

**RETROSPEKTIVNA ANALIZA KLINIČKIH I LABORATORIJSKIH NALAZA  
LOVAČKIH PASA SA SEROLOŠKIM REAKCIJAMA NA UZROČNIKE  
BOLESTI KOJE SE PRENOSE KRPELJIMA  
(ANAPLASMA PHAGOCYTOPHILUM, BORRELIA BURGdorFERI,  
BABESIA CANIS, EHRLICHIA CANIS, RICKETTSIA CONORII)\*  
RETROSPECTIVE ANALYSIS OF CLINICAL AND LABORATORY FINDINGS IN  
HUNTING DOGS WITH SEROLOGIC REACTIONS TO TICK-BORNE PATHOGENS  
(ANAPLASMA PHAGOCYTOPHILUM, BORRELIA BURGdorFERI, BABESIA CANIS,  
EHRLICHIA CANIS, RICKETSIA CONORII)**

Spasojević Kosić Ljubica, Savić Sara, Potkonjak A., Vračar V.\*\*

*U endemskim oblastima seroprevalencija na uzročnike bolesti koji se prenose krpeljima je visoka. U ovom radu, na populaciji od 58 lovačkih pasa je ispitivana seroprevalencija na uzročnike koji se prenose krpeljima (Anaplasma phagocytophilum, Borrelia burgdorferi, Babesia canis, Ehrlichia canis, Rickettsia conorii) u uslovima infekcije sa jednim ili više uzročnika. Rezultati seroloških reakcija su upoređeni sa rezultatima dobijenim kliničkim pregledom, hematološkim i biohemijskim analizama krvi. Ukupna seroprevalencija na jednog ili više ispitivanih uzročnika iznosila je 74,14% (R. conorii 44,83%, B. canis 32,76%, B. burgdorferi 25,86%, E. canis 13,79%, A. phagocytophilum 8,47%), pri čemu je 25,86% pasa bilo seropozitivno na dva uzročnika, 15,52% pasa na tri uzročnika, a 1,72% pasa na 4 uzročnika. Od svih kliničkih simptoma statističku značajnost je imala pojava povišene telesne temperature ( $p < 0,05$ ) i aritmija ( $p < 0,05$ ) kod pasa seropozitivnih na ispitivane uzročnike. Za većinu hematoloških i biohemijskih parametara nije postojala statistički značajna razlika u njihovoj vrednosti između pasa seropozitivnih i seronegativnih na ispitivane uzročnike. Statistički značajna razlika utvrđena za pojedine hematološke (broj eritrocita i seroreaktivnost na B. burgdorferi) i*

\* Rad primljen za štampu 13. 02. 2015. godine

\*\* Dr sc. vet. med. Ljubica Spasojević Kosić, vanredni profesor, Departman za veterinarsku medicinu, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu; dr sc. vet. med. Sara Savić, naučni saradnik, Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad“; dr sc. vet. med. Aleksandar Potkonjak, docent, dr vet. med. Vuk Vračar, asistent, Departman za veterinarsku medicinu, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu

*biohemijske parametre (koncentracija albumina i seroreaktivnost na E. canis i aktivnost AST i seroreaktivnost na R. conorii) nije bila klinički značajna. Visoka izloženost uzročnicima koji se prenose krpeljima ukazuje na neadekvatnu profilaksu ektoparazitima kod lovačkih pasa. Nalaz povišene telesne temperature kod lovačkih pasa potrebno je razjasniti etiološki daljim dijagnostičkim procesom, pri čemu treba koristiti metode direktne dijagnostike, koje mogu dokazati veći broj uzročnika zbog mogućnosti koinfekcije.*

*Ključne reči: lovački psi, krpelji, infektivne bolesti, kliničko-patološki nalazi, serološke reakcije.*

## Uvod / Introduction

Rizik da pas bude izložen uzročnicima koje prenose krpelji zavisi od rase, aktivnosti i kontrole infestacije krpeljima (Show i sar., 2001). Bolesti koje se prenose krpeljima (babezioza, erlihioza, lajmska bolest, rikecioza, anaplazmoza) su značajne u kliničkoj veterinarskoj praksi, a naročito u endemskim područjima.

Postojanje kliničkih simptoma kod psa, zajedno sa podacima o izloženosti psa krpeljima, podrazumeva neophodnost daljeg dijagnostičkog postupka u cilju postavljanja etiološke dijagnoze. Klinički simptomi koji sugerišu postojanje bolesti koje se prenose krpeljima su nedovoljno specifični (letargija, anoreksija, febra, limfadenopatija, bledilo vidljivih sluzokoža, petehije, ehimoze, promenjena boja urina, poliartritis i dr.) (Manzillo i sar., 2006; ESCAP 2012). U svom radu kliničari se često oslanjaju na hematološke i biohemijske nalaze u postavljanju dijagnoze. Međutim, razvoj kliničkih, hematoloških i biohemijskih promena izazvanih različitim uzročnicima koji se prenose krpeljima su često nepredvidivi, naročito ukoliko kod psa postoji koinfekcija sa dva ili više mikroorganizama (Otranto i sar, 2009). Etiološka dijagnoza zahteva poznavanje dijagnostičkih standarda za određene uzročnike, a oni u slučaju bolesti koje se prenose krpeljima obuhvataju morfološku dijagnostiku (pregled krvnog razmaza, pregled *buffy-coat*), primenu indirektna serološke dijagnostike (IFAT, ELISA, Western Blot) i direktne molekularne dijagnostike (PCR) (ESCAP 2012).

U okviru ispitivanja zdravstvenog stanja lovačkih pasa na teritoriji Vojvodine, već su obavljena ispitivanja seroprevalencije *B. burgdorferi*, *B. canis*, *E. canis* i *R. conorii* (Savić-Jevđević i sar., 2008; Potkonjak i sar., 2014a; Potkonjak i sar., 2014b). U ovom radu predstavljamo seroprevalenciju na *A. phagocytophilum*, *B. burgdorferi* i prikazujemo prokuženost sa više uzročnika nakon koinfekcije u ispitivanoj populaciji lovačkih pasa. Cilj ovog rada je da analizira kliničko-patološke rezultate dobijene kliničkim pregledom pasa, analizom krvne slike i biohemijskim analizama seruma i uporedi ih sa serološkim reakcijama na *A. phagocytophilum*, *B. burgdorferi*, *B. canis*, *E. canis* i *R. conorii* u uslovima infekcije sa jednim ili više uzročnika.

## Materijal i metode rada / *Material and methods*

Ovim ispitivanjem je obuhvaćeno 58 pasa sa područja Novog Sada (40 mužjaka i 18 ženki). Uslov da psi učestvuju u istraživanju bio je da su aktivni u lovu, odnosno za mlade pse, da su učestvovali u bar jednoj lovnoj sezoni. Rasni sastav pasa činili su: nemački kratkodlaki ptičar, nemački oštrodlaki ptičar, mađarska vižla, poenter, vajmarski ptičar, labrador retriever, engleski seter, engleski špringer španijel, epanjel breton, posavski gonič, istarski kratkodlaki gonič, jazavičar, nemački lovački terijer, mali misterlender. Svi psi su prvobitno podvrgnuti detaljnim kliničkim pregledima. Anamneza je uzeta od vlasnika, a odnosila se na uslove držanja, ishrane i nege psa, kao i sprovođenje profilaktičkih mera vakcinacije i antiparazitskog tretmana. Nakon sprovođenja opšteg kliničkog pregleda, od svakog psa su uzeti uzorci krvi, urina i fecesa. Krv je uzorkovana iz v. *cephalica antebrachii* za analizu krvne slike, biohemijske analize seruma i serološku dijagnostiku na uzročnike bolesti koje se prenose krpeljima.

Uzorci krvi su analizirani aparatom za automatsko brojanje ćelija Abacus Junior Vet (Diatron MI, PLC, Hungary) kako bi se dobile vrednosti hematoloških parametara (broj eritrocita, leukocita, trombocita, limfocita, granulocita, prekurzora leukocita, koncentracija hemoglobina, hematokrit, MCV, MCH, MCHC, varijabilnost veličine eritrocita, trombokrit, prosečna zapremina trombocita). Serumi pasa su od momenta uzorkovanja do sprovođenja analiza biohemijskih parametara u aparatu Rayto RT-1904C semi-auto Chemistry Analyzer (Rayto Life and Analytical Science CO, Ltd, China) čuvani u zamrznutom obliku (-20°C). Dobijene su vrednosti sledećih biohemijskih parametara: albumini, globulini, albumin/globulin količnik (A/G), ukupni proteini, urea, kreatinin, ukupni bilirubin, AST, ALT, alkalna fosfataza. Serološka dijagnostika je podrazumevala utvrđivanje određenog titra antitela IgG klase različitih uzročnika. Za utvrđivanje prisustva IgG na antigene *A. phagocytophilum* korišćen je mikroimunofluorescentni test, a granični titar je bio 1:80 (MIF IgG Antibody Kit, Fuller laboratories, USA). Prisustvo IgG na antigene *B. burgdorferi* izvršeno je korišćenjem indirektnog ELISA testa, a granični titar je bio 1:101 (*recom-Well* Borrelia canis IgG, Mikrogen Diagnostik, Germany). Indirektni imunofluorescentni test (proizvođača Veterinary Medical Research & Development, USA) je korišćen za dokazivanje prisustva antitela klase G na *E. canis*. Svi krvni serumi sa titrom većim ili jednakim sa 1:50 su proglašeni pozitivnim. Ista vrsta serološkog testa je korišćena za dokazivanje IgG na *R. conorii* i *B. canis*. Granični titar antitela na *R. conorii* je bio 1:64 (MegaScreen® FLUO RICKETTSIA conorii, MEGACOR Diagnostik GmbH, Austria), dok je za antitela na *B. canis* bio 1:128 (MegaScreen® FLUO BABESIA canis, MEGACOR Diagnostik GmbH, Austria).

Za statističku obradu podataka korišćen je paket Statistica 12. Brojčane vrednosti parametara predstavljene su apsolutno, relativno i kao srednja vrednost  $\pm$  SD. Poređenje značajnosti razlike između vrednosti hematoloških i biohemijskih parametara pasa koji su bili serološki pozitivni i negativni vršeno je t-testom za

nezavisne uzorke. Procena značajnosti kliničkih simptoma kod lovačkih pasa sa serološkim reakcijama na ispitivane uzročnike procenjavana je McNemarovim testom. Vrednost  $p < 0,05$  je smatrana statistički značajnom.

## Rezultati / Results

U momentu kliničkog pregleda lovačkih pasa ustanovljeni su različiti klinički simptomi (tabela 1). Povišenje telesne temperature i uvećanje jednog ili više limfnih čvorova su bili najčešće prisutni simptomi kod pregledanih pasa, sa učestalošću od 59,32% i 47,46%. Od ostalih simptoma koji su utvrđeni prilikom pregleda, a koji mogu da se dovedu u vezu sa ispitivanim uzročnikom koji se prenose krpeljima, najveću učestalost su imale aritmije, koje su se javile kod 13,56% pasa.

Tabela 1. *Nalaz kliničkih pregleda kod lovačkih pasa*  
Table 1. *Clinical examination findings in hunting dogs*

Nalaz kliničkih pregleda / Clinical examination findings	Broj pasa (%) / Number of dogs (%)	Nalaz kliničkih pregleda / Clinical examination findings	Broj pasa (%) / Number of dogs (%)
Pyrexia	35 (59,32)	Hyperplasia prostatae	3 (5,08)
Lymphadenopathia	28 (47,46)	Nodus	2 (3,39)
Puliculosis	10 (16,95)	Hernia	2 (3,39)
Callus	9 (15,25)	Fractura dentis	2 (3,39)
Alopecia	8 (13,56)	Cicatrix	1 (1,69)
Cremor dentium	8 (13,56)	Monorchid	1 (1,69)
Arythmia	8 (13,56)	Cataracta	1 (1,69)
Balanopostitis	7 (11,86)	Canicies	1 (1,69)
Vulnus	6 (10,17)	Anodontia	1 (1,69)
Lichenificatio	5 (8,47)	Ptosis	1 (1,69)
Otitis externa	5 (8,47)	Prognatio inferior	1 (1,69)

Laboratorijski hematološki nalazi kod pregledanih lovačkih pasa su pokazali postojanje odstupanja od referentnih vrednosti. Kod najvećeg broja pasa ustanovljeno je postojanje leukocitoze i neutrofilije (tabela 2). Odstupanja vrednosti biohemijskih parametara od referentnih vrednosti kod lovačkih pasa prikazana su takođe u tabeli 2. U najvećem broju slučajeva odstupanja su se odnosila na povećanje koncentracije ukupnih proteina i globulina i smanjenje odnosa albumina i globulina. Kod četiri psa je ustanovljeno povećanje aktivnosti enzima AST i ALT,

ali je samo kod jednog od njih registrovano i povećanje koncentracije ukupnog bilirubina.

Tabela 2. Odstupanje vrednosti hematoloških i biohemijskih parametara kod lovačkih pasa  
Table 2. Deviation of values of haematological and biochemical parameters in hunting dogs

Parametri / Parameters	Broj (%) pasa / Number of dogs (%)	Parametri / Parameters	Broj (%) pasa / Number of dogs (%)	Parametri / Parameters	Broj (%) pasa / Number of dogs (%)
RBC ↑	5 (8,47)	WBC ↑	25 (42,37)	Albumini ↓	1 (1,72)
RBC ↓	6 (10,17)	GRA ↑	25 (42,37)	Albumini ↑	2 (3,45)
Hgb ↑	8 (13,56)	LYM ↑	13 (22,03)	Globulini↑	48 (82,76%)
Hgb ↓	6 (10,17)	MID ↑	4 (6,78)	A/G↓	33 (56,90)
Hct ↑	4 (6,78)	MID ↓	13 (22,03)	Proteini↑	41(70,69)
Hct ↓	6 (10,17)	PLT ↑	6 (10,17)	Urea↑	2 (3,45)
MCV ↑	2 (3,39)	PLT ↓	13 (22,03)	Bilirubin↑	19 (32,76)
MCV ↓	3 (5,08)	PCT ↑	5 (8,47)	AST↑	13 (22,41)
MCH ↑	6 (10,17)	PCT ↓	14 (23,73)	ALT↑	14 (24,14)
MCH ↓	1 (1,69)	MPV ↑	2 (3,39)		
MCHC↓	1 (1,69)	MPV ↓	6 (10,17)		
RDW↑	6 (10,17)				

Legenda: WBC – broj leukocita, GRA – broj granulocita, LYM – broj limfocita, MID – broj prekurzora leukocita, RBC – broj eritrocita, Hgb – koncentracija hemoglobina, Hct – hematokrit, MCV – prosečna zapremina eritrocita, MCH – prosečan sadržaj hemoglobina u eritrocitu, MCHC – prosečna koncentracija hemoglobina u eritrocitu, RDW – varijabilnost veličine eritrocita, PLT – broj trombocita, PCT – trombokrit, MPV – prosečna zapremina trombocita, A/G – albumini : globulini, AST – aspartat transaminaza, ALT – alanin transaminaza.

Legend: WBC – leukocytes number, GRA –granulocytes number, LYM – lymphocytes number, MID –leukocytes precursor number, RBC – erythrocytes number, Hgb – concentration of hemoglobin, Hct – hematocrit, MCV – mean erythrocyte volume, MCH – average content of hemoglobin in erythrocytes, MCHC – average concentration of hemoglobin in erythrocytes, RDW – variability in erythrocyte size, PLT – number of platelets, PCT - thrombocyte, MPV – mean platelet volume, A/G – albumins : globulins, AST – aspartate transaminase, ALT – alanine transaminase.

Najveća seroprevalencija ustanovljena je na *R. conorii* (44,83%), zatim na *B. canis* (32,76%) i *B. burgdorferi* (25,86%). Seroprevalencija na *E. canis* je iznosila 13,79%, dok je najmanja seroprevalencija, od 8,47% utvrđena za *A. phagocytophilum*. Kod određenog broja pasa ustanovljeno je da postoji seropozitivnost na više od jednog uzročnika (tabela 3). Nijedan pas nije bio seropozitivan na sve ispitivane uzročnike. Ukupan broj pasa, koji je bio seropozitivan na jednog ili više uzročnika bolesti koje se prenose krpeljima, iznosio je 43 (74,14%), dok je samo 15 pasa bilo serološki negativno. Najveći broj pasa, 15 pasa (25,86%) je bilo inficirano sa dva uzročnika, 9 pasa (15,52%) je imalo koinfekciju sa tri uzročnika, dok je samo kod jednog psa registrovana koinfekcija sa četiri uzročnika.

Tabela 3. Seropozitivnost pasa izražena kao broj pasa (procenat) na jednog ili više uzročnika bolesti koji se prenose krpeljima  
 Table 3. Seropositivity of the dogs expressed as a number of dogs (percentage) per one or more tick-borne diseases causative agents

Uzročnik / Causative agent	<i>A. phagocytophilum</i>	<i>B. burgdorferi</i>	<i>B. canis</i>	<i>E. canis</i>	<i>R. conorii</i>
Seropreval. broj / Seroprevalence number (%)	5 (8,47%)	15 (25,86%)	19 (32,76%)	8 (13,79%)	26 (44,83%)
<i>B. canis</i>	2	3 (5,17%)			
<i>E. canis</i>	0	2 (3,45%)	1 (1,72%)		
<i>R. conorii</i>	1	3 (5,17%)	1 (1,72%)	2 (3,45%)	
<i>B. burgdorferi</i> <i>B. canis</i>	1			0	2 (3,45%)
<i>B. canis</i> , <i>R. conorii</i>	1	2 (3,45%)		1 (1,72%)	
<i>E. canis</i> , <i>R. conorii</i>	0	1 (1,72%)	1 (1,72%)		
<i>B. canis</i> , <i>E. canis</i> , <i>R. conorii</i>	0	1 (1,72%)			

Ispitivanje značajnosti pojave tri klinička simptoma (hypertermia, lymadenopathia, arrhythmia) kod lovačkih pasa, sa i bez seroloških reakcija na ispitivane uzročnike bolesti koje se prenose krpeljima, pokazalo je postojanje statističke značajnosti za pojavu hipertermije ( $p < 0,05$ ) i aritmije ( $p < 0,05$ ). Od ukupno 43 pasa koji su bili serološki pozitivni na jednog ili više uzročnika vektorski prenosivih bolesti, kod 27 pasa je ustanovljeno postojanje hipertermije. Od 15 pasa koji su bili serološki pozitivni na *B. burgdorferi* kod četiri psa je ustanovljeno postojanje aritmija.

Prosečne vrednosti parametara krvne slike u odnosu na serološke reakcije lovačkih pasa na ispitivane uzročnike dati su u tabeli 4. Ustanovljeno je postojanje statistički značajne razlike samo u broju eritrocita između pasa koji su imali različite serološke reakcije na *B. burgdorferi*. Nije ustanovljeno postojanje statistički značajne razlike vrednosti parametara krvne slike kod pasa sa serološkim reakcijama na ostale ispitivane uzročnike. Takođe su statistički analizirane vrednosti parametara krvne slike u odnosu na ukupnu seronegativnost i seropozitivnost na jednog ili više ispitivanih uzročnika. Nije nađena statistički

značajna razlika u broju eritrocita, leukocita i trombocita u odnosu na serološki status pasa na ispitivane uzročnike bolesti.

Tabela 4. *Efekat serološkog statusa na odabrane hematološke i biohemijske parametre (srednja vrednost ± SD) kod ispitivanih lovačkih pasa*

Table 4. *Effect of serological status to selected haematological and biochemical parameters (average values ± SD) in investigated hunting dogs*

Uzročnik / Causative agent	Status / Status	Eritrociti / Erythrocytes 5,5-8,5x 10 <sup>12</sup> /l	Leukociti / Leukocytes 6-17x10 <sup>9</sup> /l	Trombociti / Platelets 150-400x10 <sup>9</sup> /l	Proteini / Proteins 55-75g/l	A/G 0,7-1,9
<i>A. phagocytophilum</i>	Seropoz. n= 5	6,36 ±0,90	15,83±8,44	284,40±165,37	73,87±14,80	0,86±0,48
	Seroneg. n=54	6,67±1,04	15,45±7,08	268,80±146,36	84,32±13,27	0,69±0,25
<i>B. burgdorferi</i>	Seropoz. n=15	6,02±1,15	16,75±6,40	261,64±169,77	85,28±14,53	0,68±0,24
	Seroneg. n=43	6,85±0,91*	17,14±7,17	274,17±140,75	82,62±13,46	0,72±0,29
<i>B. canis</i>	Seropoz. n=19	6,41±0,85	15,33±10,17	280,31±139,69	80,82±15,58	0,71±0,34
	Seroneg. n=39	6,81±1,14	15,65±6,74	266,65±152,40	84,42±12,66	0,72±0,25
<i>E. canis</i>	Seropoz. n=8	6,62±0,84	17,06±4,85	233,33±115,27	91,57±7,58	0,69±0,26
	Seroneg. n=50	6,64±1,07	17,03±7,24	275,84±150,76	81,93±13,97	0,71±0,28
<i>R. conorii</i>	Seropoz. n=26	6,75±0,10	15,62±5,80	259,04±140,48	85,59±12,52	0,71±0,30
	Seroneg. n=32	6,65±0,94	17,70±7,48	280,47±153,41	81,36±14,40	0,71±0,25

\*statistički značajna razlika u odnosu na seropozitivne pse (p<0,05) /

\*statistically significant difference in relation to seropositive dogs (p<0,05)

Analizirane su vrednosti biohemijskih parametara u odnosu na pojavu seropozitivnosti kod lovačkih pasa i to onih koji su najčešće promenjeni kod pasa inficiranih određenim uzročnicima. U slučaju seroloških reakcija na *A. phagocytophilum* analizirane su vrednosti albumina, globulina, A/G, ukupni proteini, enzimi AST i ALT i bilirubin. Biohemijski parametri albumini, ukupni proteini, urea i kreatinin analizirani su kod pasa sa serološkim reakcijama na *B. burgdorferi*. Ukupni proteini, globulini, A/G količnik, urea, kreatinin, bilirubin, AST i ALT bili su biohemijski parametri koji su analizirani kod pasa sa serološkim reakcijama na *B. canis*. Kod pasa sa serološkim reakcijama na *E. canis* analizirane su vrednosti albumina, globulina, A/G količnik, ukupni proteini, bilirubin, AST i ALT, dok su kod pasa sa serološkim reakcijama na *R. conorii* analizirani albumini, urea, kreatini,

bilirubin, AST, ALT i alkalna fosfataza. Ustanovljeno je postojanje statistički značajne razlike u koncentraciji albumina između pasa koji su bili seropozitivni i seronegativni na *E. canis* ( $36,09 \pm 7,12$  u odnosu na  $32,04 \pm 4,50$ ,  $p=0,034$ ), kao i u koncentraciji AST između pasa koji su bili seropozitivni i seronegativni na *R. conorii* ( $23,82 \pm 15,88$  u odnosu na  $35,31 \pm 19,45$ ,  $p=0,018$ ). Nije postojala statistički značajna razlika u vrednostima ostalih biohemijskih parametara između pasa koji su bili seropozitivni i seronegativni na ispitivane uzročnike. Procena biohemijskih parametara, kao što su albumini, globulini, A/G količnik i ukupni proteini, izvršena je između pasa koji su bili seropozitivni na jednog ili više uzročnika bolesti koje se prenose krpeljima i pasa koji su bili seronegativni na sve ispitivane uzročnike. Nije postojala statistički značajna razlika navedenih parametara između pasa koji su bili seropozitivni i seronegativni na jednog ili više ispitivanih uzročnika.

### Diskusija / Discussion

U ovom istraživanju ispitivana je seropozitivnost na uzročnike koji se prenose krpeljima i veza ovakvog statusa sa pojavom kliničkih simptoma i poremećajima vrednosti hematoloških i biohemijskih parametara. Svaki od ispitivanih uzročnika (*A. phagocytophilum*, *B. burgdorferi*, *B. canis*, *E. canis*, *R. conorii*) je u stanju da izazove oboljenje, ali mnoga od njih mogu da se jave u subkliničkom obliku ili da predstavljaju hronični imunološki podražaj za organizam psa. Sa druge strane, ispitivani uzročnici (osim *B. canis*) imaju zoonotski potencijal i mogu da izazovu oboljenje kod ljudi (Sambri i sar., 2004). Iz navedenog proističe značaj praćanja uzročnika koji se prenose krpeljima u različitim populacijama pasa, pa samim tim i u populaciji lovačkih pasa. Adekvatan monitoring i sprovođenje profilakse za ektoparazite kod pasa predstavljaju *conditio sine qua non* smanjenja rizika za oboljenja koja se prenose krpeljima i kod pasa i kod ljudi.

Veliki broj simptoma koji je registrovan tokom kliničkih pregleda lovačkih pasa u ovom istraživanju ne može da se dovede u vezu sa uzročnicima bolesti koje se prenose krpeljima. Na osnovu anamnestičkih podataka, svi psi koji su dovedeni na pregled za potrebe istraživanja, bili su bez kliničkih simptoma. Kliničkim pregledom su najčešće registrovani hipertermija i uvećanje limfnih čvorova. Pojava hipertermije je bila i statistički značajna kod pasa koji su bili seropozitivni na jednog ili više uzročnika, dok pojava uvećanja limfnih čvorova nije bila statistički značajna u odnosu na seropozitivnost pasa na uzročnike koji se prenose krpeljima. Diferencijalnu dijagnozu za povišenu telesnu temperaturu čini veliki broj bolesti, kao što su lokalne i sistemske infekcije, imunološki posredovani poremećaji, neoplazije, reakcija na lekove, nekroze, embolusi i drugi poremećaji (Dunn, 2000). Rezultati ovog istraživanja sugerišu da je neophodno uraditi dodatnu dijagnostiku u slučaju kliničkog nalaza povišene temperature kod pasa. Inicijalni dijagnostički plan u takvom slučaju predstavljaju svakako hematološke i biohemijske analize sa određivanjem koncentracije proteina i fibrinogena, ali i isključivanje najčešćih infektivnih bolesti kod pasa. Pojava aritmija je bila statistički



značajna kod pasa koji su bili seropozitivni na *B. burgdorferi*. Veliki broj uzroka može da se dovede u vezu sa pojavom aritmija (Boswood, 2000), a rezultati ovog istraživanja sugerišu da se od infektivnih uzročnika, između ostalih, mora isključiti navedena bakterija.

Kod najvećeg broja pasa odstupanja hematoloških parametara su se odnosila na leukocitozu i neutrofiliju. Diferencijalna dijagnoza za neutrofilnu leukocitozu obuhvata inflamaciju, uticaj stresa i kortikosteroida, uticaj fizičkog opterećenja i adrenalina ili leukemiju (Latimer i Tvedten, 1999). Postojanje leukocitoze i neutrofilije sa skretanjem u levo kod istog broja pasa u našem ispitivanju ide u prilog postojanju inflamacije. Drugi poremećaji hematoloških parametara koji se susreću u vezi sa delovanjem ispitivanih uzročnika nisu bili prisutni kod velikog broja pasa. Oligocitemija i trombocitopenija su bile prisutne kod šest, odnosno 13 pasa. Od šest pasa koji su imali oligocitemiju jedan je bio seronegativan na sve ispitivane uzročnike, jedan je bio seropozitivan na jednog uzročnika (*B. burgdorferi*), tri psa su bila seropozitivna na dva uzročnika (*A. phagocytophilum* i *R. conorii*, *B. burgdorferi* i *B. canis*, *B. burgdorferi* i *R. conorii*), dok je jedan pas bio seropozitivan na četiri uzročnika (*A. phagocytophilum*, *B. burgdorferi*, *B. canis*, *R. conorii*). Kod lovačkih pasa sa registrovanom trombocitopenijom tri psa su bila seronegativna na ispitivane uzročnike, šest pasa je bilo seropozitivno na jednog uzročnika, tri psa su bila seropozitivna na dva uzročnika (dva psa na *B. burgdorferi* i *R. conorii* i jedan na *A. phagocytophilum* i *R. conorii*), dok je jedan pas bio seropozitivan na četiri uzročnika (isti pas kod koga je postojala oligocitemija). Nije postojala statistički značajna razlika u broju eritrocita, leukocita i trombocita između pasa koji su bili seropozitivni i seronegativni na ispitivane uzročnike, osim u slučaju broja eritrocita za *B. burgdorferi*, ali bez kliničke značajnosti. Dominantni nalazi biohemijskih parametara su bili hiperglobulinemija, hiperproteinemija i smanjenje A/G količnika. Promene navedenih parametara idu u prilog postojanju antigene stimulacije i inflamacije (hronične bakterijske, virusne, gljivične, protozoarne, rikecijarne i parazitske infekcije), neoplazija ili oboljenja nastalih na imunološkoj osnovi (Werner i Turnwald, 1999). U našem istraživanju nije moglo da se potvrdi postojanje značajnosti razlike u koncentraciji albumina, globulina, A/G i ukupnih proteina između seropozitivnih i seronegativnih pasa. U ispitivanju koje je sprovedeno na psima kao laboratorijskim životinjama, većina hematoloških i biohemijskih parametara se nije razlikovala između seropozitivnih i seronegativnih pasa, a vrednosti parametara su bile u referentnim vrednostima (Scorpio i sar., 2008). Međutim, ustanovljeno je postojanje statističke značajnosti u koncentraciji globulina i A/G količnika između pasa koji su bili seropozitivni na *E. canis*, *B. burgdorferi* i *R. rickettsii* i onih koji su bili seronegativni na sva tri uzročnika (Scorpio i sar., 2008). Ispitivanje koje je sprovedeno na psima prirodno inficiranim uzročnicima koji se prenose krpeljima nije ustanovilo postojanje značajne razlike u hematološkim vrednostima i promenama proteina seruma između pasa sa i bez kliničkih simptoma oboljenja (de Capraais i sar., 2011). U našem istraživanju, analiziranjem vrednosti parametara koji su najčešće

promenjeni kod bolesti koji se prenose ispitivanim uzročnicima, ustanovljeno je postojanje statistički značajne razlike u koncentraciji albumina između pasa koji su bili seropozitivni i seronegativni na *E. canis*, kao i u vrednosti AST između pasa koji su bili seropozitivni i seronegativni na *R. conorii*. U oba slučaja se radi o vrednostima parametara koji su u referentnom opsegu, te klinički značaj ovakvih nalaza ne postoji.

U prethodnim radovima je objavljena i diskutovana seroprevalencija za većinu uzročnika koji se prenose krpeljima (Savić i sar., 2012; Potkonjak i sar., 2014a; Potkonjak i sar., 2014b), ali je u ovom radu ustanovljeno da ukupna seroprevalencija na jednog ili više ispitivanih patogena iznosi 74,14%. U slučaju infekcije određenim uzročnicima, npr. *B. burgdorferi*, u najvećem broju slučajeva se ne razvijaju klinički simptomi kod pasa, mada eksperimentalna koinfekcija sa drugim uzročnicima koji se prenose krpeljima može da poveća učestalost pojave kliničkih simptoma i upornost infekcije (Straubinger i sar., 1997; Thomas i sar., 2001). U uslovima prirodne infekcije opisana je koinfekcija psa sa *B. canis vogeli*, *E. canis* i *A. platys* (Al Izz i sar., 2013). Kada je u pitanju infekcija sa većim brojem uzročnika, klinička slika može da bude nepredvidiva i specifični klinički simptomi ili hematološki poremećaji se ne mogu pripisati samo jednom uzročniku. Prirodna koinfekcija pasa sa *Leishmania infantum* i *E. canis*, zatim koinfekcija sa *L. infantum*, *E. canis* i *Dirofilaria immitis* i koinfekcija sa *E. canis* i *D. immitis* je opisana kod pasa u Italiji (De Tommasi i sar., 2013). Ispitivanje sprovedeno na 54 psa iz azila u Italiji je utvrdilo da su psi najčešće bili inficirani (u 23,6% slučajeva) sa *A. platys* i *B. vogeli*, potom u 8,8% slučajeva sa *E. canis* i *B. vogeli*, u 5,9% slučajeva sa *A. platys* i *Hepatozoon canis* i u 2,9% slučajeva sa *A. platys* i *Bartonella* spp. (de Caprariis i sar., 2011). Znatno manja stopa koinfekcije utvrđena je u Mađarskoj. Od ukupno pregledanih 1305 uzoraka krvi tokom 2011. i 2012. godine, kod osam pasa je ustanovljeno postojanje koinfekcija, od kojih je sedam bilo inficirano sa dva uzročnika (*A. phagocytophilum* i *D. immitis*, *A. phagocytophilum* i *B. burgdorferi*), dok je kod jednog psa ustanovljena seropozitivnost na tri uzročnika (*A. phagocytophilum*, *B. burgdorferi* i *D. immitis*) (Farkas i sar., 2014). U ispitivanju sprovedenom na psima koji se koriste kao eksperimentalne životinje, a nisu poreklom iz istraživačkih ustanova, ukupna seroprevalencija na jednog ili više uzročnika iznosila je 71% (Scorpio i sar., 2008), što je slično rezultatima našeg istraživanja.

Postojanje aktivne infekcije nije potvrđeno kod ispitivane populacije pasa. U većini slučajeva infekcije uzročnicima koji se prenose krpeljima, do serokonverzije dolazi nakon 1 do 3 nedelje. Seroreaktivnost sugerise da je postojala izloženost uzročnicima, što ne korelira uvek sa bolešću koje uzročnici izazivaju. U slučaju endemskih područja veliki broj pasa može biti seropozitivan na uzročnike koji se prenose krpeljima. Ovo istraživanje, sprovedeno kao retrospektivna analiza, nameće određeni broj pitanja koja se u isto vreme mogu smatrati i ograničenjima ovog istraživanja, kao i daljim pravcima istraživanja. Na prvom mestu, to je ponavljanje serološke dijagnostike u cilju definisanja specifične reaktivnosti na

uzročnike i menjanja titra antitela. Zatim, uvođenje PCR kako bi se uzročnici direktno dokazali. Takođe, serijska uzorkovanja krvi i drugih uzoraka (*buffy coat*, aspirat kostne srži) i njihova morfološka i molekularna dijagnostika u cilju praćenja delovanja uzročnika, naročito u slučaju perzistentnih infekcija. I na kraju, od značaja je i povećanje broja pasa obuhvaćenih istraživanjem, kako bi se poboljšala validnost statističkih analiza.

#### Zaključak / Conclusion

Ovo istraživanje sprovedeno na lovačkim psima je pokazalo da je 74,14% pasa bilo inficirano sa jednim ili više uzročnika koji se prenose krpeljima. Na osnovu toga, može se zaključiti da u ispitivanoj populaciji pasa nije postojao adekvatni tretman ektoantiparaziticima. U područjima gde su bolesti pasa koje se prenose krpeljima endemske, kliničari treba da imaju u vidu mogućnost koinfekcije sa većim brojem uzročnika. Budući da hipertermija predstavlja nespecifičan simptom oboljenja koja se prenose krpeljima, registrovanje hipertermije, kao statistički i klinički značajnog simptoma u našem istraživanju, pokazuje da je neophodno razloge pojave ovog simptoma dodatno rasvetliti daljim dijagnostičkim postupkom. Atipičnost većine kliničkih simptoma, hematoloških i biohemijskih nalaza u ispitivanoj populaciji lovačkih pasa naglašava značaj holističkog pristupa tokom dijagnostičkog procesa.

#### NAPOMENA / ACKNOWLEDGMENT:

Rad je realizovan kao deo projekta TR 31084 koji finansira Ministarstvo prosvete i nauke Republike Srbije i projekta 114-451-1892/2011 finansiranog od Pokrajinskog sekretarijata za nauku i tehnološki razvoj AP Vojvodine.

*This work is realised as a part of the project TR 31084 funded by Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia and project 114-451-1892/2011 funded by Provincial Secretariat for Science and Technological Development of AP Vojvodina.*

#### Literatura / References

1. Al Izzi S, Martin DS, Chan RYY, Leutenegger CM. Babesia canis vogeli, Ehrlichia canis, and Anaplasma platys infection in a dog. *Vet Clin Pathol* 2013; 42 (4): 471 – 5.
2. Boswood A. Disturbances of cardiac rhythm. In Dunn JK, editor. *Textbook of small animal medicine*, WB Saunders London, 2000: 225 – 32.
3. De Caprariis D, Dantas-Torres F, Capelli G, Mencke N, Stanneck D, Breitschwerdt EB, Otranto D. Evolution of clinical, haematological and biochemical findings in young dogs naturally infected by vector-borne pathogens. *Vet Microbiol* 2011; 149: 206 – 12.
4. De Tommasi AS, Otranto D, Dantas-Torres F, Capelli G, Britschwerdt EB. Are vector-borne pathogen co-infections complicating the clinical presentation in dogs. *Parasites&Vectors* 2013; 6: 97 – 101.
5. Dunn JK. Fever and hypothermia. In Dunn JK, editor. *Textbook of small animal medicine*, WB Saunders London, 2000: 28 – 39.
6. ESCCAP: Control of vector-borne diseases in dogs and cats, ESCCAP Guideline 05 Second Edition, October 2012, <http://www.esccap.org/page/G5+Control+of+VectorBorne+Diseases+in+Dogs+and+Cats/29#.VFNY8vnF98E>

7. Farkas R, Gyurkovszky M, Lukacs Z, Aladics B, Solymosi N. Seroprevalence of some vector-borne infections of dogs in Hungary. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2014; 14 (4): 256 – 60.
8. Latimer KS, Tvedten H. Leukocyte Disorders. In Willard MD, Tvedten H, Turnwald GH, editors. *Small animal clinical diagnosis by laboratory methods*. WB Saunders Philadelphia, 1999: 52 – 75.
9. Manzillo F, Cappiello S., Oliva G. Tick-transmitted diseases in dogs: clinicopathological findings. *Parassitologia* 2006; 48 (1 – 2): 135 – 6.
10. Otranto D, Dantas-Torres F, Breitschwerdt EB. Managing canine vector -borne diseases of zoonotic concern: part two. *Trends Parsitol* 2009; 25: 228 – 35.
11. Potkonjak A, Savić S, Spasojević Kosić Lj, Vračar V, Kudus R, Suvajdžić Lj, Radišić N. Seroprevalence of Canine Monocytic Ehrlichiosis in hunting dogs in the autonomous province of Vojvodina, Serbia. *Arch Vet Med* 2014b; 7 (1): 11- 8.
12. Potkonjak A, Savić S, Spasojević Kosić Lj, Vračar V, Novakov N, Bursać A, Stevančević O, Stojanac N. Nalaz antitela na uzročnike Rickettsia conorii i Babesia canis kod lovački pasa u Vojvodini. *Zbornik radova 25. Savetovanja veterinara Srbije, Zlatibor, Srbija, 11. – 14. Septembar, 2014a*: 327 – 32.
13. Sambri V, Marangoni A, Storni E, Cavrini F, Moroni A, Sparacino M, Cevenini R. Tick borne zoonosis: selected clinical and diagnostic aspects. *Parassitologia* 2004; 46 (1-2): 109 – 13.
14. Savić S, Vidić B, Grgić Ž, Jurišić A, Čurčić V, Ružić M, Lolić Z. Vektorske zoonoze pasa u Vojvodini. *Arh vet med* 2012; 1(5): 77-87.
15. Savić-Jevđenić S, Vidić B, Grgić Ž, Jurišić A, Lako B. Lyme Boreliosis in hunting dogs. *Book of Proceedings VI International Conference on Ticks and Tick-borne Pathogens, Buenos Aires, Argentina, September 21-26, 2008*: 317.
16. Scorpio DG, Wachtman LM, Tunin RS, Barat NC, Garyu JW, Dumler JS. Retrospective clinical and molecular analysis of conditioned laboratory dogs (*Canis familiaris*) with serological reactions to *Ehrlichia canis*, *Borrelia burgdorferi*, and *Rickettsia conorii*. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 2008; 47 (5): 23 – 8.
17. Shaw SE, Day MJ, Birtles RJ, Breitschwerdt EB. Tickborne infectious diseases of dogs. *Trends Parasitol* 2001; 17: 74 – 80.
18. Straubiger RK, Straubinger AF, Harter L, Jacobson RH, Chang YF, Summers BA, Erb HN, Appel MJ. *Borrelia burgdorferi* migrates into joint capsules and causes an upregulation of interleukin 8 in synovial membranes of dogs experimentally infected with ticks. *Infect Immun* 1997; 65: 1273 – 85.
19. Thomas V, Anguita J, Barthold SW, Fikrig E. Coinfection with *Borrelia burgdorferi* and the agent of human granulocytic ehrlichiosis alters murine immune responses, pathogen burden, and severity of Lyme arthritis. *Infect Immun* 2001; 69: 3359 – 71.
20. Werner LL, Turnwald GH. Immunologic and plasma protein disorders. In Willard MD, Tvedten H, Turnwald GH, editors. *Small animal clinical diagnosis by laboratory methods*. WB Saunders Philadelphia, 1999: 248 – 65.

ENGLISH

**RETROSPECTIVE ANALYSIS OF CLINICAL AND LABORATORY FINDINGS IN HUNTING DOGS WITH SEROLOGIC REACTIONS TO TICK-BORNE PATHOGENS (*Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi*, *Babesia canis*, *Ehrlichia canis*, *Rickettsia conorii*)**

**Spasojević Kosić Ljubica, Savić Sara, Potkonjak A., Vračar V.**

Seroprevalence of tick-borne infections in endemic areas could be high. In this study,

we investigated the seroprevalence of tick-borne pathogens (*Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi*, *Babesia canis*, *Ehrlichia canis*, *Rickettsia conorii*) in hunting dogs, naturally infected with one or more pathogens. Serological test results of the investigated animals were compared to those from clinical examination, as well as from haematological and biochemical analyses. A total of 74.14% dogs were seropositive (*R. conorii* 44.83%, *B. canis* 32.76%, *B. burgdorferi* 25.86%, *E. canis* 13.79%, *A. phagocytophilum* 8.47%), with 25.86% of dogs seropositive to two pathogens, 15.52% seropositive to three pathogens, and 1.72% of dogs seropositive to four pathogens. Among all registered clinical signs, only pyrexia ( $p < 0.05$ ) and arrhythmia ( $p < 0.05$ ) were significant in seropositive dogs. There was no significant difference between seropositive and seronegative dogs regarding the majority of haematological and biochemical parameters. Statistically significant difference was registered for particular haematological (number of red blood cells and seroreactivity to *B. burgdorferi*) and biochemical parameters (albumin concentration and seroreactivity to *E. canis*, and AST and seroreactivity to *R. conorii*) but these values were not clinically significant. The high exposure to tick-borne pathogens suggests that ectoparasitic prophylactic treatment is not adequate in examined population of hunting dogs. Clinical finding of pyrexia need to be further investigated and explained etiologically, which means that molecular diagnosis should be used in order to identify larger number of pathogens because of the possibility of co-infection.

Key words: hunting dogs, ticks, infective diseases, clinicopathological findings, serology

РУССКИЙ

**РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ КЛИНИЧЕСКИХ И  
ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ У ОХОТНИЧЬИХ СОБАК С  
СЕРОЛОГИЧЕСКИМИ РЕАКЦИЯМИ НА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ЗАБОЛЕВАНИЙ,  
ПЕРЕНОСИТЕЛЯМИ КОТОРЫХ ЯВЛЯЮТСЯ КЛЕЩИ (*Anaplasma phagocytophilum*,  
*Borrelia burgdorferi*, *Babesia canis*, *Ehrlichia canis*, *Rickettsia conorii*)**

**Спасоевич Косич Любича, Савич Сара, Потконяк А., Врачар В.**

В эндемичных районах высока серопревалентность к возбудителям заболеваний, переносчиками которых являются клещи. В данной работе на материале популяции 58 охотничьих собак исследовалась серопревалентность к возбудителям заболеваний, переносчиками которых являются клещи (*Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi*, *Babesia canis*, *Ehrlichia canis*, *Rickettsia conorii*) в условиях заражения одним или несколькими возбудителями. Результаты серологических реакций сопоставлялись с результатами, полученными при клиническом обследовании, гематологическими и биохимическими анализами крови. Общая серопревалентность к одному или нескольким исследованным возбудителям составила 74,14% (*R. conorii* 44,83%, *B. canis* 32,76%, *B. burgdorferi* 25,86%, *E. canis* 13,79%, *A. phagocytophilum* 8,47%), при этом 25,86% собак имели серопозитивную реакцию на двух возбудителей, 15,52% собак на трех возбудителей, а 1,72% собак на четырех возбудителей. В числе всех клинических симптомов статистическое значение имело повышение температуры тела ( $p < 0,05$ ) и аритмия ( $p < 0,05$ ) у собак, имевших серопозитивную реакцию на исследуемых возбудителей. По большинству гематологических и биохимических параметров не было отмечено статистически значимого различия в их значениях среди собак, имевших серопозитивную и серонегативную реакцию на исследуемых

возбудителей. Статистически значимое различие установлено по отдельным гематологическим (количество эритроцитов и серореактивность на *B. burgdorferi*) и биохимическим параметрам (концентрация альбумина и серореактивность на *E. Canis* и активность АСТ и серореактивность на *R. conorii*) не имело клинического значения. Высокая степень поражения возбудителями, переносимыми клещами, указывает на неудовлетворительную профилактику заражения эктопаразитами у охотничьих собак. Показатели повышенной температуры тела у охотничьих собак необходимо уточнить в процессе этиологической диагностики, при этом следует использовать методы прямой диагностики, которые могут доказать наличие нескольких возбудителей при возможной сочетанной инфекции.

Ключевые слова: охотничьи собаки, клещи, инфекционные заболевания, клинические и патологические результаты, серологические реакции.