

Sveučilište u Zagrebu

Veterinarski fakultet

IVICA PAVČEC

LEPTOSPIROZA KOPITARA

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2021.

Ovaj rad izrađen je na Zavodu za mikrobiologiju i zarazne bolesti s klinikom Veterinarskog fakulteta, Sveučilišta u Zagrebu.

Predstojnik: izv. prof. dr. sc. Vilim Starešina

Mentori: prof. dr. sc. Zoran Milas

doc. dr. sc. Matko Perharić

Članovi Povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. Izv. prof. dr. sc. Vilim Starešina
2. Doc. dr. sc. Matko Perharić
3. Prof. dr. sc. Zoran Milas
4. Doc. dr. sc. Vladimir Stevanović

Zahvale

Zahvaljujem svojoj obitelji na podršci i strpljenju koju su mi pružili da svoj dugi put do završetka studiranja privedem kraju.

Mentorima prof.dr.sc. Zoranu Milasu i doc.dr.sc. Matku Perhariću od srca hvala na pruženoj pomoći, trudu i strpljenju.

Ovaj rad posvećujem svom prerano preminulom ocu koji mi je bio najveća podrška, kako u studiranju tako i u životu.

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA.....	2
2.1. Biologija konja.....	2
2.2. Povijest i zemljopisna proširenost.....	13
2.3. Etiologija.....	13
2.3.1. Morfologija.....	14
2.3.2. Taksonomija.....	15
2.4. Epizootiologija.....	16
2.4.1. Seroprevalencija.....	18
2.5. Patogeneza.....	19
2.6. Klinička slika.....	20
2.7. Patološke promjene.....	22
2.8. Dijagnostika.....	23
2.9. Diferencijalna dijagnostika.....	29
2.10. Liječenje.....	29
2.11. Profilaksa.....	31
2.12. Javno zdravstvo.....	32
3. ZAKLJUČCI.....	33
4. LITERATURA.....	34
5. SAŽETAK.....	43
6. SUMMARY.....	44
7. ŽIVOTOPIS.....	45

POPIS KRATICA

MAT = mikroskopski aglutinacijski test

cm = centimetar

SAD = Sjedinjene Američke Države

kg = kilogram

km/h = kilometara na sat

AQHA = American Quarter Horse Association

nm = nanometar

kb = kilobaza

DNK = deoksiribonukleinska kiselina

CAAT = križni aglutinacijski test zasićenja (eng. cross agglutination adsorption test)

RFLP = utvrđivanje raznolikosti dužine restrikcijskih fragmenata

PCR = lančana reakcija polimerazom (eng. polymerase chain reaction)

LPS (LLS) = polisaharid i lipopolisaharidu slična tvar leptospire (eng. lipopolysaccharide like substance)

EHV-1 = konjski herpes virus tip 1 (eng. equine herpes virus type 1)

ERU = konjski rekurentni uveitis (eng. equine recurrent uveitis)

RIA = radioimuno test (eng. radio immuno assay)

ELISA = imunoenzimni test (eng. enzyme-linked immunosorbent assay)

EMJH = Ellinghausen, McCullough, Johnson i Harris hranidbeni medij

IgM = imunoglobulini M

IgG = imunoglobulini G

ILS = International Leptospirosis Society

FAT – fluorescentni test na antitijela (eng. fluorescent antibody test)

Popis priloga

Slike:

Slika 1. Međimurski konj; Izvor: <https://cdn.agroklub.com>

Slika 2. Hrvatski posavac; Izvor: <https://cdn.agroklub.com>

Slika 3. Hrvatski hladokrvnjaci; Izvor: <https://ruralnirazvoj.hr>

Slika 4. Hrvatski toplokrvnjak; Izvor: <https://www.njuskalo.hr>

Slika 5. Hrvatski kasač; Izvor: <https://www.njuskalo.hr>

Slika 6. Krčki poni; Izvor: <https://hrcak.srce.hr>

Slika 7: Lipicanci; Izvor: <https://ergela-djakovo.hr>

Slika 8. i 9. Appaloosa; Izvor: privatni foto album

Slika 10. i 11. Paint Horse; Izvor: privatni foto album

Slika 12. i 13. Quarter Horse; Izvor: privatni foto album

Slika 14. Autohtone pasmine magaraca u Republici Hrvatskoj; Izvor: <https://gospodarski.hr>

Slika 15. Istarski magarac; Izvor: <https://upload.wikimedia.org>

Slika 16. Primorsko-dinarski magarac; Izvor: <https://hpa.mps.hr>

Slika 17. Sjeverno-jadranski magarac; Izvor: <https://data:image/jpeg>

Slika 18. Leptospira interrogans; Izvor: <https://commtechlab.msu.edu>

Slika 19. i 20. Mjesečna sljepoća u Appaloosa kobile; Izvor: privatni foto album

1. UVOD

Leptospiroza je bakterijska bolest svjetske rasprostranjenosti, uzrokovana spirohetama roda *Leptospira*. Bolest zahvaća ljude, domaće životinje i divlje životinje uključujući i reptile i vodozemce. Većinom se pojavljuje enzooski, a iznimno u obliku zatvorenih epizootija. Zooantroponoza je prirodno-žarišnog tipa, pojavljuje se diljem svijeta i vrlo je važna za humano i veterinarsko javno zdravstvo (MILAS i sur., 2013). Klinička manifestacija leptospiroze u čovjeka i životinja varira od lagane subakutne bolesti do teške bolesti sa žuticom, hemoglobinurijom i posljedičnom smrću. Infekcija obično nastupa zbog direktnog ili indirektnog prijenosa preko inficiranog urina bolesnih ili rekonvelescentnih životinja. Većinu rezervoara čine mali glodavci, koji jednom inficirani doživotno asimptomatski izlučuju velike količine leptospira u okoliš čineći tako sekundarne izvore infekcije (FAINE, 1999).

Prvo izvješće o prirodnoj pojavi leptospiroze u konja bilo je 1947. u Rusiji (LJUBAŠENKO i NOVIKOVA, 1947), dok je drugo izvješće bilo prva pojava konjske leptospiroze u Hrvatskoj 1953. (ZAHARIJA, 1953). Klinički leptospiroza je primarno povezana sa pobačajem (ELLIS, 1983; DONAHUE, 1991), rađanjem uginulog ploda (DONAHUE, 1991) i rekurentnim uveitisom u konja (WOLANKE i sur., 1998). Teške septikemije koje uključuju groznicu žuticu i anoreksiju (LJUBAŠENKO i NOVIKOVA, 1947; ZAHARIJA, 1953), hematuriju, zatajenje bubrega (DIVERS, 1992), dišne poteškoće (INGH, 1989) i plućna krvarenja (HAMOND, 2011) su rijetka.

Većina dijagnostičkih metoda ne uspijeva lako izolirati leptospire zbog njihove preosjetljivosti te kompliciranosti postupka i dugog izolacijskog perioda. Iz tog razloga dijagnostika leptospiroze bazira se uglavnom na serologiji, budući da su antitijela obično prisutna u krvi pet do sedam dana nakon pojavljivanja prvih simptoma (FAINE, 1999). Standardna referentna metoda za serološku dijagnostiku leptospiroze je mikroskopski aglutinacijski test (MAT), u kojem serumska protutijela reagiraju sa živom kulturom različitih serovara leptospira (ANONYMUS, 2004).

Serološki dokazi infekcije leptospirama u konja su česti. Ustanovljeni su titrovi široke raznolikosti serovara, pa iako postoje razlike u istraživanjima, prevladavajući serovari su *Leptospira interrogans* sv. Bratislava, *Leptospira interrogans* sv. Pomona, *Leptospira interrogans* sv. Ichterohemoragiae, i *Leptospira kirschneri* sv. Grippytyphosa (ZAHARIJA, 1953; ELLIS, 1983; CVETNIĆ i sur., 2004). Pojavnost specifičnih serovara ovisi o prisutnosti i rasprostranjenosti vrsta životinja koje služe kao rezervoari infekcija na različitim geografskim područjima.

2. PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA

2.1. BIOLOGIJA KONJA

KONJ (*Equus caballus*, Linnaeus, 1758.)

Konji pripadaju porodici sisavaca iz reda neparnoprstaša, a toj porodici pripada samo jedan živući rod, rod *Equus* (MOJČEC PERKO, 2014). Redu neparnoprstaša uz porodicu *Equidae* pripadaju još i porodice *Tapiridae* (tapiri) i *Rhinocerotidae* (nosorozi). Glavno obilježje neparnoprstaša je neparan broj prstiju, kako i ime nalaže. U konja je to jedan jedini prst, treći prst (KENT i CAAR, 2000). Distalni, posljednji zglob trećeg prsta u konja završava kopitom, dok ostali prsti na kosturu postoje samo kao rudimenti.

Veličine omanjeg psa, prvi konji imali su na prednjim nogama četiri prsta, a na stražnjim tri prsta. Evolucijska osobina konja je redukcija broja prstiju i sve danas živuće vrste imaju jedan (treći) prst koji koriste (*Monodactylie*) (MOJČEC PERKO, 2014).

Konji su krupne životinje dugih ekstremiteta i velike glave. Od glave do repa, dužina im je od 200 do 300 cm, visina u grebenu od 100 do 160 cm, dok dužina repa varira između 30 i 60 cm. Dlaka je gusta i najčešće kratka, a na vratu, tjemenu i repu nalazimo duge dlake (griva) (MOJČEC PERKO, 2014).

Uz dugu i usku nosnu kost, glava je izdužena ali snažna, a oči su smještene straga i bočno na glavi (vidno polje od 350°). Ne razlikuju najbolje boje, ali jako dobro vide bijelu, žutu i plavu boju, a ne razlikuju smeđu od zelene i sive boje (MOJČEC PERKO, 2014). Uške su velike i pokretljive, a njihovim okretanjem prema naprijed konji pokazuju pažnju i znatiželju, dok okretanjem prema natrag i priljublivanjem uz glavu iskazuju upozorenje tj. agresivnost ili strah. U svakoj polovici čeljusti nalaze se tri sjekutića, tri pretkutnjaka i tri kutnjaka, a samo mužjaci imaju očnjak, dok ga ženke nemaju ili je vrlo malen. Iza njih imaju prazninu, krezubi rub tj. dijastemu. Prehrana se uglavnom sastoji od trave, lišća i drugih dijelova biljaka, a bez vode mogu preživjeti i duže vrijeme. Najveći dio probave odvija se u crijevima, pa im je želudac jednostavno građen i ima jednu komoru, a fermentacija se odvija u slijepom crijevu i do četiri metra dugom debelom crijevu (MOJČEC PERKO, 2014).

Domaće konje i magarce čovjek je proširio po čitavom svijetu i danas u prirodi žive potomci populacija divljih vrsta konja (Australija, SAD) (MOJČEC PERKO, 2014) dok divlji oblici još živućih vrsta porodice konja danas obitavaju u istočnim i južnim dijelovima Afrike i u središnjoj Aziji.

Tri su osnovna tipa konja, ako ih dijelimo prema svrsi uzgoja: hladnokrvni, toplokrvni i punokrvni konji, gdje nazivi označavaju temperament konja. Tjelesna masa nekih hladnokrvnih pasmina može doseći i 800 kg i uglavnom se koriste za rad u polju, rudnicima ili šumama. Za jahanje, dresuru i preponsko skakanje koriste se toplokrvni konji koji su lakši i pokretljiviji od hladnokrvnjaka. Punokrvni konji dosežu brzine i do 70 km/h, ali su puno osjetljiviji na bolesti. Križanci toplokrvnih i punokrvnih konja nazivaju se polukrvni konji (MOJČEC PERKO, 2014).

Sistematika

Carstvo: *Animalia* (Životinje)

Koljeno: *Chordata* (Kralješnjaci)

Razred: *Mammalia*, Linnaeus, 1758. (Sisavci)

Red: *Perissodactyla*, Owen, 1848. (Neparnoprstaši)

Porodica: *Equidae*, Gray, 1821. (Konj)

Rod: *Equus*, Linnaeus, 1758.

Vrste: *E. africanus* (ili *E. asinus*), Heuglin i Fitzinger, 1866. – divlji magarac

E. asinus, Gray, 1824, - afrički divlji magarac ili obični magarac

E. burchellii, Gray 1824. – Burchellova zebra

E. caballus, Linnaeus, 1758. – domaći konj

E. ferus, Linnaeus, 1758. – divlji konj

E. grevyi, Oustalet, 1882. – Grevijeva zebra

E. hemionus, Pallas, 1775. – azijski polumagarac

E. kiang, Kinloch, 1869. – kiang

E. onager, Pallas, 1775. – onager

E. quagga, Boddaert, 1785. – stepska zebra

E. zebra, Linnaeus, 1758.- brdska zebra

Autohtone pasmine konja u Republici Hrvatskoj

Autohtone i zaštićene pasmine domaćih životinja nasljeđe su Republike Hrvatske, a njihova se vrijednost očituje na ekonomskoj, prirodnoj i kulturološkoj razini (MOJČEC PERKO, 2014). U autohtone i zaštićene pasmine konja Republike Hrvatske spadaju hrvatski hladnokrvnjak, hrvatski posavski konj i međimurski konj (konj hladnokrvne pasminske skupine) i lipicanci. Na osnovu veličine njihovih populacija svrstava ih se u skupinu ugroženih pasmina, makar su u ukupnoj populaciji konja u R. Hrvatskoj zastupljene s udjelom od 70%. Toplokrvna pasminska skupina zastupljena je sa 17%, dok ostatak populacije konja čine lipicanci (9%) i poniji (3%) (Godišnje izvješće HSC, 2003.) (MOJČEC PERKO, 2014). Standardiziranjem i usmjeravanjem kroz uzgojne programe napravljeni su pozitivni pomaci u znanstvenom istraživanju naših autohtonih pasmina konja, a trend pada broja ovih populacija zaustavljen je sustavom financijske potpore države uzgajivačima autohtonih pasmina. Godine 2011. izdana je Zelena knjiga izvornih pasmina Hrvatske. To je dokument koji prikazuje trenutno stanje izvornih pasmina i njihovih prirodnih staništa, te analizira njihove uloge i utjecaj u očuvanju ukupne biološke raznolikosti Republike Hrvatske (MOJČEC PERKO, 2014). Predstavljene su 33 hrvatske priznate autohtone i zaštićene pasmine domaćih životinja, među kojima su i pasmine konja – međimurski konj, hrvatski posavac, hrvatski hladnokrvnjak i lipicanac (OZIMEC i sur., 2011).

Najzastupljenije autohtone pasmine konja u R. Hrvatskoj:

- međimurski konj – pasmina je nastala na području današnje Međimurske županije, i hladnokrvnog je tipa. Spada u čistokrvne pasmine ugrožene od izumiranja, a u Međimurju ih je ostalo nekoliko desetina, oko 40, a nešto veći broj nalazimo u Mađarskoj

(MOJČEC PERKO, 2014). Krupnog su rasta i čvrste građe tijela, visine grebena 155-165 cm, relativno male glave i malih šiljatih ušiju. Ima mišićav ali kratak vrat, široka prsa i leđa te kratke snažne noge. Pasma je izdržljiva i otporna na bolesti, a pastusi dosežu i do 900 kg. Nekad se koristio kao radni konj za vuču i rad u poljoprivredi (MOJČEC PERKO, 2014).



Slika 1. Međimurski konj

- hrvatski posavac - naziv potiče od rijeke Save u čijem slivnom području je pasmina i nastala. Također mogu se i nazivati posavski konj, posavski baušak i posavec (MOJČEC PERKO, 2014). Danas se najviše uzgaja u Sisačko - Moslavačkoj i Zagrebačkoj županiji. Živi na otvorenome i otporan je na vremenske neprilike, a skromnih je zahtjeva. Čvrstog je i zbijenog tijela, blage ćudi i poslušan. Prema podacima iz 2000. godine, ostalo je nešto više od 1000 jedinki, pa je pasmina ugrožena (MOJČEC PERKO, 2014). Nekada se koristio u poljoprivredi, a danas se uzgaja za rekreativne i turističke svrhe.



Slika 2. Hrvatski posavac

- hrvatski hladnokrvnjak - najbrojnija je autohtona pasmina, nastala križanjem toplokrvnih pasmina s uvezenim hladnokrvnim pasminama. Čvrstog je tijela, jakih kostiju i velike glave, otporan na bolesti, dobre plodnosti i skromnih prehrambenih navika. Radna pasmina, a uzgaja se u središnjoj Hrvatskoj i okolici Siska (MOJČEC PERKO, 2014).



Slika 3. Hrvatski hladnokrvnjak

- hrvatski toplokrvnjak - prilagodljiva je pasmina koja se uglavnom koristi za sport, otporna na bolesti i skromnih prehrambenih navika. Fenotipski razlikujemo mužjake od ženki, snažne su tjelesne građe, a postoje dva uzgojna tipa gdje se jedan koristi za preponsko jahanje i dresuru, a drugi za terensko jahanje, vuču zaprega i daljinsko jahanje (MOJČEC PERKO, 2014).



Slika 4. Hrvatski toplokrvnjak

- hrvatski kasač - osnovna pasmina korištena za oblikovanje hrvatskog kasača bila je američki kasač, a počeci uzgoja vežu se za ergele u Turnišću i Ljutomeru (MOJČEC PERKO, 2014). Visina grebena je od 155 do 160 cm, glava je konveksnog profila, umjerene veličine sa živahnim očima. Dugog je vrata, a grudni koš je širok i dubok. Najčešće boje su dorat, alat i vranac (MOJČEC PERKO, 2014).



Slika 5. Hrvatski kasač

- krčki poni - gotovo izumrla autohtona pasmina porijekla sa otoka Krka. Malenog i čvrstog tijela, a koristili su se za jahanje i vuču (MOJČEC PERKO, 2014).



Slika 6. Krčki poni

- lipicanac – pasmina konja poznata u cijelome svijetu koja datira iz 1580. godine sa slovenskog područja tadašnje Habsburške monarhije. Nadvojvoda Karlo je utemeljio ergelu u Lipici, a u Hrvatskoj uzgoj lipicanaca počinje u Đakovu 1806. godine (MOJČEC PERKO, 2014). Zasebna hrvatska linija pastuha Tulipan nastaje u 19. stoljeću. Najviše su se uzgajali u Slavoniji zbog potrebe za jačim i većim konjima (MOJČEC PERKO, 2014). Neizbirljivi su za hranu i dobroćudne naravi. Oždrijebe se crni, a kako rastu tako poprimaju bijelu boju.



Slika 7. Lipicanci

U posljednjih desetak godina, razvojem konjičkih sportova u Republici Hrvatskoj, a posebno western jahanja, uvezene su američke pasmine konja, i to: Appaloosa, Quarter horse i Paint horse.

- appaloosa - porijeklo duguje domorodačkom stanovništvu Amerike, američkim indijancima, a pasmina je uzgajana križanjem konja španjolskih konkvistadora i europskih pasmina. Preseljenjem u rezervate, indijanci su postupno smanjili broj uzgojnih grla, ali 1938. godine „Klub ljubitelja appaloosa“ pod vodstvom farmera Clauda Thompsona potpuno je obnovio pasminu. Pasma ima četiri izričite značajke zbog kojih ih je lako razlikovati od drugih pasmina, a to su: uzorak dlačnog pokrova (coat pattern), pjegava koža (mottled skin), bijela sklera očiju (white sclera) i prugasta kopita (striped hooves). Životinje su srednje visine, visine grebena od 142 do 163 cm, glava je proporcionalna i srednje veličine. Najčešće se koriste za konjske utrke, ali i ostalim disciplinama western jahanja. Imaju smiren i ljubazan karakter, ali i poprilično razigran. Zahvaljujući urođenoj spretnosti i marljivosti brzo uče, a često se vežu za jednog jahača (APPALOOSA HORSE CLUB, 2008).



Slika 8. Appaloosa



Slika 9. Appaloosa

- paint horse - slično kao i appaloosa pasmina, u Sjevernu Ameriku dolaze sa španjolskim konkvistadorima pri čemu su se andaluzijski i arapski uzgojeni konji- pintados, miješali sa divljim stadima konja u Sj. Americi. Indijanska plemena su očuvala i uzgajala takve šarene konje. Dodavanjem čistokrvnih engleskih konja u genetski bazen, engleski kolonisti stvorili su snažnu, čvrstu i vrlo inteligentnu pasminu. Sve do 1940. godine dijele genetski bazen sa quarter konjima kada je i osnovana Američka udruga quarter horse, koja iz registra izbacuje sve konje sa previše bijele boje. Kako su šareni konji ostali popularni, 1965. godine osnovana je udruga American Paint Horse Association. Veličine slične kao i appaloosa, različite uzgojne linije su prilagođene raznim western disciplinama. Osim oblika tjelesne građe, bitna odlika je i šareni dlačni pokrov. Postoji nekoliko različitih uzoraka boja kao, Tobiano, Overo, Sabino i Tovero, a detaljne opise nalazimo u pravilnicima American Paint Horse Association. Ne postoje dva ista uzorka dlačnog pokrova i svaki je konj jedinstven (APHA ROOL BOOK, 2020).

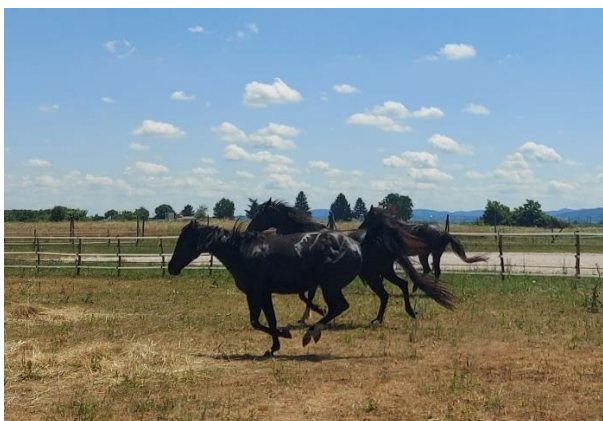


Slika 10. Paint Horse



Slika 11. Paint Horse

- quarter horse - prva registrirana pasmina razvijena u SAD-u. Potječe od arapskih, turskih i Barb pasmina koje dolaze u Ameriku iz Engleske i Irske početkom 17. stoljeća. Pasmına ime duguje činjenici da su na utrkama na $\frac{1}{4}$ milje brži od bilo koje druge pasmine. Kao pasmina priznata je 1940. godine kad je i osnovana udruga American Quarter Horse Association (AQHA). Visina grebena je od 156 do 165 cm, mišićavog i jakog tijela. Dolazi u svim bojama, češće u crnim, alatim i kestenjastim bojama, a rjeđe u palomino, cremello i perlino bojama. Vrlo svestrana pasmina koja se koristi u raznim poslovima i sportovima, te je najpopularniji trkaći konj uz Engleskog punokrvnog konja. Koriste se u većini western disciplina, rodeo, barrel racing, roping, ali može ih se vidjeti i u enduransima, galopskim utrkama, preponskim sportovima, vožnji kočija, vojnim disciplinama (military), ali su rijetki u dresurnim natjecanjima.



Slika 12. Quarter horse



Slika 13. Quarter horse

Registar Paint Horse drugi je po veličini registar pasmina na svijetu, odmah iza registra američkog Quarter Horse, a slijedi ga registar Appaloosa.

Autohtone i zaštićene pasmine magaraca u R. Hrvatskoj

Na popisu izvornih i zaštićenih pasmina i sojeva domaćih životinja u R. Hrvatskoj, od 2009. godine upisane su tri pasmine magaraca: Istarski magarac, Primorsko-dinarski magarac i Sjeverno-jadranski magarac. Najbrojniju populaciju čini primorsko-dinarski magarac, dok su sjeverno-jadranski i istarski magarac u skupini kritično ugroženih. Veličina tjelesnog okvira, boja dlačnog pokrova i karakteristična obilježja određuju pasminsku pripadnost, a da bi novorođeno pule bilo

pasminski određeno te upisano u jednu od matičnih knjiga mora biti potomak registriranih roditelja koji pripadaju istim pasminama.



Slika 14. Prikaz autohtonih pasmina magaraca u Republici Hrvatskoj

- istarski magarac - počeci uzgoja sežu u vrijeme Rimskog carstva, vjerojatno od sjevera Afrike preko Italije dolazi do Istre. Važan je za povijesni i kulturni identitet podneblja Istre i predstavlja živi spomenik podneblja. Čvrste konstitucije i velikog kvadratičnog okvira, visine grebena od 125 do 135 cm. Nešto veće glave s dugim ušima koje imaju bijele dlake u unutrašnjosti, i bijelim i dobro izraženim očalama. Gubica je bijela sa crnom regijom nozdrva, a boja trupa crna, rjeđe tamno smeđa i siva dok je trbuh sive do bijele boje. Križ i zebrice su slabo ili nisu uočljive, a griva je crna, izražena i stršeća.



Slika 15. Istarski magarac

- primorsko-dinarski magarac - pretpostavlja se da je oblikovan na današnjem uzgojnom području hrvatskog podneblja, uz zadržavanje manjeg tjelesnog okvira, prilagođenog krškom podneblju. Manjeg kompaktnog tjelesnog okvira, čvrste konstitucije i skladne građe, a visina grebena je od 95 do 100 cm. Glava je srednje veličine, kratkih ušiju sa tamnim vanjskim rubom i bijelim dlakama u unutrašnjosti, slabo do srednje izražene očale. Križ je izražen i jasno uočljiv, a zebrice su također izražene i jasno vidljive. Glava, rep i noge tamniji u donjem dijelu od trupa, a griva je jaka stršeća s tamnim vršnim rubom. Boja trbuha

varira od svijetlo sive do bijele, a trup većinom pepeljasto siv, u manjoj mjeri tamno smeđ, a potpuno crna grla su rijetka.



Slika 16. Primorsko-dinarski magarac

- sjeverno-jadranski magarac - nastao je na području dijela jadranskog priobalja i kvarnerskog otočja, na lokalnoj populaciji magaraca uz povremena križanja sa istarskim i primorsko-dinarskim magarcima. Čvrste konstitucije, snažne tjelesne građe i pravokutnim tjelesnim okvirom, veličinom između primorsko-dinarskog i istarskog magarca. Visina grebena ok 115 cm, velike ali profinjene glave sa dugim ušima tamnog ušnog ruba i bijelom unutrašnjošću. Očale i gubica su bijele s tamnom regijom nozdrva. Duga i tamna stršeća griva koja može padati na stranu, a ponekad sa svjetlijim baznim dijelom dlaka. Boja trupa varira od tamnosmeđe do crne, a u manjoj je mjeri zastupljena siva boja. Unutarnja strana stegana kao i trbuh je sive do prljavo bijele boje, a križ i zebrice nisu jasno uočljive.



Slika 17. Sjevno-jadranski magarac

2.2. POVIJEST I PROŠIRENOST

U Hrvatskoj se leptospiroza multidisciplinarno istražuje više od 60 godina (MILAS i sur., 2013). Prvi slučaj kliničke leptospiroze u konja opisan je u Rusiji 1947. godine (LJUBAŠENKO i NOVIKOVA, 1947), a već 1953. godine i u Hrvatskoj kao drugi slučaj na svijetu (ZAHARIJA, 1953). Dosadašnja istraživanja rezervoara dokazuju da je Hrvatska endemsko područje leptospiroze, posebno su to nizine velikih rijeka (BORČIĆ i sur., 1978; ZAHARIJA i sur., 1982; MILAS i sur., 2002; TURK i sur., 2003; MILAS i sur., 2013). U konja, serološki pozitivan nalaz na leptospire vrlo je čest i karakteriziran je imunosnim odgovorom na različite serovare. Postotak inficiranih kopitara redovito je visok i kreće se od 1% do 95% ovisno o geografskom području i kategoriji konja (VERMA i sur., 1977; HETHAWAY i sur., 1981; ELLIS i sur., 1983; KITSON-PIGGOTI PRESCOTT, 1987). Sistematizirana istraživanja anamnestičke dijagnostike leptospiroze u klinički zdravih konja u Hrvatskoj pokazuju 76,2% serološki pozitivnih reakcija (ZAHARIJA i sur., 1982). Istražujući rasprostranjenost leptospiroze u konja u Hrvatskoj od 1994. do 2003. godine ustanovljeno je 57,3% pozitivnih reakcija u uzorcima krvi konja (CVETNIĆ i sur., 2004). U Sinju i njegovoj okolini, protutijela za leptospire ustanovljena su u 51,67% konja (MODRIĆ i sur., 2004). 22,96% pozitivnih reakcija na protutijela za leptospire utvrđeno je kod konja za sport i rekreaciju u Hrvatskoj (MILAS i sur., 2009). Dokazano je i 25,53% serološki pozitivnih magaraca na leptospirozu (GRUBIŠIĆ i sur., 2011). Istražujući pojavnost subkliničkih infekcija i pobačaja u konja u Hrvatskoj ustanovljena su protutijela za leptospire u 37,2% uzoraka krvi zdravih konja, a u kobilama koje su pobacile ustanovljeno je 66,1% seropozitivnih uzoraka (TURK i sur., 2013). U svim istraživanjima provedenim u Hrvatskoj protutijela za leptospire u serumima konja najčešće su dokazana za serovare Australis, Pomona i Ichterohaemorrhagiae, a visina titrova kretala se od 1:100 do 1:128 000 (MILAS i sur., 2013).

2.3. ETIOLOGIJA leptospiroze

Spirohete su medicinski važna i ekološki značajna grupa pokretljivih bakterija specifične morfologije. Red *Spirochaetales* uključuje dvije porodice spiralnih bakterija, *Spirochaetaceae* i *Leptospiraceae*, koje dijele jedinstvene morfološke i funkcionalne osobine. Porodica *Leptospiraceae* uključuje veliki broj patogenih i nepatogenih bakterija roda *Leptospira*. Morfološki ih je teško razlikovati jer su sve leptospire fleksibilne, čvrsto zavijene, jednostanične bakterije.

Zbog svoje zavijenosti i jednog kraja koji podsjeća na upitnik, Stimson je 1907. godine bakteriju nazvao *Spirochaeta interrogans*.

2.3.1. MORFOLOGIJA

Bakterija je vitka, dijametra otprilike 0,1 do 0,3 μm , a dužine od 6 do 20 μm , a amplituda zavojnica iznosi od 0,1 do 0,15 μm . Gledajući strukturalno, spiralni protoplazmatski cilindar leptospira sačinjen je od jezgre, citoplazme, citoplazmatske membrane te staničnog zida sačinjenog od peptidoglikana. Na nasuprotnim krajevima nalazimo početke dviju aksilarnih flagela ili aksilarnih filamenata, čiji su krajevi slobodni i protežu se prema sredini stanice, ponekad se međusobno isprepličući, a odgovorne su za pokretljivost. Struktura duple membrane je kao i kod ostalih spiroheta, u kojoj su citoplazmatska membrana i stanični zid čvrsto povezani i prekriveni vanjskom membranom koja okružuje protoplazmatski cilindar i flagele. Kao i ostale gram negativne bakterije, sličan je sastav vanjske membrane bogate lipopolisaharidima ali sa smanjenom endotoksičnom aktivnošću. Ne boje se dobro standardnim bakterijskim bojilima, stoga su razvijene druge metode identifikacije leptospira kao mikroskopija u tamnom polju (darkfield microscopy), bojenje srebrom (silver impregnation) i imunitetska bojenja (immunologic staining). Optimalna temperatura za rast leptospira je od 28 do 30 $^{\circ}\text{C}$ i obligatorni su aerobi. Jedinstvena karakteristika leptospira među spirohetama je da se jedine mogu izolirati na umjetnim medijima, makar sporo rastu. Kao primarni izvor energije zahtijevaju ili dugolančane masne kiseline ili dugolančane alkohole. Genom leptospira sadrži oko 5000 kilobaza (kb.), a sastoji se od dva kromosoma od kojih jedan sadrži 4330 kilobaza (kb.), dok manji sadrži 359 kilobaza (kb.). Prema dosadašnjim dokazima dolazi do horizontalnog prijenosa genetskog materijala unutar gena.



Slika 18. *Leptospira interrogans*

2.3.2. TAKSONOMIJA

Klasifikacija roda *Leptospira* je kompleksna. Dva odvojena sistema klasifikacije su trenutno u uporabi, tradicionalni fenotipski klasifikacijski sistem baziran na serotipizaciji i genotipska klasifikacija bazirana na DNK podudarnosti (HINES, 2007). Tradicionalna serološka klasifikacija grupira leptospire u dvije vrste, patogenu vrstu *Leptospira interrogans* i nepatogenu saprofitsku *Leptosirae biflexa* (HINES, 2007). Serovari obiju vrsta organizirani su u serogrupe gledajući njihova zajednička antigenska svojstva, pa tako *Leptospira interrogans* sadrži najmanje 218 serovara organizirana u 23 serogrupe, a *Leptospira biflexa* najmanje 60 serovara unutar 28 serogrupa.

Serološki sustav klasificiranja leptospira temelji se na utvrđivanju antigenih različitosti među pojedinim sojevima leptospira. Osnovna taksonomska jedinica je serovar. Metodom unakrižne aglutinacije – apsorpcije (eng. cross agglutination adsorption, CAAT) utvrđuju se međusobne razlike lipopolisaharida vanjske ovojnice leptospira (DIKKEN i KMETY, 1978). Dosadašnje serološko klasificiranje uključuje 300 serovara leptospira (FERESU i sur., 1993; PEROLAT i sur., 1998; BRENNER i sur., 1999; MGOODE i sur., 2006), svrstanih u 29 seroloških skupina.

Molekularni sustav klasificiranja leptospira utvrđuje stupanj genomske sličnosti pojedinih sojeva leptospira. Genska raznolikost roda *Leptospira* uviđena je već u najranijim istraživanjima genoma leptospira (HAAPALA i sur., 1969). Odnosi među vrstama osnovani na sličnostima, odnosno razlikama u genomu utvrđuju se raznim molekularnim metodama kao što su DNA hibritizacija (NIELSEN i sur., 1989), ribotipiziranje (PEROLAT i sur., 1990), utvrđivanje raznolikosti dužine restrikcijskih fragmenata (RFLP) (HOOKEY, 1993), lančana reakcija polimerazom u stvarnom vremenu (real time PCR) (MERIEN i sur.; 2005; FEARNLEY i sur., 2007), te sekvenciranje i filogenijske analize gena (PASTER i sur., 1991; SLACK i sur., 2006; CERQUEIRA i sur., 2009). Tako je do sada utvrđeno postojanje devet patogenih, pet intermedijarnih vrsta (patogenost nije u potpunosti razjašnjena) i šest saprofitskih (apatogenih) genomskih vrsta (YASUDA i sur., 1987; GRAVEKAMP i sur., 1993; LEVETT i sur., 2006; MATTHIAS i sur., 2008; SLACK i sur., 2009; KO i sur., 2009).

Analizom DNA leptospira pomoću DNA hibridizacije otkrivene su značajne genetske različitosti dvije fenotipske vrste što je rezultiralo reklasifikacijom vrste bazirane na DNA homologiji, pa je do sada otkriveno 17. genomvrsta leptospira.

Dva sistema klasifikacije nisu međusobno kompatibilna. Genomovrsta linije se ne može predvidjeti serogrupom ili serovarem, a serološki slične leptospire mogu pripadati različitim genomovrstama. Također i patogeni i nepatogeni serovari se mogu pojaviti u istoj genomovrsti.

Taksonomski gledajući, genotipska klasifikacija je točna, ali zbog manjka jednostavne molekularne identifikacijske metode, većina laboratorija je zadržala serološku klasifikaciju leptospira. S obzirom na prednosti odnosno nedostatke klasificiranja leptospira kako serološkim, tako i molekularnim metodama, obje vrste klasificiranja prihvaćene su 2011. godine od Pododbora za taksonomiju bakterija iz porodice *Leptospiraceae* (Subcommittee on the Taxonomy of Leptospira) (MOJČEC PERKO, 2014). U znanstvenim istraživanjima novih izolata potrebno je navesti rezultate tipizacije izolata serološkim i molekularnim metodama (MOJČEC PERKO, 2014).

2.4. EPIZOOTIOLOGIJA

Leptospiroza je najraširenija zoonoza u svijetu. U prirodi, leptospiroza se održava u subklinički inficiranih životinja tzv. evolucijskih domaćina i rezervoara koji uključuju veliki broj divljih i domaćih vrsta životinja. Služe kao izvor infekcije za incidentalne tj. slučajne domaćine, uključujući i ljude. Izvor zaraze su mokraćna oboljelih životinja, kliconoša, kontaminirana voda, tlo i hrana. Uzročnik se može izlučivati tijekom bolesti, u rekonvalescenciji i nakon ozdravljenja (ZAHARIJA i sur.,1982), a izlučivanje može biti povremeno ili trajno (ADLER i de la PENA MOCTUEZUMA, 2010).

Specifični serovari leptospira obično se nalaze u određenim evolucijskim domaćinima, a epizootiološke studije pokazuju da preference za te domaćine mogu varirati sa geografskim regijama ali i tijekom vremena. Smatra se da su evolucijski domaćini životinjske vrste kod kojih je došlo do međusobne prilagodbe domaćina i određenog serovara leptospira. Iako su evolucijski domaćini jako prijemljivi za infekciju, organizmi su obično slabo patogeni za domaćina pa je infekcija najčešće latentna ili dolazi do blagog oblika bolesti. Domaće životinje evolucijski su domaćini nekih serovara: goveda – serovari Hardjo i Pomona (LEONARD i sur.. 1992), svinje – serovari Pomona, Terassovi i Bratislava (ELLIS, 1986), psi – serovar Canicola (FAINE i sur., 1999), a kopitari – serovar Bratislava (ELLIS, 1999). Ti će serovari u njih uzrokovati blagi oblik bolesti, no infekcija nekim drugim serovarem vjerojatno će se očitovati izraženijim kliničkim simptomima.

Rezervoari nakon infekcije rijetko obole, često doživotno ostaju kliconoše i o njima ovisi opstanak uzročnika u prirodi, a najznačajniji rezervoari leptospira su glodavci. Kod njih dolazi do trajnog naseljavanja leptospira u bubrežne kanaliće, te najčešće doživotnog kliconoštva (FAINE i sur., 1999). Glodavci se inficiraju u ranoj dobi, a infekcija u populaciji se širi horizontalno ali i vertikalno. Vrste mišolikih glodavaca (rezervoara) na području Republike Hrvatske iz kojih su izdvojene leptospire su: žutogrli miš (*Apodemus flavicollis*), šumski miš (*Apodemus sylvaticus*), obična rovka (*Sorex araneus*), poljska voluharica (*Myodes glareolus*), te obični puh (*Muscardinus avellanarius*) (ZAHARIJA, 1968; ZAHARIJA i MODRIĆ, 1971; BORČIĆ i sur., 1982; BORČIĆ i sur., 1983; MILAS i sur., 2002; TURK i sur., 2003). Dosadašnjim istraživanjima u R. Hrvatskoj ustanovljeno je da, ovisno o istraživanom području, je 7,0% do 29,9% malih glodavaca inficirano leptospirama (BORČIĆ i sur., 1982 i 1983; MILAS i sur., 2002; TURK i sur., 2003; ŠTRITOF MAJETIĆ, 2010). Iz glodavaca u R. Hrvatskoj izolirani su slijedeći serovari *L. interrogans*: Bratislava Lora, Saxkoebing, Bataviae; serovari *L. hirschneri*: Grippytyphosa, Mozdok, Tsaratsovo; i serovar Istrica za *L. borgpetersenii* (MILAS i sur., 2002; TURK i sur., 2003; ŠTRITOF MAJETIĆ, 2010).

Slučajni domaćini obično imaju slabu prijemljivost, ali je veća vjerojatnost da razviju akutnu, tešku bolest nakon infekcije. Ne prenose efikasno bolest, jer relativno kratko izlučuju uzročnika. Za većinu serovara leptospira, konji su slučajni domaćini, ali smatra se da je u tijeku evolucijska prilagodba konja na serovar Bratislava, a od ostalih uzročnika leptospiroze u konja navode se serovarovi Pomona, Ichterohaemorrhagiae, Grippytyphosa i Canicola (FAINE i sur. 1999; HABUŠ i sur. 2008).

Primarni izvor zaraze su bolesne životinje i kliconoše odnosno kao intermedijarni izvor njihov inficirani urin. Rezervoari izlučuju uzročnika urinom u dugim vremenskim razdobljima zbog kronične infekcije bubrežnih kanalića. Uzročnik se također može izlučivati i pobačenim plodom, posteljicom, vaginalnim iscjetkom i mlijekom, a prijenos organizma može biti direktan ili češće indirektan preko kontaminirane vode, tla, stelje ili hrane. U povoljnim uvjetima, topli i vlažni okoliš, sporotekuće ili stajaće vode, neutralan do blago lužnati pH, leptospire prežive i do nekoliko tjedana. Ne podnose temperature ispod 10°C i iznad 25°C. U nekih vrsta zabilježen je venerički i transplacentarni prijenos uzročnika, ali za konje ne postoje podaci o prijenosu sjemenom ili embriotransferom.

2.4.1. SEROPREVALENCIJA

Serološka istraživanja su pokazala da je pozitivan nalaz na leptospire vrlo čest u konja i karakteriziran imunosnim odgovorom na različite serovare. Međutim, većina infekcija leptospirama u konja je subklinička (DONAHUE i WILLIAMS, 2000). Gledajući rezultate brojnih seroloških istraživanja leptospiroze konja najčešće zabilježeni serovari bili su *L. interrogans* sv Bratislava, Pomona, Icterohaemorrhagiae, te *L. kirschneri* sv Grippotyphosa (ZAHARIJA, 1953.; ELLIS i sur., 1983; CVETNIĆ i sur., 2004; BAVERUD i sur., 2009). Ovisno o geografskom području, kategoriji konja i pretraživanom serovaru, postotak inficiranih kopitara je visok, a kretao se u rasponu od 1% do 95% (VERMA i sur., 1977; HATHAWAY i sur., 1981; ELLIS i sur., 1983; KITSON-PIGGOTI PRESCOTT, 1987). U Hrvatskoj sistematizirana istraživanja anamnestičke dijagnostike leptospiroza u klinički zdravih konja pokazuju 76,2% serološki pozitivnih reakcija (ZAHARIJA i sur., 1982). U istraživanju provedenom od 1994., do 2003. godine, Cvetnić i sur.(2004.) pronašli su reakcije u 57,3% uzoraka krvi konja u Hrvatskoj. Protutijela na leptospire Modrić i sur.(2004.) ustanovili su u 51,67% konja u Sinju i okolici, a Milas i sur. (2009.) utvrdili su 22,98% pozitivnih reakcija na protutijela za leptospire kod konja za sport i rekreaciju u R. Hrvatskoj. Postotak serološki pozitivnih reakcija utvrđen u tim istraživanjima odgovara nalazu pojavnosti leptospira u populaciji magaraca koji iznosi 25,53% (GRUBIŠIĆ i sur., 2011). Gledajući pojavnost subkliničkih infekcija i pobačaja, Turk i sur. (2013.) ustanovili su protutijela za leptospire u 37,2% uzoraka krvi zdravih konja, a 66,1% seropozitivnih uzoraka u kobilama koje su pobacile. Protutijela za leptospire u serumima konja u Hrvatskoj najčešće su dokazana za serovare Australis, Pomona i Icterohaemorrhagiae, dok je visina titra bila od 1:100 do 1:128000 (MILAS i sur., 2013).

2.5. PATOGENEZA

Još uvijek nije razjašnjen mehanizam patogeneze leptospiroze, a jedan od razloga je i sposobnost leptospira da se prilagođavaju uvjetima u kojima se nalaze. Najvažniji čimbenici koji utječu na virulenciju su sposobnost prianjanja, pokretljivost, tvorba toksina i površinski proteini (MOJČEC PERKO, 2014).

Prvi stadij infekcije je prianjanje na stanice domaćina koje se odvija preko oštećene kože ili sluznice, a patogeni sojevi imaju fibronektin-vezujuće proteine na svojoj površini. Fibronektin, koji vežu, pomaže u prianjanju i prodiranju leptospira u organizam domaćina (MERIEN i sur., 2000). Također u početnoj fazi infekcije jako važan mehanizam virulencije je pokretljivost, a sposobnost kemotaksije prema hemoglobinu imaju samo patogeni sojevi.

Stadij bakterijemije započinje ulaskom u organizam i prolaskom kroz stanice domaćina leptospire dolaze do ciljanih organa (THOMAS i HIGBIE, 1990; BARROCHI i sur., 2002). Nekada se smatralo da prolaze kroz međustanične prostore kao i ostale spirohete (HAAKE i LEVETT, 1994). Kliničko očitovanje započinje proizvodnjom aglutinirajućih protutijela (FAINNE i sur., 1999). Leptospire nestaju iz cirkulacije porastom koncentracije protutijela ali se zadržavaju u proksimalnim bubrežnim kanalićima i tada počinje faza izlučivanja urinom. U domaćina mogu izazvati oštećenja bubrega, ali je bitno naglasiti da patološki procesi nisu uočeni u bubrezima životinja rezervoara. Strukturni dijelovi leptospira oslobađaju se tijekom imunskih reakcija i potiču tvorbu upalnih citokina, a oni posreduju pri upali i oštećenju ciljnih organa (DIAMENT i sur., 2002). Lokalizirane ishemije u ciljnim organima posljedica se oštećenja lokalnih krvnih žila, a to dovodi do nekroze bubrežnih kanalića, oštećenja jetre, pluća ili placentе, te upale mišićja ili moždanih ovojnica.

Postoji homologija nekih proteina s proteinima životinja i ljudi, koji mogu pokrenuti autoimunski odgovor. Smatra se da je rekurentni uveitis u konja najvjerojatnije posljedica autoimune reakcije specifičnih protutijela na leptospire i okularnog tkiva (FABER i sur., 2000). Glavni čimbenik imunskog odgovora domaćina je humoralni odgovor, tj. stvaranje protutijela na specifične lipopolisaharide (LPS) vanjske ovojnice patogenih leptospira (ADLER i FINE, 1977). Tijek i ishod bolesti ovisi i o građi LPS-a leptospira, odnosno infektivnom serovaru (NALLY i sur., 2005). Nekoliko dana nakon infekcije nastaju protutijela. Novija istraživanja pokazuju da i stanični odgovor domaćina sudjeluje u imunskoj reakciji (NAIMAN i sur., 2002).

2.6. KLINIČKA SLIKA

Infekcija konja najčešće prolazi bez vidljivih kliničkih znakova (ELLIS i O'BRIEN, 1988; WOOD, 1994), a relativno mali broj kliničkih slučajeva govori u prilog tome. Pobačaj je često jedini klinički znak oboljenja u gravidnih životinja, ali moguć je razvoj teških oblika leptospiroze u konja (BERNARD, 1993; BERNARD i sur., 1993).

Istraživanja su pokazala da i subklinička leptospiroza ipak može utjecati na fizičku sposobnost i sportske rezultate u trkaćih konja (HAMOND i sur., 2012). i ne bi se trebala zanemariti jer inficirani konji, zbog povremenog izlučivanja uzročnika urinom, predstavljaju mogući izvor širenja leptospiroze i izravnu opasnost od zaraze za ljude ili ostale domaće životinje (HAMOND i sur., 2012). Urin konja ima idealan pH (7,5-7,9) za preživljavanje leptospira, a time i širenje zaraze (HAMOND i sur., 2012).

Akutni oblici leptospiroze u konja:

Akutna infekcija počinje općim infekcijskim sindromom, anoreksijom i nevoljkošću, a također se pojavljuju slabost u mišićima, žutica i hematurija (BRUDNJAK i sur., 1956; ZAHARIJA i sur., 1982), ali također zabilježena je pojava fotofobije, iscjetka i suzenja očiju, te natečenost vjeđa (ZAHARIJA i sur., 1982). Iznimno rijetko uočava se septikemija sa trajnim oštećenjima jetre, bubrega i pluća (HAMOND i sur., 2011). Vrlo česta posljedica akutne infekcije leptospirama je pobačaj (KINDE i sur., 1996; FAINE i sur., 1999). Imunosni odgovor na infekciju posteljice u gravidnih kobila dovodi do vaskulitisa, tromboze, edema, stanične infiltracije, nekroze i kalcifikacije. Kao posljedica potpune narušenosti funkcije posteljice dolazi do pobačaja i to najčešće u zadnjem stadiju gravidnosti (WILLIAMS i sur., 1994). Teške kliničke oblike bolesti sa često letalnim ishodom nalazimo u ždrebadi koja je inficirana u uterusu (BERNARD i sur., 1993; FAINE i sur., 1999). Najčešći serovar povezan sa pobačajem je Pomona, ali i drugi serovari su bili izolirani iz abortiranog fetusa (Australis, Grippytyphosa, Icterohaemorrhagiae, Sejroe) (KINDE i sur., 1996; DONAHUE i WILLIAMS, 2000). Također, pobačaj se isto dovodi u vezu sa miješanom infekcijom leptospira i konjskog herpes virusa – tip 1 (EHV-1) (HINES, 2007).

Kronični oblici leptospiroze u konja:

Kronični oblik leptospiroze očituje se pojavom rekurentnog uveitisa - periodična oftalmija ili „mjesečna sljepoća“ (Equine Recurrent Uveitis, ERU), a opisana je nakon prirodne infekcije ali i nakon eksperimentalne infekcije leptospirama. Obično se javlja i do nekoliko mjeseci pa i do

nekoliko godina nakon infekcije patogenim leptospirama (BRUDNJAK i sur., 1956; FAINE i sur., 1999; VERMA i sur., 2012), dok neki slučajevi mogu biti više akutni (HINES, 2007). Nekoliko serovara povezano je sa razvojem uveitisa, ali najčešći izolirani serovar bila je Pomona. Važno je napomenuti da unatoč povezanosti infekcije leptospirama i ERU, većina infekcija leptospirama neće dovesti do razvoja rekurentnog uveitisa, kao i to da ima mnogo drugih uzročnika uveitisa. Klinička slika rekurentnog uveitisa konja uključuje miozu, fotofobiju, blefarospazam, iritis, cilijarnu injekciju, a ponekad i keratitis. U kroničnim slučajevima javlja se sinehija, stvaranje katarakte, atrofija *corpora nigra*, korioretinitis, promjena boje šarenice, i sljepoća. Klinička slika nije patognomonična i ne mogu se razlikovati slučajevi rekurentnog uveitisa uzrokovanih leptospirama od onih uzrokovanih drugim uzročnicima. Također, istraživanja sugeriraju da je ERU uzrokovan leptospirama klinički jače izražen od ERU-a uzrokovanih drugim uzročnicima (HINES, 2007), jer na leptospire seropozitivni konji imaju 4,4 puta veću šansu da izgube vid od seronegativnih konja sa uveitisom.



Slika 19. Mjesečna sljepoća



Slika 20. Mjesečna sljepoća

Sistemska bolest odraslih konja i ždrebadi:

Sistemska se bolest relativno rijetko pojavljuje, iako je populacija konja vrlo izložena zarazi leptospirama. Klinička leptospiroza se pojavljuje sporadički u konja svih dobnih skupina. U odraslih konja sa kliničkom leptospirozom uočena je groznica, anoreksija i nevoljkost (HINES, 2007), ali i disfunkcija jetre i žutica (HINES, 2007). Akutno zatajenje bubrega opisano je u svih dobnih skupina konja (HINES, 2007). Svi slučajevi uključivali su nevoljkost i anoreksiju, a u većini slučajeva bila je prisutna povišena tjelesna temperatura. Leukocitoza sa hiperfibrinogenemijom, azotemija i izotenurija opisana je laboratorijskim pretragama, a ultrazvučno je moguće uočiti povećane bubrege.

Novorođena ždrebadi i prerano rođena ždrebadi se najvjerojatnije inficiraju leptospirama *in utero* (HINES, 2007). Klinička slika uključuje opću slabost i žuticu, a ponekad i hematuriju i dizuriju. Leptospiroza je također potvrđena i u starije ždrebadi sa znacima nevoljkosti, tuposti i slabe tjelesne kondicije, a u nekim slučajevima težim respiratornim sindromom, depresijom i povišenom tjelesnom temperaturom. Ostali klinički znaci uključuju žuticu, nestabilan hod, a kod neke ždrebadi uočena je i pojava proljeva. Prilikom razudbe, u svih je ždrebadi uočena hemoragična pneumonija.

2.7. PATOLOŠKE PROMJENE

Relativno je malo podataka o patološkim promjenama kod sistemske leptospiroze u konja. Može se reći da je leptospiroza karakterizirana vaskulitisom sa oštećenjem endotela i upalnim infiltratom sačinjenim od monocita, plazma stanica, histiocita i neutrofila (HINES, 2007). Leptospire se mogu umnažati na raznim mjestima, stoga se i lezije mogu pronaći na različitim organima. U konja su potvrđeni nalazi žutice, plućne hemoragije, glomerulonefritisa, bubrežnog intersticijskog edema i tubulointersticijskog nefritisa (HINES, 2007). U nekim slučajevima abortusa uzrokovanog leptospirama, histološke lezije su uočene i na placenti i fetusu (HINES, 2007). Pregledom pobačenih fetusa i placenti, te mrtvorodne ždrebadi utvrđene su lezije u 80,3% , a mikroskopske lezije u 96% slučajeva (HINES, 2007). Uočene patološke promjene na placenti uključivale su nalaz edema na placenti, cistične čvoriće na alantoisu i nekrozu koriona sa nekrotičnim mukoidnim eksudatom. Histološkim pregledom lezija na placenti uočena je tromboza, vaskulitis, infiltracija upalnih stanica vezivnog tkiva i resica, hiperplazija epitela alantoisa, te nekrozu i kalcifikaciju resica. Najčešće promjene na pobačenim fetusima i mrtvo rođenoj ždrebadi uočene su na jetri i na bubrezima. Jetra je povećana, išarana, blijede do žute boje, dok je histološki uočena hepatocelularna disocijacija, miješana leukocitna infiltracija portalnih trijada i hepatopatija gigantskih stanica (HINES, 2007). Bubrezi su natečeni i edematozni sa uočenim radijalno širećim bijelim crtama u korteksu i meduli (koje su rezultat tubularne nekroze sa ili bez upalnog infiltrata) (HINES, 2007), a mikroskopski je uočen nefritis koji može biti gnojni ili ne gnojni. Od ostalih lezija najčešće uočene su pulmonalna hemoragija, pneumonija, miokarditis i meningitis (POONACHA i sur., 1993; SZEREDI i HAAKE, 2006).

2.8. DIJAGNOSTIKA

Budući da je leptospiroza bolest prirodnih žarišta, te je izvor infekcije kontaminirani okoliš, pozornost pri dijagnosticiranju treba posvetiti anamnestičkim podacima, te doznati da li je bolesna životinja ili čovjek boravio u prirodi, moguće kontaminiranom (urinom glodavaca) okolišu, imao kontakt sa stajacim površinskim vodama ili da li je oboljela osoba profesionalno izložena većem riziku od infekcije (veterinari, stočari, poljoprivrednici).

Uz anamnezu, klinička očitovanja koja upućuju na leptospirozu najčešće se povezuju s pojavom ikteričnih oblika bolesti praćenih povišenom temperaturom, hepatorenalnim sindromom i leukocitozom te kod pobačaja kobila, krava i krmača (MILAS i sur., 2013). Unatoč tome, postavljanje točne dijagnoze leptospiroze može biti poprilično teško zbog teškoća u identificiranju organizma ali i visokoj seroprevalenciji u populaciji konja. Iz tog razloga razvijene su i brojne metode za dijagnosticiranje. Općenito se mogu podijeliti na mikrobiološke i molekularne metode gdje je cilj izdvajanje ili dokaz uzročnika, i serološke metode kojima se dokazuju protutijela u serumu (MILAS i sur., 2013). Molekularne metode su izrazito skupe i dostupne u samo nekoliko laboratorija u svijetu, a izdvajanje i uzgajanje leptospira dugotrajno je i zahtjevno. Zbog svega toga, u većini slučajeva dokazivanja leptospiroze, koriste se serološke metode.

Uzorkovanje materijala za laboratorijsko dijagnosticiranje leptospiroze:

u krvi i cerebrospinalnoj tekućini leptospire se mogu za života dokazati najkasnije sedmog do desetog dana od početka bolesti, a uzorke treba sakupiti prije davanja antibiotika. Nakon isteka tog razdoblja, leptospiroza se može potvrditi dokazom protutijela u serumu, kada su bakterije neutralizirane protutijelima. U početku bolesti, ponekad, nema dovoljne količine protutijela u serumu koja bi se mogla ustanoviti mikroskopskim aglutinacijskim testom (MAT), pa da bi se dokazala akutna infekcija, potrebno je za 10 do 14 dana pretražiti drugi serum da bi se utvrdio porast titra protutijela. Kada se u prvom serumu dokažu protutijela, potrebno je uzeti drugi serum za 10 do 14 dana i usporediti titar protutijela sa prvim (parni serumi). Posljedica ranijeg preboljenja bolesti je jednak u pravilu nizak titar protutijela u serumima. Četverostruki ili veći porast titra protutijela, između prvog i drugog seruma, dokaz je akutne leptospiroze. Treba imati na umu da rana primjena antibiotika može ponešto usporiti tvorbu protutijela, pa porast titra može biti nešto manji. Nakon tjedan dana od početka bolesti počinje izlučivanje leptospira urinom. Upotreba

furosemida ispire leptospire iz bubrega, te se preporuča njegovo korištenje. Urin se sakuplja tijekom drugog dnevnog uriniranja i to srednji mlaz (nakon početnog i prije završnog) (HINES, 2007). Urin treba uzorkovati u sterilne posude i nacijepiti unutar 20 minuta do sat vremena od uzorkovanja, jer u vrlo lužnatom ili vrlo kiselom urinu leptospire brzo propadaju. Ako se urin ne može pregledati u navedenom vremenu, potrebno je neutralizirati pH ili dodati formalin, ali u tom slučaju leptospire neće preživjeti ali će morfologija biti očuvana (HINES, 2007). Tijekom bakterijemijske faze akutne bolesti, moguće je leptospire pronaći i u krvi.

Prilikom postmortalnog dijagnosticiranja leptospiroze, može se uzorkovati krv i parenhimski organi, ako je smrt nastupila u razdoblju septikemije, a ako je bolest trajala dulje od sedam dana, mogu se uzorkovati i bubrezi.

Izravno dokazivanje leptospira u tkivima:

leptospire su vrlo slabo vidljive standardnim svjetlosnim mikroskopom jer se slabo ili uopće ne boje standardnim bojilima, ali se mogu vidjeti pomoću mikroskopa sa tamnim vidnim poljem pod povećanjima 100X i 400X i imunofluorescencijom nakon vezanja konjugiranih protutijela. U histološkim preparatima leptospire su vidljive nakon specifičnih bojenja, poput impregnacije srebrom, bojenja po Warthin-Starryju i drugih modificiranih bojenja srebrom kao bojenje po Dieterleu ili Steineru. Potrebna je velika koncentracija leptospira (10^4 leptospira u mililitru tekućeg materijala) da bi bile vidljive mikroskopom s tamnim poljem, pa su te metode prilično neprecizne i nepouzidane, a moguće je u takvim uzorcima zamijeniti leptospire sa nitima fibrina ili proteina zbog njihove pokretljivosti kakvu simuliraju niti zbog Brown-ova gibanja. Imunofluorescencija i bojenje imunoperoksidazom se koriste za povećanje osjetljivosti direktnog mikroskopskog pregleda (HINES, 2007). Prvenstveno se koristi FAT (fluorescent antibody test) koji povećava mogućnost identifikacije leptospira u tekućim materijalima, tkivima i tkivnim obrisima. Karakteristična morfologija leptospira manje je vidljiva upotrebljavajući FAT, ali za razliku od mikroskopa sa tamnim poljem, FAT je osjetljiviji, može detektirati degenerirane organizme i specifičan je za serovare (HINES, 2007). Postoje još nekoliko načina detekcije leptospira u kliničkim uzorcima kao radioimunotest (RIA), enzimski imunosorbentni test (ELISA), dvostruki sendvič-enzimski imunosorbentni test (double-sandwich ELISA) i ispitivanje imunomagnetskog hvatanja (immunomagnetic antigen capture assay), ali ti testovi nisu zaživjeli u kliničkoj primjeni.

Izdvajane leptospira iz kliničkog materijala (kultura stanica):

dugo je bila zlatni standard za dijagnozu leptospiroze, ali je osjetljivost vrlo niska (HINES, 2007).

Leptospire su iznimno izbirljive i sporo rastuće bakterije, a za neke serovare kao Hardjo i Bratislava, vrijeme inkubacije je od četiri do šest mjeseci. Uzgajaju se na posebnim medijima, najčešće Ellinghausen, McCullough, Johnson i Harris (EMJH), ili medij po Korthoffu na temperaturi od 28 do 30 °C.

Za sprječavanje kontaminacije drugim bakterijama (prisutne u urinu), u hranjivu podlogu dodaje se antibiotik ili 5-fluorouracil. Važno je da se materijal uzorkuje prije početka primjene antibiotika.

Leptospire se u različitim fazama bolesti mogu izdvojiti iz različitih kliničkih materijala, ali najčešće su to krv i urin. Iz krvi se mogu izdvojiti u početnoj, septikemijskoj fazi bolesti (prvih četiri do 10 dana), a krv treba nacijepiti odmah nakon vađenja u tekuću hranidbenu podlogu. Nacijepjuje se što manja količina krvi, jedna kap krvi na pet do 10 mililitra podloge.

Nakon sedam do 10 dana bolesti, leptospire se mogu izdvojiti i iz urina. Urinom se izlučuju povremeno, pa tako ne moraju biti prisutne u urinu nakon svakog pražnjenja mjehura. Kod izdvajanja iz urina treba neutralizirati pH natrijevim bikarbonatom, centrifugirati urin da bi se leptospire koncentrirale te dobiveni sediment nacijepiti na pripremljenu hranidbenu podlogu (MILAS i sur., 2013). Nacijepljene hranidbene podloge treba provjeravati na rast leptospira svaki tjedan u trajanju i do 13 tjedana. Često ih nije moguće odmah nakon uzimanja uzoraka nacijepiti na hranidbenu podlogu pa je uzorak potrebno razrijediti sa 1% goveđim serumskim albuminima, puferiranom fiziološkom otopinom, ili nacijepiti na transportni medij. Prilikom transporta klinički uzorci trebaju biti ohlađeni ali ih se ne smije smrzavati.

Dokazivanje DNK leptospira molekularnim metodama:

leptospire se u kliničkom materijalu mogu dokazati različitim molekularnim metodama, ali u veterinarskoj medicini najčešće se koristi dokazivanje sekvence DNK leptospira lančanom reakcijom polimerazom (Polymerase chain reaction-PCR) i lančanom reakcijom polimerazom u stvarnom vremenu (Real Time PCR). Metode za dokaz DNK leptospira mnogo su brže i osjetljivije i stoga imaju mnoge prednosti u usporedbi s dokazom leptospira izdvajanjem. Posebice imaju veliku praktičnu vrijednost jer kliničarima omogućuju brzo postavljanje objektivne dijagnoze bolesti. Kontaminiranost uzoraka puno manje utječe na metode molekularnog dijagnosticiranja nego na postupak izdvajanja leptospira jer se u molekularnom dijagnosticiranju rabe specifične početnice za leptospire kojima se ne umnožava DNK ostalih bakterija i tkiva koje pretražujemo (MILAS i sur., 2013). Istraživanja na konjima sa kliničkim rekurentnim uveitisom, dokazala su da je PCR metoda pouzdanija od metode izdvajanja leptospira kod dokazivanja leptospira u očnoj vodici (HINES, 2007). PCR metoda je također bila upotrebljena u dokazivanju *Leptospirae*

kirschneri u prerano oždrebljene ždrebadi, i preporuka je uključiti tu metodu u rutinsku dijagnostiku u slučajevima sumnje na zarazu leptospirama (HINES, 2007). Nedostatak PCR metode je što zasada njenom uporabom nije moguće odrediti infektivni serovar koji ima epidemiološko i javno-zdravstveno značenje (BHARTI i sur., 2003).

Serološko dijagnosticiranje leptospiroze:

sve prije spomenute metode dijagnosticiranja leptospiroze primjenjuju se i u Laboratoriju za leptospire Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, no budući da je izdvajanje leptospira vrlo zahtjevan i dugotrajan proces, a metode dokazivanja DNK skupe i dostupne u samo nekoliko laboratorija u svijetu, većina slučajeva leptospiroze dijagnosticira se serološkim metodama. Protutijela su u krvi obično prisutna oko petog do sedmog dana od pojave kliničkih znakova bolesti, a njihova koncentracija može ostati povišena mjesecima pa čak i godinama. Osim krvi i urina, antitijela su detektirana u različitim kliničkim materijalima, a za konje najvažnija je očna vodica. Referentna metoda serološkog dijagnosticiranja jest mikroskopski aglutinacijski test (MAT). Metoda se temelji na dokazu aglutinacijskih protutijela u serumu bolesne životinje ili čovjeka s pomoću živoga ili inaktiviranoga antigena (DIKKEN i KMETY, 1978). To je kvantitativan i kvalitativan test, što znači da se osim postojanja protutijela u serumu određuje i njihova koncentracija (titar), a detektira i imunoglobuline M (IgM) i imunoglobuline G (IgG). Kvantitativni dio MAT izvodi se dvostrukim serijskim razrjeđenjima istraživanog seruma, te određuje titar protutijela za svaki pojedini antigen u panelu antigena. Panel antigena prilagođen je vrsti životinje čiji serum pretražujemo, ili je pak prilagođen za serološku dijagnostiku ljudi (DIKKEN i KMETY, 1978). Zbog velike izloženosti kopitara leptospirama, važno je biti oprezan prilikom interpretacije seroloških testova. Iz istog razloga prilikom izvođenja MAT-a vrlo je važan odabir antigena. Leptospire su antigenski vrlo slične, stoga je u dijagnostički panel antigena poželjno uvrstiti serovare koji se pojavljuju na tom području, obavezno predstavnike svih seroloških skupina, a katkad i više serovara iz iste serološke skupine ako su oni antigeno udaljeni (MILAS i sur., 2013). Nepotpun, manjkav ili pogrešan odabir antigena može rezultirati lažno negativnim rezultatom. Epizootiološko i epidemiološko stanje u državi određuje panel antigena koji se upotrebljava u laboratorijima, pa je panel antigena podložan promjenama s obzirom na broj i strukturu antigena koji sadržava. Očitavanje rezultata MAT metode izvode se pod mikroskopom s tammim poljem i određuje se postotak slobodnih, neaglutiniranih leptospira u vidnom polju. Svaki serum u kojem je 50% ili više leptospira aglutinirano, odnosno slijepjeno u nakupine (aglutinate), smatra se pozitivnim. Prednosti ove metode su specifičnost i mogućnost određivanja vjerojatno infektivnog seruma, a nedostaci manja osjetljivost, zahtjevnost za izvođenje i subjektivnost. Još jedan od

nedostataka je otežano tumačenje rezultata zbog unakrižne reaktivnosti između serovara i pojave tzv. paradoksalne reakcije u akutnoj fazi infekcije. Zbog velike antigene sličnosti serovara, u početnoj fazi bolesti pojaviti će se u serumu inficirane životinje protutijela na infektivni serovar te na njemu slične serovare prisutne na tom području (koaglutinacijska protutijela). Osim stvaranja koaglutinacijskih protutijela, unakrižne reakcije, prilikom imunog odgovora na infekciju leptospirama može se pojaviti i paradoksalna reakcija, tj. može doći do pojave najvećeg humoralnog odgovora na serovar koji zapravo nije glavni infektivni serovar (LEVETT, 2001; LEVETT, 2007). U kasnijem tijeku infekcije u serumu se postupno snižavaju koaglutinacijski titrovi dok titar protutijela na infektivni serovar ostaje isti ili je u porastu. To može potrajati i do nekoliko tjedana, te se vjerojatno infektivni serovar može sa sigurnošću ustanoviti tek u konvalescentnoj fazi infekcije i to uzimanjem i pretragom trećeg uzorka seruma. U akutnoj fazi bolesti moguće je mikroskopskim aglutinacijskim testom dobiti negativan rezultat jer u ranoj fazi infekcije još nije došlo do stvaranja dovoljne količine protutijela koja se može utvrditi. Za potvrdu akutne infekcije potrebno je pretražiti parni serum koji se uzorkuje nekoliko dana nakon prvog uzorkovanja i ustvrditi četverostruki ili veći porast titra. Tumačenje nalaza prvog seruma ovisit će ponajprije o podudarnosti s kliničkom slikom i tome je li područje na kojem se bolesna životinja kretala enzootsko područje leptospiroze. U enzootskim područjima titar koji se smatra značajnim biti će viši od titra koji se smatra značajnim u područjima u kojima prevalencija leptospiroze nije velika jer se u takvim populacijama ne može očekivati visoki rezidualni titar nakon prethodnih, možda subkliničkih, infekcija (MILAS i sur., 2013). Titar na serovar koji se evolucijski prilagodio na određenog domaćina uvijek je niži. Različiti su čimbenici koji određuju visinu vjerojatno infektivnog titra, a ovise o vrsti životinje, infektivnom serovaru, učestalosti leptospiroze u određenom geografskom području, i slično. Sumnja na rekonvalescentno kliconoštvo u vrijedećem Pravilniku o mjerama za suzbijanje i iskorjenjivanje leptospiroze životinja određena je titrom protutijela na leptospire za kopitare 1:400 i više, osim za serovare Bratislava i Australis 1:200 i više (ANONYMUS, 2011). Ovdje je uzeta u obzir činjenica da su kopitari jedan od evolucijskih domaćina za serovar Bratislava i vjerojatno serovar Australis, te da su to visoko imunoreaktivne životinje stoga granica za druge serovare leptospira treba biti podignuta na 1:400. Pri izradi pravilnika osim znanstveno dokazanih treba razmatrati i stručne i ekonomske čimbenike i vrlo je teško odrediti granični titar protutijela za pojedini serovar leptospira, odnosno životinjsku vrstu. Tome u prilog govori podatak da je dokazano da titar protutijela od 1:25 za serovar Hardjobovis u goveda podrazumijeva kliconoštvo (FAINE, 1999).

U svrhu dijagnosticiranja rane faze bolesti i pravovremenog početka terapije, razvijaju se brze i jednostavne metode s ciljem utvrđivanja IgM protutijela u prvom tjednu bolesti, ali ti brzi testovi ne

mogu zamijeniti MAT zbog njegove visoke specifičnosti i preciznosti (MOJČEC PERKO, 2014). Kako bi se poboljšala kvaliteta vrlo složene dijagnostike leptospiroze, referentni laboratoriji u Europi (KIT, Royal Tropical Institute, Nizozemska) i SAD-u (CDC, Atlanta) organiziraju tečajeve za zaposlenike dijagnostičkih laboratorija te ih se potiče na sudjelovanje u međunarodnom ispitivanju osposobljenosti koje jednom godišnje organizira Svjetsko udruženje za leptospirozu (*International leptospirosis society, ILS*) (MILAS i sur., 2013).

Dijagnostika leptospiroze kod pobačaja, mrtvorodene ždrebadi i neonatalne smrti ždrebadi:

do danas je mnogo serovara leptospira povezano s pobačajima u kobilama. U istraživanjima provedenim u SAD-u, najčešće izolirani serovari bili su serovar Pomona i Grippothyposa (Kentucky) (HINES, 2007), Hardjo i Pomona (California) (HINES, 2007) u Irskoj, Australis, Pomona, Hebdomadis i Hardy (HINES, 2007), a u Hrvatskoj serovari Australis, Pomona i Ichterohaemorrhagiae (TURK i sur., 2013). Kobile koje su pobacile obično su serološki pozitivne na nekoliko serovara leptospira, a ti nalazi ne moraju nužno odgovarati uzroku pobačaja (HINES, 2007). Nekoliko je dijagnostičkih metoda kojima se može dokazati leptospiroza kao specifičan uzročnik pobačaja u kobilama (izdvajanje leptospira, izravno dokazivanje, FAT), ali je vrlo važno pretražiti uzorke tkiva pobačenog fetusa i placente. Samo pozitivni nalaz titra protutijela fetusa i visok titar na leptospire kobile koja je pobacila upućuju na dijagnozu pobačaja uzrokovanog leptospirama. Dokazano je izlučivanje leptospira mokraćom kod kobilama koje su pobacile u oko 20 % životinja (BERNARD i sur. 1993; DONAHUE i sur. 2000; HINES, 2007) i to unutar deset dana od pobačaja, ali nije dokazano dugotrajno izlučivanje leptospira mokraćom kod konja sa visokim titrom protutijela na farmama konja sa poviješću pobačaja uzrokovanih leptospirama (HINES, 2007).

Dijagnostika rekurentnog uveitisa (equine recurrent uveitis ERU, periodična oftalmija, mjesečna sljepoća):

dijagnozu leptospiroze kao izravnog uzročnika uveitisa kod konja je poprilično teško dokazati, prvenstveno zbog visoke seroprevalencije u populaciji konja ali i pomalo konfliktnih rezultata istraživanja ERU uzrokovanih leptospirama. Neka istraživanja govore o pozitivnoj korelaciji ERU i seroreaktivnosti leptospira (HINES, 2007). Kao primjer Dwyer i sur., govore o 13,2 puta većoj šansi razvoja uveitisa kod seropozitivnih konja nego kod seronegativnih. Druga istraživanja nisu uspjela dokazati značajnu povezanost ERU sa visokom koncentracijom protutijela u serumu (HINES, 2007). Uočeno je da nema povezanosti seroloških rezultata i prisutnosti leptospira ili njihovog DNK u očnoj vodici (HINES, 2007), a u drugim istraživanjima 10 % konja sa uveitisom i izdvojenim leptospirama iz staklastog tijela bili su seronegativni (HINES, 2007). Takva

su istraživanja dovela do zaključka da su serološki testovi za dijagnozu uveitisa uzrokovanih leptospirama niske osjetljivosti i niske specifičnosti (HINES, 2007). Pretpostavlja se da je prisustvo protutijela u staklastom tijelu i očnoj vodici značajniji nalaz u dijagnozi leptospiralnog uveitisa od seroloških dokaza, a posebice kada se usporede ukupne koncentracije IgG protutijela ili albumina, te kada je intraokularni titar protutijela viši od titra protutijela u krvi, što nam govori o lokalnoj tvorbi protutijela (HINES, 2007). Prisustvo leptospira u očima konja sa ERU dokazana je više puta, a pošto je većina konja imala kronični uveitis, pretpostavlja se da je infekcija trajna (HINES, 2007). Istraživanja Fabera i sur. (HINES, 2007), u SAD-u dovela su do zaključka da su molekularne metode, tj. PCR, puno pouzdanije od metoda izdvajanja leptospira iz očne vodice za detekciju leptospira kod ERU. Kod izdvajanja uzročnika iz staklastog tijela oka sa uveitisom, leptospire su izolirane u 9% do 50% slučajeva, a najčešće izolirani serovar bila je *Grippytyphosa* (HINES, 2007). Prevalencija serovara *Grippytyphosa* dovela je do zaključka da, iako mnogi patogeni serovari mogu penetrirati u oko, samo neki su u stanju tamo trajno i ostati (HINES, 2007).

2.9. DIFERENCIJALNA DIJAGNOSTIKA

Leptospirozu bi trebalo uzeti u obzir za diferencijalnu dijagnostiku kod pacijenata sa kompatibilnim kliničkim znakovima sa leptospirozom kao što su pobačaj, uveitis, ali i kod bubrežnih bolesti i bolesti jetre, posebice kada znamo da pacijenti dolaze sa epizootiološkog područja i mogli su biti u kontaktu sa inficiranim urinom. Zbog teškoća u identificiranju uzročnika i visoke seroprevalencije u kopitara, teško je sa sigurnošću postaviti dijagnozu leptospiroze. Kod konja, diferencijalnu dijagnostiku trebalo bi napraviti i kod sumnji na infekcioznu anemiju kopitara, piroplazmozu, listeriozu, Borna bolesti i rinopneumonitisa kobilica (HINES, 2007).

2.10. LIJEČENJE

Adekvatno liječenje leptospiroze ovisi o težini i trajanju kliničkih znakova, kao i o području infekcije. Neke infekcije prolaze same od sebe, dok je kod nekih potrebna samo potporna terapija. Međutim, ponekad je potrebna i posebna antimikrobna terapija. Leptospire su osjetljive na veliki broj kemoterapeutika uključujući penicilin, aminoglikozide, tetracikline, fluorokinolone i makrolide (LEVETT, 2007). Uočena je otpornost na sulfonamide, kloramfenikol i cefalotin kod nekih izolata leptospira. Kod liječenja ljudi sa leptospirozom najčešće se preporuča upotreba penicilina i doksiciklina. Nema specifičnih istraživanja o učinkovitosti antibiotika kod liječenja leptospiroze u kopitara, ali najčešće se koriste penicilin, oksitetraciklin, streptomycin, dihidrostreptomycin i

eritromicin (HINES, 2007). U laboratorijskih životinja je dokazano da dihidrostreptomycin, tetraciklin i eritomicin sprečavaju izlučivanje leptospira urinom (HINES, 2007). U konja sa akutnim bubrežnim zatajenjem upotrebom penicilina i tikarcilin-klavulanskom kiselinom može se očekivati pozitivan ishod (HINES, 2007), a prerano oždrebljena ždrebac sa hematurijom i leptospirurijom uspješno je liječena sa penicilinom i amakacin sulfatom (HINES, 2007).

Većina je antibiotika učinkovita u uklanjanju leptospira iz cirkulacije, ali samo streptomycin i doksiciklin uklanjaju leptospire iz bubrega i sprečavaju kliconoštvo (TRUCCOLO i sur., 2002; FAINE, 1999). Budući da konji sa kliničkom leptospirozom mogu biti azotemični (prisustvo mokraćevine i drugih dušikovih spojeva u krvi), bitno je obratiti pažnju na nefrotoksičnost prilikom odabira antibiotika. Ako se primjeni u početnom stadiju bolesti, liječenje antibioticima je učinkovito, a treba se provoditi uz simptomatsko i potporno liječenje.

Liječenje rekurentnog uveitisa:

tipična terapija ERU sastoji se od kombinacije protuupalnih lijekova i midriatika. Djelomična poboljšanja su postignuta implantacijom sporo oslobađajućih imunosupresivnih lijekova poput ciklosporina (HINES, 2007). Preporučeno liječenje ERU sastoji se od vitrektomije i zamjene staklovine sa fiziološkom tekućinom sa gentamicinom. Takvo liječenje se pokazalo poprilično uspješnim. U istraživanju provedenom na 38 konja u trajanju od šest mjeseci vlasnici su prijavili, da se u 43 liječena oka uveitis ponovno pojavio u samo jednom slučaju (HINES, 2007). Vid je bio očuvan u 72% slučajeva, dok se sljepoća javila u 28% slučajeva. Smatra se da je poboljšanje postignuto uklanjanjem bakterija, kao i upalnih medijatora i stanica koje doprinose napretku intraokularne upale. Cijepljenje konja sa cjepivom protiv leptospira može posljedično smanjiti pojavnost uveitisa, ali i potencijalno pogoršati bolest stimulirajući autoimuni odgovor. Iako se čini da je cjepivo smanjilo vrijeme ponovne pojave uveitisa, nije uspjelo usporiti napredak bolesti. Takva istraživanja ne govore u prilog upotrebi cjepiva kao dodatne terapije u liječenju konja sa ERU. Kao što je i prije napisano, liječenje ERU uključuje antibiotsku terapiju, te vitrektomiju sa zamjenom staklovine fiziološkom otopinom sa gentamicinom (HINES, 2007).

2.11. PROFILAKSA

Kontrola proširenosti leptospira i njihovo suzbijanje u domaćih životinja zakonski se provodi u Hrvatskoj dugi niz godina, a važeći Pravilnik o mjerama za suzbijanje i iskorjenjivanje leptospiroze životinja stupio je na snagu 2011. godine (ANONYMUS, 2011).

Ograničeno izlaganje stajacim vodama i potencijalnim nositeljima leptospira mogu pomoći u kontroli leptospiroze (HINES, 2007), tj. opća profilaksa provodi se sprečavanjem kontakta životinja i ljudi s izvorima infekcije, a to uključuje izdvajanje životinja kliconoša i suzbijanje kliconoštva liječenjem inficiranih životinja prikladnim antibioticima. Praktički je nemoguće uspostaviti potpuni nadzor glavnih izvora rezervoara bolesti (glodavaca), posebice u prirodi, niti subklinički inficiranih domaćih i divljih životinja koje također izlučuju leptospire mokraćom, stoga je provođenje mjera opće profilakse vrlo složeno. Isušivanjem tla skraćuje se vrijeme preživljavanja leptospira u okolišu, a kontrolom populacije glodavaca smanjuje se rizik od infekcije drugih životinja i ljudi.

Kod ljudi koji su izloženi visokom riziku infekcije leptospirama, preporuča se davanje doksiciklina jednom tjedno kao kratkotrajna profilaksa (HINES, 2007), makar postoji zabrinutost oko stvaranja rezistencije na antibiotike, te se takva praksa ne preporuča kao preventivna metoda kod konja. Za stanovnike endemskih područja, kemoprofilaksa nije preporučena preventivna mjera, ali bi mogla biti učinkovita kod posjetitelja visokorizičnih područja, sudionika u sportskim natjecanjima kao što je triatlon, vojnog osoblja u misijama, pa i kod lokalnog stanovništva nakon velikih nevremena i poplava (SANDERS i sur., 1996; BHARADWAY i sur., 2002; DECHET i sur., 2012). Cjepiva protiv leptospiroze ne primjenjuju se u humanoj medicini, a za zaštitu životinja, pasa, goveda i svinja rabe se cjepiva proizvedena inaktivacijom cijele bakterijske stanice (MILAS i sur., 2013). Trenutno ne postoji cjepivo koje je odobreno za upotrebu na konjima. Kopitari su potencijalno opasni kao izvor i prenosioci leptospiroze jer je konj kao vrsta održavajući domaćin za serovar Bratislava i slučajni domaćin za druge serovare. Stoga oni značajno sudjeluju u održavanju i širenju leptospiroze u nekom području tako da svojim urinom neposredno i posredno mogu zaraziti druge životinje i ljude, tj. zdravi konji se mogu zaraziti od ostalih leptospirama zaraženih životinja na gospodarstvu. U kontroli i suzbijanju leptospiroze važno je provoditi sveobuhvatne mjere koje se moraju odnositi na što veći spektar primarnih i sekundarnih izvora infekcije, a mjerama bi trebalo obuhvatiti i što veći broj kopitara. Mjere koje se navode u zakonskim aktima znanstveno su i stručno utemeljene i neupitne, a koje će kategorije konja biti obuhvaćene naređenim mjerama više su odraz ekonomskih mogućnosti države nego stvarnih, objektivno dokazanih potreba (MILAS i sur., 2013).

2.12. JAVNO ZDRAVSTVO

Leptospiroza je vjerojatno najraširenija zoonoza na svijetu, a zbog njenog prirodno žarišnog karaktera gotovo ju je nemoguće iskorijeniti na globalnoj ali i lokalnoj razini (MILAS i sur., 2013). Smatra se i profesionalnom bolešću veterinaru, stočaru, lovaca, ribolovaca zbog veće mogućnosti kontakta sa inficiranim urinom tj. kontaminiranim područjem, ali javlja se i u urbanoj populaciji sportaša rekreativaca, vojnika i putnika na međunarodnim destinacijama. Ljudi se mogu zaraziti putem izravnog kontakta s inficiranim urinom ili tkivom ili neizravno, kontaktom s inficiranom vodom, tlom, hranom i predmetima, ili kupanjem u stajaćim vodama. Klinička slika je nespecifična i dosta slučajeva prolazi nedijagnosticirano. Prvo slijedi septikemična faza koja traje od četiri do devet dana, slijedi ju druga ili imuna faza koja se javlja između 6. i 12. dana praćena različitim simptomima ovisno o zahvaćenom tkivu. Težak oblik bolesti koji se očituje žuticom, krvarenjima, anemijom, poremećajem svijesti, oštećenjem jetre i bubrega, trombocitopenijom, a moguć je i serozni meningitis, naziva se Weilov sindrom. Letalitet se kreće oko 1%, a kod Weilove bolesti i više od 20%. Bolest se ne prenosi s čovjeka na čovjeka jer kiselost ljudskog urina uništava bakterije, ali je ipak potreban oprez u rukovanju urinom bolesnika. U novije vrijeme porastao je broj slučajeva leptospiroze s teškim plućnim hemoragijskim sindromom. U više od 50% pacijenata s tim oblikom leptospiroze, zabilježen je smrtni ishod bolesti (AHMAD i SARWARI, 2010; HELMERHORST i sur., 2012).

3. ZAKLJUČCI

Povećan interes za istraživanjem leptospiroze u kopitara, bazira se na činjenici da se, kao najraširenija zoonoza na svijetu, pojavljuje u tropskim i umjerenim klimama, kako u razvijenim, tako i u zemljama u razvoju. Drugi čimbenici koji se mogu pripisati povećanju pojavnosti infekcije leptospirama u svijetu su poremećaji ekoloških sistema, povećanje međunarodne industrije konja i prijevoza životinja, posebice sportskih konja, ali i poboljšanjima u dijagnostičkim metodama koje daju bolje rezultate u pronalasku infekcija.

S obzirom na povećanje interesa za sportskim jahanjem, povećanjem broja sportskih konja ali i većem broju ljudi koji su u doticaju sa sportskim konjima, treba istaknuti da su kopitari potencijalno opasni kao izvori i prenosioci leptospiroze. Različita istraživanja ukazuju na to da su konji u Republici Hrvatskoj vrlo izloženi leptospirama i da prevalencija, etiologija i epizootiologija leptospiroze u magaraca u velikoj mjeri odgovara spoznajama i leptospirozi konja u Republici Hrvatskoj.

Gledajući kliničku pojavnost može se zaključiti da u Hrvatskoj većina infekcija leptospirozama u konja prolazi subklinički, uz manji broj pobačaja gravidnih kobila. Nedovoljno su istraženi drugi klinički mogući oblici leptospiroze, prvenstveno rekurentni uveitis, koji nisu prijavljeni ili nisu prepoznati, što predstavlja problem u dijagnostici zbog različite kliničke manifestacije.

Važnost kopitara u održavanju i širenju leptospiroze mora se promatrati u ukupnom kontekstu epizootiologije i epidemiologije te bolesti. Rezultati istraživanja imaju praktičnu vrijednost u primjeni mjera za suzbijanje i kontrolu ove bolesti, jer upućuju na opravdanost primjene zakonski navedenih mjera koje bi se morale provoditi u većem kvalitativnom i kvantitativnom broju.

4. LITERATURA

1. ADLER, B., S. FAINE (1977): Host immunological mechanisms in the resistance of mice to leptospiral infections. *Infections and Immunity* 17,67-72.
2. ADLER, B., A. DE LA PENA MOCTEZUMA (2010): *Leptospira* i leptospirosis. *Veterinary Microbiology* 140, 287-296.
3. AHMAD, S., A.R. SARWARI (2010): Leptospirosis induced pulmonary alveolar hemorrhage. *West Virginia Medical Journal* 106 (7), 20-22.
4. AMERICAN PAINT HORSE ASSOCIATION (2020): APHA Rule Book, Fort Worth Texas, 76161
5. ANONYMUS (2011): Pravilnik o mjerama za suzbijanje i iskorjenjivanje leptospiroze životinja. Narodne novine, br.89/2011.
6. APPALOOSA HORSE CLUB, (2008): Official Handbook Appalossa Horse Club, 2720W. Pullman Road, Moscow, ID 83843
7. BARROCCHI, M.A., A.I. KO, M.G. REIS, K.L. McDONALD, L.W. RILLEY (2002): Rapid translocation of polarized MDCK cell monolayers by *Leptospira interrogans*, and invasive but non intracellular pathogen. *Infection and Immunity* 70, 6926-6932.
8. BAVERUD, V., A. GUNNARSON, E. OLSSOM-ENGVALL, P. FRANZEN, A. EGENWALL (2009): *Leptospira* seroprevalence and associations between seropositivity, clinical disease and host factors in horses. *Acta Vet.Scand.* 51, 15-25.
9. BERNARD, W.V. (1993): Leptospirosis. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* 9, 435-444.
10. BERNARD, W.V., C. BOLIN, T. RIDDLE, M. DURANDO, B.J. SMITH, R.R. TRAMONTIN (1993): Leptospiral abortion and leptospiruria in horses from the same farm. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 202, 1285-1286.
11. BHARADWAJ, R.,A.M. BAL, A.S. JOSHI, A. KAGAL, S.S. POL, G. GARAD, R. ARJUNWADKAR, R. KATTI (2002): An urban outbreak of leptospirosis in Mumbai, India. *Jpn.J.Infect.Dis.* 55, 194-196.

12. BHARTI, A.R., J.E. NALLY, J.N. RICALDI, M.A. MATTHIAS, M.M. DIAZ, M.A. LOVETT, P.N. LEVETT, R.H. GILMAN, M.R. WILLIG, E. GOTUZZO, J.M. VINETZ (2003): Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *The Lancet Infectious Diseases* 3, 757-771.
13. BORČIĆ, B., H. KOVAČIĆ, N. TVRTKOVIĆ, Z. ŠEBEK, B. ALERAJ (1978): Mišoliki sisavci kao rezervoari leptospira u nizinskim područjima SR Hrvatske. *Lij.vjes.* 100, 465-469.
14. BORČIĆ, B., H. KOVAČIĆ, N. TVRTKOVIĆ, Z. ŠEBEK, B. ALERAJ (1982): Small terrestrial mammals as reservoir of leptospire in the Sava valley (Croatia). *Folia Parasitology* 29, 177-182.
15. BORČIĆ, B., H. KOVAČIĆ, N. TVRTKOVIĆ, Z. ŠEBEK, B. ALERAJ (1982): Small terrestrial mammals as reservoir of leptospire in the Drava valley (Croatia). *Veterinarski arhiv* 53, 41-49.
16. BRENNER, D.J., A.F. KAUFMANN, K.R. SULZER, A.G. STEIGERWALT, F.C. ROGERS, R.S. WEYANT (1999): Further determination of DNA relatedness between serogroups and serovars in the family *Leptospiraceae* with a proposal for *Leptospira alexanderi* sp. Nov. And for new *Leptospira* genomospecies. *International journal of systematic bacteriology* 49, 839-858.
17. BRUDNJAK, Z., P. ZELENKA, M. ŠIBALIN (1956): Prilog poznavanju leptospiroze u konja. *Vet.arhiv* 26, 165.
18. CERQUEIRA, G.M., A.J.A. McBRIDE, M. PICARDEAU, S.G. RIBEIRO, V. MOREL, M.G. REIS, A.I. KO, O.A. DELLAGOSTIN (2009): Distribution of the Leptospiral immunoglobulin-like (Lig) genes in pathogenic *Leptospira spp.* And application of *ligB* to typing leptospiral isolates. *Journal of Medical Microbiology* 9, 1173-1181.
19. CVETNIĆ, Ž., B. JUKIĆ, S. ŠPIČIĆ (2004): Rasprostanjenost leptospiroze konja u Republici Hrvatskoj od 1994. do 2003. godine. (Distribution of equine leptospirosis in the Republic of Croatia from 1994 to 2003). *Vet. stn.* 35, 67-75.
20. DECHET, A.M., M. PARSONS, M. RAMBARAN, P. MOHAMED-RAMBARAN, A. FLORENDO-CUMBERMACK, S. PERSAUD, S. BABOOLAL, M.D. ARI, S.V. SHADOMY, S.R. ZAKI, C.D. PADDOCK, T.A. CLARK, L. HARRIS, D. LYION, E.D. MINTZ (2012): Leptospirosis Outbreak following Severe Flooding: A Rapid Assessment and Mass Prophylaxis Campaign; Guyana, January-February 2005. *PLoS ONE* 7, e3672.

21. DIAMENT, D., M.K.C. BRUNIALTI, E.C. ROMERO, E.G. KALLAS, R. SALOMAO (2002): Peripheral blood mononuclear cell activation induced by *Leptospira interrogans* glycolipoprotein. *Infection and Immunity* 70, 1677-1683.
22. DIKKEN, H., E. KMETY (1978): Serological typing methods of leptospire. In: *Methods in Microbiology* (Bergan T. and Norris J.R eds. Vol. 11.), New York: Academic Press, 259-307.
23. DIVERS, T.J., T.D. BYARS, S.J. SHIN (1992): Renal dysfunction associated with infection of *Leptospira interrogans* in a horse. *J. Am. Vet.Med. Assoc.* 201, 1391-1392.
24. DONAHUE, J.M., J.B. SMITH, K.J. REDMON, J.K. DONAHUE (1991): Diagnosis and prevalence of leptospira infection in aborted and stillborn horses. *J.Vet.Diagn.Invest.* 3, 148-151.
25. DONAHUE, J.M., N.M. WILLIAMS (2000): Emergent causes of placentitis and abortions. *Vet Clin North Am Equine Practice* 2000 Dec, 16 (3), 443-456.
26. ELLIS, W.A., J.J. O'BRIEN, J.A. CASSELLS, J. MONTGOMERY (1983): Leptospiral infection in horses in Northern Ireland: serological and microbiological findings. *Equine Vet.J.* 15, 317-320.
27. ELLIS, W.A., J.J. O'BRIEN (1988): Leptospirosis in horses. U: Powell D.G. (ed.) *Equine infectious diseases V: Proceedings of the fifth International Conference*. Lexington, USA. Published by The University Press of Kentucky, 168-171.
28. ELLIS, W.A. (1999): Equine leptospiroses. *Equine infectious diseases VIII: Proceedings of the Eight International Conference*, Dubai, 23rd-26th March 1998., R&W Publications (Newmarket) Ltd, Newmarket, UK, 155-158.
29. FABER, N.A., M. CRAWORD, R.B. LEFEBVRE, N.C. BUYUKMIHCI, J.E. MADIGAN, N.H. WILLITS (2000): Detection of *Leptospira* spp. In the aqueous humor of horses with naturally acquired uveitis. *J. Clin. Microbiol.* 38, 2731-2733.
30. FAINE, S., B. ADLER, C. BOLIN, P. PEROLAT (1999): *Leptospira* and Leptospirosis, Second Edition, MediSci, Melbourne, Australia.
31. FEARNLEY, C., P. WAKELEY, J. GALLEGO-BELTRAN, C. DALLEY, S. WILLIAMSON, C. GAUDIE, M. WOODWARD (2007): The development of a real-time PCR to detect pathogenic *Leptospira* species in kidney tissue. *Research in Veterinary Science* 85, 8-16.

32. FERESU, S.B., A.C. BOLIN, H. KORVER (1993): A new leptospiral serovar in the Icterohaemorrhagiae serogroup isolated from an ox in Zimbabwe. *International journal of systematic bacteriology* 43, 179-182.
33. GRAVEKAMP, C., H. VAN DE KEMP, M. FRANZEN, D. CARRINGTON, G.J. SCHOONE, G.J.M.M. VAN EYS, C.O.R. EVERARD, R.A. HARTSKEERL, W.J. TERPSTRA (1993): Detection of seven species of pathogenic leptospires by PCR using two sets of primers. *Journal of general microbiology* 139, 1691-1700.
34. GRUBIŠIĆ, M., Z. MILAS, Ž. CVETNIĆ, J. HABUŠ, V. MOJČEC-PERKO, Z. ŠTRITOF MAJETIĆ, N. TURK (2011): Serološko istraživanje leptospiroze u magaraca u Republici Hrvatskoj. *Vet. stn.* 42, 307-315.
35. HAAPALA, D.K., M. ROGUL, L.B. EVANS, A.D. ALEXANDER (1969): Deoxyribonucleic acid base composition and homology studies of *Leptospira*. *Journal of Bacteriology* 98, 421-428.
36. HABUŠ, J., Ž. CVETNIĆ, Z. MILAS, Z. ŠTRITOF, M. BALEN-TOPIĆ, J. MARGALETIĆ, N. TURK (2008): Seroepidemiološko i seroepizootiološko istraživanje leptospiroze u Hrvatskoj tijekom 2007. *Infektiološki glasnik* 28, 183-188.
37. HAMOND, C., M. GABRIEL, J. REIS, E. KRAUS, A. PINNA, W. LILENBAUM (2011): Pulmonary hemorrhage in horses seropositive to leptospires. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 31, 413-415.
38. HAMOND, C., G. MARTINS, W. LILENBAUM (2012): Subclinical leptospirosis may impair athletic performance in racing horses. *Trop. Anim. Health Prod.* 44, 1927-1930.
39. HATHAWAY, S.C., T.W. LITTLE, S.M. FINCH, A.E. STEVENS (1981): Leptospiral infection in horses in England: a serologic study. *Vet. Rec.* 108, 396-398.
40. HELMERHORST, H.J.F., E.N. VAN TOL, P.R. TUINMAN, P.J. DE VRIES, R.A. HARTSKEERL, M.P. GROBUSCH, J.W. HOVIUS (2012): Severe pulmonary manifestation of leptospirosis. *The Netherlands Journal of Medicine* 5, 215-221.
41. HINES, M.T. (2007): Leptospirosis. U: *Equine infectious diseases* (SELLON, D.C. i LONG, M.T.). Saunders Elsevier, St.Louis, Missouri. str. 301-309.
42. HOOKEY, J.V. (1993): Characterization of Leptospiraceae by 16S restriction fragment length polymorphisms. *Journal of general microbiology* 139, 1681-1689.

43. INGH, V.D.T.S., E.G. HARTMAN, Z. BERCOVICH (1989): Clinical *Leptospira interrogans* serogroup Australis serovar Lora infection in a studfarm in the Netherlands. *Vet. Q.* 11, 175-182.
44. KENT, G.C., R.K. CARR (2000): *Comparative Anatomy of the Vertebrates*. 9th ed. McGraw-Hill Companies.
45. KINDE, H., S.K. HIETALA, C.A. BOLIN, J.T. DOWE (1996): Leptospiral abortion in horses following a flooding incident. *Equine Veterinary Journal* 28, 327-330.
46. KITSON-PIGGOT, A.W., J.F. PRESCOTT (1987): Leptospirosis in horses in Ontario. *Can. J. Vet. Res.* 51, 448-451.
47. KO, A.I., C. GOARANT, M. PICARDEAU (2009): Leptospira: the dawn of the molecular genetics era for an emerging zoonotic pathogen. *Nature Reviews Microbiology* 7, 736-747.
48. LEONARD, F.C., P.J. QUINN, W.A. ELLIS, K. O'FARREL (1992): Duration of urinary excretion of leptospire by cattle naturally or experimentally infected with *Leptospira interrogans* serovar Hardjo. *Vet. Rec.* 7, 435-439.
49. LEVETT, P.N. (2001): Leptospirosis. *Clinical Microbiology Reviews* 14, 296-326.
50. LEVETT, P.N., R.E. MOREY, R.L. GALLOWAY, A.G. STEIGERWALT (2006): *Leptospira broomii* sp. nov., isolated from humans with leptospirosis. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 56, 671-673.
51. LEVETT, P.N. (2007): Sequence Based Typing of Leptospira: Epidemiology in the Genomic Era. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 1 (2).
52. LJUBAŠENKO, S.J., L.S. NOVIKOVA (1947): Leptospiroz lošadjei. *Sovjet. Veter.* 24, 11-15.
53. MATTHIAS, M.A., J.M. RICALDI, M. CESPEDES, M.M. DIAZ, R.L. GALLOWAY, M. SAITO, A.G. STEIGERWALT, K.P. PATRA, C.V. ORE, E. GOTUZZO, R.H. GILMAN, P.N. LEVETT, J.M. VINETZ (2008): Human Leptospirosis Caused by a New, Antigenically Unique Leptospira Associated with a Rattus Species Reservoir in the Peruvian Amazon. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 2 (4), 213-213.
54. MERIEN, F., J. TRUCCOLO, Y. ROUGIER, G. BARANTON, P. PEROLAT (2000): Identification of a 36-k Da fibronectin-binding protein expressed by a virulent variant of

- Leptospira interrogans* serovar icterohaemorrhagiae. FEMS Microbiology Letters 185, 17-22.
55. MERIEN, F., D. PORTNOI, P. BOURHY, F. CHARAVAY, A. BERLIOZ-ARTHAUD, G. BARANTON (2005): A rapid and quantitative method for the detection of *Leptospira* species in human leptospirosis. FEMS Microbiology Letters 249, 139-147.
56. MGODE, G.F., R.S. MACHANG'U, M.G. GORIS, M. ENGELBERT, S. SONDIJ, R.A. HARTSKEERL (2006): New *Leptospira* serovar Sokoine of serogroups Icterhaemorrhagiae from cattle in Tanzania. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 56, 593-597.
57. 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. Veterinarski arhiv 72, 119-129.
58. MILAS, Z., V. MOJČEC, V. STAREŠINA, Z. ŠTRITOF, J. HABUŠ, LJ. BARBIĆ, V. STEVANOVIĆ, N. TURK (2009): Occurrence of antibodies against *Leptospira* spp. in sport and leisure horses in Croatia. 6th Annual Scientific Meeting of International Leptospirosis Society (ILS), Leptocon 2009.
59. MILAS, Z., N. TURK, Z. ŠTRITOF MAJETIĆ, J. HABUŠ, V. MOJČEC PERKO, LJ. BARBIĆ, V. STEVANOVIĆ, M. PERHARIĆ, V. STAREŠINA (2013): Dijagnostika i suzbijanje leptospiroze konja u Hrvatskoj. Hrvatski Veterinarski Vjesnik 21/2013., 5-6, str. 31-37.
60. MODRIĆ, Z., D. ADORIĆ, D. ROPAC, N. BRKIĆ (2004): Protutijela za leptospire u serumima konja u Sinju i okolici. (Antibodies of leptospire in horse sera in Sinj and surroundings). Vet. stanica 35, 145-150.
61. NAIMAN, B.M., S. BLUMERMAN, D. ALT., C.A. BOLIN, R. BROWN, R. ZUERNER, C.L. BALDWIN (2002): Evaluation of type 1 immune response in naive and vaccinated animals following challenge with *Leptospira borgpetersenii* serovar Hardjo: involvement of WC1 (+) gammadelta and CD4 T cells. Infection and Immunity 70, 6417-6157.
62. NALLY, J.E., J.P. WHITELEGGE, R. AGUILERA, M.M. PEREIRA, D.R. BLANCO, M.A. LOVETT (2005): Purification and proteomic analysis of outer membrane vesicles from a clinical isolate of *Leptospira interrogans* serovar Copenhageni. Proteomics 5, 144-152.

63. NIELSEN, J.N., C.H. ARMSTRONG, N.C. NIELSEN (1989): Relationships among selected *Leptospira interrogans* serogroups as determined by nucleic acid hybridisation. *Journal of Clinical Microbiology* 27, 2724-2729.
64. OZIMEC, R., D. MARKOVIĆ, J. JEREMIĆ (2011): Zelena knjiga izvornih pasmina Hrvatske. Kerschoffset d.o.o., Zagreb.
65. PASTER, B.J., F.E. DEWHIRST, W.G. WEISBURG, L.A. TORDOFF, G.J. FRASER, R.B. HESPELL, T.B. STANTON, L. ZABLEN, L. MANDELCO, C.R. WOESE (1991): Phylogenetic analysis of the spirochetes. *Journal of Bacteriology* 173, 6101-6109.
66. PEROLAT, P., F. GRIMONT, B. REGNAULT, P.A.D. GRIMONT, E. FOURNIE, H. THAVENET, G. BARANTON (1990): rRNA gene restriction patterns of *Leptospira*: a molecular typing system. *Research in Microbiology* 141, 159-171.
67. PEROLAT, P., R.J. CHAPPEL, B. ADLER, G. BARANTON, D.M. BULACH, M.L. BILLINGHURST, M. LETOCART, F. MERIEN, M.S. SERRANO (1998): *Leptospira fainei* sp.nov., isolated from pigs in Australia. *International journal of systematic bacteriology* 48, 851-858.
68. POONACHA, K.B., J.M. DONAHUE, R.C. GILES, C.B. HONG, M.B. PETRITES-MURPHY, B.J. SMITH, T.W. SWERCZEK, R.R. TRAMONTIN, P.A. TUTTLE (1993): Leptospirosis in equine fetuses, stillborn foals, and placentas. *Veterinary Pathology* 30, 362-369.
69. SANDERS, E.J., J.G. RIGAU-PEREZ, H.L. SMITS, C.C. DESEDA, V.A. VORNDAM, T. AYE, R.A. SPIEGEL, R.S. WEYANT, S.L. BRAGG (1996): Increase of leptospirosis in dengue-negative patients after a hurricane in Puerto Rico in 1996. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 61, 399-404.
70. SLACK, A., M.L. SYMONDS, M.F. DOHNT, L.D. SMYTHE (2006): Identification of pathogenic *Leptospira* species by conventional or real-time PCR and sequencing of the DNA gyrase subunit B encoding gene. *BMC Microbiology* 6, 9595.
71. SLACK, A., R.L. GALLOWAY, M.L. SYMONDS, M.F. DOHNT, L.D. SMYTHE (2009): Reclassification of *Leptospira meyeri* serovar Perameles to *Leptospira interrogans* serovar Perameles through serological and molecular analysis: evidence of a need for changes to

- current procedures in *Leptospira* taxonomy. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 59, 1199-1203.
72. SZEREDI, L., D.A. HAAKE (2006): Immunohistochemical Identification and Pathologic Findings in Natural Cases of Equine Abortion Caused by Leptospiral Infection. *Vet. Pathol.* 43(5), 766-761.
73. ŠTRITOF MAJETIĆ, Z. (2010): Molekularna epizootiologija leptospiroze u mišolikih glodavaca. Disertacija. Veterinarski Fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska.
74. THOMAS, D.D., L.M. HIGBIE (1990): In vitro association of leptospire with host cells. *Infection and Immunity* 58, 581-585.
75. TRUCCOLO, J., F. CHARAVAY, F. MERIEN, P. PEROLAT (2002): Quantitative PCR assay to evaluate ampicilin, ofloxacin and doxycycline for treatment of experimental leptospirosis. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46, 848-853.
76. TURK, N., Z. MILAS, J. MARGALETIĆ, V. STAREŠINA, A. SLAVICA, N. RIQUELME-SERTOUR, E. BELLENGER, G. BARANTON, D. POSTIC (2003): Molecular characterisation of *Leptospira* spp. strains isolated from small rodents in Croatia. *Epidemiol. Infect.* 130, 159-166.
77. TURK, N., Z. MILAS, J. HABUŠ, Z. ŠTRITOF MAJETIĆ, V. MOJČEC PERKO, LJ. BARBIĆ, V. STEVANOVIĆ, M. PERHARIĆ, V. STAREŠINA (2013): Equine leptospirosis in Croatia-occurrence of subclinical infections and abortions. *Vet.arhiv.* 83, 253-262.
78. VERMA, B.B., E.L. BIBERSTEIN, M.E.E. MEYER (1997): Serologic survey of leptospiral antibodies in horses in California. *Am. J. Vet. Res.* 38, 1443-1444.
79. VERMA, A., J. MATSUNAGA, S. ARTIUSHIN, M. PINNE, D.J. HOUWERS, D.A. HAAKE, B. STEVENSON, J.F. TIMONEY (2012): Antibodies to a novel leptospiral protein, LruC, in the eye fluids and sera of horses with *Leptospira*-associated uveitis. *Clinical and Vaccine Immunology* 19, 452-456.
80. WILLIAMS, D.M., B.J. SMITH, K. DONAHUE, B. POONACHA (1994): Serological and microbiological findings on 3 farms with equine leptospiral abortions. *Equine vet. J.* 26, 105-108.

81. WOLANKE, B., H. GERHARDS, S. BREM, H. KOPP, P. MEYER (1998): Intraokulare und Serumantikorpertiter gegen Leptospiren bei 150 wegen equiner rezidivierender Uveitis (EUR) vitrektomierten Pferden. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 111, 134-139.
82. WOOD, J.L.N. (1994): How important are leptospiral infections as a cause of equine disease? *Equine Veterinary Journal* 26(2), 88-88.
83. YASUDA, P.H., A.G. STEIGERWALT, K.R. SULZER, A.F. KAUFMANN, F. ROGERS, D.J. BRENNER (1987): Deoxyribonucleic acid relatedness between serogroups and serovars in the family Leptospiraceae with proposals for seven new *Leptospira* species. *International journal of systematic bacteriology* 37, 407-415.
84. ZAHARIJA, I. (1953): *Leptospira pomona* u konja ustanovljena godine 1951. u Hrvatskoj. *Veterinarski Arhiv* 23, 297-297.
85. ZAHARIJA, I. (1968): Mikromamalija Hrvatske-rezervoari leptospira. Zbornik radova III naučnog sastanka infektologa Jugoslavije, Portorož, 1968, Partizanska knjiga, Ljubljana.
86. ZAHARIJA, I., Z. MODRIĆ (1971): Istraživanje leptospiroze životinja u Hrvatskoj. XI Kliconoštvo leptospira u klinički zdravih goveda. *Veterinarski arhiv* 41, 305-311.
87. ZAHARIJA, I., J. FALIŠEVAC, B. BORČIĆ, Z. MODRIĆ (1982): Leptospiroze. 30-godišnje istraživanje i izučavanje u SR Hrvatskoj. JUMENA, JAZU, Zagreb.

5. SAŽETAK

Leptospiroza je akutna septikemijska zarazna bolest različitih domaćih i divljih životinja, te čovjeka. Pojavljuje se enzootski ili u obliku zatvorenih epizootija. U prirodi se održava u subklinički inficiranih životinja, tzv. evolucijskih domaćina i rezervoarima, koji služe kao izvor infekcije za slučajne domaćine uključujući i ljude. Najvažniji rezervoari leptospira su glodavci. Izvor zaraze su mokraća oboljelih životinja, kliconoša, kontaminirana voda, tlo i hrana. Kopitari su većinom slučajni domaćini ali smatra se da je u tijeku evolucijska prilagodba na serovar Bratislava. Pozitivan nalaz na leptospire vrlo je čest u konja, ali većina infekcija leptospirama u konja je subklinička. Subklinička leptospiroza ipak može utjecati na fizičku sposobnost i rezultate sportskih konja. U akutnim oblicima leptospiroze najčešća klinička slika obuhvaća žuticu, hematuriju, fotofobiju, iscjedak i suzenje oka, a rjeđe septikemiju sa oštećenjem jetre, bubrega i pluća. Vrlo česta posljedica akutne leptospiroze je pobačaj. Kronični oblik leptospiroze očituje se pojavom rekurentnog uveitisa tj. mjesečne sljepoće. Sistemska bolest pojavljuje se u konja svih dobnih skupina ali relativno rijetko. Pri dijagnosticiranju leptospiroze pozornost treba posvetiti anamnestičkim podacima, kliničkim očitovanjima koje upućuju na leptospirozu, ali prvenstveno izdvajanju ili dokazivanju uzročnika, tj. dokazivanju protutijela u serumu. U većini slučajeva za dokazivanje leptospiroze koriste se serološke metode zbog svoje cijene i pristupačnosti. Adekvatno liječenje leptospiroze ovisi o težini i trajanju kliničkih znakova. Neke infekcije prolaze same od sebe, kod nekih je potrebna samo potporna terapija, ali ponekad je potrebna i antimikobna terapija. Leptospire su osjetljive na veliki broj kemoterapeutika, ali samo streptomycin i doksiciklin uklanjaju leptospire iz bubrega i sprečavaju kliconoštvo. Ako se primjeni u početnom stadiju bolesti, liječenje antibioticima je učinkovito, a treba se provoditi uz simptomatsko i potporno liječenje. Leptospire i leptospiroza u Hrvatskoj sustavno se istražuje već više od šezdeset godina, a Laboratorij za leptospire Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu od 2007. godine ovlašten je za laboratorijsku dijagnostiku leptospiroze konja. Zbog svoje važnosti leptospiroza je uvrštena u skupinu zaraznih bolesti koje se suzbijaju po zakonu.

Ključne riječi: leptospiroza, konj, serovar Bratislava, subklinička leptospiroza, pobačaj, antimikobna terapija

6. SUMMARY

Equine leptospirosis

Leptospirosis is an acute, septicemic infectious disease of various domestic and wild animals and humans. It appears enzootic or in the form of closed enzootics. In nature, it is maintained in subclinically infected animals, also known as evolutionary hosts and reservoirs, who serve as source of infection for accidental hosts, including humans. Most important reservoirs of leptospirosis are rodents. Source of infection are urine from diseased animals, germ carrier, contaminated water, soil and food. Ungulates are mostly accidental hosts, but it is considered that evolutionary adjustment to Bratislava serovar is in process. Positive finding of leptospirosis is more common in horses, but most of infections by leptospirosis is subclinical. It can effect physical ability and results in sport horses. In acute forms of leptospirosis most common clinical picture includes jaundice, hematuria, photophobia, discharge and tearing of an eye, and rarely septicemia with liver, kidney and lung damage. Very common result of acute leptospirosis is an abortion. The chronic form of leptospirosis is manifested by recurrent uveitis, also known as moon blindness. Systemic disease is found in horses of all ages, but relatively rare. When diagnosing leptospirosis attention should be given to anamnestic data, clinical signs and most importantly to detecting leptospiral antigens, or detecting antibodies in serum. In most cases diagnosis of leptospirosis is based on serology because of the price of the tests and their availability. Appropriate treatment for leptospirosis depends on severity and duration of clinical signs. Some cases may resolve spontaneously or with only supportive therapy, but in some patients antimicrobial therapy may be indicated. Leptospiras are susceptible to a number of chemotherapeutics but only streptomycin and doxycycline remove the organism from the kidneys and prevent urinary shedding. If it is applied in early stages of the disease, antibiotic therapy is effective, but it should be done in conjunction with symptomatic and supportive therapy. Leptospirosis has been investigated for more than sixty years in Croatia, and since 2007. Laboratory for leptospirae, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb, is referent laboratory for diagnosis of leptospirosis in horses. Due to its importance, control of the disease is regulated by the law.

Keywords: leptospirosis, horse, serovar Bratislava, abortion, subclinical Leptospirosis, antimicrobial therapy

7. ŽIVOTOPIS

Rođen sam 06.12.1982. godine u Čakovcu. Nakon završetka osnovne škole, upisao sam Gimnaziju u Čakovcu, a 2001. godine završavam srednjoškolsko obrazovanje i upisujem se na Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Od 2012.godine aktivno sudjelujem u rastu i razvoju H'appy Western Ranch-a koji se bavi uzgojem američkih pasmina konja i western disciplinama sportskog jahanja. Ranč je u vlasništvu mog brata Branka Pavčeca. Cilj nam je popularizirati western jahanje u Republici Hrvatskoj. Moj interes za medicinom potječe od oba roditelja, liječnika, a veterinarski smjer odabrao sam zahvaljujući mom djedu, veterinaru. Godine 2020. upisao sam integraciju u bolonjski sustav Veterinarskog fakulteta i odabrao smjer farmske životinje i konji. Područje mog interesa su uzgoj i rasplodivanje američkih pasmina konja, zarazne bolesti te fizikalna terapija. Oženjen sam i otac dvoje djece.