

**СЕРОЛОГИЧНИ ПРОУЧВАНИЯ ВЪРХУ РАЗПРОСТРАНЕНИЕТО НА  
БРУЦЕЛОЗАТА СРЕД ДИВИ ЗАЙЦИ (*LEPUS EUROPAEUS*, LINNAEUS, 1758) В  
БЪЛГАРИЯ**

**Анетка Трифонова, Росен Мирчев**

*Национална научноизследователска станция по ловно стопанство, биология и болести на дивеча, 1528, гр.София, България, бул. "Искърско шосе" №5; e-m@il: [apth@abv.bg](mailto:apth@abv.bg)*

**SEROLOGICAL SURVEYS ON THE PREVALENCE OF BRUCELLOSIS IN EUROPEAN  
BROWN HARE (*LEPUS EUROPAEUS*, LINNAEUS, 1758) FROM BULGARIA**

**Anetka Trifonova, Rossen Mirchev**

*National Research Station of Game Management, Biology and Pathology, 5 "Iscarsko shose"  
Blvd., 1528 Sofia, Bulgaria, e-mail: [apth@abv.bg](mailto:apth@abv.bg)*

**ABSTRACT**

In recent years there has been growing interest in the populations of european brown hares (*Lepus europaeus*, Linnaeus, 1758), caused by the continued decline of the stock in many hunting areas. Brucellosis, a bacterial disease as primarily chronic in nature, affecting the reproductive system of animals would lead to a reduction in the number of affected species. This drew our attention to monitoring the health of european brown hares in different hunting areas.

The main goal of our study was to determine the prevalence of brucellosis in european brown hares in some areas of the country by applying serological methods: Rose Bengal test (RBT) and complement fixation test (CFT) recommended for the serological diagnostics of brucellosis in pigs.

Samples were collected in the period 2009-2012 years, during hunting trips conducted in 145 hunting areas from 17 districts of the country.

With RBT were tested 332 blood serums. Presence of agglutinin were detected in 15 (4.5%) of the surveyed hares. Positive with CFT is 1.9% of the tested. The results show the presence of the disease in nature, individual cases, in various regions of the country.

The presence of serologically positive hares from northern Bulgaria, corresponds to the findings with taxation data and direct observations significantly reduced stock and proves unequivocally that brucellosis is the main reason for reducing its numbers in the studied hunting areas.

It is conducting further epidemiological studies, to determine the degree of risk of the spread of this infection, and further study of other important biological factors affecting populations of wild rabbits.

**Keywords:** hare, brucellosis, serological survey, Bulgaria.

**УВОД**

Дивият заек (*Lepus europaeus*, Linnaeus, 1758) е един от основните видове дивеч в България. През последните години се наблюдава нарастващ интерес към състоянието на популациите, породен от трайното намаляване на числеността му в много ловностопански райони. Запасът на дивия заек у нас през 2012 година е около 34% от този през 1974 година. Въпреки, че таксационните данни за последното десетилетие показват стабилизиране на количествата, ползването му бележи спад от 5,9% през 2004 година до 3,7% през 2011 година.

Дивите зайци са възможни преносители на патогенни бактерии, някои от които имачи зоонозен потенциал. Този вид е и основен резервоар на *Brucella suis biovar 2*.

През 2002 година бруцелозната инфекция е установявана при сърни, европейски кафяв заек и диви свине в Андора, Австрия, Чехия, Италия, Холандия и Обединеното Кралство. В

Австрия бруцелоза е открита при домашни свине, като причинителя е установен и при европейския кафяв заек, обитаващ същия район. През 2004 година се потвърждава съществуването на този причинител сред популациите от див заек в Република Чехия. Във Франция инфекция с *Br. suis biovar 2* е открита едновременно при диви свине и диви зайци, а в Дания са установени три епизоотии по дивите свине, които са предшествани от появата на бруцелоза по дивите зайци. В проучвания на Corbel (1997), базирани на данни от МБЕ, се съобщава за отделни, спорадични случаи на бруцелоза при животните, причинени от *Br. suis*, на територията на България през 1994г. У нас Костов /1996/ установява епизоотичното значение на дивия заек, силната му възприемчивост към *Brucella suis biovar 2*. В доклад на Европейската агенция за безопасност на храните (EFSA) през 2009 година е посочено, че в 11 области на България са установявани серореагенти при домашни свине и полудивите свине от района на Лудогорието и Североизточна и Източна България.

През последните години няма положителни лабораторни резултати за *Brucella suis*, което не дава основание да смятаме, че тя не съществува в природата. Извън обхвата на Държавната профилактична програма за задължителните мерки за контрол на болестите по животните остават популациите от диви животни, възприемчиви към това заболяване.

### МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

За периода от 2009-2012 години са събрани проби от общо 526 бр. диви зайци. Пробонабирането е извършено в сътрудничество с ловнорибарските дружинки и е съобразено с провежданите от тях ловни излети в 145 ловностопански района от 17 области на страната. (Таблица 1)

Кръвни серуми са получени от 63,12% от отстреляните и постъпили в лабораторията диви зайци. Серумите са тествани с кит за диагностика на бруцелоза по свинете, включващ Роз Бенгал Тест и Набор РСК / Биофарм инженеринг – Сливен, Бул Био – София/. Роз Бенгал теста е извършен непосредствено след отделянето на серума, а резултатът е отчетен като положителен при образуване на клетъчни агрегати до четвъртата минута.

Чрез реакция за свързване на комплемента са изследвани всички налични серуми от диви зайци (319бр.). Тестовите са изпълнени по Стандартната оперативна процедура на Световната Организация за Здравеопазване на Животните (Brucellosos EU CFT SOP 2010), в микрвариант, със загряване на 58°C на водна баня, за инактивиране на собствения комплемент.

Данните за запаса на дивите зайци са на база ловна статистика /допустимите запаси от информационната система на ИАГ/, пролетни таксации, проведени от ловците по ловностопански райони и мониторинг на ПЛРС от служители на ННИСЛСББ. Числеността /плътността/ на дивеча е изчислена на база допустим запас и запас за 2012 година, спрямо общата площ на ловностопанските райони.

### РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Кръвните серуми от 322 бр. диви зайци са тествани с РБТ. Положително реагирани са 15 животни от шест области: Видин - наличие на аглутинини е отчетено в 3 от общо 8 тествани кръвни серума. В пет от областите (Сливен, Пазарджик, Шумен, Ямбол и Пловдив) - серопозитивни са съответно 1,7%, 3,4% 8,0%, 9,1% и 11,8% от тестваните диви зайци. (Таблица 1) Кръвните серуми на 70,8% от изследваните диви зайци са отрицателни за наличието на аглутинини.

Отчетен е голям брой проби, показали съмнителен резултат с РБТ общо 82 броя или 24,7% от общо тестваните проби. При 35,4 % не са установени антитела. При 63,4% от тях е отчетена висока комплементарна активност на тествания серум. Основната причина затова отдаваме на спецификата на лова, по-голямата вероятност от замърсяване на пробите или кръстосани реакции между видовете *Brucella* и други грам-отрицателни бактерии.

Възможно е установяване на фалшиви отрицателни резултати с RBT при серологично диагностициране на бруцелоза, дължащ се най-вече на факта, че имунния отговор зависи от стадия на инфекцията по време на вземане на пробата, поради което всички налични серуми са тествани с РСК. Наличие на комплементсвързващи антитела са отчетени при 6 диви зайци от две области: Пазарджик (4) и Хасково (2), Установените серологични титри са с ниски стойности. Няма серуми, при които едновременно да са отчетени положителни резултати от двата теста.

Област	Проби от диви зайци/бр./	Кр. серуми тествани с РБТ			Кр. серуми тествани с РСК		
		Брой	+	%	Брой	+	%
Благоевград	12	8	0	0,0	8	0	0,0
Бургас	39	12	0	0,0	12	0	0,0
Велико Търново	11	0	0	0,0	0	0	0,0
Видин	12	8	3	37,5	8	0	0,0
Враца	21	2	0	0,0	2	0	0,0
Добрич	19	0	0	0,0	0	0	0,0
Монтана	1	1	0	0,0	1	0	0,0
Пазарджик	40	29	1	3,4	29	4	13,8
Плевен	34	25	0	0,0	22	0	0,0
Пловдив	49	34	4	11,8	34	0	0,0
Русе	8	0	0	0,0	0	0	0,0
Силистра	29	27	0	0,0	24	0	0,0
Сливен	65	59	1	1,7	59	0	0,0
Стара Загора	46	28	0	0,0	28	0	0,0
Хасково	33	30	0	0,0	29	2	6,9
Шумен	47	25	2	8,0	25	0	0,0
Ямбол	59	44	4	9,1	38	0	0,0
<b>Общо</b>	<b>526</b>	<b>332</b>	<b>15</b>	<b>4,5</b>	<b>319</b>	<b>6</b>	<b>1,9</b>

Положително реагирани на серологичните тестове са животни, отстреляни в 11 ловностопански района от седем области на страната.

Съобщенията за наличие на серопозитивни зайци варира в широк диапазон от 0 до 17%. *Brucella sp.* е установявана при 2,7% от дивите зайци в Долна Австрия, в по-висок процент (4,5%) в североизточните райони и не е установявана в пограничните райони на Република Чехия.

Получените от нас резултати показват, че средно 4,5% от изследваните диви зайци са реагирани положително за наличие на аглутинини към *Brucella sp.*, а при 1,9% е установено наличие на комплемент свързващи антитела.

По данни на Европейската агенция за безопасност на храните (EFSA), за периода 1997-2005 година, 39 стада от 11 области на България са заразените с бруцелоза.

Фиг. 1 Области със засегнати от *Br. suis* стада домашни свине за периода 1997-2008г. (The EFSA Journal (2009) 1144, 84-112)



От 2006г. до 2008г не са установявявани серореагенти при домашни свине и полудивите свине. Получените резултати свидетелстват за присъствие на това заболяване в природата, макар и в единични случаи, в различни региони на страната. Преобладаващо серопозитивни диви зайци са открити в области Пазарджик, Пловдив, Сливен и Ямбол, където бруцелоза е серологично доказвана при домашни свине. За периода 2005-2007 е регистрирано нарастване на случаите на бруцелоза при хора и преживни животни, основно в хасковския регион.

Серологично положителни зайци установихме в област Шумен. В района се отглеждат стада от източно балканска свиня, за които от десетилетия се смята, че могат да изпълняват ролята на резервоар на *Brucella suis biovar 2*.

В литературата няма съобщения за случаи на бруцелоза при хора и животни от Северозападна България. През 2009 г. установихме положително реагирали на серологичните тестове диви зайци от област Видин.

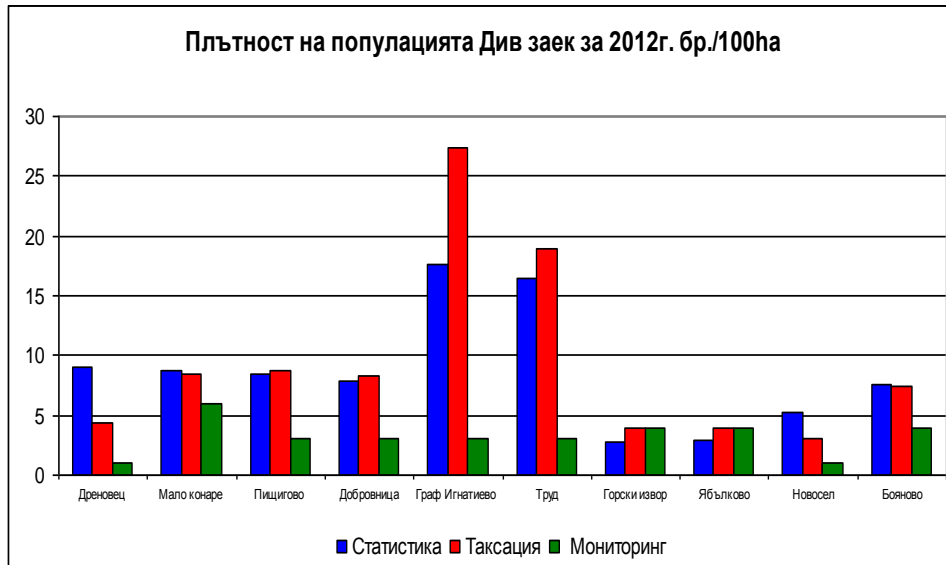
По данни на Христофоров, до 30% от бруцелозните свине развиват трайно бруцелозоносителство. Píkula and all (2005) установява, че природните огнища на бруцелоза при дивите зайци в Република Чехия, са се запазили в едни и същи географски райони в продължение на 30 години /1971-2000 година/. При нашето проучване серологично положителни проби от отстреляни диви зайци са отчетени през две последователни години в един ЛСР (ПЛСР Бояново, област Ямбол), както и от териториално близки такива в област Хасково (ПЛСР Горски извор и Ябълково).

Установихме наличие на серореагенти в райони с различна плътност на диви зайци. По данни от Ловната статистика, в ПЛСР с. Граф Игнатиево и с.Труд, област Пловдив, запаса на див заек е над допустимия за този вид дивеч.

Положителните проби са отчетени при диви зайци от ПЛСР Мало Конаре, Пищигово, Добровница, област Пазарджик. Популацията от див заек в тези ловностопански райони са близки до допустимия запас за този вид дивеч и без съществени колебания за периода 2009-2012 година.

Намаляване на запаса от див заек се наблюдава в ЛСР от Северна България, най-чувствително в ПЛСР Дреновец, област Видин, като числеността на дивите зайци през 2009-2012 г. е от 49% до около 62% от допустимия запас. Серологично тестваните проби показват наличие на аглутинини в три от общо осем изследвани проби през 2009 година. При

тестовите, проведени през 2011 година, не се установяват серореагенти, а по данни от ловната статистика, запасът на див заек, бележи спад през 2012 година с около 20% в сравнение с предходната година.



През последните две години се отчита тенденция към намаляване на запаса от див заек в ПЛСР с. Новосел, област Шумен, като през 2012 е с около 40% под допустимия такъв.

## ИЗВОДИ

Наличието на серологично положителни за *Brucella sp.* диви зайци от Северна България, кореспондира с установения, по таксационни данни и преки наблюдения, чувствително намален запас.

Установихме наличие на серореагенти в райони с висока за страната плътност на диви зайци, което потвърждава твърдението на други автори, че природните огнища на бруцелоза не са в зависимост от гъстота на тяхната популация.

Положително реагирани на тестовите диви зайци са предимно от области, където бруцелоза е серологично доказвана при домашни и източно балкански свине.

В предвид на това, че имунния отговор зависи от стадия на инфекцията по време на вземане на пробата и липсата на възможност за проследяване на статуса на дивите животни в динамика, целесъобразно е при мониторинг на бруцелозата при видовете дивеч, да се прилагат и двата серологични теста – РБТ и РСК.

Получените резултати свидетелстват за наличие на заболяването, макар и в единични случаи, в различни региони на страната и не доказва еднозначно, че бруцелозата е основната причина за намаляване на запаса в проучваните ловностопански райони.

## Литература

1. Желев Ч., 2013, Състояние на запаса на дивия заек в България, сп. "Гора", 5, 11-13.
2. Стефанова Д, Р. Мирчев, И. Тодев, Л. Бончев, А. Трифонова 2013, сп. "Гора", 5, 8-11.
3. Христофоров Л., 1972г., Проблеми в серодиагностиката на бруцелозата и някои въпроси на алергичната диагностика, Дисертационен труд за присъждане на научна степен «доктор на ветеринарномедицинските науки», Академия на селскостопанските науки, Ветеринарен институт по заразни и паразитни болести.
4. Alton G.G, Jones L.M, Pietz D.E. 1975, Laboratory techniques in brucellosis, Second edition, Published under the auspices of FAO and WHO, Geneva.
5. Bo Algers and all, 2009, Porcine brucellosis (*Brucella suis*), Specific Opinion of the Panel on Animal Health and Welfare, The EFSA Journal, 1144,1-112.

6. Corbel M.J., 1997, Brucellosis: an Overview, 1<sup>st</sup> International Conference on Emerging Zoonoses Jerusalem, Israel, Vol.3, No.2, 213-221
7. Picula J., Beklova M., Holesovska Z., Skocovska B., Treml F., 2005, Ecology of brucellosis of the European hare in the Czech Republic, Vet. Med. – Czech, 50, (3):105-109
8. Porcine brucellosis (*Brucella suis*), Specific Opinion of the Panel on Animal Health and Welfare, The EFSA Journal (2009)1144,1-112.
9. Russo G, Pasquali P, Nenova R, Alexandrov T, Ralchev S, Vullo V, Rezza G, Kantardjiev T, 2009, Reemergence of Human and Animal Brucellosis, Bulgaria, Emerging Infectious Diseases, Vol 15 Nf. 15, 314-315.
10. Treml F, Pikula J, Bandouchova H, Horakova J. 2007, European brown hare as a potential source of zoonotic agents. Veterinarni Medicina, 52, (10): 451-456
11. Winkelmayer R., M. Vodnansky, P. Paulsen, A. Gansterer, F. Treml, 2005, Explorative study on the seroprevalence of Brucella-, Francisella- and Leptospira antibodies in the European hare (*Lepus europaeus* Pallas) of the Austrian – Czech border region, Vet. Med. Austria / Wien. Tierärztl. Mschr. 92, 131 – 135.