



LEPTOSPIROZA I POBAČAJI U KUJA: DIJAGNOSTIKA, PREVENCIJA I KLINIČKI IZAZOVI

LEPTOSPIROSIS AND PREGNANCY LOSS IN BITCHES: DIAGNOSTICS, PREVENTION, AND CLINICAL CHALLENGES

**Iva Zečević¹, Matko Perharić¹, Ivan Butković¹, Juraj Šavorić¹,
Marija Mamić¹, Iva Benvin¹, Josipa Habuš¹**

¹Veterinarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, R. Hrvatska

Kratak sadržaj

*Leptospiroza, re-emergentna zoonoza široke geografske rasprostranjenosti i visoke prevalencije, značajna je bolest domaćih i divljih životinja te čovjeka, s mogućim utjecajem na reproduktivno zdravlje pasa. Očituje se raznolikim spektrom kliničkih pojavnosti, od blagih subkliničkih infekcija do teških septikemijskih oblika bolesti praćenih otkazivanjem bubrega i/ili plućnim hemoragijskim sindromom uz visoku stopu smrtnosti. Kliničko očitovanje ovisi o prijemljivosti inficirane vrste, njezinu imunosnom statusu, infektivnoj dozi te virulenciji serovara ili soja leptospire koji je uzrokovao bolest. Određeni serovari, iz trenutačno još nepoznatih razloga, skloni su uzrokovati teže kliničke oblike od ostalih. Reproductivni poremećaji, uključujući embrionalne resorpcije, pobačaje i mrtvorodne fetuse, rijetko se navode u literaturi, iako je poznato da *Leptospira* spp. može izazvati transplacentalu infekciju. U literaturi su opisani pojedinačni slučajevi pobačaja povezani sa serovarima Buenos Aires i Bratislava, no dokazi ostaju ograničeni i temelje se uglavnom na pojedinačnim prikazima. Dijagnostika uključuje serološke testove (MAT), PCR i histopatologiju, no interpretacija rezultata može biti otežana zbog unakrižnih reakcija i postvakcinalnih protutijela. S obzirom na sve veći broj indicija o reproduktivnom utjecaju *Leptospira*, njihovo uključivanje u diferencijalnu dijagnozu pobačaja kod kuja, osobito u endemskim područjima i pri pobačajima u kasnoj fazi graviditeta, treba postati standardna dijagnostička praksa. Prevencija se temelji na cijepljenju, kontroli glodavaca i biosigurnosnim mjerama, uz poseban fokus na uzgojne kuje.*

Ključne reči: *Leptospiroza, pas, abortus, reproduktivni poremećaji*

Summary

*Leptospirosis is a re-emerging zoonosis of wide geographic distribution and high prevalence, significant in domestic and wild animals as well as humans. It may have a notable impact on reproductive health in dogs. The clinical spectrum ranges from mild subclinical infections to severe septicemic disease with renal failure and/or pulmonary hemorrhagic syndrome, often with a high mortality rate. Clinical expression depends on the host's susceptibility, immune status, infectious dose, and the virulence of the infecting serovar or strain. Certain serovars, for still unknown reasons, tend to cause more severe disease manifestations. Reproductive disorders—including embryonic resorption, abortion, and stillbirth—are rarely described in the literature, although *Leptospira* spp. is known to cause transplacental infections. Individual cases of abortion associated with serovars Buenos Aires and Bratislava have been reported, but evidence remains limited and primarily anecdotal. Diagnostic approaches include serological testing (MAT), PCR, and histopathology, though interpretation may be hindered by cross-reactivity and post-vaccinal antibodies. Considering increasing indications of the reproductive impact of *Leptospira* spp., it should be routinely included in the differential diagnosis of abortion in bitches, especially in endemic areas and in late gestation. Prevention relies on vaccination, rodent control, and strict biosecurity measures, with special focus on breeding females.*

Keywords: *Leptospirosis, dog, abortion, reproductive disorders*

UVOD

Leptospiroza je re-emergentna zarazna bolest brojnih domaćih i divljih životinja, kao i čovjeka. Geografski je jedna od najrasprostranjenijih zoonoza s visokim stopom prevalencije. Uzročnici bolesti su bakterije iz roda *Leptospira*, unutar kojeg razlikujemo preko 300 serovara, svrstanih prema serološkoj srodnosti u 29 skupina (Dikken i Kmety, 1978; Kmety i Dikken, 1993), te 68 različitih genomskih vrsta. Prema patogenosti, ove se bakterije svrstavaju u tri osnovne kategorije: patogene, intermedijarno patogene i saprofitske, tj. one izolirane iz okoliša (Vincent i sur, 2019., Korba i sur, 2021).

Glavni rezervoari infekcije su glodavci koji, jednom inficirani, izlučuju leptospire urinom tijekom cijelog života (Levett, 2001, Adler i de la Peña Moctezuma, 2010). No, i druge životinjske vrste, uključujući domaće životinje, mogu postati nositelji određenih serovara te dugoročni kliconoše. Bakterije se izlučuju putem bubrega i kontaminiraju tlo i površinske vode. Infekcija se prenosi izravnim kontaktom sa zaraženim urinom ili neizravno, preko kontaminiranih površina, dok su ulazna mjesta sluznice ili oštećena koža. Klinička slika bolesti ovisi o vrsti domaćina, njegovom imunološkom statusu, infektivnoj dozi te virulenciji konkretnog serovara ili soja. Klinički oblici variraju od subkliničkih infekcija do teških septikemijskih oblika s bubrežnim zatajenjem i/ili plućnim hemoragijskim sindromom, često

s visokom smrtnošću. Neki serovari, iz zasad još nejasnih razloga, uzrokuju teže kliničke oblike od drugih (Taylor i sur, 2015).

Reproduktivni poremećaji u pasa – uključujući pobačaje, embrionalne resorpcije i mrtvorođenost – rjeđe su zabilježeni u literaturi. Unatoč tome, sve više terenskih zapažanja iz endemskih područja ukazuje na potencijalnu povezanost infekcije s gubitkom graviditeta, što nalaže detaljnija istraživanja i širi dijagnostički pristup kod slučajeva perinatalne smrtnosti. Dokazi o transplacentalnom prijenosu *Leptospira spp.* dokumentirani su kod više vrsta životinja te kod ljudi, gdje je vertikalni prijenos povezan s ozbiljnim perinatalnim ishodima. Kod pasa su ti podaci još uvijek ograničeni i temelje se uglavnom na pojedinačnim opisima slučajeva, u kojima su određeni serovari – poput *L. interrogans* serovar Bratislava i Buenos Aires – povezani s reproduktivnim poremećajima (Rossetti i sur, 2005).

Zbog velike genetske raznolikosti i sposobnosti prilagodbe, dijagnostika i tipizacija leptospira predstavljaju izazov. Danas se koriste dva klasifikacijska sustava: serološki i molekularni. Serološka klasifikacija, koja se temelji na antigenskim razlikama u lipopolisaharidnim ovojnicama, koristi metodu unakrižne aglutinacije-adsorpcije (CAAT), s osnovnom jedinicom serovar (Hartskeerl i sur, 2004). Međutim, zbog složenosti i ograničenja te metode – osobito unutar serološke skupine *Grippotypophosa* – sve više se razvijaju molekularne alternative.

Molekularna klasifikacija, iako ne donosi sve epidemiološke podatke poput serotipizacije, omogućuje procjenu genetske povezanosti sojeva. Najčešće korištene metode uključuju elektroforezu u pulsirajućem gelu (PFGE), koja se smatra zlatnim standardom za tipizaciju serovara, ali zahtijeva sofisticiranu opremu i čistu DNK (Galloway i Levett, 2008). Dodatne metode poput MLVA i MLST nude dobru razlučivost među patogenim vrstama (Ahmed i sur, 2006; Boonsilp i sur, 2013; Varni i sur, 2018), iako su ograničene kod usko srodnih izolata (Caimi i sur, 2020).

Za višu razinu razlučivosti razvijen je *core genome* MLST (cgMLST), koji obuhvaća 545 gena iz 42 vrste *Leptospira*, uključujući 26 seroloških skupina i 73 serovara. Ova metoda omogućuje preciznije određivanje sekvencijskih tipova i klonalnih grupa (Guglielmini i sur, 2019; Grillova i sur, 2023). Molekularna epidemiologija tako postaje ključna za razumijevanje širenja bolesti, kliničkih ishoda i povezanosti sojeva s geografskim i prijenosnim obrascima (Caimi i sur, 2020).

Dijagnostički izazovi u kontekstu leptospire kao uzroka pobačaja kod kuja posebno dolaze do izražaja zbog široke heterogenosti kliničkih slika, nespecifičnih laboratorijskih nalaza te ograničene pouzdanosti seroloških testova, osobito u vakciniranih jedinki. Unatoč dostupnosti molekularnih metoda, njihova primjena u dijagnostici reproduktivnih poremećaja i dalje je sporadična. S obzirom na navedeno, potrebno je sustavno razmotriti leptospirozu kao potencijalni etiološki čimbenik pobačaja kod kuja, posebice u uzgojnim populacijama i endemskim područjima.

Etiologija i epidemiologija

Etiologija leptospiroze vezana je uz bakterije roda *Leptospira*, porodice *Leptospiraceae* i reda *Spirochetales* (Paster i sur, 1991). Ove bakterije pokazuju iznimnu sposobnost prilagodbe domaćinu i okolišu, što rezultira velikom heterogenošću. Klasifikacija leptospira se temelji na antigenim i genskim obilježjima, no serološki i genomski sustav nisu uvijek u istom međudnosu. Serološki sustav koristi antigene lipopolisaharida vanjske ovojnice, dok molekularna tipizacija donosi veću rezoluciju.

Leptospiroza u pasa rijetko se razmatra kao diferencijalna dijagnoza kod reproduktivnih poremećaja, iako postoji potencijal za uzrokovanje pobačaja i fetalnih gubitaka. Ipak, prisutnost patogena u krvi tijekom bakterijemijske faze te mogućnost kronične renalne kolonizacije omogućuju transplacentalni prijenos ili hematogenu diseminaciju u reproduktivne organe. Neki serovari, poput Bratislave, pokazali su tropizam prema reproduktivnom traktu kod svinja i konja, što podupire hipotezu o mogućem sudjelovanju u gubitku graviditeta i kod pasa (Bernard i sur, 1993). Epidemiološka obilježja pobačaja uzrokovanih leptospirozom u populaciji pasa još nisu definirana, no sporadični slučajevi i ukazuju na potrebu uključivanja leptospiroze u diferencijalnu dijagnozu pobačaja. Posebno se to odnosi na kuje koje borave u endemskim područjima nakon izlaganja okolišnim izvorima infekcije.

Leptospire u okolišu opstaju stvaranjem biofilma, što im omogućuje otpornost na nepovoljne uvjete i antimikrobne agense (Thibeaux i sur, 2020). Njihova stabilnost u vodi i tlu, osobito u toploj i vlažnoj klimi, razlog je češće pojave bolesti u tropskim krajevima. Epidemije su često povezane s poplavama i izlaganjem kontaminiranim vodama (Wynwood i sur, 2014; Karpagam i sur., 2020; Bierque i sur, 2020).

Ulogu u širenju imaju različite životinjske vrste: ljudi se smatraju slučajnim domaćinima, goveda i svinje evolucijskim domaćinima za određene serovare poput Hardjo (Leonard i sur, 1992), dok su glodavci, posebno štakori, glavni rezervoari serovara *Icterohaemorrhagiae*.

Molekularna epidemiologija omogućuje dublje razumijevanje prijenosa kombiniranjem genetskih podataka s kliničkim ishodima. U Hrvatskoj je prvi put potvrđeno prisustvo serovara Copenhageni, odgovornog za teže kliničke slike i lošije ishode, dok je serovar Mozdok povezan s blažim tijekom bolesti (Zečević, 2024). Ovo naglašava potrebu prilagodbe antigenskih panela i postojećih cjepiva.

Epidemiološki, leptospiroza ostaje značajna reemergenta zoonoza. Učinkovita kontrola bolesti zahtijeva integrirani pristup koji uključuje cijepljenje, suzbijanje glodavaca, nadzor rezervoara i uključivanje leptospire u dijagnostičke protokole reproduktivnih poremećaja u pasa.

Patogeneza

Patogeneza leptospiroze je složen proces u kojem sudjeluju brojni čimbenici virulencije bakterije i imunološki odgovori domaćina. Leptospire ulaze u organizam kroz sluznice ili oštećenu kožu. Zahvaljujući pokretljivosti i specifičnom tipu kretanja brzo prolaze tkivne barijere, ulaze u krvotok i šire se hematogeno u ciljne organe (Johnson i sur, 2018). Površinski proteini poput LipL32, OmpL1 i Lig proteina omogućuju vezanje na stanice domaćina te pridonose izbjegavanju imunološkog odgovora (Yang i sur, 2002; Ristow i sur, 2007). Primarni patogenetski proces uključuje oštećenje endotela krvnih žila s posljedičnom ishemijom i nekrozom u jetri, bubrezima i plućima (Nascimento i sur, 2004). Dodatno, pretjerana proizvodnja citokina (IL-6, IL-10, TNF- α) dovodi do pojačane upalne destrukcije tkiva (Cagliero i sur, 2018). Leptospire mogu formirati biofilm koji im omogućava preživljavanje i otpornost na imunski odgovor. Težina bolesti ovisi o infektivnoj dozi, serovaru i imunološkom statusu psa.

U gravidnih kuja leptospire prolaskom kroz hematogenu barijeru dopijevaju do placentе. Infekcija placentе uzrokuje placentitis i prekid opskrbe fetusa hranjivim tvarima i kisikom, što može rezultirati resorpcijom plodova, mrtvorođenošću ili pobačajem. Osim izravnog citotoksičnog djelovanja, važnu ulogu imaju vaskulitis i imunoposredovani procesi koji kompromitiraju održavanje trudnoće. Ishod ovisi o stadiju graviditeta u kojem dođe do infekcije – u ranoj trudnoći češće dolazi do resorpcije, dok kasnije infekcije rezultiraju pobačajem ili rađanjem avitalnih štenaca.

Klinička slika

Klinička slika leptospiroze u pasa ovisi o imunološkom statusu domaćina, infektivnoj dozi i virulenciji uzročnog soja. Infekcija može proći nezapaženo ili dovesti do teških septikemijskih oblika s otkazivanjem bubrega i/ili plućnim hemoragijskim sindromom, često uz visoku smrtnost. Određeni serovari uzrokuju teže oblike bolesti, iako razlozi za to još nisu u potpunosti razjašnjeni. Inkubacija obično traje od 5 do 15 dana.

Etiološka dijagnoza najčešće se postavlja kod pasa s izraženim kliničkim znakovima, osobito kada je prisutna akutna bubrežna ozljeda (AKI) i oštećenje jetre (Schuller et al., 2015). Jetreno i bubrežno oštećenje nerijetko se javljaju istovremeno (hepatorenalni sindrom), ali mogu biti i odvojeni entiteti (Rahman i sur., 2021.). Jetrena patologija najčešće poprima oblik kolestatske hepatopatije, dok se bubrezi zahvaćaju u vidu tubulointersticijskog nefritisa.

Tipični simptomi uključuju povišenu temperaturu, letargiju, smanjenu volju za kretanjem (često zbog bolnosti mišića), anoreksiju, povraćanje, poliuriju/polidipsiju i abdominalnu bol. Može se razviti oligurija, a u težim slučajevima i anurija. Ikterus je prisutan u nekim slučajevima, ali nije obavezan znak.

Sve češće se kod pasa bilježi leptospiroza s izraženim plućnim manifestacijama u obliku leptospiroznog plućnog hemoragijskog sindroma (LPHS), koji nosi lošu prognozu i visoku smrtnost (Klopfleisch i sur, 2010; Kohn i sur, 2010; Major

i sur, 2014). LPHS karakteriziraju alveolarna krvarenja, edem, nakupljanje fibrina i oštećenje alveolarne funkcije (Medeiros i sur, 2010; Sykes i sur, 2023). Klinički se manifestira tahipnejom, otežanim disanjem, hemoptizom i epistaksom, uz hipoksemiju i anemiju. Rendgenološki se uočava izraženi bronhointersticijski i alveolarni crtež.

Kod teških oblika bolesti često se razvija sklonost krvarenjima, najčešće uslijed diseminirane intravaskularne koagulopatije, prisutne u 20–50 % slučajeva (Barthelemy i sur, 2020). Krvarenja se očituju u obliku epistakse, hematurije, melene, petehija i ekhimoza.

U gravidnih kuja leptospiroza može izazvati reproduktivne smetnje poput resorpcije plodova, mrtvorođenosti ili pobačaja, naročito u drugom dijelu graviditeta. Smatra se da infekcija placente i fetusa te sistemska upala doprinose gubitku plodova, iako simptomi često izostaju ili ostaju nezapaženi (Goldstein, 2010; Schuller i sur, 2015).

Tabela 1. Organski sustavi, kliničko očitovanje i dijagnostički parametri

Organski sustav	Kliničko očitovanje	Dijagnostički parametri
Gušterača (Pankreatitis)	Povraćanje, proljev, abdominalna bol	Povišenje amilaze i lipaze (lipaza DGGR)
Srce (Miokarditis)	Aritmije	Poremetnje u EKG-u, povišenje serumskog troponina
Krvožilni sustav (Vaskulitis)	Periferni edemi, izljevi u pleuralnu i abdominalnu šupljinu	Rendgenološki vidljivi izljevi
Reproduktivni sustav	Pobačaji, neplodnost	
Lokomotorni sustav (Miozitis)	Opća slabost ekstremiteta	Povišenje kreatin – kinaze (CK)

Dijagnostika

Dijagnosticiranje leptospiroze kod pasa predstavlja izazov zbog nespecifičnih kliničkih znakova i širokog spektra mogućih diferencijalnih dijagnoza. Sumnja na infekciju temelji se na anamnezi (kontakt s vodom stajaćicom, glodavcima), kliničkoj slici te laboratorijskim pokazateljima, osobito prisutnosti akutne bubrežne i/ili jetrene disfunkcije (Goldstein, 2010). Rutinske hematološke i biokemijske analize često pokazuju leukocitozu s neutrofilijom i pomakom ulijevo, azotemiju, hiperfosfatemiju, povećanje jetrenih enzima, hipoalbuminemiju i metaboličku acidozu. Kompletna klinička obrada uključuje i slikovnu dijagnostiku kod koje su najčešće patološke promjene vidljive na plućnom parenhimu.

Obzirom na raznolikost kliničkih pojavnosti bolest je potrebno potvrditi i objektivnim metodama dijagnostike kojim dokazujemo uzročnika ili prisustvo specifičnih protutijela.

Specifična protutijela u krvi oboljelih pasa mogu se otkriti već od 5. do 7. dana bolesti, primjenom različitih seroloških metoda kao što su mikroskopska aglutinacija (MAT), imunoenzimski testovi (ELISA), testovi vezanja komplementa i sl. Referentna i najpouzdanija metoda serološke dijagnostike leptospiroze je MAT, razvijen još 1918. godine (Martin i Pettit, 1918.), kojim se utvrđuje prisutnost IgM i IgG protutijela u serumu.

MAT omogućuje kvalitativno utvrđivanje prisutnosti protutijela prema određenom serovaru, ali i kvantifikaciju njihovog titra. Kvantitativni dio testa provodi se serijskim dvostrukim razrjeđenjima ispitivanog seruma, pri čemu se određuje najveće razrjeđenje koje još uvijek pokazuje aglutinaciju za svaki pojedini antigen iz panela. Panel antigena koji se koristi u MAT-u sastoji se od odabranih referentnih sojeva, a njegov sastav ovisi o epizootiološkoj situaciji i prevalenciji pojedinih serovara u određenoj regiji. Panel se može prilagoditi vrsti domaćina (pse, goveda, svinje, ljude) kako bi se povećala dijagnostička preciznost (Dikken i Kmety, 1978.). Unatoč prednostima MAT ima i brojne nedostatke kao što su kompleksnost izvođenja, otežana standardizacija i unakrižne reakcije između seroloških skupina.

Lančana reakcija polimerazom (engl. *Polymerase chain reaction*, PCR) i lančana reakcija polimerazom u stvarnom vremenu (engl. *Real Time-PCR*) su osnovne molekularne metode koje koristimo u dijagnostici leptospiroze. Ovim molekularnim metodama dokazuje se prisutnost genetskog materijala leptospira u krvi, cerebrospinalnoj tekućini i većini parenhimskih organa. Histopatološka analiza fetoplacentarnih tkiva može pružiti dodatne informacije, osobito u slučajevima pobačaja u kasnoj gestaciji.

Tabela 2. Dijagnostičke metode za leptospirozu – prednosti i ograničenja

Metoda	Tip uzorka	Vrijeme detekcije	Prednosti	Ograničenja
MAT	Serumi	7+ dana nakon infekcije	Dostupno, standardizirano	Postvakcinalna protutijela, križne reakcije
PCR	Krv, urin, tkiva	0–10 dana (akutna faza)	Visoka osjetljivost, rana dijagnoza	Cijena, dostupnost
Histopatologija	Placenta, fetus	Post mortem	Direktna vizualizacija lezija	Nedostupno u većini ordinacija
Imunohistokemija	Placenta, fetus	Post mortem	Specifična detekcija leptospira	Zahtijeva specijalizirani laboratorij

Liječenje i prevencija

Liječenje leptospiroze temelji se na antimikrobnoj terapiji, potpornoj skrbi te, u slučajevima teških kliničkih oblika, primjeni invazivnijih medicinskih postupaka poput dijalize. Leptospire su osjetljive na širok spektar antimikrobnih pripravaka, uključujući β -laktamske antibiotike, makrolide, tetracikline, fluorokinolone i aminoglikozide. Kod težih oblika bolesti preporučuje se kombinirana antimikrobna terapija.

Terapijski protokol obično započinje primjenom penicilinskih pripravaka, po mogućnosti intravenskim putem, s ciljem kontrole bakterijemije u ranoj fazi bolesti. Nakon stabilizacije kliničkog stanja, prelazi se na tetracikline radi eradikacije bakterija iz bubrežnog tkiva i prevencije kroničnog izlučivanja leptospira, odnosno razvoja kliconoštva (Faine et al., 1999). Međutim, izlučivanje uzročnika moguće je i nakon završene antibiotske terapije (Mauro i Harkin, 2019), zbog čega je ključno osigurati pravilnu i potpunu provedbu liječenja. Optimalno trajanje terapije još uvijek nije precizno definirano i zahtijeva daljnja istraživanja.

Opće preventivne mjere kod zoonoza sa prirodnim žarištem teško je u potpunosti provesti. Ključni elementi kontrole uključuju suzbijanje glodavaca kao glavnih rezervoara infekcije te nadzor nad subklinički zaraženim domaćim i divljim životinjama. Učinkovita provedba ovih mjera zahtijeva razumijevanje ekoloških, epidemioloških i socio-kulturnih čimbenika unutar zahvaćene zajednice.

Imunoprofilaksa predstavlja važan alat u kontroli bolesti, osobito u pasa, svinja i goveda. Dostupna cjepiva sadrže inaktivirane cijele bakterijske stanice, ali pružaju kratkotrajnu i serovarski specifičnu zaštitu, zbog čega unakrsna imunost između seroloških skupina najčešće izostaje. U Europi su u uporabi uglavnom bivalentna i četverovalentna cjepiva, koja sadrže serovare *Icterohaemorrhagiae*, *Canicola*, *Grippotyphosa*, *Sejroe* ili *Bratislava*.

ZAKLJUČAK

Leptospiroza predstavlja relevantan, ali nedovoljno prepoznat potencijalni uzrok reproduktivnih poremećaja kod pasa, uključujući pobačaje, mrtvorodenost i embrionalne resorpcije. Iako su dostupni dokazi još uvijek ograničeni i nerijetko neizravni, sve veći broj kliničkih zapažanja i slučajeva u praksi upućuje na potrebu za ozbiljnijim razmatranjem ovog patogena u dijagnostičkom algoritmu kod gravidnih kuja. Doktori veterinarske medicine bi trebali uključiti leptospiru u diferencijalnu dijagnozu reproduktivnih poremećaja, osobito u uvjetima poznate izloženosti riziku i u endemskim regijama. Dijagnostički protokoli trebali bi kombinirati serološke i molekularne metode, uz što precizniju interpretaciju nalaza u kontekstu anamneze, cijepnog statusa i dostupnosti fetalnog materijala za analizu. Preventivne mjere, uključujući redovitu vakcinaciju, suzbijanje glodavaca i biosigurnosne protokole u uzgojnim jedinicama, ostaju ključne za smanjenje incidencije infekcije. Edukacija veterinarima i vlasnika pasa o važnosti leptospiroze kao potencijalnog reproduktivnog patogena pridonijet će pravovremenoj dijagnostici i učinkovitijoj kontroli bolesti. Potrebna su dodatna znanstvena istraživanja, osobito prospektiv-

ne studije koje bi uključivale analizu većeg broja gravidnih kuja, kako bi se utvrdila stvarna prevalencija i patogenetski mehanizmi djelovanja leptospira u kontekstu graviditeta. Time bi se osigurali bolji temelji za formulaciju smjernica i unapređenje veterinarske skrbi u području reprodukcije pasa.

LITERATURA

1. Adler B, de la Peña Moctezuma A, 2010, *Leptospira* and leptospirosis. Vol. 140, *Veterinary Microbiology*, 87–96.
2. Ahmed N, Manjulata S,†1 D, De Los Á Valverde M, Vijayachari P, Machang'u RS, et al., 2006, Multilocus sequence typing method for identification and genotypic classification of pathogenic *Leptospira* species, *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 5:28.
3. Barthélemy A, Violé A, Cambournac M, Rannou B, Bonnet-Garin JM, Ayoub JY, et al., 2020, Hematological and Hemostatic Alterations Associated With a Single Extracorporeal Renal Replacement Therapy in Dogs With Acute Kidney Injury Associated Leptospirosis: A Pilot Study, *Top Companion Anim Med*, 1:38.
4. Bernard WV, Bolin C, Riddle T, Durando M, Smith BJ, Tramontin RR, 1993, Leptospiral abortion and leptospiuria in horses from the same farm, *J Am Vet Med Assoc*, 202(8):1285-1286.
5. Bierque E, Thibeaux R, Girault D, Soupé-Gilbert ME, Goarant C, 2020, A systematic review of *Leptospira* in water and soil environments. *PLoS One*, 15(1).
6. Boonsilp S, Thaipadungpanit J, Amornchai P, Wuthiekanun V, Bailey MS, Holden MTG, et al., 2013, A Single Multilocus Sequence Typing (MLST) Scheme for Seven Pathogenic *Leptospira* Species, *PLoS Negl Trop Dis*, 7(1).
7. Cagliero J, Villanueva SYAM, Matsui M, 2018, Leptospirosis Pathophysiology: Into the Storm of Cytokines, *Front Cell Infect Microbiol*, 8:204.
8. Caimi K, Ruybal P, Agrobiotecnología I De, labimo M, Nacional I, Agropecuaria DT, et al, 2020, Infection, Genetics and Evolution *Leptospira* spp., a genus in the stage of diversity and genomic data expansion, *Infect Genet Evol*, 81:104241.
9. Dikken H, Kmety E, 1978, Serological typing methods of leptospires. In: *Methods in Microbiology*, Bergan T. and Norris J. R eds, New York: Academic Press, 259-307.
10. FAINE S, ADLER B, BOLIN C, PÉROLAT P, 1999, *Leptospira* and Leptospirosis, Second Edition, MediSci, Melbourne, Australia.
11. Goldstein RE, 2010, Canine Leptospirosis, *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 40(6):1091-1101.
12. Grillova L, Cokelaer T, Mariet JF, da Fonseca JP, Picardeau M., 2023, Core genome sequencing and genotyping of *Leptospira* interrogans in clinical samples by target capture sequencing, *BMC Infect Dis*, 23(1).
13. Guglielmini J, Bourhy P, Schiettekatte O, Zinini F, Brisse S, Picardeau M., 2019, Genus-wide *Leptospira* core genome multilocus sequence typing for strain taxonomy and global surveillance. *PLoS Negl Trop Dis*, 1:13(4).
14. Hartskeerl RA, Goris MGA, Brem S, Meyer P, Kopp H, Gerhards H, et al., 2004, Classification of *Leptospira* from the Eyes of Horses Suffering from Recurrent Uveitis, *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*, 51(3):110-115.
15. Johnson DI, 2018, *Bacterial pathogens and their virulence factors* Cham, Switzerland, Springer.
16. Karpagam KB, Ganesh B, 2020, Leptospirosis: a neglected tropical zoonotic infection of public health importance—an updated review, Vol. 39, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, Springer, 835–46.
17. Klopfeisch R, Kohn B, Plog S, Weingart C, Nckler K, Mayer-Scholl A, et al., 2010, An emerging pulmonary haemorrhagic syndrome in dogs: Similar to the human leptospiral pulmonary haemorrhagic syndrome? *Vet Med Int*, 2010:928541.
18. Knöpfler S, Mayer-Scholl A, Luge E, Klopfeisch R, Gruber AD, Nöckler K, et al., 2017, Evaluation of clinical, laboratory, imaging findings and outcome in 99 dogs with leptospirosis. *J Small Anim Pract*, 58(10):582–8.

19. Kmety E, Dikken H, 1993, Classification of the Species *Leptospira* Interrogans and History of Its Serovars, University Press Groningen, Groningen, Nizozemska
20. Kohn B, Steinicke K, Arndt G, Gruber AD, Guerra B, Jansen A, et al., 2010, Pulmonary Abnormalities in Dogs with Leptospirosis. *J Vet Intern Med*, 24(6):1277–82.
21. Korba A, Lounici A, Kainiu H, Vincent M, Mariet AT, Veyrier JF, Goarant FJ, Picardeau M, 2021, *Leptospira ainlahdjerensis* sp. nov., *Leptospira ainazelensis* sp. nov., *Leptospira abararensis* sp. nov. and *Leptospira chreensis* sp. nov., four new species isolated from water sources in Algeria, *Int. J Sys Evol Microbiol*, 71(12).
22. Major A, Schweighauser A, Francey T, 2014, Increasing incidence of canine leptospirosis in Switzerland. *Int J Environ Res Public Health*, 11(7):7242–60.
23. Martin L, Pettit A, 1918, Sero-diagnostic de la spirochaetose icterohaemorrhagique. Bulletin et Mémoires de la Société Médicale des Hôpitaux de Paris, 42, 672-675.
24. Mauro T, Harkin K, 2019, Persistent Leptospirosis in Five Dogs Despite Antimicrobial Treatment (2000–2017), *J Am Anim Hosp Assoc*, 55(1):42–7.
25. Medeiros F da R, Spichler A, Athanazio DA, 2010, Leptospirosis-associated disturbances of blood vessels, lungs and hemostasis, Vol. 115, *Acta Tropic*, 155–62.
26. Paster BJ, Dewhirst FE, Weisburg WG, et al., 1991, Phylogenetic analysis of the spirochetes, *J Bacteriol*, 173(19):6101-6109.
27. Rahman SA, Khor KH, Khairani-Bejo S, Lau SF, Mazlan M, Roslan A, et al, 2021, Detection and characterization of *Leptospira* spp. in dogs diagnosed with kidney and/or liver disease in Selangor, Malaysia. *J Vet Diagnostic Investig*, 33(5):834–43.
28. Ristow P, Bourhy P, da Cruz McBride FW, et al., 2007, The OmpA-like protein Loa22 is essential for leptospiral virulence, *PLoS Pathog*, 3(7):e97.
29. Rossetti CA, Liem M, Samartino LE, Hartskeerl RA, 2005, Buenos Aires, a new *Leptospira* serovar of serogroup Djasiman, isolated from an aborted dog fetus in Argentina, *Vet Microbiol*, 107(3-4):241-248.
30. Schuller S, Francey T, Hartmann K, Hugonnard M, Kohn B, Nally JE, et al., 2015, European consensus statement on leptospirosis in dogs and cats. Vol. 56, *J Small Anim Pract*, 159–79.
31. Sykes JE, Francey T, Schuller S, Stoddard RA, Cowgill LD, Moore GE, 2023, Updated ACVIM consensus statement on leptospirosis in dogs, *J Vet Intern Med*, 37(6):1966–82.
32. Taylor AJ, Paris DH, Newton PN, 2015, A systematic review of the mortality from untreated leptospirosis, *PLoS Negl Trop Dis*, 25;9(6).
33. Thibeaux R, Soupé-Gilbert ME, Kainiu M, Girault D, Bierque E, Fernandes J, et al., 2020, The zoonotic pathogen *Leptospira interrogans* mitigates environmental stress through cyclic-di-GMP-controlled biofilm production, *npj Biofilms Microbiomes*, 1;6(1).
34. Vincent AT, Schiettekatte O, Id CG, Neela VK, Bernet E, Thibeaux R, et al., 2019, Revisiting the taxonomy and evolution of pathogenicity of the genus *Leptospira* through the prism of genomics, *PLoS Negl Trop Dis*.
35. Wynwood SJ, Graham GC, Weier SL, Collet TA, McKay DB, Craig SB, 2014, Leptospirosis from water sources, *Pathog Glob Health*, 108(7):334–8.
36. Yang CW, Wu MS, Pan MJ, Hsieh WJ, Vandewalle A, Huang CC, 2002, The *Leptospira* outer membrane protein LipL32 induces tubulointerstitial nephritis-mediated gene expression in mouse proximal tubule cells, *J Am Soc Nephrol*, 13(8):2037-2045.
37. Zečević I, 2024, Ciljno sekvenciranje ključnih regija genoma bakterije *Leptospira* spp. i predviđanju kliničke slike i ishoda bolesti u pasa, Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.