Epidemiološko istraživanje značajnih zoonoza u pasa i procjena rizika za zdravlje ljudi

Mraović, Jelena

Master's thesis / Diplomski rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:178:483049

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Veterinary Medicine - Repository of PHD, master's thesis

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
VETERINARSKI FAKULTET

JELENA MRAOVIĆ

Epidemiološko istraživanje značajnih zoonoza u pasa i procjena rizika za zdravlje ljudi

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2016. godina

Diplomski rad je izrađen na Zavodu za veterinarsku ekonomiku i epidemiologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Predstojnica Zavoda za veterinarsku ekonomiku i epidemiologiju: prof. dr. sc. Marina Pavlak

Mentorica rada: prof. dr. sc. Marina Pavlak

Članovi povjerenstva za obranu diplomskog rada:

- Doc. dr. sc. Dean Konjević
- Doc. dr. sc. Denis Cvitković
- Prof. dr. sc. Marina Pavlak
- Prof. dr. sc. Ksenija Vlahović (zamjena)

Zahvala

Zahvaljujem se mentorici prof. dr. sc. Marini Pavlak te Zavodu za ekonomiku i epidemiologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu na pomoći i stručnom vodstvu pri izradi ovog rada.

SADRŽAJ RADA

1. Uvod 1
2. Hipoteza 5
3. Ciljevi rada 6
4. Materijali i metode 7
4.1. Istraživana populacija 7
4.2.Epidemiološki upitnik 7
4.3. SNAP®4Dx® Plus Test 7
4.4. Knott test 9
4.5. Primjenjene epidemiološke i statističke metode 9
5. Rezultati 10
6. Rasprava 17
7. Zaključak 21
9. Popis literature 23
10.Sažetak 28
11. Summary 29
12. Životopis 30

1. Uvod

Zoonoze su bolesti koje se prenose izravno ili neizravno sa životinja na ljude. Danas je poznato više od 200 zoonoza s različitim kliničkim znakovima koje zahtijevaju različiti epidemiološki pristupu otkrivanju i kontroli bolesti. Primjena epidemioloških postupaka u otkrivanju i kontroli zoonoza važan je čimbenik u području javnog zdravstva. Kontrola nekih zoonoza (trihineloza, ehinokokoza, bjesnoća i dr.) regulirana je propisima (zakoni, pravilnici, naredbe) i o njima postoje podaci o pojavi, širenju i rasprostranjenosti. To su prvenstveno bolesti koje je Svjetska organizacija za zdravlje životinja (Word Organisation for Animal Health, OIE) definirala kao bolesti od posebnog značaja jer predstavljaju opasnost po zdravlje ljudi i/ili dovode do značajnih ekonomskih gubitaka. Na OIE listi značajnih bolesti u 2016. godini nalazi se 118 bolesti životinja (OIE, 2016). Na navedenoj listi pas za dvije značajne bolesti, bjesnoću i ehinokokozu, predstavlja glavni rizični čimbenik za čovjeka. Međutim, postoje zoonoze pasa koje paspotencijalno može prenijeti na čovjeka.Za te zoonoze nema točnih podataka o proširenosti u populaciji pasa pa ostaje nepoznata činjenica koliko je pas stvarni rizični čimbnik za čovjeka. Neke od tih bolesti su granulocitna anaplazmoza, borelioza, erlihioza i srčana dirofilarioza.

Granulocitna anaplazmoza je bolest uzrokovana rikecijom vrste *Anaplasma phagocytophilum*, koja se prenosi krpeljom iz roda *Ixodes*. Kako anaplazmoza u pasa može često ostati neprepoznatljiva, ona predstavlja značajan javnozdrastveni problem. Osim toga, u endemskim područjimaprotutijela se ne moraju javiti kod svih inficiranih pasa te se serološkom pretragom ne moraju naći uvijek svi inficirani psi.(GRANICK i sur., 2009). U Europi seroprevalencija pasainficiranih s *A. phagocytophilum* je različita i kreće se od2,7% u Francuskoj (PANTCHEV i sur., 2009), 4,68% u Italiji (EBANI i sur., 2014), 5,2% u Finskoj (VERA i sur., 2014), 5,5 % u Rumunjskoj (MIRCEAN i sur., 2012), 7,9% u Mađarskoj (FARKAS i sur., 2014), 15,5% u Srbiji (POTKONJAK i sur., 2015) pa čak do 46 % u Bugarskoj (PANTCHEV i sur., 2015) i 56,5% u Austriji (KIRZ i sur., 2007).U Njemačkoj inficiranost s *A. phagocytophilum* utvrđena je u populaciji zdravih pasa u rasponu od 19,4 % (BARTH i sur., 2012) pa sve do 42% (KOHN i sur., 2011).

Borelioza je bolest čovjeka i životinja uzrokovana spiralnom bakterijom*Borrelia burgdorferi*, čiji je vektor krpelj *Ixodes ricinus.* Borelioza je u velikom dijelu Europe endemično prisutna. Prevalencija borelioze u pasa u Europi kreće se od oko 0,4% u

Mađarskoj (FARKAS i sur., 2014), 0,5 % u Rumunjskoj (MIRCEAN i sur., 2012), 1.1% u Francuskoj (PANTCHEV i sur.,2009), 1,47 % u centralnoj Italiji (EBANI i sur., 2014), 2,4% u Bugarskoj (PANTCHEV i sur., 2015), te oko 1,9 % (KRUPKA i sur.,2007) pa do 4,9% (BARTH i sur., 2012) u Njemačkoj, do čak 36% u Latviji (BERZINA i MATISE, 2013). U Srbiji je ustanovljena različita seroprevalencija u lovačkih pasa i pasa držanih u skloništima za pse (azilima). U azilima seroprevalencija borelioze je bila značajno manja (24,7%) nego u lovačkih pasa (31,2%) (OBRENOVIĆ i sur., 2015).

Dirofilarioza je bolest uzrokovana oblićima iz roda *Dirofilaria* (ANDERSON, 2000).Rod *Dirofilaria* jepodijeljen na dva podroda,podrodu *Dirofilaria* pripada *Dirofilaria immitis*, a podrodu *Nochtiella* pripada *Dirofilaria repens*(MANFREDI i sur., 2007). U prijenosu dirofilarija značajnu ulogu imaju komarciiz rodova *Culex*, *Aedes*, *Psorophora*, *Mansonia*i *Anopheles* koji su intermedijarni domaćini (MANFREDI i sur., 2007). *D. immitis* uzrokuje primarne lezije u pulmonalnim arterijama i parenhimu pluća, a najznačajnija klinička manifestacija bolesti u pasa je kongestivno zatajenje srca (cor pulmonale) (CANCRINI i GABRIELLI, 2007). Učestalost dirofilarije u pasa je visoka u vlažnim područjima gdje se mogu naći u velikom broju vektori. U Italiji, prvenstveno oko rijeke Po, bolest je ustanovljena u psa od 35% do 80 % (GENCHI i sur., 2007). U Sloveniji, Bugarskoj, Grčkoj i Turskoj prevalencija dirofilarijeiznosi od 2% do 17%, a u Rumunjskoj čak 65% (GENCHI i sur., 2007) te u Slovačkoj od 8% do 20% u zdravih pasa (MITERPÁKOVÁ i sur., 2010). Nešto manji broj seropozitivnih pasa ustanovljen je u Češkoj (9%) (SVOBODOVA i sur., 2006) i u Francuskoj (6.8%) (PANTCHEV i sur., 2009). U Njemačkoj prevalencija dirofilarije u zdravih pasa kreće se od 6.4 % (RÖHRIG i sur., 2011), pa čak do 31.1 % (KRUPKA i sur., 2007).

Sporadična istraživanja provedena u Hrvatskoj ukazuju na prisustvo serološki pozitivnih pasa na dirofilariju u pojedinim područjima Hrvatske. Prema podacima ŽIVIČNJAK i sur. (2006) seroprevalencijadirofilarije na području Istre je 16% dok je na području južne Hrvatske, oko Dubrovnika, dvostruko manja (8,0%). JURIĆ i sur.(2007) ustanovili su na području Istre u 143 pasa tartufara prisutnost protutijela za *D. Immitis*u 5,5% zdravih pasa.

Značajnu ulogu u prijenosu ovih bolesti imaju i vektori. Istraživanja prisutnosti pojedinih uzročnika ukazuju na visoku inficiranost vektora kako u urbanim tako i u ruralnim sredinama. Prema istraživanjima BECK i sur. (2010) *Borrelia burgdorferi* ustanovlejna je u visokom postotku, čak u 85,7% krpelja vrste *I. Ricinus*, dok je *Anaplasma phagocytophilum* prisutna u

21,4% pretraženih krpelja. U Finskoj u Helsinkiju prisutnost uzročnika u vektorima iznosi od 19% do 55% (u prosjeku 32%) (JUNTTILA i sur., 1999). Prisutnost uzročnika *A. phagocytophilum* u vektorima u Njemačkoj u urbanim parkovima iznosila je 2009 godine 13,3%, a 2010 godine 9,2% (SCHORN i sur., 2011). Vrlo visok postotak prisutnosti uzročnika *B. burgdorferi* (42.5%) i *A. phagocytophilum* (13,9 %) u vektorima zabilježen je i u Srbiji (MILUTINOVIĆ i sur., 2008), te također na granici Italije i Slovenije gdje je ustanovljeno da je od 11,8% do 45,5% pregledanih krpelja bilo inficirano s *B. burgdorferi*, a samo 1,6% s *A. phagocytophilum* (MENARDI i sur., 2008).

Ove zoonoze u pasa često ostanu neprepoznatljive jer pas u velikom broju slučajeva ne pokazuje kliničke znakove bolesti. Istovremeno, pas može prenijeti bolest na čovjeka. Razmatrajući blizinu i prisnost čovjeka i psa, pas predstavlja važan čimbenik u ekologiji i epidemiologiji ovih bolesti te time i javnozdravstveni problem,posebno kada je riječ o boreliozi, dirofilariozi i anaplazmozi. Poznato je da se borelioza u ljudi vrlo često manifestira kao neuroborelioza (KAISER, 1998;HENNINGSSON i sur., 2010), a psi predstavljaju sentinel životinje za humanu boreliozu (DUNCAN i sur., 2004).U Švedskoj od 150 slučajeva neuroborelioze u 17% pacijenata nije bilo imunološkog odgovora, ali je uzročnik nađen u cerebrospinalnoj tekućini (HENNINGSSON i sur., 2010). Istraživanja BATINAC i sur. (2007) ukazuju da je borelija povezana s etiologijom multiple skleroze, kronične bolesti CNS-a koju karakterizira kronična inflamacija i demijelinizacija. Prevalencija ove bolesti bila je u korelaciji s distribucijom *B. burgdorferi* (BATINAC i sur., 2007). Seroprevalencija borelioze u pasa značajno korelira s pojavom borelioze u čovjeka (JOHNSON i sur., 2004). Na to ukazuje istraživanje provedeno u Nizozemskoj gdje je seroprevelencija borelioze ustanovljena u lovnih pasa (18%) kao i u vlasnika tih pasa (lovaca) (15%). Također se pokazalo da nema velike razlike između seroprevalencije u lovnih pasa i pasa kućnih ljubimaca (17%) (GOOSSENS, i sur., 2001;ROHRBACH i sur., 2011). Procjena seroprevelancije borelioze u pasa najvažnija je mjera koja pomaže u evaluaciji promjena u prevalenciji bolesti u određenim područjima i u procjeni rizičnog čimbenika za čovjeka. Preventiva kod ovih bolesti podrazumijeva stalni nadzor pasa i primjenu repelentnih pripravaka.Kako bi stalni nadzor pasa bio moguć potrebno je ustanoviti točan broj invadiranih pasa u populaciji (BHIDE i sur., 2004).

Na važnost procjene pasa kao rizičnog čimbenika za pojavu humane dirofilarioze ukazuje činjenica da humana dirofilarioza također često ostane neprepoznatljiva i asimptomatska. U Japanu je od 24 slučaja humane plućne dirofilarije 67% bilo asimptomatsko i u 83% imali su

samo povećane limfne čvorove (MIYOSHI i sur., 2006). Dirofilarija je u ljudi izazivala male lezije na plućima (veličine novčića) koje su kasnije povezane s neoplastičnim promjena i granulomima. Navedeni slučajevi u ljudi bili su povezani s asimptomatskim oblikom dilafilarije u pasa. Značajan javnozdravstveni problem dilofilarioze u pasa je taj što psi često ne pokazuju znakove bolesti, a predstavljaju izvor ili rezervoar uzročnika za čovjeka.To može dovesti do krivog zaključka o raširenosti uzročnika ove bolesti u prirodi i krive pretpostavke da bolest nije raširena u populaciji i da ne predstavlja opasnost za ljude.

2. Hipoteza

Pas kao životinja koja je u svakodnevno bliskom dodiru s čovjekom, predstavlja veliku opasnost i rizik za prijenos nekih uzročnika zoonoza na čovjeka, kao što su *Dirofilaria immitis*,*Borrelia burgdoferi*, *Anaplasma phagocytophylum*. Sporadična istraživanja ovih zoonoza na području Hrvatske ukazuju na prisutnostovih uzročnika u vektorima u ruralnim i suburbanim područjima Istre te na prisutnost protutijela za spomenute zoonoze u populaciji pasa. Provedena istraživanja upućuju na hipotezu da psi zbog blizinesa čovjekom predstavljaju glavnu opasnost u širenju spomenutih uzročnika zoonoza. Posebno treba naglasiti, da je taj problem veći u područjima gdje su psi izloženiji djelovanju vektora, kao što je slučaj kod lovačkih pasa odnosno pasa tartufara na području Istre (HOLLER i sur., 2010).

Na temelju navedenog, postoji pretpostavka da pas može biti uzrok spomenutih zoonoza za ljude. Ova pretpostavka te procjena stvarne opasnosti i povezanosti pasa kao rizičnog čimbenika sa pojavom bolesti u ljudi može se potvrditi i dokazati samo sustavnim epidemiološkim opservacijskim istraživanjem koje u Hrvatskoj do sada nije bilo provedeno.

Epidemiološko istraživanje spomenutih zoonoza u pasa ustanovit će seroprevalenciju za istraživane zoonoze u populaciji zdravih pasa, te procijeniti u kojoj mjeri pas predstavlja potencijalnu opasnost za čovjeka tj. svog vlasnika u području zapadne Istre.

3. Ciljevi rada

Glavni opći ciljevi rada su provesti sustavno epidemiološko opservacijsko istraživanje radi utvrđivanja seroprevalencije uzročnika zoonoza: *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum* i *Ehrlichia canis/Ehrlichia ewingii* u pasa te utvrđivanjeinvazijeparazitima *Dirofilaria repens i Dirofilaria immitis* u populaciji zdravih pasa na području zapadne Istre uzimajući u obzir veličinu populacije i razinu pouzdanosti od 95%.

U okviru spomenutog glavnog cilja rada koji će ukazati na učestalost stvarno bolesnih pasa u populaciji na području Istre, zadani su specifični ciljevi koji uključuju:

I. procjenu rizika tj. jačinu izloženosti pasa na istraživane uzročnike zoonoza
II. procjenu povezanosti pasmine, spola, dobi,načina držanja i namjene pasa s dobivenim rezultatima dijagnostičkog postupka i definiranje jačine rizika
III. procjenu pasa kao rizičnog čimbenika za ljude tj. jačinu izloženosti ljudi odnosno vlasnika pasa s obzirom na kategorizaciju izloženih skupina životinja

.

4. Materijali i metode

4.1. Istraživana populacija

Istraživanje je provedeno na populaciji zdravih pasa na području zapadne Istre u suradnji s veterinarskim stanicama koje su na Zavod za veterinarsku ekonomiku i epidemiologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu dostavile uzorke od 29 asimptomatskih pasa i epidemiološke upitnike pripremljene i sastavljene za provedeno istraživanje. Uzorci su uzimani nasumično u okviru rutinske dijagnostike u veterinarskoj stanici. Preduvjet za uzorkovanje je bio da svi psi ne pokazuju znakove bolesti koje bi upućivale na istraživane zoonoze. Uzorkovanje je provedeno tijekom 2015. godine u vrijeme aktivnosti vektora. Dobiveni rezultati procijenjeni su na populaciju uzimajući u obzir 95%-tne granice pouzdanosti. Na temelju dobivenog pozitivnog rezultata procijenit će se i standardna pogreška uzorka u cilju točne interpretacije rezultata na razini populacije.

4.2.Epidemiološki upitnik

Epidemiološki upitnik se sastoji od tri dijela. Prva dva dijela obuhvaćaju osnovne podatke o vlasniku (ime, prezime, adresa, kontakt) i kućanstvu. Treći dio epidemiološkog upitnika čine specifični podaci o psima koji pomažu u određivanju nekih rizičnih čimbenika vezanih za pse. To su podaci koji uključuju podatke o pasmini, dobi i spolu, te podaci koji se odnose na način držanja pasa, smještaj pasa, kretanje pasa, hranjenje pasa, dodir s drugim psima iulogu pasa u domaćinstvu odnosnoznačaj koji taj pas ima za vlasnika.

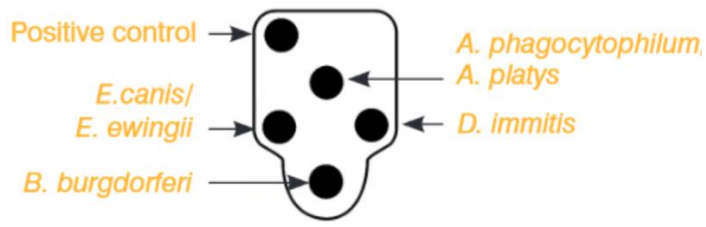
4.3. SNAP®4Dx® Plus Test

SNAP® 4Dx® Plus Test je in vitro test koji se koristi radi detekcije *Dirofilaria immitis* antigena, *Borrelia burgdorferi* protutijela, *Anaplasma phagocytophilum* protutijela i *Ehrlichia canis/Ehrlichia ewingii* protutijela. Primjena ovog skrining postupaka je jednostavna, brzo izvediva i financijski prihvatljiva metoda procjene prevalencije spomenutih zoonoza u pasa.

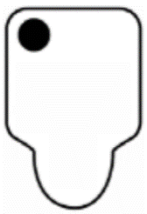
U skladu s uputama proizvođača koristiti se mogu serum, plazma ili puna krv sa antikoagulansom, koji su svježi ili skladišteni na 2-8°C do jednog tjedna. Sve komponente

testa trebaju bez zagrijavanja dostići sobnu temperaturu (15-25°C) netom prije testiranja. Prvi korak testiranja je ukapati 3 kapi uzorka u epruvetu koristeći pipetu, zatim ukapati 4 kapi konjugata u epruvetu vertikalno držeći bočicu konjugata. Nakon što se epruveta začepi treba izmješati njezin sadržaj okrećući ju 3 do 5 puta. Test stavljamo na horizontalnu podlogu, u bazenčić uzorka ulijeva se sav sadržaj epruvete pazeći da se ne izlije sa strane. Kroz 30 do 60 sekundi uočit će se promjene boje aktivacijskog kruga, aktivator treba snažno potisnuti prema dolje kako bi se cijeli uređaj izravnao i aktivirao. Rezultati se očituju oko 8 minuta nakon vremena aktivacije. Bez obzira što se pozitivna kontrola može pojaviti prije, rezultat je konačan tek nakon 8 minuta.

Rezultat je pozitivan ukoliko se pojavila boja u točkama, a negativan u slučaju kada se jedino na pozitivnoj kontrolnoj točki razvilo obojenje.



Slika 1. Pozitivan rezultat SNAP® 4Dx® Plus Testa indicira prisutnost Dirofilaria antigena, Anaplasma antitijela, Borrelia antitijela ili Ehrlichia antitijela



Slika 2. Negativan rezultat SNAP® 4Dx® Plus Testa

4.4. Knott test

Modificirani Knottov test koristi se za dokazivanje mikrofilarije u uzorku krvi. Prema uputama proizvođača 1 ml venske krvi pomiješa se sa oko 10 ml 2% formalina te se centrifugira 3 do 5 minuta na 1500 okretaja u minuti. Supernatant se dekantira iz epruvete, a sediment se pomiješa s jednakim dijelovima metilenskog modrila (1:1000). Obojan sediment se stavlja na predmetnicu te prekriva predmentnim stakalcem prije mikroskopiranja. Identifikacija mikrofilarije u sedimentu bazira se na morfologiji parazita i smatra se definitivnim dokazom infekcije (specifičnost testa je 100%). Oko 30% pasa inficiranih odraslim stadijima parazita nema mikrofilarije u cirkulaciji iz razloga što su prisutne samo dirofilarije istog spola, iz navedenog razloga negativan rezultat testa ne isključuje prisutnost mikrofilarija (VENCO, 2007).

4.5. Primjenjene epidemiološke i statističke metode

Rezultati dobiveni epidemiološkim istraživanjem analizirani su epidemiološkim postupcima procjene rizika uzimajući u obzir metodu istraživanja prevalencije i izračuna odnosa prevalencije i odnosa vjerojatnosti za što se koristio program WinEpiscope ver. 2.

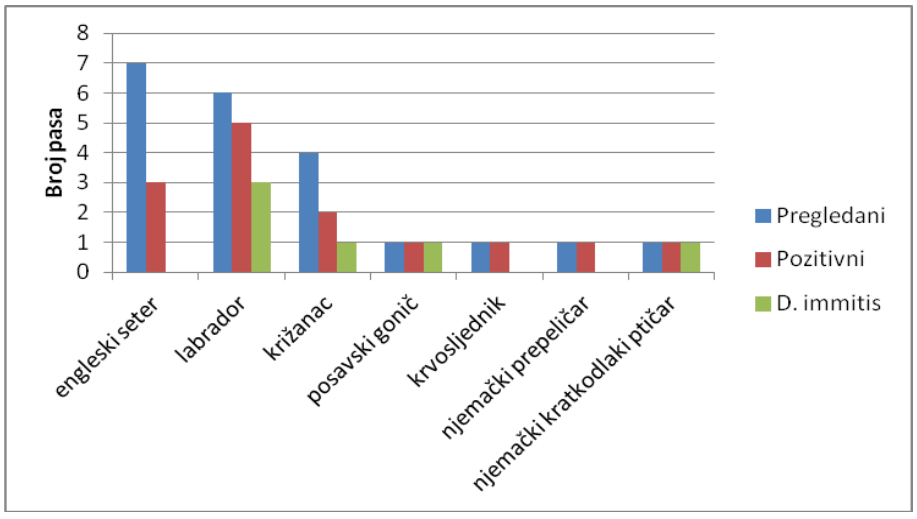
Za procjenu statistički značajnih razlika između analiziranih skupina koristili su se postupci koji su uključivali: testiranje proporcija, Chi kvadrat test te multiplu regresijsku analizuuz pomoć statističkog programa Statistica ver.10. Značajne razlike ustanovljene su na razini pogreške od 5% ($P<0,05$).

Rezultati epidemiološko upitnika analizirani su u programu EpiInfo.

5. Rezultati

U istraživanju prevalencije četiriju bolesti u pasa koje su uključivale boreliozu, anaplazmozu, dirofilariozu i erlihiozu, ustanovljena je jedino dirofilarioza u pasa. Od 29 pregledanih pasa tijekom 2015 godine na području Istre modificiranim Knottovim testomdirofiralija(mikrofilarija) je nađena kod 15 (51,72 %, CI 95 %od 33,82% do 70,19%) pasa, a brzim SNAP® 4Dx® Plus skrining testom *Dirofilaria immitis* ustanovljena je u 6 (20,69%, CI 95% od 6,18 % do 35,72 %) pasa.Od ukupnog broja pasa kod kojih je nađena dirofilarija (N = 15), *D. immitis* je bila zastupljena u 40% pozitivnih pasa.

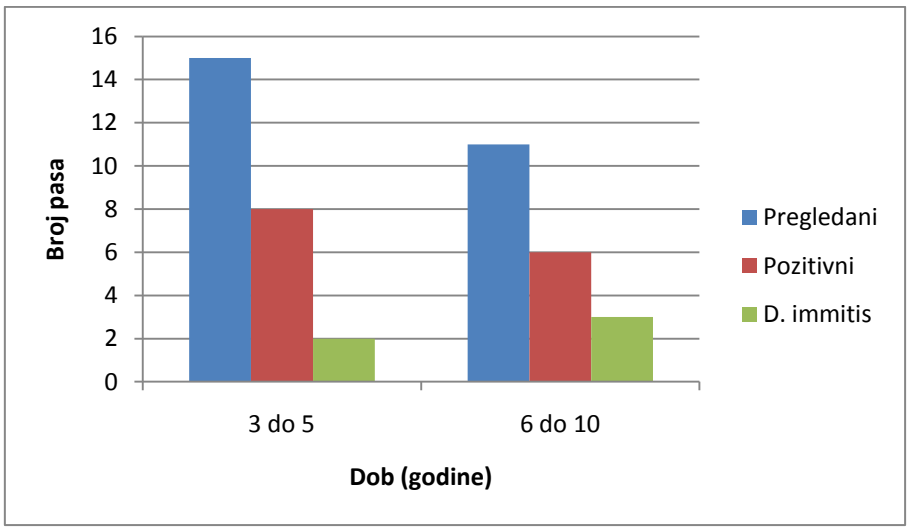
Broj pregledanih i pozitivnih pasa po pasminama prikazan je na slici 3. Istraživanjem je obuhvaćen veći broj pasmina uključujući engleskog setera (N=7), labradora (N=6) križanca (N=4), posavskog goniča, krvosljednika, njemačkog prepeličara i njemačkog kratkodlakog ptičara. U najvećem postotku bili su invadirani labradori (83,33%, CI 95% od 52,94% do 113,06%),a potom engleski seteri (42,86%, CI 95% od 6,32 % do 79,68%) (P<0,05). U odnosu na ove dvije pasmine, *D. immitis* je nađena samo kod labradora (50,00%, CI 95% od 9,99% do 90,01%).



Slika 3. Broj pregledanih i pozitivnih pasa prema pasminama

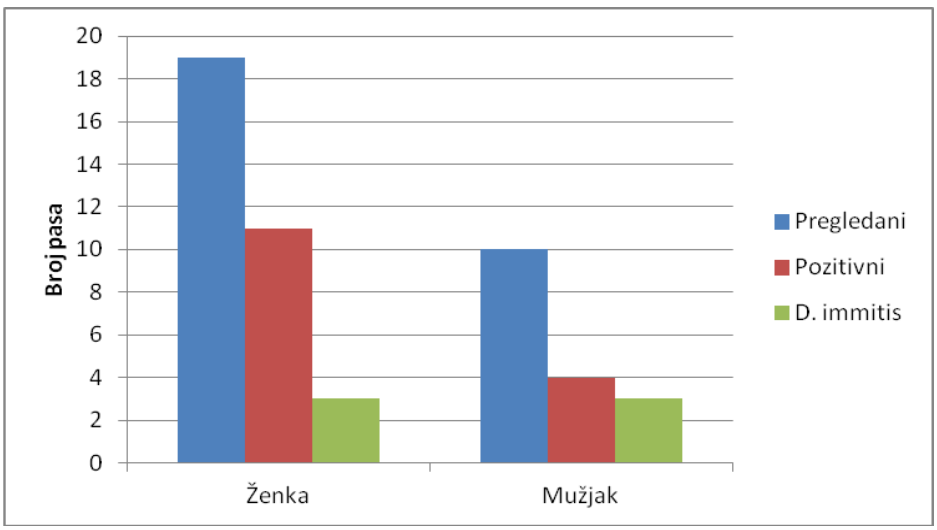
Broj pregledanih i pozitivnih pasa po dobi prikazan je na slici 4. Istraživanje obuhvaća pse u dobi od 3 do 5 godina te od 6 do 10 godina. Od 15 pregledanih pasa dobne skupine od 3 do 5 godina dirofilarija je nađena u 53,33 % (CI 95% od 28,08% do 78,58%), a *D. immitis*u

13,33 % (CI 95% od 3,87% do 30,5%) pasa. Kod starije dobne skupine od ukupno 11 pregledanih pasa dirofilarija je bila prisutna u njih 54,55%(CI 95% od 23,12% do 83,98%), a *D. immitis*u 27,27% (CI 95% od 0,93% do 53,59%) pasa.



Slika 4. Broj pregledanih i pozitivnih pasa prema dobi

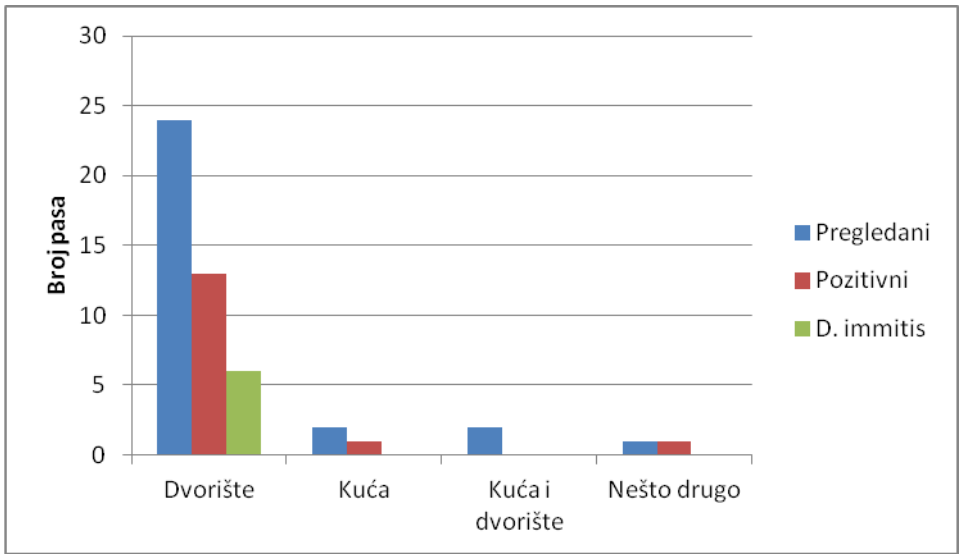
Broj pregledanih i pozitivnih pasa po spolu prikazan je na slici 5. Dirofilarija je ustanovljena u 57,89% (CI 95% od 35,69% do 80,09%) ženki i 40,00% (CI 95 % od 9,64% do 70,36%) mužjaka, dok je *D. immitis* nađena u 3 (15,79%, CI 95% od 0,61% do 32,19%) ženke i 3 (30,00%, CI 95% od 1,68% do 58,40%) mužjaka.



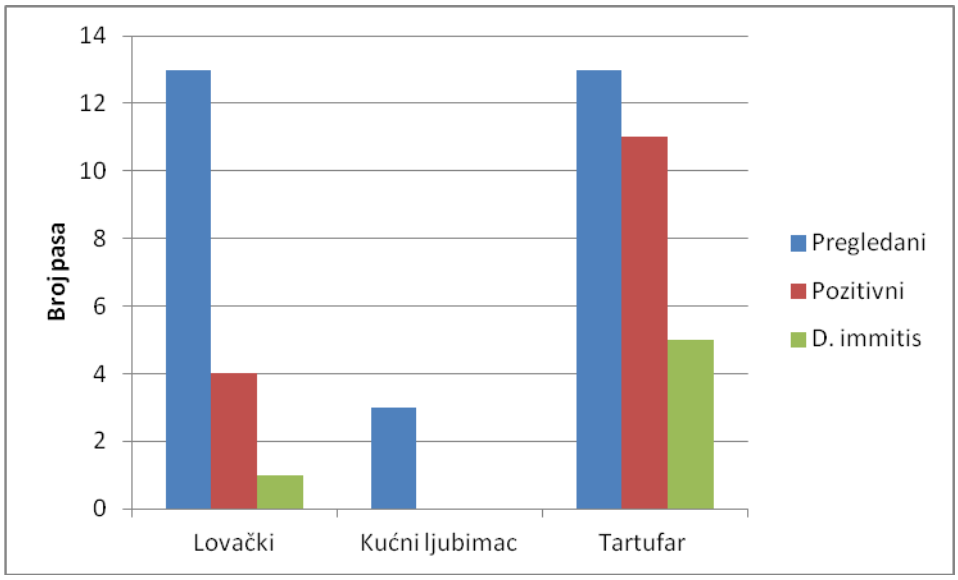
Slika 5**.** Broj pregledanih i pozitivnih prema spolu

Jedan od važnijihrizičnih čimbenika za pojavu dirofilarije u pasa su uvjeti (temperatura, vlaga) okoliša kojiutječu nakontakt pasa s vektorom. Također kontakt pasa sa vektorom ovisi o načinu držanja pasa(slika 6) kao i o njegovoj namjeni (slika 7). S obzirom na način držanja, 24 pregledana psa držana su na otvorenom u dvorištu (slika 6), a dirofilarija je ustanovljena u njih 48,83 % (CI 95 % od 28,83 % do 68,83 %). Dirofilarija je potvrđena u jednog od dva psa koji su prema iskazu vlasnika držani uglavnom u kući. D.immitis je nađena u 25,00 % (CI 95 % od 7,68 % do 42,32 %) pasa držanih na otvorenom u dvorištu.

S obzirom na namjenu psi su podijeljeni u tri skupine: tartufari, lovači psi i kućni ljubimci (slika 7). Knottovim testomdirofilarija je ustanovljenakod 84,62% (CI 95% od 65,01% do 104,23%) pasa tartufara (N=13) i 30,77% (CI 95% od 5,66% do 55,86 %) lovačkih pasa (N=13) (P<0,05). *D. immitis* je također nađena u obje skupine pasa, ali u značajno manjem postotku: u 7,69% (CI 95% od 6,79% do 22,17%) lovačkih pasai 38,46% (CI 95% od 12,01% do 64,91%) pasa tartufara(P<0,05). Kod treće skupine pasa koji se drže kao kućni ljubimci dirofilarija nije nađena.

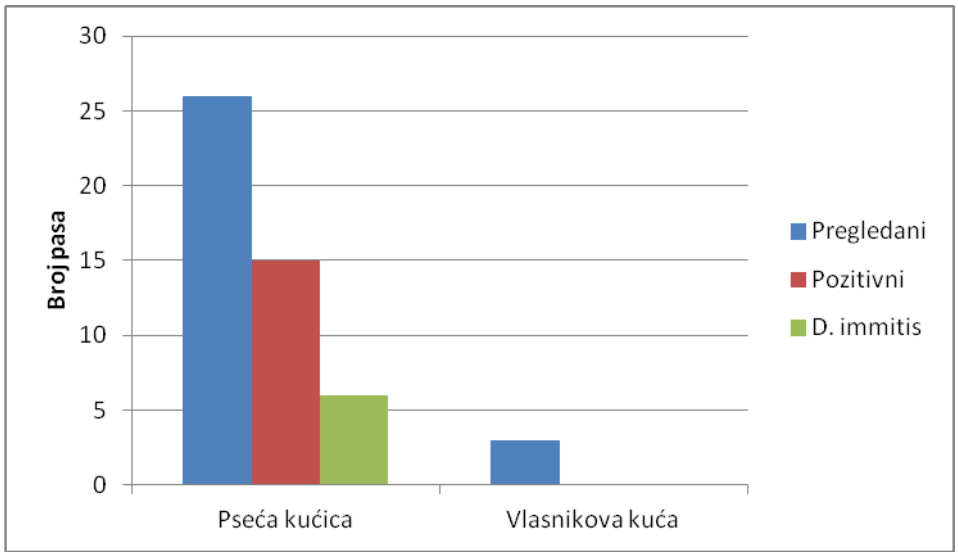


Slika 6 . Broj pregledanih i pozitivnih pasa prema načinu držanja



Slika 7. Broj pregledanih i pozitivnih pasa prema namjeni

Broj pregledanih i pozitivnih pasa prema tipu zaklona prikazan je na slici 8. Od ukupno 26 pregledanih pasa držanih u psećoj kućici nađeno je 57,69 % (CI 95 % od 30,78 % do 76,68 %) pozitivnih pasa Knottovim testom, dok je antigen *D.immitis* dokazan u 23,08 %(CI 95 % od 6,88 % do 39,28 %) pasa. Od ukupno 3 pregledana psa držana u vlasnikovoj kući dirofilarije nisu nađene niti kod jednog psa.



Slika 8. . Broj pregledanih i pozitivnih prema tipu zaklona

Analiza rizičnih čimbenika i procjena rizika za dirofilariozu i *D.immitis* prikazani su u tablicama 1 i 2. Kako je vidljivo iz tablica, najveći čimbenik izloženosti pasa dirofilariozi su njegova namjena i način držanja.

Tablica 1. Rizični čimbenici i procjena rizika povezana s dirofilarijom u pasa

Rizični čimbenik	**Jačina rizika**			
	Odnos prevalencije (prevalence ratio)	CI 95%	**Omjer vjerojatnosti (Odds ratio)**	CI 95%
Veličina pasmine Velika/Srednja	1.50	0.43-5.2	2	0.27-14.7
Dob (godine) Stariji/Mlađi	1.02	0.49-2.07	1.05	0.22-5.16
Spol Ženka/Mužjak	1.44	0.61-3.38	2.06	0.43-9.80
Način držanja Dvorište/Kuća	1.08	0.25-4.54	1.18	0.06-21.17
Namjena Tartufar/Lovački	2.75*	1.78-6.41	12.37*	1.82-83.77
Količina kretanja Kuća i dvorište tijekom dana i noći Kuća i dvorište tijekom dana	0.78	0.32-1.88	0.54	0.04-6.76

*značajno ($P<0.05$)

Tablica 2. Rizični čimbenici i procjena rizika povezana s *D.immitis* u pasa

Rizični čimbenik	**Jačina rizika**			
	Odnos prevalencije (prevalence ratio)	CI 95%	**Omjervjerojatnosti (Odds ratio)**	CI 95%
Veličina pasmine Velika/Srednja	0.43	0.03-5.77	0.38	0.02-7.40
Dob (godine) Stariji/Mlađi	2.05	0.41-10.25	2.44	0.33-17.91
Spol Mužjaci/Ženke	1.9	0.47-7.75	2.29	0.37-14.35
Namjena Tartufar/Lovački	5.00	0.67-37.12	7.5	0.73-76.77
Količina kretanja Kuća i dvorište tijekom dana i noći Kuća i dvorište tijekom dana	4.17*	1.02-17.08	10.5	1.03-107.08

*značajno (P<0.05)

6. Rasprava

Na temelju sustavnog epidemiološkog i opservacijskog istraživanja četiriju bolesti, anaplazmoze, dirofilarioze, erlihioze i borelioze u populaciji zdravih pasa na području zapadne Istre razvidno je da sunajznačajniji uzročnicikoji se javljaju u velikom broju kod zdravih pasadirofilarije,*D.repens* i *D.immitis*. Dirofilarioza je Knottovim testom ustanovljena u 51,72 % (CI 95 % od 33,82 % dob70,19 %) pasa, dok je brzim SNAP®4Dx® Plus skrining testomdokazan antigen za vrstu *Dirofilaria immitis* u 20,69 % (CI 95 % od 6,18 % do 40,26 %) pasa. U odnosu na istraživanje prevalencije u drugim europskim zemljama, prevalencija dirofilarioze u našim istraživanjima je nešto veća nego u Bugarskoj (8,62%) (KRIKOVA i sur.,2007), Ruminjskoj (23.07%) (COMAN i sur., 2007), Slovačkoj (od 8 % do 20%) (MITERPÁKOVÁ i sur., 2010), Češkoj (9 %) (SVOBODOVA i sur., 2006), Francuskoj (6.8 %) (PANTCHEV i sur., 2009) i Njemačkoj (od 6.4% do 31,1 %) (KRUPKA i sur., 2007; RÖHRIG i sur., 2011).Suprotno tome, prevalencija *D. immitis* u našim istraživanjima je nešto manja nego što je nađena u Italiji (50 %), Portugalu (40 %) i Španjolskoj (između 33 - 40 %) (SIMÓN i sur., 2012).

Kako je postupak po Knottu nespecifičan za vrstu, to znači da je u 15 (51,72 %) pozitivnih pasa dirofilarioza mogla biti uzrokovana s obje vrste dirofilarija. Međutim, kako se istovremeno kod istih pasa radilo testiranje brzimSNAP® 4Dx® Plus skrining testom koji otkriva samo antigen *D.immitis* u pasa,moguće je razlučiti prevalenciju dirofilarioze koja može biti uzrokovana s objema vrstama i prevalenciju uzrokovanu samo s vrstom*D. immitis*. Od ukupnog broja pasa kod kojih je nađena dirofilarija (N=15), *D. immitis* je potvrđena u 40% pozitivnih pasa. Na temelju toga,moglo bi se zaključiti da je u preostalih 60 % pozitivnih pasa uzročnik dirofilarioze *D.repens*, ili da se radi miješanoj invadiranosti s obje vrste, što bi na razini populacije bilo 31,35 % (CI 95 % od 15,97% do 50,95 %). Bez specifičnih metoda kao što je PCRnije moguće sa sigurnošću utvrditi postoji li ili ne u isto vrijeme invadiranst s obje vrste dirofilarija. Ovako procijenjena prevalencija može se uzeti u obzir samo orijentacijski. Na temelju procijenjene prevalencije *D.repens* i stvarne prevalencije *D.immitis* u pasa nije ustanovljena statistički značajna razlika. Podjednaku učestalost i jedne i druge dirofilarije u pasa ustanovili su IONICĂ i sur., (2015) u Rumunjskoj, akretala se oko 6,15% za *D.immitis* i 6,92% za *D. repens*. Primjenjujući istu metodu (SNAP 4D Plus test) za dokaz antigena *D. immitis*, FARKAS i sur. (2014) dokazali su prisustvo *D. immits* u puno manjem

postotku (2,4 %) na području Mađarke nego što je to u našem istraživanju. Isto tako, MIRCEAN i sur. (2012)dokazali su prisustvo*D. immits*na području Rumunjske gdje je ustanovljena u svega 3,3 % pasa. U Slovačkoj (2,1%) je zabilježana kao endemska bolest (MITERPÁKOVÁ i sur., 2008).

Analiza rizičnih čimbenika kao što su pasmina, spol, dob, način držanja pasa, njihova namjena i kontakt pasa s okolišem ukazuje da ne postoji značajna razlika u pojavi dirofilarije između pasmina niti prema spolu i dobi (slike 3 - 5) ali je statistički značajna razlika nađena s obzirom na držanje pasa (slika 6) i njegovu namjenu (slika 7).

Prevalencija dirofilarioze bila je podjednaka u mužjaka i ženki kao i u mlađih i starijih pasa (tablica 1, slike 4 i 5). Prevalencija *D. immitis* bila je dva puta veća u starijih pasa u odnosu na mlađe, ali ta razlika nije bila statistički značajna (tablica 2). Sličan rezultat istraživanja prevalencije *D. immitis* dobili suCARLO- GONZALEZ i sur. (2010) koji su također ukazali da su starije životinje (>2 godine) 2,49 puta izloženije obliću *D. immitis.* U istraživanjimaIGLÓDYOVÁ i sur. (2012) navode da su stariji psi u dobi od 6 do 10 godina bili čak 3,5 puta izloženiji u odnosu na mlađe jedinke u dobi od 3 do 5 godina.I drugi autori poputMITERPÁKOVÁ i sur. (2008) potvrdili su da se dirofilarioza češće javlja kod pasa starijih od 3 godine.

Statistički značajna razlika ustanovljena je između pasa koji se koriste kao psi tartufari i kao lovački psi. Prevalencija u pasa tartufara je 2,75 (CI 95% od 1,78 do 6,41) puta veća nego prevalencija u lovačkih pasa. Nadalje, izloženost dirofilariozi kod pasa tartufara je 12,7 (CI 95% od 1,8 % do 83,77 %) puta veća nego kod lovačkih pasa ($P<0,05$) (tablica 1, slika 7). U pasa kućnih ljubamaca nije utvrđena dirofilarioza jer je izloženost pasa vektoru manja.Ako psi borave na otvorenom u prirodi, što je slučaj s lovačkim psima i tartufarima, izloženost pasa vektoru je veća, za razliku od pasa koji se kao kućni ljubimci prvenstveno drže u zatvorenom prostoru (kuća, stan) zaštićeni od izloženosti vektorima. Veća prevalencija u pasa tartufara, čiji je rizik za invadiranost veći u odnosu na lovačke pse, može se pripisati načinu kretanja na otvorenom prstoru (šumi), odnosno načinu „lova“. Tartufari se prilikom traženja tartufa kreću sporije, povremeno zastajkujunjušeći tlo.Lovački psi za rzliku od tartufara kreću se brže i češće su aktivniji tijekom lova. Način i brzina kretanja na otvorenom prostoru gdje su vektori (komarci) kontinuirano prisutni tijekom danaobrnuto je proporcionalnas mogućnošću dodira pasa s vektorom (brže kretanje manja mogućnost dodira i obrnuto). Slične rezultate dobili su IGLÓDYOVÁ i sur. (2012) koji su također potvrdili da je namjena pasa značajan rizični

čimbenik za dirofilariozu. Izloženost dirofilariji lovačkih i radnih pasa bila je 2 do 2,67 puta veća nego kod pasakoji su držani kao kućni ljubimci.

Pokazalo se da bez obzira na namjenu pasa, izloženost pasa dirofilariozi u zapadnoj Istri je veća ukoliko psi borave na otvorenom prostoru kao što su dvorište ili šuma kroz duže vrijeme. Na temelju epidemiološkog upitnika ustanovljeno je da neki psi borave na otvorenom, npr. u dvorištu kontinuirano 24 sata dok su u nekim domaćinstvima psi vani samo danju. Uspoređujući te dvije skupine pasa ustanovljeno je da je prevalencija *D. immitis* u pasa koji borave 24 sata na otvorenom prostoru 4,17 (CI 95 % od 1,02 % do 17,08 %) puta veća u odnosu na pse koje borave na otvorenom danju ($P < 0,05$), a mogućnost invazije takvih pasa s *D. immitis* je čak 10,05 (CI 95% od 1,03 % do 107,08 %) puta veća u odnosu na skupinu pasa koji su vani samo danju (tablica 2). Ovakav omjer prevalencije u ove dvije skupine može se objasniti većom izloženosti pasa iz skupine u kojoj se psi drže na otvorenom tijekom 24 sata jer se u poslijepodnevnim satima aktivnost vektora povećava. Značajano je napomenuti da je mogućnost invazije kod takvih pasa iznenađujuće velika, a može biti i deseterostruko veća, što ukazuje na značajnost držanja životionja na otvorenom.

Što su omjer prevalencijei vjerojatnost izloženosti između istraženih skupina pasa veći to je veća vjerojatno nastajanja bolesti. U slučaju dirofilarioze veći rizik pripisuje se onim rizičnim čimbenicima koji se mogu dovesti u vezu s mogućnosti dodira pasa s vektorom. To znači da će rizik biti veći ukoliko lovački psi i psi tartufari duže vrijeme borave u šumskim područjima gdje u velikom broju obitavaju komarci.

Na temelju provedenog epidemiološkog upitnika potvrđena je i pretpostavka da vlasnici o prisustvu ove bolesti u pasa kao i o bolesti općenito ne znaju mnogo ili čak ništa, a što potvrđuju u svojim istraživanjaima HOLLER i sur. (2010). Zato najvažnija mjera kontrole ove bolesti nije samo provođenje mjera koje će smanjiti dodir pasa s vektorima (smanjivanje broja komaraca, smanjivati mjesta gdje se komarci mogu razvijati i sl.), već i edukacija vlasnika. Edukacija vlasnika jedna je od bitnih preventivnih mjera u cilju spriječavanje pojave i širenja bolesti u pasa, a time se ujednospriječava pojava i širenje humane dirofilarioze.

Vrlo visoka prevalencija dirofilarioze u pasa na području Istre (51,72 %, CI 95 % od 33,82 % do 70,19 %) predstavlja najveći rizik za čovjeka jer su psi u svakodnevnom bliskom dodiru sa čovjekom. Međutim, kako bolest ostaje vrlo često neprepoznata, važno je obaviti sustavno epidemiološko istraživanje prevalencije i rizičnih čimbenika te kvantificirati iste

kako bi se moglo definirati u kojoj je mjeri bolest javnozdravstveni problem i na temelju toga definirati prioritete zdravstvene zaštite i ljudi i životinja. Nadalje, sama činjenica da na nekom području postoji neka zoonoza koja je prisutna u određenom broju životinja je nedovoljna za definiranje strategije zdravstvene zaštite.

Rezultati dobiveni ovakvim epidemiološkim istraživanjem potvrđuju poznate pretpostavke o prevalenciji nekih zoonoza, u prvom redu dirofilarioze na području Istre.Također, predstavljaju doprinos u istraživnju rizičnih čimbenika koji do sada nisu bili istraživani, definirani niti kvantificirani. Kvantificiranje rizika je preduvjet za otkrivanje u kojoj mjeri dirofilarioza predstavlja opasnost za čovjeka.Potrebno je definirati strategiju kontrole dirofilarioze u pasai spriječiti pojavubolesti u ljudi.

7. Zaključak

Na temelju sustavnog epidemiološkog i opservacijskog istraživanja četiriju bolesti, anaplazmoze, dirofilarioze, erlihioze i borelioze u populaciji zdravih pasa na području zapadne Istre razvidno je da je najučestalija bolest koja se javlja u populaciji zdravih pasa dirofilarioza. Dirofilrioze je ustanovljena 51,72 %, (CI 95 % od 33,82 % do 70,19 %) zdravih pasa,

Dirofilaria immitis ustanovljena je u 20,69 %, (CI 95 % od 6,18 % do 35,72 %) zdravih pasa. Od ukupnog broja pasa kod kojih je nađena dirofilarija (N= 15), *D. immitis* je bila zastupljena u 40 % pozitivnih pasa.

Rezultati dobivenim ovakvim epidemiološkim istraživanjem potvrđuju poznate pretpostavke o prevalenciji nekih zoonoza, u prvom redu dirofilarioze na području Istre.

Međutim, za procjenu u kojoj mjeri prisutnost određenog broja pozitivnih pasa na nekom području predstavlja javnozdravstveni problem i stvarnu opasnost za ljude potrebno je definirati i kvantificirati rizične čimbenika. Kvantificiranje rizičnih čimbenika može se provesti provođenjem sustavnih opservacijskih epidemioloških istraživanjima koji uključuju analizu rizičnih čimbenika.

Analizom rizičnih čimbenika ustanovljeno je da ne postoji značajna razlika u pojavi dirofilarije između pasmina, a razlika nije ustanovljena niti prema spolu i dobi. Statistički značajna razlika nađena je s obzirom na držanje pasa i njegovu namjenu.

S obzirom na namjenu pasa, dirofilarioza je potvrđena kod 84,62 % (CI 95 % od 65,01 % do 104,23 %) pasa tartufara i 30,77 % (CI 95 % od 5,66 % do 55,86 %) lovačkih pasa (N=13) ($P < 0,05$). *D. immitis* je također nađena u obje skupine pasa, ali u značajno manjem postotku: u 7,69 % (CI 95 % od 6,79 % do 22,17 %) lovačkih pasa i 38,46 % (CI 95 % od 12,01 % do 64,91 %) pasa tartufara ($P < 0,05$). Kod treće skupine pasa koji se drže kao kućni ljubimci dirofilarija nije nađena.Na temelju dobivenih podataka ustanovljena je statistički značajna razlika između pasa koji se koriste kao psi tartufari i kao lovački psi. Prevalencija u pasa tartufara 2,75 (CI 95 % od 1,78 do 6,41) puta je veća nego prevalencija u lovačkih pasa, a izloženost dilofilaroizi pasa tartufara je 12,7 (CI 95% od 1,8 do 83,77) puta veća nego kod lovačkih pasa ($P<0,05$).

Također se pokazalo da bez obzira na namjenu pasa, izloženost pasa prema dirofilariozi u zapadnoj Istri je veća ukoliko psi borave na otvorenom prostoru kao što su dvorišta, kroz duže vrijeme. Na temelju epidemiološkoh upitnika ustanovljeno je da neki psi borave na otvorenom, npr. u dvorištima kontinuirano 24 sata dok u nekim domaćinstvima psi su vani samo dajnu. Uspoređujući te dvije skupine pasa ustanovljeno je da je prevalencija *D. immitis* u pasa koji borave 24 sata na otvorenom prostoru 4,17 (CI 95% od 1,02 do 17,08) puta veća u odnosu na pse koje borave na otvorenom danju ($P<0,05$), a mogućnost invazije takvih pasa s s *D. immitis* je čak 10,05 (CI 95% od 1,03 do 107,08) puta veća u odnosu na skupinu pasa koji su samo vani danju.

Doprinos ovog primijenjenog epidemiološkog istraživanja je u prikupljanju spoznaja o prevalenciji i riziku istraživanih zoonoza (dirofilarioza, borelioza, erlihioza i anaplazmoza) u pasa. Ove bolesti imajuveliki javnozdravstveni značaj iz razloga što mogu ostati neprepoznatljivekako u pasa tako i u ljudi. Rezultati istraživanja mogu poslužiti kao smjernice u donošenju odluka na području zaštite zdravlja životinja i ljudi.

Poznavanje prevalencije te prepoznavanje i definiranje rizičnih čimbenika te kvantificiranje rizika, ujedno je i preduvjet za definiranje i implementaciju strategije zdravstven zaštite i provođenja preventivnih i kontrolnih mjera u cilju zaštite zdravlja kako pasa tako i ljudi

9. Popis literature

1. ANDERSON R.C. (2000): Nematode parasites of vertebrates, their development and transmission. 2nd Edition, CABI Publishing, 650-+
2. BARTH C., R. K. STRAUBINGER, C. SAUTER-LOUIS, K. HARTMANN (2012): Prevalence of antibodies against Borrelia burgdorferi sensu lato and Anaplasma phagocytophilum and their clinical relevance in dogs in Munich, Germany. Berl Munch Tierarztl Wochenschr. 125, 337 – 344.
3. BATINAC T. D. PETRANOVIC, G. ZAMOLO, A. RUZIC(2007): Lyme borreliosis and multiple sclerosis are associated with primary effusion lymphoma. Medical Hypotheses, 69, :117-119.
4. BECK R., B. HABRUN, S. BOSNIĆ, M. BENIĆ, T. NEMETH-BLAŽIĆ, S. DUVNJAK (2010): Identifikation of pathogens in Ixodes ricinus and Dermacentor reticulatus from public gardens in Zagreb, Croatia. Book of abstracts: Lyme borreliosis and other tick-borne diseases. Ljubljana, 25.
5. BHIDE M. M. TRAVNICEK, J.CURLIK, A. STEFANCIKOVA (2004): The importance of dogs in eco-epidemiology of Lyme borreliosis: a review. Veterinarni Medicina, 49, 135-142.
6. BERZINA I., I. MATISE (2013): Seroprevalence against Borrelia burgdorferi sensu lato and occurence of antibody co-expression with Anaplasma phagocytophilum in dogs in Latvia. Irish Veterinary Journal. 66, 9.
7. CANCRINI G., S. GABRIELLI (2007): Vectors of Dirofilaria nematodes: biology, behaviour and host/parasite relationships. U: GENCHI, C., L. RINALDI, G. CRINGOLI: Mappe Parassitologiche 8: Dirofilaria immitis and D. Repens in dog and cat and human infections. Rolando Editore, 47- 58.
8. CARO-GONZALEZ J. A., M. E. BOLIO-GONZALEZ, F. J. ESCOBEDO-ORTEGÓN, P. MANRIQUE-SAIDE, R. I. RODRIGUEZ-VIVAS, J. C. RODRIGUEZ-BUENFIL, C. H. SAURI-ARCEO (2010): Prevalence of DirofilariaimmitisInfectionin Dogs from Celestun, Mexico, Using Polymerase Chain Reaction Test. Vector Borne Zoonotic Dis. 11, 193-6.
9. COMAN S., B. BACESCU, T. COMAN, G. H. PARVU, C. DINU, T. PETRUT, N. BERCARU, A. AMFIM (2007): Dirofilariosis in digs and wild carnivores in Romania. U: GENCHI C., L. RINALDI, G. CRINGOLI: Mappe Parassitologiche 8:

Dirofilaria immitis and D. repens in Dog and Cat and Human Infections. Rolando Editore, 203.

10. DUNCAN, A. W., M. T. CORREA, J. F. LEVINE, E. B. BREITSCHWERDT (2004): The dog as a sentinel for human infection: Prevalence of Borrelia burgdorferi C6 antibodies in dogs from southeastern and mid-Atlantic states. Vector Borne & Zoonotic Diseases. 4, 221-229.
11. EBANI V. V., F. BERTELLONI, B. TORRACCA, D. CERRI (2014): Serological survey of Borrelia burgdorferi sensu lato, Anaplasma phagocytophilum, and Ehrlichia canis infections in rural and urban dogs in Central Italy. Ann Agric Environ Med. 21, 671-675.
12. FARKAS R., M. GYURKOVSZKY, Z. LUKACS, B. ALADICS, N. SOLYMOSI (2014): Seroprevalence of Some Vector-Borne Infections of Dogs in Hungary. Vector Borne Zoonotic Dis. 14, 256-260
13. GENCHI C., J. GUERRERO, J. W. MCCALL, L. VENCO (2007): Epidemiology and prevention od Dirofilaria infections in dogs and cats. U: GENCHI, C., L. RINALDI, G. CRINGOLI: Mappe Parassitologiche 8: Dirofilaria immitis and D. Repens in dog and cat and human infections.Rolando Editore, 145-162.
14. GOOSSENS, H. A. T., A. E. VAN DEN BOGAARD, M. K. E. NOHLMANS (2001): Dogs as sentinels for human Lyme borreliosis in The Netherlands. Journal of Clinical Microbiology. 39, 844-848.
15. GRANICK, J. L., P. J. ARMSTRONG, J. B. BENDER (2009):Anaplasma phagocytophilum infection in dogs: 34 cases (2000-2007). Journal of the American Veterinary Medical Association, 234, 1559-1565.
16. HENNINGSSON, A. J., B. E. MALMVALL, J. ERNERUDH, A. MATUSSEK, P. FORSBERG (2010):Neuroborreliosis-an epidemiological, clinical and healthcare cost study from an endemic area in the south-east of Sweden. Clinical Microbiology & Infection, 16, 1245-1251.
17. HOLLER D., A. RACZ, J. BOŠNIR, O. PETRAK (2010): Raširenost dirofilarioze na području unutrašnjosti istarskoga poluotoka. Med Jad. 40, 67-74.
18. IGLÓDYOVÁ A., M. MITERPÁKOVÁ, Z. HURNÍKOVÁ, D. ANTOLOVÁ, P. DUBINSKÝ, V. LETKOVÁ (2012): Canine dirofilariosis under specific environmental conditions of the Eastern Slovak Lowland. Annals of Agricultural and Environmental Medicine. 19, 57-60.

19. IONICĂ A. M., I. A. MATEI, V. MIRCEAN, M. O. DUMITRACHE, G. D'AMICO, A. GYŐRKE, N. PANTCHEV, G. ANNOSCIA, K. ALBRECHTOVÁ, D.OTRANTO, D. MODRÝ, A. D. MIHALCA (2015): Current surveys on the prevalence and distribution ofDirofilaria spp. and Acanthocheilonema reconditum infections in dogs in Romania. Parasitol Res. 114, 975-982.
20. JOHNSON, J. L., H. S. GINSBERG, E. ZHIOUA , U. G. WHITWORTH, D. MARKOWSKI, K. E. HYLAND, R. J. HU (2004):Passive tick surveillance, dog seropositivity, and incidence of human Lyme disease. Vector Borne & Zoonotic Diseases, 4, 137-142.
21. JURIĆ B., R. BECK, F. MARTINKOVIĆ, A. MILOSAVLJEVIĆ, S. PAHOVIĆ, A. MATIĆ, A. MARINCULIĆ (2007): The prevalence of Dirofilaria infekctions among truffle dogs in istria, Croatia. Proceedings of the First European Dirofilaria Days. Abstract book., Zagreb, 33-4.
22. JUNTTILA, T. M. PELTOMAA, H. SOINI, M. MARJAMAKI, M. K. VILJANEN (1999): Prevalence of Borrelia burgdorferi in Ixodes ricinus ticks in urban recreational areas of Helsinki. Journal of Clinical Microbiology, 37, 1361-1365.
23. KAISER R. (1998): Neuroborreliosis. [Review]. Journal of Neurology, 245, 247-255.
24. KIRTZ, G.; B. CZETTEL, D. THUM, E. LEIDINGER (2007): Anaplasma phagocytophilum in dogs in Austria: a serological prevalence study (2001-2006). Kleintierpraxis, 52, 562-568.
25. KOHN B., C. SILAGHI, D. GALKE, G. ARNDT, K. PFISTER (2011): Infections with Anaplasma phagocytophilum in dogs in Germany. Res Vet Sci. 91, 71-76
26. KRIKIVA Z., A. IVANOV, D. GEORGIEVA (2007): Dirofilariosis in dogs and wild carnivores in Bulgaria. U: GENCHI, C., L. RINALDI, G. CRINGOLI: Mappe Parassitologiche 8: Dirofilaria immitis and D. Repens in dog and cat and human infections.Rolando Editore, 204.
27. KRUPKA I., N. PANTCHEV, L. LORENTZEN, M. WEISE, R. K. STRAUBINGER (2007): Tick-transmitted, bacterial infections in dogs: Seroprevalence of Anaplasma phagocytophilum, Borrelia burgdorferi sensu lato and Ehrlichia canis in Germany. Praktische Tierarzt. 88, 776-788.
28. MANFREDI, M. T., A. DI CERBO, M. GENCHI (2007): Biology of filarial worms parasitizing dogs and cats. U: GENCHI, C., L. RINALDI, G. CRINGOLI: Mappe Parassitologiche 8: Dirofilaria immitis and D. Repens in dog and cat and human infections.Rolando Editore, 39-46.

29. MENARDI, G.,R. FLORIS, K. MIGNOZZI, B. BOEMO, A. ALTOBELLI, M. CINCO (2008): Detection and genotyping of Borrelia burgdorferi in the trans-border area between Italy and Slovenia and evaluation of co-infection with Anaplasma phagocytophilum in ticks. Zentralblatt fur Bakteriologie, 298, 121-124.
30. MILUTINOVIĆ M., T. MASUZAWA, S. TOMANOVIĆ, Ž. RADULOVIĆ, T. FUKUI, Y. OKAMOTO Y. (2008): *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum, Francisella tularensis* and their co-infections in host seeking *Ixodes ricinus*ticks collected in Serbia, Exp Applied Acarology, 45, 171-183.ž
31. MIRCEAN V., M. O. DUMITRACHE, A. GYORKE, N. PANTCHEV, R. JODIES, A. D. MIHALCA, V. COZMA (2012): Seroprevalence and Geographic Distribution of Dirofilaria immitis and Tick-Borne Infections (Anaplasma phagocytophilum, Borrelia burgdorferi sensu lato, and Ehrlichia canis) in Dogs from Romania. Vector Borne Zoonotic Dis. 12, 595 – 604
32. MITERPÁKOVÁ M., D. ANTOLOVÁ, Z. HURNÍKOVÁ, P. DUBINSKÝ (2008): Dirofilariosis in Slovakia - a new endemic area in Central Europe. Helminthologia. 45, 20-23.
33. MITERPÁKOVÁ M., D. ANTOLOVÁ, Z. HURNIKOVÁ, P. DUBINSKÝ, A. PAVLACKA, J. NEMETH (2010): Dirofilaria infections in working dogs in Slovakia. Journal of Helminthology. 84, 173-176.
34. MIYOSHI T., H. TSUBOUCHI, A. IWASAKI, T. SHIRAISHI, K. NABESHIMA, T. SHIRAKUSA (2006): Human pulmonary dirofilariasis: A case report and review of the recent Japanese literature. Respirology. 11, 343-347.
35. OBRENOVIĆ S., E. RISTANOVIĆ, R. ČEKANAC, Ž. RADULOVIĆ, V. ILIĆ (2015): Seroprevalence of Igg antibodies against Borrelia burgdorferi in dogs in Belgrade area, Serbia. Acta Veterinaria-Beograd. 65, 99 – 110
36. PANTCHEV N., R. SCHAPER, S. LIMOUSIN, N. NORDEN, M. WEISE, L. LORENTZEN (2009): Occurrence of Dirofilaria immitis and Tick-Borne Infections Caused by Anaplasma phagocytophilum, Borrelia burgdorferi sensu lato and Ehrlichia canis in Domestic Dogs in France: Results of a Countrywide Serologic Survey. Parasitology Research. 105, 101-113.
37. PANTCHEV N., M. SCHNYDER, M. G. VRHOVEC, R. SCHAPER, I. TSACHEV (2015): Current Surveys of the Seroprevalence of Borrelia burgdorferi, Ehrlichia canis, Anaplasma phagocytophilum, Leishmania infantum, Babesia canis,

Angiostrongylus vasorum and Dirofilaria immitis in Dogs in Bulgaria. Parasitol Res. 114, 117-130.

38. POTKONJAK A., V. VRACAR, S. SAVIC, B. LAKO, V. RADOSAVLJEVIC, M. CINCOVIC, L. SUVAJDZIC, A. JURISIC, A. PETROVIC (2015): The seroprevalence of Anaplasma phagocytophilum infection in dogs in the Autonomous Province of Vojvodina, Serbia. Vet. Arhiv. 85, 385-394.
39. ROHRBACH, B. W., A. ODOI, S. PATTON (2011): Survey of Heartworm Prevention Practices Among Members of a National Hunting Dog Club. Journal of the American Animal Hospital Association, 47,161-169.
40. RÖHRIG E., D. HAMEL, K. PFISTER (2011): Retrospective evaluation of laboratory data on canine vector-borne infections from the years 2004-2008. Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift. 124, 411-418.
41. SIMÓN F., M. SILES-LUCAS, R. MORCHÓN, J. GONZÁLEZ-MIGUEL, I. MELLADO, E. CARRETÓN, J. A. MONTOYA-ALONSO(2012): Human and Animal Dirofilariasis: the Emergence of a Zoonotic Mosaic. Clin Microbiol Rev. 25, 507-544.
42. SCHORN S., K. PFISTER, H. REULEN, M. MAHLING, J. MANITZ, C. THIEL, C. SILAGHI (2011): Prevalence of Anaplasma phagocytophilum in Ixodes ricinus in Bavarian public parks, Germany. Ticks & Tick-Borne Diseases, 2:196-203.
43. SVOBODOVA Z., V. SVOBODOVA, C. GENCH, P. FOREJTEK (2006): The first report of authochthonous dirofilariosis in dogs in the Czech Republic. Helminthologia. 43, 242-245.
44. VENCO L., (2007): Heartworm (Dirofilaria immitis) disease in dogs. U: GENCHI, C., L. RINALDI, G. CRINGOLI: Mappe Parassitologiche 8: Dirofilaria immitis and D. Repens in dog and cat and human infections. Rolando Editore, 117-126.
45. VERA C. P., S. KAPIAINEN, S. JUNNIKKALA, K. AALTONEN, T. SPILLMANN, O. VAPALAHTI (2014): Survey of selected tick-borne diseases in dogs in Finland. Parasites & Vectors. 7, 285.
46. ŽIVIČNJAK T., F. MARTINKOVIĆ, R. BECK (2006): Dirofilariosis in Croatia: spread and public health impact. 5th Croatian congress on infective diseases, Zadar, Croatia, 23-27.

10.Sažetak

Epidemiološko istraživanje značajnih zoonoza u pasa i procjena rizika za zdravlje ljudi

Korištenje epidemioloških postupaka za otkrivanje i kontrolu zoonoza važan je čimbenik u području javnog zdravstva. Postoje zoonoze koje se sustavno ne kontroliraju i o kojima nema točnih podataka o rasprostranjenosti, a predstavljaju opasnost po ljudsko zdravlje. Takve zoonoze su:granulocitna analplazmoza, borelioza, erlihioza i srčana dirofilarioza. Uzorci krvi skupljeni su od 29 asimptomatskih pasa tijekom 2015 godine na području Istre te su testirani SNAP® 4Dx® Plus skrining testom i modificiranim Knottovim testom. Od 29 pregledanih pasa modificiranim Knottovim testom dirofiralija je nađena kod 15 (52%) pasa, a SNAP® 4Dx® Plus skrining testom *Dirofilaria immitis* ustanovljena je u 6 (21%) pasa. *D. immitis* je zastupljena u 40% od ukupno pozitivnih pasa.Analiza rizičnih čimbenika kao što su pasmina, spol, dob, način držanja pasa, njihova namjena i kontakt pasa s okolišem ukazuje da ne postoji značajna razlika u pojavi dirofilarije između pasmina, spola i dobiali je statistički značajna razlika nađena s obzirom na držanje pasa i njegovu namjenu. Statistički značajna razlika ustanovljena je između pasa koji se koriste kao psi tartufari i kao lovački psi. Prevalencija u pasa tartufara 2,75 (CI 95% od 1,78 % do 6,41 %) puta je veća nego prevalencija u lovačkih pasa. Također, izloženost dirofilariozi kod pasa tartufara je 12,7 (CI 95% od 1,8 do 83,77) puta veća nego kod lovačkih pasa ($P<0,05$). Pokazalo se da bez obzira na namjenu pasa, izloženost pasa prema dirofilariozi u zapadnoj Istri veća je ukoliko psi borave na otvorenom prostoru kroz duže vrijeme. Uspoređujući skupine pasa ustanovljeno je da je prevalencija *D. immitis* u pasa koji borave 24 sata na otvorenom prostoru 4,17 (CI 95 % od 1,02 do 17,08) puta veća u odnosu na pse koje borave na otvorenom isključivo danju ($P < 0,05$), a mogućnost invazije takvih pasa s *D. immitis* je čak 10,05 (CI 95% od 1,03 do 107,08) puta veća. Poznavanje prevalencije, prepoznavanje i definiranje rizičnih čimbenika te kvantificiranje rizika preduvjetisu za definiranje i implementaciju strategija zdravstvene zaštite i provođenje preventivnih i kontrolnih mjera u cilju zaštite zdravlja kako pasa tako i ljudi.

Ključne riječi: epidemiološko istraživanje, zoonoze, dirofilarioza, prevalencija, rizični čimbenici, javno zdrastvo,

11. Summary

Epidemiological study of important zoonoses in dogs and risk assessment for public health

Using epidemiological methods for detection and control of zoonoses is an important factor in public health. There are zoonoses which are not regularly controlled and about which there is no accurate data on their prevalence; these zoonoses pose a threat to human health. These zoonoses are: anaplasmosis, borreliosis, ehrlichiosis and dirofilariasis. Blood samples were collected from 29 asymptomatic dogs in 2015 in Istria and testedwith SNAP® 4Dx® Plus screening test and modified Knott test. In 29 dogs examined with the modified Knott test, dirofiralia was found in 15 (52%) dogs, and by usingSNAP® 4Dx® Plus screening test heartworms are established in 6 (21%) dogs. *D. immitis* is present in 40% of positive dogs. Analysis ofrisk factors such as breed, sex, age, keeping dogs outside all the time or just during the daytime, purpose of the dog and dog´s environment indicates that there is no significant difference in the occurrence of *Dirofilaria* between breed, sex and age.However, statistically significant differences are found indogs kept outside and considering dog´s purpose. The statistically significant difference is found between truffle dogs and hunting dogs.The prevalence in truffle dogs is 2.75 (CI 95% from 1,78 %up to 6,41 %) times higher than the prevalence in hunting dogs.Also, exposure to dirofilarasis in truffle dogs was 12.7 (CI 95% from 1,8 % up to 83,77 %) times bigger than that in hunting dogs ($P < 0.05$).It turned out that regardless of the purpose of dogs, exposure to dirofilariasis in western Istria is higher if the dogs are keptfor a long time outdoor. By comparing two groups of dogs we found out that the prevalence of *D. immitis* in dogs who stayed 24 hours outside of a housewas 4,17 (CI 95% from 1,02 %up to 17,08 %) times higher than in dogs who stayed only outside during the day ($P < 0.05$), and the possibility of the invasion of these dogs with*D. immitis*is even 10.05 (CI 95 % from 1,03 % up to 107,08 %) times higher. Knowledge about prevalence, identifying risks, defining risk factors and quantification of risk is a postulate for the definition and implementation ofanimal health strategies and the implementation of prevention and control measures in order to protect the health of both dogs and humans.

Key words: epidemiological study, zoonoses, prevalence, risk factors, public health

12. Životopis

Rođena sam 10. studenog 1991. godine u gradu Zagrebu. Završila sam Klasičnu gimnaziju 2010. godine, te iste godine upisujem Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Od tada sam redovna studentica. Tijekom studija prisustvovala sam na dva kongresa; Veterinarski dani u Opatiji 2015. godine gdje sam bila tehnička pomoć, a 2016. godine odlazim na prvi Istočnoeuropski veterinarski Kongres u grad Beograd. Kao svoje usmjerenje tijekom posljednja tri semestra fakultetske nastave odabrala sam smjer ″Kućni ljubimci″. Dvanaesti semestar odlazim na stručnu praksu u sklopu Erasmus + stručne prakse gdje provodim tri mjeseca u veterinarskoj klinici Tierklinik Hollabrunn, Austrija. Apsolvirala sam 2016. godine. Služim se engleskom jezikom u govoru i pismu, te aktivno učim njemački jezik.