

POLJOPRIVREDNI FAKULTET U NOVOM SADU

UDK: 631/.639(05)

YU ISSN 0546-8264

LETOPIŠ NAUČNIH RADOVA

GODINA 36 (2012), BROJ 1, STRANA 1-161, NOVI SAD

“LETOPIS NAUČNIH RADOVA”
Godina 36 (2012), broj 1, strana 1-161
YU ISSN 0546-8264

Časopis za poljoprivredu “LETOPIS NAUČNIH RADOVA”
Adresa: Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad
Telefon: 021 485-3500, telefaks: 021 459-761

“ANNALES OF SCIENTIFIC WORK”
Godina 36 (2012), broj 1, pp 1-161
YU ISSN 0546-8264

Journal for Agriculture “ANNALES OF SCIENTIFIC WORK”
Adresa: Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad
Phone: +381 21 485-3500, Fax: +381 21 459-761

Glavni liodgovorni urednik - Editor in Chief
Dr Darinka Bogdanović, red. prof.

Uređivački odbor - Editorial Board

Dr Milan Popović, red. prof. • dr Branko Čupina, red. prof. • dr Darinka Bogdanović, red. prof. • dr Mirjana Jarak, red. prof. • dr Saša Orlović, vanr. prof. • dr Anđelka Belić, red. prof. • dr Radovan Pejanović, red. prof.

Izdavački savet - Editorial Council

Dr Lazar Savin, vanr. prof. • dr Dragan Glamočić, red. prof. • dr Nedeljko Tica, red. prof. dr Jelena Ninić-Todorović, red. prof. • dr Dušanka Inđić, red. prof. • dr Radovan Savić, vanr. prof. • dr Miroslav Malešević, red. prof.

Izdavač - Publisher

Poljoprivredni fakultat - Faculty of agriculture, Novi Sad

Za izdavača - For publisher

Prof. dr Milan Popović, dekan - dean, Poljoprivredni fakultet

UDK brojevi - UDC numbers

Dipl. hem. Radmila Kevrešan, bibliotekar

Štampa - Printing by

“PAN-INFO”, Novi Sad

Tiraž: 250

ANALIZA KRVNE SLIKE KRAVA INFICIRANIH SA COXIELLA BURNETII

Miodrag Radinović, Ivana Davidov, Mihajlo Erdeljan, Stanko Boboš, Anna Marija Galfi¹

REZIME

Infekcija krava sa Coxiella burnetii protiče najčešće inaparentno. Ako se jave klinički simptomi oni su uglavnom vezani za poremećaj reprodukcije te nastaju abortusi, poremećaj reprodukcije i slabo vitalan podmladak. Pored ovih simptoma retko se još mogu javiti keratokonjuktivitis, bronhopneumonija i mastitis. U radu smo ispitivali uticaj infekcije sa Coxiella burnetii na promene u krvnoj slici krava. Ogled je sproveden na grupi od devet krava Holštajn-frizijske rase od koji su uzimani uzorci krvi radi analize. Određivanje broja eritrocita vršeno je spektrofotometrijski, a broja leukocita metodom po Bürker-Türk-u. Analizom uzoraka krvi ustanovljen je povećan broj eritocita koji je prosečno iznosio $10,17 \times 10^{12}/L$, dok je broj leukocita bio u granicama fizioloških vrednosti ($6,6 \times 10^9/L$).

Cljučne reči: krava, Coxiella burnetii, krvna slika

UVOD

Q groznica je zoonoza koju izaziva obligatni intracelularni mikroorganizam, Coxiella burnetii. Bolest se prvi put pojavila kod radnika na klanici u Australiji da bi danas bila prisutna u celom svetu izuzev Novog Zelanda (Kazar, 2005).

Kao najvažniji izvor infekcije ljudi su označene domaće životinje i to psi i mačke koji su odgovorni za pojavu bolesti pre svega u urbanim sredinama i preživari koji su i najznačajniji izvor infekcije za ljude (Arricau-Bouvery and Rodolakis, 2005, Vidić et al., 2008).

Za nastajanje infekcije kod domaćih životinja značajan je primarni ciklus u prirodi, te oboljevaju pre svih ovce, goveda i koze. Bolest kod njih često protiče asimptomatski, a jedini simptom koji može da ukaže na ovu infekciju je pojava abortusa. Mada postoje izveštaji o pojavi respiratornih oboljenja uzrokovanih sa Coxiella burnetii, jedini simptom kod eksperimentalno inficiranih životinja i to pre svega ovaca i koza a ređe kod goveda jeste abortus. Kod životinja koje su imale pobačaj

¹ dr M. Radinović, asistent, mr Ivana Davidov, asistent, dr vet. med. M. Erdeljan, asistent, dr Stanko Boboš, red. prof., dr vet. med. Anna Marija Galfi, Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Departman za veterinarsku medicinu.

dolazi do retencije sekundina i smanjene plodnosti (Guatteo et al, 2007). U hroničnom toku kod inficiranih krava prisutno je povećanje broja somatskih ćelija u mleku (Radinović et al., 2011).

Uzevši u obzir čest izostanak kliničkih simptoma kod inficiranih krava indikativno je ispitati kakvi se podaci mogu dobiti merenjem parametara krvne slike u cilju otkrivanja hronične infekcije.

MATERIJAL I METOD

Na farmi muznih krava su uzeti uzorci krvi venepunkcijom na veni jugularis. Nakon uzorkovanja, uzorci krvi su čuvani na sobnoj temperaturi da bi se izdvojio serum, a zatim su centrifugovani. Ukupno je pregledano 200 uzoraka krvnog seruma.

Serumi su pregledani primenom CHEKIT Q-fever ELISA test kita „IDEXX laboratories“ po uputstvu proizvođača. Od životinja koje su bile pozitivne na Q groznicu formirana je ogledna grupa krava sa devet životinja.

Od krava u ogledu pored uzoraka mleka uzimani su i uzorci krvi. Uzorci krvi su uzimani venepunkcijom vene jugularis. Za uzorkovanje krvi je korišten vakutajner proizvođača BD Vacutainer Systems, Preanalytical Solutions UK sa dodatim antikoagulansom K3E u količini od 0,072ml. U vakutajner se uzimala mala količina krvi, do 3 ml da bi se antikoagulans dobro rasporedio u uzorku. Nakon uzorkovanja svaki vakutajner se označavao sa ID brojem krave i ostavljao na sobnoj temperaturi. Ovako uzeti uzorci krvi sa antikoagulansom korišćeni su za pravljenje krvnih razmaza i za određivanje krvne slike i leukocitarne formule.

Brojanje eritrocita je vršeno spektrofotometrijski, a leukocita metodom po Burkert-Turk-u. Za određivanje leukocitarne formule rađeno je mikroskopiranje. Nakon pravljenja krvnih razmaza rađeno je mikroskopiranje da bi se utvrdio procenat nezrelih eritrocita.

Radi jasnijeg prikazivanja rezultata definisane su faze laktacije, koje su prikazane u tabeli 1.

Tabela 1. Faze laktacije

Table 1. Lactation phases

| prva faza <i>first phase</i> | druga faza <i>second phase</i> | treća faza <i>third phase</i> |
|---------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|
| 10-60 dana 10-60 days | 60-180 dana 60-180 days | preko 180 dana over 180 days |

REZULTATI I DISKUSIJA

Od ukupno 200 pregledanih uzoraka krvnih seruma krava ELISA testom nalaz specifičnih antitela za *Coxiella burnetii* utvrđen je u 9 seruma (4,5%), što je prikazano u tabeli 2.

Tabela 2. Broj leukocita u krvi hronično inficiranih krava sa *Coxiella burnetii*
Table 2. Number of leucocytes in blood of chronically infected cows with *Coxiella burnetii*

| broj leukocita number of leucocytes x 10 ⁹ /L | prva faza <i>first phase</i> | druga faza <i>second phase</i> | treća faza <i>third phase</i> |
|---|---------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|
| | 6,85 | 8,85 | 4,56 |
| | 5,41 | 6,52 | 6,57 |
| | 5,22 | 5,37 | 9,25 |
| | 6,52 | 7,48 | 5,42 |
| | 8,10 | 5,92 | 3,24 |
| | 5,43 | 4,85 | 8,84 |
| | 6,79 | 3,38 | 5,65 |
| | 6,94 | 8,15 | 9,15 |
| | 6,58 | 4,76 | 5,31 |
| 4,38 | 7,60 | 5,52 | |
| prosek <i>average</i> | 6,22±0,34 | 6,28±0,55 | 6,35±0,65 |

Analiza broja leukocita krvi krava pokazala je da nema značajnih promena u broju leukocita. U nekim uzorcima broj ćelija je varirao od 3,24 x 10⁹/L do 11,08 x 10⁹/L (tabela 2). Prosečan broj leukocita u svim uzorcima je iznosio 6,60 x 10⁹/L. Dobijene vrednosti za broj leukocita su u okviru referentnih vrednosti (Jain, 1993). Kod hronično inficiranih krava nije izražen sistemski imuni odgovor kroz povećanje broja leukocita.

Tabela 3. Broj eritrocita u krvi hronično inficiranih krava sa *Coxiella burnetii*
Table 3. Number of erythrocytes in blood of chronically infected cows with *Coxiella burnetii*

| broj eritrocita number of erythrocytes x10 ¹² /L | prva faza <i>first phase</i> | druga faza <i>second phase</i> | treća faza <i>third phase</i> |
|--|---------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|
| | 8,10 | 12,46 | 9,13 |
| | 11,98 | 7,12 | 7,60 |
| | 10,90 | 10,75 | 11,6 |
| | 10,10 | 9,94 | 11,0 |
| | 9,18 | 9,57 | 14,60 |
| | 10,70 | 9,69 | 10,0 |
| | 11,10 | 10,45 | 9,24 |
| | 7,76 | 9,36 | 10,17 |
| | 10,20 | 15,09 | 10,99 |
| prosek <i>average</i> | 10,0±0,46 | 10,05±0,74 | 10,48±0,65 |

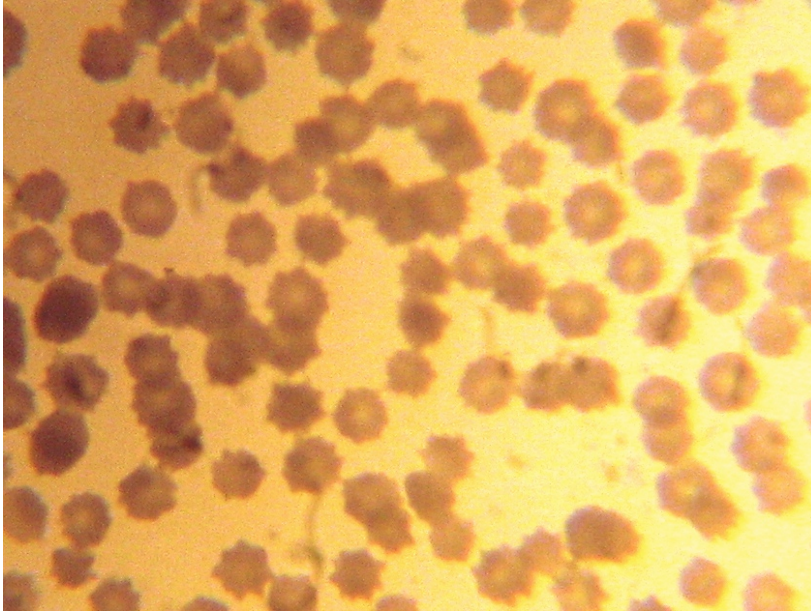
Analiza rezultata krvne slike za broj eritrocita pokazuje povećanje broja u tri od ukupno četiri uzorkovanja. Prosečan broj eritrocita je iznosio $10,17 \times 10^{12}/L$. Dobijen prosečan broj eritrocita je nešto iznad referentne vrednosti (Jain, 1993). U pojedinim uzorcima prelazi vrednost od $10 \times 10^{12}/L$, pa vrednost broja eritrocita iznosi i do $15 \times 10^{12}/L$ (tabela 3). Procenat uzoraka sa povećanim brojem eritrocita izvan referentne vrednosti je bio 41,6%. Povećanje broja eritrocita se može pripisati postojanju granuloma u koštanoj srži (Guateo et al., 2007; Siegman-Igra et al., 1997). Kako životinje sa povećanim brojem eritrocita nisu imale spoljnih znakova dehidracije pretpostavljamo da je povećan broj eritrocita isključivo posledica njihove povećane produkcije. Posmatranjem obojenih razmaza krvi ispitivanih životinja ustanovili smo povećan udeo nezrelih formi eritrocita-retikulocita (slika 1). U tabeli 4 prikazani su rezultati brojanja eritrocita.

Tabela 4. Rezultati brojanja zrelih i nezrelih oblika eritrocita u bojenim razmazima krvi.

Table 4. Results of counting mature and immature forms of erythrocytes in blood smears

| | broj eritrocita <i>number of erythrocytes</i> | | | | | | | | | | prosek <i>average</i> |
|----------------------------|--|-----|-----|-----|----|-----|-----|-----|-----|-----|--------------------------|
| zreli <i>mature</i> | 65 | 72 | 68 | 40 | 38 | 73 | 35 | 133 | 62 | 82 | 66.8±28,4 |
| nezreli <i>immature</i> | 175 | 185 | 158 | 126 | 95 | 153 | 115 | 150 | 220 | 185 | 156.2±37,25 |

Prosečan udeo zrelih eritrocita u uzorcima krvi je iznosio 42,7% odnosno bilo je 57,3% nezrelih eritrocita u krvi ispitivanih krava.



Slika 1. Razmaz krvi
Picture 1. Blood smear

ZAKLJUČAK

Analizom krvne slike hronično inficiranih krava ustanovili smo da postoje odstupanja u broju i strukturi uobličanih elemenata krvi. Promene u krvnoj slici kod inficiranih krava ne govore u prilog postojanja pojačanog imunog odgovora kroz promene u broju leukocita. Povećan broj eritrocita je posledica prisustva nezrelih formi-retikulocita. Procenat retikulocita u posmatranim razmazima krvi je prelazio 50%.

LITERATURA

1. Arricau-Bouvery N., Rodolakis A.: Is Q Fever an emerging or re-emerging zoonosis?. *Vet. Res.* 36, 327–349, 2005.
2. Guateo R., Beaudou F., Beri M., Rodolakis A., Joly A., Seegers H.: *Coxiella burnetii* shedding by dairy cows. *Vet. Res.* 38, 849-860, 2007.
3. Jain N.C.: *Essentials of Veterinary Hematology*. Lea & Febiger, Philadelphia, pp: 1-18, 1993.
4. Kazar J.: *Coxiella burnetii* infection. *Ann N Y Acad Sci.* 1063, 105–114, 2005.
5. Siegman-Igra Y., Kaufman O., Keysary A., Rzotkiewicz S. And Shalit I.: Q fever endocarditis in Israel and a worldwide review. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 29, 1997.

6. Vidić B., Boboš S., Savić S., Prica N.: Nalaz Coxiella burnetii u mleku i njen značaj za nastanak infekcije kod ljudi. Savremena poljoprivreda, 57(3-4), 208-215, 2008.
7. Vidić, B., Ašanin, R., Boboš, S., Bugarski, D.: Q-fever (Coxiella burnetii) investigations in dairy cows. Finalni program i knjiga sažetaka, Prvi Simpozijum o zoonozama sa međunarodnim učešćem, Sarajevo, Udruženje mikrobiologa BiH, 62, 2005.
8. Radinović M., Boboš S., Pajić M., Davidov I.: Analysis of somatic cell count in milk of cows chronically infected with Coxiella burnetii. Savremena poljoprivreda, 60 (1-2), 54-58, 2011.

BLOOD ANALYSIS COW INFECTED WITH COXIELLA BURNETII

by

Miodrag Radinović, Ivana Davidov, Mihajlo Erdeljan, Stanko Boboš, Anna Marija Galfi

SUMMARY

Cows infection with Coxiella burnetii runs usually inapparent. If there are experiencing clinical symptoms are mainly related to the disorder caused abortion, reproductive disorders and poor vital offspring. In addition to these symptoms are rarely may occur keratoconjunctivitis, mastitis and bronchopneumonia. We have investigated the effect of infection with Coxiella burnetii, the changes in the blood chemistry of cows. The experiment was conducted on a group of nine Holstein-Friesian cows from which blood samples were taken for analysis. Determination of the number of red blood cells was performed spectrophotometrically and leukocyte count method for Bürker-Türk. Analysis of blood samples was found to increase the number of erythrocyte average was $10.17 \times 10^{12} / L$, while the white blood cell count was within normal values ($6.6 \times 10^9 / L$).

Key wards: cow, Coxiella burnetii, blood analysis

Primljeno: 25.09.2012.

Prihvaćeno: 09.10.2012.