjelovarsko-bilogorska	349	47	13,5	207	36	17,4
Brodsko-posavska	40	9	22,5	18	0	0
Dubrovačko-neretvanska	1	0	0	0	0	0
Istarska	5	0	0	11	0	0
Karlovačka	159	34	21,4	68	5	7,4
Koprivničko-križevačka	172	18	10,5	173	17	9,8
Krapinsko-zagorska	36	4	11,1	117	14	12
Ličko-senjska	76	35	46,1	27	0	0
Međimurska	14	0	0	10	0	0
Osječko-baranjska	82	17	20,7	128	39	30,5
Požeško-slavonska	52	20	38,5	9	0	0
Primorsko-goranska	0	0	0	3	0	0
Sisačko-moslavačka	164	88	53,7	60	19	31,7
Splitsko-dalmatinska	2	0	0	78	0	0
Šibensko-kninska	3	0	0	6	0	0
Varaždinska	44	1	2,3	54	3	5,6
Virovitičko-podravska	10	2	20	12	1	8,3
Vukovarsko-srijemska	174	35	20,1	113	31	27,4
Zadarska	3	0	0	6	0	0
Zagrebačka	231	39	16,9	165	27	16,4
<b>UKUPNO</b>	<b>1 617</b>	<b>349</b>	<b>21,6</b>	<b>1 265</b>	<b>192</b>	<b>15,2</b>

**Tabela 2.** Prikaz učestalosti pojedinih serovarova leptospira u istraživanom razdoblju (2015. i 2016. godine)

serovar	2015.		serovar	2016.	
	broj	%		broj	%
Saxkoebing	136	19,4	Saxkoebing	67	17,4
Sejroe	131	18,7	Sejroe	65	16,9
Hardjo	107	15,3	Hardjobovis	61	15,8
Hardjobovis	104	14,8	Hardjo	60	15,6
Pomona	90	12,8	Pomona	48	12,5
Grippotyphosa	86	12,3	Grippotyphosa	35	9,1
Icterohaemorrhagiae	26	3,7	Tarassovi	27	7
Australis	10	1,4	Icterohaemorrhagiae	13	3,4
Tarassovi	10	1,4	Australis	9	2,3
Canicola	1	0,1	Bataviae	0	0
Ballum	0	0	Ballum	0	0
Bataviae	0	0	Canicola	0	0
<b>UKUPNO</b>	<b>701</b>	<b>100</b>	<b>UKUPNO</b>	<b>385</b>	<b>100</b>

endemsko područje ili zemlje (OIE 2014.). Te životinje praktički ne pokazuju kliničke ni patološke promjene. Izuzetak su životinje oslabljenog imuniteta kao što su ženke tijekom kasne gravidnosti i mladunčad (Ellis i sur., 1986., Ellis, 2015.). Prijenos bolesti između rezervoara je uspješan, s visokom učestalosti infekcije. S druge strane, prijenos uzročnika s jednog vektora na drugi je relativno rijedak (Bolin, 2003.). Bolest se u prirodi održava kroničnom infekcijom bubrežnih tubula rezervoara (Adler i Moctezuma, 2010.). Do infekcije obično dolazi u ranoj dobi, a prevalencija kroničnog izlučivanja urinom raste s dobi životinje. Životinje i ljudi mogu se inficirati neizravnim dodiranjem s rezervoarom. Najznačajniji rezervoari su mali sisavci koji prenose infekciju na domaće životinje, pse i ljude. Opseg prijenosa infekcije ovisi o mnogo čimbenika, uključujući klimatske uvjete, gustoću populacije te učestalost kontakta rezervoara i vektora bolesti (Martins i sur., 2010.). Štakori su uglavnom rezervoari serovarova iz serogrupe *Icterohaemorrhagiae* i *Ballum*, a miševi serogrupe *Ballum*. Domaće životinje isto tako mogu biti rezervoari leptospira; svinje su rezervoari serovarova *Pomona*, *Tarassovi*, ili *Bratislava*; ovce *Hardjo* i *Pomona*, psi serovara *Canicola*, dok su goveda rezervoari serovarova *Hardjo*, *Pomona* i *Grippytyphosa* (Adler i Moctezuma, 2010., OIE 2014.).

Podatci o pojedinim serovarovima leptospira kao uzročnicima infekcije i pripadajućim rezervoarima važni su za razumijevanje epidemiologije bolesti u pojedinim dijelovima svijeta, no zabilježene su izrazite promjene između serovarova leptospira i određenih životinjskih vrsta kao njihovih nositelja (Hartskeerl i sur., 2011.).

U našem istraživanju najzastupljeniji serovarovi u goveda tijekom 2015. i 2016. godine bili su: *Saxkoebing* (18,4%), *Sejroe* (17,8%), *Hardjo* (15,5%), *Hardjobovis* (15,3%) i *Pomona* (12,7%).

Usporedimo li ih s podacima iz 2008., 2009. i 2010. godine (Špičić i sur., 2012., Zdelar-Tuk i sur., 2012.) tijekom kojih su najzastupljeniji serovarovi bili sv. *Hardjo* (22,3%), sv. *Sejroe* (22,3%), sv. *Saxkoebing* (22%), sv. *Hardjobovis* (21,4%) te sv. *Pomona* (7%), uočavamo da infekcije sa serogrupom *Sejroe* (sv. *Sejroe*, sv. *Saxkoebing*, sv. *Hardjo* i sv. *Hardjobovis*) te sv. *Pomona* imaju značajan utjecaj na reprodukciju i mliječnost goveda u Hrvatskoj. Prema podacima iz 2013. i 2014. (Habus i sur., 2017.) osim serogrupe *Sejroe* i sv. *Pomona* je značajna bila i incidencija sv. *Grippytyphosa*, posebno u 2014. godini. U novoinficiranim stadima može pobaciti i 30% krava, smanjena je plodnost (do 40%), a javlja se i sindrom pada mliječnosti. U endemski inficiranim stadima pobačaji su sporadični i događaju su uglavnom kod mlađih životinja.

U SAD-u, Čileu, i Novom Zelandu sv. *Hardjo* je najdominantniji serovar u goveda (Bolin, 2003., Sanhueza i sur., 2013., Salgado i sur., 2015.). Infekcija serovarom *Hardjo* očituje relativno blagim akutnim kliničkim znacima koji mogu i izostati, no bakterije se zadržavaju u bubrežima te se izlučuju urinom tijekom dugog vremenskog razdoblja (Bolin, 2003.). U goveda serovar *Hardjo* prouzroči pojavu mastitisa i pobačaj (Pereira i sur., 2013). Izoliran je iz vaginalnog sekreta nakon teljenja te genitalnog i urinarnog trakta u krava (Fornazari i sur., 2012.). U Latinskoj Americi u najvećem postotku izdvojen je serovar *Sejroe* (da Silva Pinto i sur., 2016.), u Južnoj Africi sv. *Pomona* (Hersterberg, 2009.), u Indiji sv. *Icterohaemorrhagiae* (Sharma i sur., 2014.), u Francuskoj sv. *Australis* (Ayril i sur., 2014.), a u Španjolskoj i Grčkoj sv. *Bratislava* (Alonso-Andicoberry i sur., 2001., Burriel, 2003.).

Postotak seropozitivnih goveda u Hrvatskoj tijekom 2015. iznosio je 21,6%, a u 2016. 15,2%, odnosno prosječno 18,4%. Prosječna seroprevalencija za razdoblje od 2009. do 2014. iznosila je

14,34% (Habuš i sur., 2017.). Vrijednosti prevalencije variraju ovisno o vrsti životinje, godišnjem dobu, klimi i korištenoj metodi pretraživanja. U životinja koje služe za proizvodnju hrane, bolest ima veliko ekonomsko značenje jer utječe na reprodukciju i mliječnost (Bonfim 2006.). Ti su gubitci veći kod goveda i svinja zbog manje otpornosti, za razliku od malih preživača (Martins i sur., 2012., OIE 2014.). U Meksiku je seroprevalencija iznosila 60,4% (Carmona-Gasca i sur., 2011.), u Latinskoj Americi 44,2% (da Silva Pinto, 2016.), u Indiji 37% (Sharma i sur., 2014.), u Grčkoj 12,6% (Burriel, 2003.) te 8% u Španjolskoj (Alonso-Andicoberry i sur., 2001.).

Pojavnost bolesti smanjuje se u mnogim razvijenim zemljama, što je najvjerojatnije povezano s preventivnim mjerama koje obuhvaćaju kontrolu populacije glodavaca, primjenu veterinarsko higijenskih propisa i kontrolom bolesti u domaćih životinja te općenitim povećanjem higijenskih navika. Primjenom navedenih mjera leptospiroza se kao bolest pretežno ruralne populacije (ratari, stočari) smanjuje, a povećava se broj oboljelih vezan uz sport i aktivnosti u prirodi (Baranton i Postic, 2006.).

Najveći postotak pozitivnih goveda zabilježen je u županijama istočne i sjeverozapadne Hrvatske (Sisačko-moslavačkoj, Bjelovarsko-bilogorskoj, Osječko-baranjskoj te Zagrebačkoj), a pozitivne reakcije na leptospirozu goveda tijekom istraživanog dvogodišnjeg razdoblja, nisu utvrđene u županijama primorske Hrvatske (Istarskoj, Primorsko-goranskoj, Zadarskoj, Šibensko-kninskoj, Splitsko-dalmatinskoj i Dubrovačko-nere-tvanskoj).

Rezultati istraživanja ukazuju na činjenicu da su goveda u kontinentalnom dijelu Hrvatske zbog postojanja prirodnih žarišta leptospiroze (Lonjsko Polje i Kopački rit) te zajedničkog držanja goveda, svinja i konja na istim prostorima izložena infekciji leptospirama od

primorskog dijela Hrvatske. S ciljem kontrole širenja bolesti unutar istoga uzgoja i dalje na druge uzgoje potrebno je i nadalje provoditi kontrolu bolesti, terapiirati uzgoje s ciljem smanjivanja kliconoštva te prema mogućnosti, promjenom managementa smanjiti mogućnost ponovnih infekcija.

## Sažetak

Leptospiroza je re-emergentna zoonoza rasprostranjena po čitavom svijetu, s izuzetkom polarnih krajeva, a najčešća je u tropskim i subtropskim područjima s velikom količinom padalina. Ekonomsko značenje ove bolesti očituje se pobačajima, mrtvorodenčadi te smanjenom proizvodnjom mlijeka. Zbog svega navedenog, provođenje nadzora i mjera kontrole od osobite je važnosti za suzbijanje te važne zoonoze. Sukladno Naredbi o mjerama zaštite životinja od zaraznih i nametničkih bolesti i njihovom financiranju tijekom 2015. i 2016. godine na leptospirozu su pretražene krvi krava i junica kod pobačaja te serološka pretraga krvi svih živih životinja u zaraženom dvorištu, odnosno zaraženom objektu dva puta u razmaku od 21 dan nakon završenog liječenja i provedbe svih naređenih mjera. Tijekom 2015. i 2016. godine na leptospirozu su pretražena 2 882 krvna seruma goveda pordrijetlom iz 19 županija u Republici Hrvatskoj. Pozitivne reakcije u 2015. godini utvrđene su u 349 goveda (21,6%), a 2016. u 192 goveda (15,2%). Tijekom 2015. najviše pozitivnih uzoraka utvrđeno je u Sisačko-moslavačkoj 88 (53,7%), Bjelovarsko-bilogorskoj 47 (13,5%), Zagrebačkoj 39 (16,9%) i Ličko-senjskoj županiji 35 (46,1%). Najzastupljeniji serovarovi bili su sv. Saxkoebing 136 (19,4%), sv. Sejroe 131 (18,7%), sv. Hardjo 107 (15,3%), i sv. Hardjobovis 104 (14,8%). U 2016. godini pretraženo je 1 265 uzoraka, a najveća prevalencija zabilježena je u Osječko-baranjskoj 39 (30,5%), Bjelovarsko-bilogorskoj 36 (17,4%), Vukovarsko-srijemskoj 31 (27,4%) i Zagrebačkoj županiji 27 (16,4%), a od serovarova najzastupljeniji su bili: sv. Saxkoebing 67 (17,4%), sv. Sejroe 65 (16,9%), sv. Hardjobovis 61 (15,8%), i sv. Hardjo 60 (15,6%).

**Ključne riječi:** seroprevalencija, leptospiroza, govedo, Hrvatska

## Literatura

- ADLER, B. and P. A. MOCTEZUMA (2010): *Leptospira* and leptospirosis. *Vet. Microbiol.* 140, 287-296.
- AHERN, M., R. S. KOVATS, P. WILKINSON, R. FEW and F. MATTHIES (2005): Global Health impacts of floods: Epidemiologic evidence. *Epidemiol. Rev.* 27, 36-46.
- ALONSO-ANDICOBERRY, C., F. J. GARCÍA-PEÑA, J. PEREIRA-BUENO, E. COSTAS and L. M. ORTEGA-MORA (2001): Herd-level risk factors associated with *Leptospira* spp. seroprevalence in dairy and beef cattle in Spain. *Prev. Vet. Med.* 52, 109-117.
- AYRAL FLORENCE, C., J. D. BICOUT, H. PEREIRA, M. ARTOIS and A. KODJO (2014): Distribution of *Leptospira* Serogroups in Cattle Herds and Dogs in France. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 91, 756-759.
- BARANTON, G. and D. POSTIC (2006): Trends in leptospirosis epidemiology in France. Sixty-six years of passive serological surveillance from 1920 to 2003. *Int. J. Infect. Dis.* 10, 162-170.
- BOLIN, C. A. (2003): Diagnosis and Control of Bovine Leptospirosis in: Proceedings of the 6<sup>th</sup> Western Dairy Management Conference, March 12-14, Reno, NV-155.
- BOMFIM, M. R. Q. and M. C. KOURY (2006): Evaluation of LSSP-PCR for identification of *Leptospira* spp. in urine samples of cattle with clinical suspicion of leptospirosis. *Vet. Microbiol.* 118, 278-288.
- BURRIEL, A. R., C. DALLEY and M. J. WOODWARD (2003): Prevalence of *Leptospira* species among farmed and domestic animals in Greece. *Vet. Rec.* 153, 146-148.
- CARMONA-GASCA, C. A., L. L. LEÓN, L. O. CASTILLO-SÁNCHEZ, J. M. RAMÍREZ-ORTEGA, A. KO, P. C. LUNA and A. DE LA PEÑA-MOCTEZUMA (2011): Detection of *Leptospira santarosai* and *L. kirschneri* in cattle: new isolates with potential impact in bovine production and public health. *Rev. Vet. Mexico* 42, 277-288.
- DIKKEN, H. and E. KMETY (1978): Serological typing methods of leptospire. In: Bergan, T., Norris, J. R. (Eds.), *Methods in Microbiology*, vol. 11. Academic Press, New York, pp. 602-605.
- DUFOUR, B., F. MOUTOU, A. M. HATTENBERGER and F. RODHAIN (2008): Global change: impact, management, risk approach and health measures—the case of Europe. *Rev. Sci. Tech.* (International Office of Epizootics) 27, 529-550.
- ELLIS, W. A., J. G. SONGER, J. MONTGOMERY and J. A. CASSELLS (1986): Prevalence of *Leptospira interrogans* serovar hardjo on the genital and urinary tract of non-pregnant cattle. *Vet. Rec.* 118, 11-13.
- ELLIS, W. A. (2015): Animal Leptospirosis. In: *Leptospira and Leptospirosis*. Curr. Top. Microbiol. Springer Berlin, Heidelberg, pp. 99-139.
- FORNAZARI, F., R. C. DA SILVA, V. B. RICHINI-PEREIRA, H. E. BESERRA, M. C. LUVIZOTTO and H. LANGONI (2012): Comparison of conventional PCR, quantitative PCR, bacteriological culture and the Warthin Starry technique to detect *Leptospira* spp. in kidney and liver samples from naturally infected sheep from Brazil. *J. Microbiol. Methods* 90, 321-326.
- HABUS, J., Z. PERSIC, S. SPICIC, S. VINCE, Z. STRITOF, Z. MILAS, Z. CVETNIC, M. PERHARIC and N. TURK (2017): New trends in human and animal leptospirosis in Croatia, 2009-2014. *Acta trop.* 168, 1-8.
- HARTSKEERL, R. A., H. L. SMITS, H. KORVER, M. G. A. GORIS and W. J. TERPSTRA (2006): Manual International Course on Laboratory Methods for the Diagnosis of Leptospirosis. KIT, Amsterdam, The Netherlands.
- HARTSKEERL, R. A., M. COLLARES-PEREIRA and W. A. ELLIS (2011): Emergence, control and re-emerging leptospirosis: dynamics of infection in the changing world. *Clin. Microbiol. Infect.* 17, 494-501.
- HESTERBERG, U. W., R. BAGNALL, B. BOSCH, K. PERRETT, R. HORNER and B. GUMMOW (2009): A serological survey of leptospirosis in cattle of rural communities in the province of KwaZulu-Natal, South Africa. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 80, 45-49.
- KOIZUMI, N., M. MUTO, S. YAMAMOTO, Y. BABA, M. KUDO, Y. TAMAE, K. SHIMOMURA, I. TAKATORI, A. IWAKIRI, K. ISHIKAWA, H. SOMA and H. WATANABE (2008): Investigation of reservoir animals of *Leptospira* in the northern part of Miyazaki prefecture. *Jap. J. Infect. Dis.* 61, 465-468.
- LEVETT, P. N. (2001): Leptospirosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 14, 296-328.
- LILENBAUM, W. and G. MARTINS (2014): Leptospirosis in Cattle: A Challenging Scenario for the Understanding of the Epidemiology. *Transb. Emerg. Dis.* 61, 63-68.
- MARTINS, G., B. PENNA and W. LILENBAUM (2010): Maintenance of *Leptospira* infection in cattle under tropical conditions. *Vet. Rec.* 16, 629-630.
- MARTINS, G., B. PENNA, C. HAMOND, R. COSENDEY-KEZEN LEITE, A. SILVA, A. FERREIRA, F. BRANDÃO, F. OLIVEIRA and W. LILENBAUM (2012): Leptospirosis as the most frequent infectious disease impairing productivity in small ruminants in Rio de Janeiro, Brazil. *Trop. Anim. Health. Prod.* 44, 773-777.
- MEITES, E., M. T. JAY, S. DERESINSKI, WUN-JU SHIEH, S. R. ZAKI, L. TOMPKINS and D. S. SMITH (2004): Re-emerging Leptospirosis, California; *Emerg. Infect. Dis.* 10, 406-412.
- MOSHKELANI, S., M. JAVAHERI-KOUPAEI, S. RABIEE and M. MOAZENI (2011): Detection of *Brucella* spp. and *Leptospira* spp. by multiplex polymerase chain reaction (PCR) from aborted bovine, ovine and caprine fetuses in Iran. *Afr. J. Microbiol. Res.* 5, 4627-4630.
- OIE, 2014. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, World Organisation for Animal Health, Paris.

27. PEREIRA, H., R. F. COOKE, A. A. ALFIERI and J. L. VASCONCELOS (2013): Effects of vaccination against reproductive diseases on reproductive performance of lactating dairy cows submitted to AI. *Anim. Reprod. Sci.* 137, 156-162.
28. SALGADO, M., B. OTTO, M. MORONI, E. SANDOVAL, G. REINHARDT, S. BOQVIST, C. ENCINA and C. MUÑOZ-ZANZI (2015): Isolation of *Leptospira interrogans* serovar Hardjoprajitno from a calf with clinical leptospirosis in Chile. *BMC Vet. Res.* 11, 66.
29. SANHUEZA, J. M., C. HEUER and D. WEST (2013): Contribution of *Leptospira*, *Neospora caninum* and bovine viral diarrhoea virus to fetal loss of beef cattle in New Zealand. *Prev. Vet. Med.* 112, 90-98.
30. SHARMA, S., P. VIJAYACHARI, A. P. SUGUNAN, S. ROY and N. KALIMUTHUSAMY (2014): Seroprevalence and Carrier Status for Leptospirosis in Cattle and Goats in Andaman Island, India. *J. Vet. Sci Technol.* 5, 205.
31. PINTO da SILVA, P., H. LIBONATI, B. PENNA and W. LILENBAUM (2016): A systematic review on the microscopic agglutination test seroepidemiology of bovine leptospirosis in Latin America. *Trop. Anim. Health Prod.* 48, 239-248.
32. ŠPIČIĆ, S., M. ZDELAR-TUK, I. RAČIĆ, A. VUJNOVIĆ, S. DUVNJAK and Ž. CVETNIĆ (2012): Incidence of leptospiral abortion in cattle in Croatia. European meeting of leptospirosis - Eurolepto 2012. Proceedings p. 79.
33. ZDELAR-TUK, M., I. RAČIĆ, Ž. CVETNIĆ, S. DUVNJAK, A. VUJNOVIĆ and S. ŠPIČIĆ (2012): Serologic evidence of *Leptospira* spp. serovars in cattle in Croatia. European meeting of leptospirosis - Eurolepto 2012. Proceedings, pp. 30-31.

## Seroprevalence of leptospirosis in cattle in the Republic of Croatia

Maja ZDELAR-TUK, DVM, PhD, Scientific Advisor, Silvio ŠPIČIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor, Sanja DUVNJAK, BSc, PhD, Postdoctoral Student, Irena REIL, DVM, Assistant, Croatian Veterinary Institute, Zagreb, Croatia; Marija CVETNIĆ, DVM, Croatia; Željko CVETNIĆ, DVM, Academician, Croatian Veterinary Institute, Zagreb, Croatia

Bovine leptospirosis occurs throughout the world, though it is most common in warm climates. This is an economically significant disease that results in abortions, stillbirths and losses in milk production. Therefore, the implementation of surveillance and control measures is particularly important for the suppression of this important zoonosis. According to annual orders issued by the Ministry of Agriculture for 2015 and 2016, all cases of abortion in cattle must be reported and the blood of each animal tested serologically for leptospirosis. Pursuant to the Croatian legislation, serological blood tests are also performed twice following treatment, at intervals of 21 days. In 2015, 1 617 cattle blood samples were tested, with 349 positive reactions, while in 2016, 1 265 cattle blood samples were tested with 192 positive reactions. All sera were tested by the microscopic agglutination test (MAT) for the presence of 12 leptospiral antigens. An initial seral dilution of 1:100 was considered the cut-off point for a positive reaction. During 2015, the highest prevalence was found in the following counties: Sisak-Moslavina 88 (53.7%), Bjelovar-Bilogora 47 (13.5%), Zagreb

39 (16.9%) and Lika-Senj 35 (46.1%). In 2016, the highest prevalence was reported in the counties: Osijek-Baranja 39 (30.5%), Bjelovar-Bilogora 36 (17.4%), Vukovar-Srijem 31 (27.4%) and Zagreb 27 (16.4%). Positive reactions for leptospirosis during 2015 and 2016 were not found in the counties: Istria, Primorje-Gorski Kotar, Zadar, Šibenik-Knin, Split-Dalmatia, Dubrovnik-Neretva or Međimurje. The most frequent serovars in cattle in 2015 and 2016 were sv. Saxkoebing (18.4%), sv. Sejroe (17.8%), sv. Hardjo (15.5%), and sv. Hardjobovis (15.3%). The results indicate that cattle in continental Croatia are more exposed to leptospiral infection than animals from coastal counties, due to natural foci of this disease (Lonjsko Polje and Kopački Rit wetlands) and the holding of cattle, pigs and horses together. In order to control the spread of the disease within and among holdings, it is necessary to continue to disease control measures, to treat holdings with the aim of reducing the carrier state and availability, and to alter management practices to minimise the possibility of re-infection.

**Key words:** seroprevalence, leptospirosis, cattle, Croatia