

# Epidemiološko istraživanje nekih zoonoza u pasa i procjena rizičnih čimbenika

J. Mraović, B. Jurić, M. Krznarić, Z. Tus, M. Lončar, V. Vrkić,  
A. Marinculić, K. Krivičić i M. Pavlak\*



## Sažetak

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 za 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 u 15 (52 %) pasa, a SNAP\*4Dx\* Plus Testom *Dirofilaria immitis* uočena je u 6 (21 %) pasa. *D. immitis* je zastupljena u 40 % od ukupno pozitivnih pasa. Analiza rizičnih čimbenika kao što su: pasmina, spol, dob i 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, ali je statistički značajna razlika nađena s obzirom na držanje pasa i njihovu namjenu. Statistički značajna razlika uočena 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 je izloženost diofilariozni u pasa tartufara 12,7 (CI 95% od 1,8 do 83,77) puta veća nego u lovačkih pasa ( $P<0,05$ ). Pokazalo se da i bez obzira na namjenu pasa, izloženost pasa prema diofilariozi u zapadnoj Istri je veća ukoliko psi borave na otvorenom prostoru duže vrijeme. Uspoređujući skupine pasa uočeno je da je prevalencija *D. immitis* u pasa koji borave 24 sata na otvorenom prostoru 4,17 (CI 95% 1,02-17,08) puta veća u odnosu na pse koje borave na otvorenom samodanju ( $P<0,05$ ), a mogućnost invazije takvih pasa s *D. immitis* je čak 10,05 (CI 95% 1,03-107,08) puta veća. Poznavanje prevalencije te prepoznavanje i definiranje rizičnih čimbenika te kvantificiranje rizika, ujedno je i preduvjet za definiranje i implementaciju strategije zdravstvene zaštite i provođenja preventivnih i kontrolnih mjera u cilju zaštite zdravlja kako pasa tako i ljudi.

**Ključne riječi:** epidemiološko istraživanje, zoonoze, dirofilarioza, prevalencija, rizični čimbenici

Jelena MRAOVIĆ, dr. med. vet., Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska; mr. sc. Branko JURIĆ, dr. med. vet., Veterinarska bolnica Poreč, Hrvatska; Miroslav KRZNARIĆ, univ. mag. med. vet., Zdravko TUS, dr. med. vet., Matija LONČAR, dr. med. vet., Veterinarska stanica Rijeka, Hrvatska; dr. sc. Albert MARINCULIĆ, dr. med. vet., redoviti profesor, dr. sc. Marina PAVLAK\*, dr. med. vet., redovita profesorica, (dopisni autor, e-mail: mpavlak@ef.hr), Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska; Vanja VRKIĆ, dr. med. vet., Hrvatska; Katja KRIVIČIĆ, dr. med. vet., Hrvatska

## Uvod

Zoonoze su bolesti koje se prenose izravno ili neizravno sa životinja na ljude. Danas je poznat veliki broj zoonoza koje zahtijevaju različiti epidemiološki pristup u otkrivanju i kontroli bolesti. Primjena epidemioloških postupaka u otkrivanju i kontroli zoonoza važan je alat 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 ponajprije bolesti koje je Svjetska organizacija za zdravlje životinja (World Organisation for Animal Health, OIE) definirala kao bolesti od posebnog značenja iz razloga što predstavljaju znatnu opasnost za zdravlje ljudi i/ili dovode do znatnih ekonomskih gubitaka. Na OIE listi značajnih bolesti nalazi se 118 bolesti životinja (OIE, 2016.), među kojima su bjesnoća i ehinokokoza. Pas je čimbenik rizika za prijenos ovih dviju bolesti na čovjeka. Međutim, postoje i zoonoze koje psi mogu potencijalno izravno ili neizravno prenijeti na čovjeka, ali za koje nema podataka o njihovoj proširenosti u populaciji pasa pa ostaje nepoznata činjenica koliko su psi stvarni rizični čimbenik za ljude. Neke od tih bolesti su granulocitna anaplastmoza, borelioza, erlihioza i srčana dirofilarioza. Granulocitna anaplastmoza je bolest prouzročena rikecijom vrste *Anaplasma phagocytophilum*, koja se prenosi krpeljom iz roda *Ixodes*. Kako anaplastmoza u pasa može često ostati neprepoznatljiva, ona predstavlja znatan javnozdravstveni problem. u endemskim područjima protutijela se ne pojavljuju u svih inficiranih pasa pa se i serološkom pretragom ne otkrivaju svi inficirani psi (Granick i sur., 2009.). U Evropi seroprevalencija pasa inficiranih s *A. phagocytophilum* je različita i kreće se od 2,7 % 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.) te 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 populaciji zdravih pasa u Njemačkoj s *A. phagocytophilum* utvrđena je u rasponu od 19,4 % (Barth i sur., 2012.) pa do 42 % (Kohn i sur., 2011.).

Borelioza je bolest životinja i ljudi prouzročena spiralnom bakterijom *Borrelia burgdorferi*, čiji je vektor krpelj *Ixodes ricinus*. Borelioza je u velikom dijelu Europe endemično prisutna. Prevalencija borelioze u pasa u Evropi 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 36 % u Latviji (Berzina i Matise, 2013.). U Srbiji je otkrivena različita seroprevalencija u lovačkim pasa i pasa držanih u skloništima za pse (azilima). U azilima seroprevalencija borelioze je bila znatno manja (24,7 %) nego u lovačkim pasa (31,2 %) (Obrenović i sur., 2015.).

Dirofilarioza je bolest prouzročena oblicima iz roda *Dirofilaria* (Anderson, 2000.) koji sadrži dva podroda. Podrodu *Dirofilaria* pripada *Dirofilaria immitis*, a podrodu *Nochtiella* pripada *Dirofilaria repens* (Manfredi i sur., 2007.). U prijenosu dirofiličira znatnu ulogu imaju posrednici, komarci iz rodova *Culex*, *Aedes*, *Psorophora*, *Mansonia* ili *Anopheles* (Manfredi i sur., 2007.). *D. immitis* prouzroči 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 dirofiličije u pasa je visoka u vlažnim područjima gdje se mogu naći u velikom broju vektora. U

Italiji, prije svega oko rijeke Po, uočeno je od 35 % do 80 % pozitivnih pasa (Genchi i sur., 2007.). U Sloveniji, Bugarskoj, Grčkoj i Turskoj nađeno je od 2 % do 17 % pozitivnih pasa, Slovačkoj od 8 % do 20 %, a u Rumunjskoj čak 65 % (Genchi i sur., 2007., Miterpakova i sur., 2010.). Nešto manji broj pozitivnih pasa ustanovljen je u Češkoj (9 %) (Svobodova i sur., 2006.) i u Francuskoj (6,8 %) (Pantchev i sur., 2009.). U Njemačkoj se prevalencija dirofilarija u zdravih pasa iznosi od 6,4 % (Rohrig i sur., 2011.) pa čak do 31,1 % (Krupka i sur., 2007.).

Sporadična istraživanja provedena u Hrvatskoj ukazuju na prisutnost dirofilarija u pasa u pojedinim područjima Hrvatske. Prema podatcima Živičnjak i sur. (2006., 2007.) *D. repens* nađena je u 15,5 % pasa te je u jednom broju pozitivnih pasa dokazan i antigen *D. immitis*. Jurić i sur. (2007.) su na području Istre otkrili prisutnost *D. immitis* u 5,5 % i *D. repens* u 10,4 % pasa tartufara, a u istraživanju Holler i sur. (2010.) bolest je potvrđena u 30,5 % pasa. Među njima mikroskopskom diferencijacijom je u 45,9 % pozitivnih nalaza identificirana *D. repens*, a u 6,6 % pozitivnih slučajeva potvrđen je antigen za *D. immitis*.

Znatnu 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.) nalaz *Borrelia burgdorferi* uočena je u čak 85,7 % pretraženih 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. god. 9,2 % (Schorn i sur., 2011.). Vrlo visoki postotak inficiranosti/invadiranosti krpelja uzročnicima *B.*

*burgdorferi* (42,5 %) i *A. phagocytophilum* (13,9 %) zabilježen je i u Srbiji (Milutinović i sur., 2008.) te na granici Italije i Slovenije gdje je otkriveno 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.).

Karakteristika ovih zoonosa je ta što u pasa često ostanu neprepoznatljive jer psi u velikom broju slučajeva ne pokazuju znakove bolesti, a istovremeno mogu prenijeti bolest na ljude. 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 anaplasmozi. 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 i s etiologijom multiple skleroze, kronične bolesti SŽS-a koju karakterizira kronična inflamacija i demijelinizacija. Prevalencija ove bolesti u ljudi bila je u korelaciji s distribucijom *B. burgdorferi* (Batinac i sur., 2007.). Seroprevalencija borelioze u pasa značajno korelira s pojavom borelioze u ljudi (Johnson i sur., 2004.). Na to ukazuje istraživanje provedeno u Nizozemskoj gdje je seroprevalencija borelioze uočena u lovačkim pasa (18 %) slična kao i u vlasnika tih pasa (lovaca) (15 %). Pokazalo se da nema velike razlike između seroprevalencije u lovačkim pasa i pasa koji se drže kao kućni ljubimci (Goossens i sur., 2001., Rohrbach i sur., 2011.). Stoga je procjena seroprevalencije borelioze u pasa najvažnija mjera koja pomaže u evaluaciji promjena u prevalenciji bole-

sti u određenim područjima i pomaže u procjeni razine rizika za čovjeka. Preventiva kod ovih bolesti podrazumijeva stalni nadzor pasa i primjenu repelentnih pripravaka, no da bi stalni nadzor pasa bio moguć potrebno je ustvrditi točan broj invadiranih pasa u populaciji (Bhide i sur., 2004.).

Na važnost procjene pasa kao rizičnog čimbenika za pojavu humane dirofilarioze ukazuje i činjenica da humana dirofilarioza često protječe i asimptomatski te ostane neprepoznata. U Japanu je od 24 slučaja humane plućne dirofilarioze, u 67 % slučajeva bila asimptomatska, a u 83 % slučajeva bili su samo povećani limfni čvorovi (Miyoshi i sur., 2006.). Uočeno je i da je dirofilarija u ljudi prouzročila male lezije na plućima (veličine novčića) koje su kasnije povezane s neoplastičnim promjenama i granulomima. Dalnjim epidemiološkim istraživanjima uočena je poveznica tih ljudi s psima koji su bili asimptomatski invadirani dirofilarijama.

Sporadična istraživanja ovih zoonoza ukazuju na prisutnost ovih uzročnika u vektorima prikupljenim u seoskim i priogradskim područjima Istre. Nalaz protutijela za spomenute zoonoze u populaciji zdravih pasa upućuju na hipotezu da psi predstavljaju jednu od karika u lancu širenja spomenutih uzročnika zoonoza na ljude, a time javnozdravstveni problem. Međutim, ova pretpostavka te procjena stvarne opasnosti i povezanosti pasa kao rizičnog čimbenika s pojmom bolesti u ljudi može se potvrditi epidemiološkim istraživanjem. Stoga je cilj ovog epidemiološko-opservacijskog istraživanja procijeniti prevalenciju za vrste *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia canis/Ehrlichia ewingii* i *Dirofilaria immitis* u zdravim pasa na području Istre i procijeniti rizične čimbenike kao što su dob, način i uvjeti držanja pasa te uloga pasa u domaćinstvu ovisno o tome drži li se psi kao kućni ljubimci ili se koriste kao lovački psi ili psi tartufari.

## Materijali i metode

Istraživanje je provedeno na populaciji zdravih pasa na području Istre, a uključivalo je uzorkovanje 134 klinički zdravih pasa tijekom 2015. godine. U cilju detekcije *Dirofilaria immitis* antiga, *Borrelia burgdorferi* protutijela, *Anaplasma phagocytophilum* protutijela i *Ehrlichia canis/Ehrlichia ewingii* protutijela koristio se SNAP® 4Dx® Plus Test. Za dokaz mikrofilarija u uzorku krvi koristio se modificirani Knottov test.

Epidemiološko istraživanje potencijalnih rizičnih čimbenika provodilo se putem epidemiološkog upitnika koji se sastojao od tri dijela. Prva dva dijela upitnika sadržavala su opće podatke o vlasniku i o kućanstvu. Treći dio epidemiološkog upitnika sadržavao je pitanja vezana za specifične podatke kao što su podatci o pasmini, dobi i spolu te podatci koji opisuju način držanja pasa, smještaj, kretanje, hranjenje pasa, dodir s drugim psima i ulogu pasa u tom kućanstvu, odnosno značenje koje taj pas ima za vlasnika (kućni ljubimac, lovački pas, pas tartufar). Navedeni podatci uzeti su u obzir kao mogući rizični čimbenici za pojavu i prijenos istraživanih bolesti.

Za epidemiološku i statističku obradu rezultata koristili su se programi EpiInfo, WinEpiscope ver. 2. i Statistica ver. 10. Provedeno je retrospektivno opservacijsko istraživanje na temelju kojeg se računao rizik kao omjer prevalencije i odnos vjerojatnosti izloženosti (OR). Za procjenu statističke značajnosti razlika između analiziranih skupina koristili smo statističke testove koji su uključivali testiranje proporcija, Chi kvadrat test te logističku regresijsku analizu. Značajnost razlika provjerene su na razini pogreške od 5 % ( $P<0,05$ ).

## Rezultati

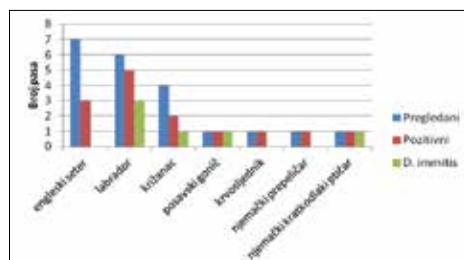
Od ukupno pregledanih 134 pasa na području Istre, SNAP® 4Dx® Plus testom uočena je *Dirofilaria immitis*

u 16 (11,94 %, CI 95% 6,45-17,43 %), a *Anaplasma phagocytophilum* u 5 (3,73 %, CI 95% 0,52-6,94 %) pasa. Od ukupnog broja pasa u kojih je nađena *D. immitis* ( $n=16$ ), jedna pozitivna životinja bila je na području istočne Istre, a ostalih 15 pozitivnih pasa bilo je na području zapadne Istre.

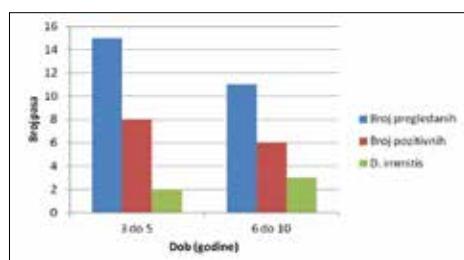
Protutijela za *Anaplasma phagocytophilum* uočena su u pet pasa na području istočne Istre koji su se držali kao kućni ljubimci. Psi su uglavnom tijekom dana boravili vani, u dvorištu tijekom dana (50 do 80 % vremena) gdje su se mogli slobodno kretati te su mogli doći u dodir s psima nepoznatih vlasnika.

Kako je istraživanjem otkriven najveći broj pozitivnih pasa na području zapadne Istre, radi točnije i preciznije interpretacije epidemiološke ankete s dobivenim rezultatima seroloških pretraga i njegove usporedbe s rizičnim čimbenicima, daljnja analiza rezultata, provedena je na rezultatima dobivenim na području zapadne Istre. Od ukupno 29 pregledanih pasa na području zapadne Istre modificiranim Knottovim testom mikrofilarije nađene su u krvi 15 (51,72 %, CI 95% od 33,82 % do 70,19 %) pasa, a brzim SNAP\*4Dx\* Plus testom antigen za *Dirofilaria immitis* ustanovljen je u 6 (20,69 %, CI 95% od 6,18 % do 35,72 %) pasa. Od ukupnog broja pasa u kojih su nađene mikrofilarije ( $n=15$ ), *D. immitis* (SNAP test) je bila zastupljena u 6/15 (40 %) pozitivnih pasa.

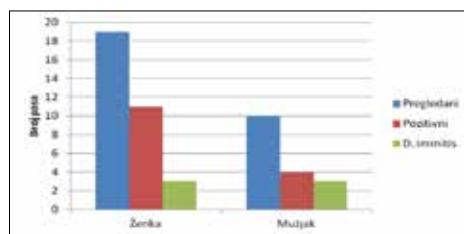
U cilju procjene rizičnih čimbenika analizirani su: pasminske osobine, dob, spol te način i uvjeti držanja pasa kao i uloga pasa u domaćinstvu. Na slici 1 prikazan je broj pregledanih i pozitivnih pasa po pasminama. Istraživanjem su obuhvaćene različite pasmine uključujući: engleskog setera ( $n=7$ ), labradora ( $n=6$ ) križance ( $n=4$ ), posavskog goniča, krvosljednika, njemačkog prepeličara i njemačkog kratkodlakog ptičara. Labradori su bili invadirani u najvećem postotku (83,33 %, CI 95% od 52,94 %



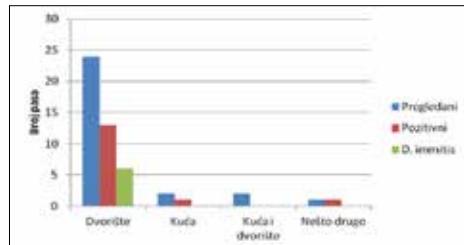
Slika 1. Broj pregledanih i pozitivnih pasa prema pasminama



Slika 2. Broj pregledanih i pozitivnih pasa prema dobi

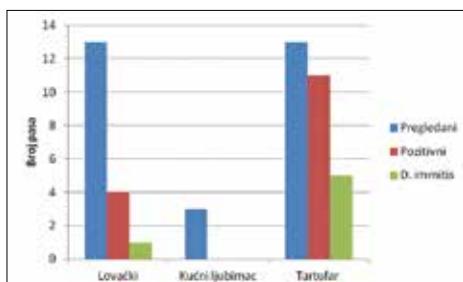


Slika 3. Broj pregledanih i pozitivnih prema spolu



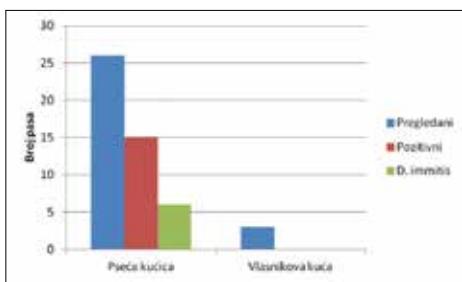
Slika 4. Broj pregledanih i pozitivnih pasa prema načinu držanja

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 u labradora (50,00 %, CI 95 % od 9,99% do 90,01%).



**Slika 5.** Broj pregledanih i pozitivnih pasa prema namjeni

Broj pregledanih i pozitivnih pasa po dobi prikazan je na slici 2. Istraživanjem su bili obuhvaćeni psi u dobi od 3 do 5 godina te od 6 do 10 godina. Od 15 pregledanih pasa dobne skupine između 3 do 5 godina mikrofilarije su nađene u 53,33 % (CI 95% od 28,08 % do 78,58 %), a *D. immitis* antigen je potvrđen u 13,33 % (CI 95% od 3,87 % do 30,5 %) pasa. U starije dobne skupine od ukupno 11 pregledanih pasa mikrofilarije su bile prisutne u



**Slika 6.** Broj pregledanih i pozitivnih prema tipu zaklona

54,55 %, (CI 95% od 23,12 % do 83,98 %), a *D. immitis* antigen u 27,27 % (CI 95% od 0,93 % do 53,59 %) pasa.

Broj pregledanih i pozitivnih pasa po spolu prikazan je na slici 3. Mikrofilarije su ustanovljene 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* antigen dokazan 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.

**Tabela 1.** Rizični čimbenici i procjena rizika povezana s nalazom mikrofilarija

Rizični čimbenik		Jačina	Rizika	
	Omjer prevalencije (prevalence ratio)	CI 95%	Odnos vjerojatnosti (Odds ratio)	CI 95%
<b>Veličina pasmine</b> Velika/Srednja	1,50	0,43-5,2	2	0,27-14,7
<b>Dob (godine)</b> Stariji/Mlađi	1,02	0,49-2,07	1,05	0,22-5,16
<b>Spol</b> Ženka/Mužjak	1,44	0,61-3,38	2,06	0,43-9,80
<b>Način držanja</b> Dvorište/Kuća	1,08	0,25-4,54	1,18	0,06-21,17
<b>Namjena</b> Tartufar/Lovački	2,75*	1,78-6,41	12,37*	1,82-83,77
<b>Kretanje</b> 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 ( $P<0,05$ )

Jedan od važnijih rizičnih čimbenika u pasa su uvjeti okoliša (temperatura, vлага) koji utječu na kontakt pasa s vektorom, a kontakt pasa s vektorom ovisi i o načinu držanja pasa (Slika 4) kao i o njegovoj namjeni (Slika 5). S obzirom na namjenu pasa, psi su podijeljeni u tri skupine: tartufari, lovački psi i kućni ljubimci (Slika 5). Modificiranim Knottovim testom mikrofilarije su nađene u 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 ( $P<0,05$ ). *D. immitis* antigen dokazan je u obje skupine pasa, ali u znatno 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 ( $P<0,05$ ). U trećoj skupini pasa koji se drže kao kućni ljubimci dirofilarija nije nađena.

S obzirom na način držanja, 24 pregledana psa držana su na otvorenom u dvorištu (Slika 6), a mikrofilarije su nađene u njih 45,83 % (CI 95% od 28,83 % do 68,83 %) dok je antigen za *D. immitis* dokazan u 25,00 % (CI 95% od 7,68 % do 42,32 %) pasa. Dva pozitivna psa

prema iskazu vlasnika držana su većinu vremena u kući.

Broj pregledanih i pozitivnih pasa prema tipu zaklona prikazan je na slici 6. Od ukupno 26 pregledanih pasa držanih u psećoj kući nađeno je 15 (57,69 %; CI 95% od 30,78 % do 76,68 %) pozitivnih pasa Knottovim testom, dok je antigen *D. immitis* dokazan u 6 (23,08 %, CI 95% od 6,88 % do 39,28 %) pasa. Od 3 pregledana psa držana u vlasnikovo kući dirofilarije nisu nađene niti u jednoga psa.

Analiza rizičnih čimbenika i procjena rizika prikazani su u tabelama 1 i 2. Kako je vidljivo iz tabele, statistički značajna povezanost nalaza mikrofilarija i dokaza antiga za *D. immitis* s rizičnim čimbenicima nađena je u odnosu na namjenu pasa i način držanja. Veća izloženost otkrivena je u pasa tartufara u odnosu na lovačke pse i u pasa koji su držani vani na dvorištu, na otvorenom.

## Rasprrava

Na temelju sustavnog epidemiološkog i opservacijskog istraživanja četiriju

**Tabela 2.** Rizični čimbenici i procjena rizika povezana s dokazom antiga za *D. immitis*

Rizični čimbenik	Omjer prevalencije (prevalence ratio)	Jačina CI 95%	Rizika Odnos vjerojatnosti (Odds ratio)	CI 95%
<b>Veličina pasmine</b> Velika/Srednja	0,43	0,03-5,77	0,38	0,02-7,40
<b>Dob (godine)</b> Stariji/Mlađi	2,05	0,41-10,25	2,44	0,33-17,91
<b>Spol</b> Mužjaci/Ženke	1,9	0,47-7,75	2,29	0,37-14,35
<b>Namjena</b> Tartufar/Lovački	5,00*	0,67-37,12	7,5*	0,73-76,77
<b>Kretanje</b> 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 ( $P<0,05$ )

bolesti, anaplastoze, dirofilarioze, erlihioze i borelioze u populaciji zdravih pasa na području zapadne Istre, razvidno je da su najznačajniji uzročnici koji se javljaju u velikom broju u zdravih pasa vrste iz roda *Dirofilaria*, tj. *D. repens* i *D. immitis*. Modificiranim Knottovim testom mikrofilarije otkrivene su u 51,72 % (CI 95 % od 33,82 % do 70,19 %) pasa, dok je brzim SNAP\*4Dx\* Plus skrining testom u 20,69 %, (CI 95% od 6,18 % do 40,26 %) pasa dokazan antigen za vrstu *Dirofilaria immitis*. U istraživanjima Holler i sur. (2010.) provedenim u području srednje Istre, otkriveno je nešto manje (30,5 %) pozitivnih pasa. U odnosu na istraživanja prevalencije u nekim europskim zemljama, u našim istraživanjima mikrofilarije nađene su u većem broju pasa u odnosu na istraživanja provedena u Bugarskoj (8,62 %) (Krikova i sur., 2007.) i Rumunjskoj (23,07 %) (Sofia i sur., 2007.), Slovačkoj (od 8 % do 20 %) (Miterpakova 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., Rohrig i sur., 2011.), dok je prevalencija *D. immitis* u našim istraživanjima bila 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 prouzročena s obje vrste dirofillarija. Međutim, kako se istovremeno u istih pasa radilo i testiranje brzim SNAP\*4Dx\* Plus testom koji otkriva samo antigen *D. immitis*, moguće je razlučiti invadiranost s *D. immitis*. Od ukupnog broja pasa u kojih su nađene mikrofilarije ( $n=15$ ), *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*, što bi na razini populacije bilo 31,3 % (CI 95% od 15,97 % do 50,95 %). Međutim, u 40 % pasa u

kojih su nađene mikrofilarije u krvi i dokazan antigen za vrstu *D. immitis*, ne isključuje prisutnost mikrofilarija za obje vrste dirofijalrija. Stoga prevalencija dirofilarije prouzročene s *D. repens* može biti i veća. Podjednaku učestalost i jedne i druge dirofilarije u pasa otkrili su Ionica i sur. (2015.) u Rumunjskoj i kretala se oko 6,15 % za *D. immitis* i 6,92 % za *D. repens*. Primjenjujući istu metodu za dokaz antiga za *D. immitis*, Farkas i sur. (2014.) dokazali su prisustvo *D. immitis* u puno manjem postotku (2,4 %) na području Mađarske. Na području Rumunjske ustanovljena je u 3,3 % pasa (Mircean i sur., 2012.), a u Slovačkoj s 2,1 % pozitivnih pasa prisutna je kao endemska bolest (Miterpakova i sur., 2008.).

Analizom izloženosti pasa nekim potencijalnim rizičnim čimbenicima (pasmina, spol, dob, način držanja pasa, uloga pasa u domaćinstvu) statistički značajne razlike uočene su s obzirom na držanje pasa (Slika 4) i njihovu namjeru (Slika 5).

Prevalencija mikrofilarija bila je podjednaka u muških i ženskih jedinki kao i u mlađih i starijih pasa (Tabela 1, Slike 2 i 3). Prevalencija *D. immitis* bila je 2,05 (CI 95% od 1,78 do 6,41 %) puta veća u starijih pasa u odnosu na mlađe i 1,9 (CI 95% od 0,47 do 7,75 %) puta u muških životinja u odnosu na ženske životinje. Izgledi za infekciju starijih pasa u odnosu na mlađe su veći (OR=2,44) kao i muških jedinki u odnosu na ženske životinje (OR=2,29), ali te razlike nisu bile statistički značajne (Tabela 2). Sličan rezultat istraživanja prevalencije *D. immitis* dobili su Caro-Gonzalez i sur. (2010.) koji su također ukazali da su starije životinje (>2 godine) imale 2,49 puta veće izglede za infekciju *D. immitis*. U istraživanjima Iglódyová i sur. (2012.) navodi se da su stariji psi u dobi od 6-10 godina imali 3,5 puta veće izglede za infekciju u odnosu na mlađe jedinke u dobi od 3-5 godina. I drugi

autori poput Miterpáková i sur. (2008.) potvrdili su da se dirofilarioza češće javlja u pasa starijih od 3 godine.

S obzirom na korištenje pasa u domaćinstvu (kućni ljubimci, lovački psi, psi tartufari) u pasa kućnih ljubimaca nisu nađene mikrofilarije i nisu bili pozitivni SNAP testom. Uspoređujući pozitivne pse, tj. one koji se koriste kao psi tartufari i kao lovački psi uočena je statistički značajna razlike u prevalenciji i izloženosti. Prevalencija mikrofilarija u pasa tartufara bila je 2,75 (CI 95% od 1,78 do 6,41) puta veća nego u lovačkih pasa, a prevalencija s *D. immitis* (dokazana SNAP testom) čak 5 (CI 95% od 0,67 do 37,12) puta veća u pasa tartufara u odnosu na lovačke pse. Izgledi za infekciju pasa tartufara mikrofilarijama u odnosu na lovačke pse bila je 12,7 (CI 95% od 1,8 do 83,77) veća, a za *D. immitis* antigen 7,5 (CI 95% od 0,73 do 76,77) puta veća ( $P<0,05$ ) (Tabele 1 i 2, Slika 5). Veća prevalencija kao i veća izloženost pasa tartufara može se objasniti većom izloženosti pasa tartufara vektorima. Izloženost pasa vektoru je veća ukoliko pas boravi na otvorenom prostoru i u prirodi što je slučaj s lovačkim psima i tartufarima, za razliku od pasa koji se kao kućni ljubimci ponajprije 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 u otvorenom prostoru (šumi) odnos načinu „lova“. Tartufari se u traženju tartufa kreću sporije, njušeći tlo povremeno zastajkuju, za razliku od lovačkih pasa koji se kreću brže i tijekom lova su aktivniji. Način i brzina kretanja u otvorenom prostoru u kojem se vektori (komarci) kontinuirano prisutni tijekom dana, kao što su šume, obrnuto proporcionalan je s mogućnošću dodira pasa s vektorom (brže kretanje manja mogućnost dodira i obrnuto). Slične rezultate dobili su i Iglódyová

i sur. (2012.) koji su potvrdili da je namjena psa značajan rizični čimbenik za dirofilariozu. Izgledi za infekciju lovačkih i radnih pasa bili su 2-2,67 puta veća nego što su dirofilariozi bili izloženi psi koji su držani kao kućni ljubimci.

Pokazalo se i da bez obzira na namjenu pasa, izloženost pasa dirofilariozi u zapadnoj Istri je veća ukoliko psi borave na otvorenom prostoru kao što su dvorišta i to poglavito kroz duže vrijeme (cijeli dan, pa i noć). Na temelju epidemiološkog upitnika uočeno je da neki psi borave na otvorenom npr. u dvorištima 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% 1,02-17,08) puta veća u odnosu na pse koje borave na otvorenom samo danju ( $P<0,05$ ). Izloženost takvih pasa vektorima, odnosno mogućnošću invadiranja s *D. immitis* je čak 10,05 (CI 95% 1,03-107,08) puta veća u odnosu na skupinu pasa koji su vani samo danju (Tabela 2). Veća prevalencija kao i veći izgledi za pozitivan ishod testa na *D. immitis* u pasa iz skupine u kojoj se psi drže na otvorenom tijekom 24 sata, može se objasniti većom izloženošću pasa vektorima u kasnim popodnevnim satima kada je i aktivnost vektora najveća.

U slučaju dirofilarioze razvidno je da se veći rizik pripisuje onim čimbenicima koji se mogu dovesti i u vezu s mogućnosti dodira pasa s vektorom. Što je ta mogućnost veća, npr. duži boravak na otvorenom ili boravak u područjima gdje komarci u velikom broju obitavaju (npr. šumska područja u slučaju lovačkih pasa i pasa tartufara), rizik za infekciju je veći.

Na temelju provedenog epidemiološkog upitnika potvrđena je i prepostavka da vlasnici o prisustvu ove bolesti u pasa kao i o općim podatcima o ovoj bolesti ne znaju mnogo ili čak ništa, a što potvrđu-

ju u svojim istraživanjima Holler i sur. (2010.). Stoga je glavna i najvažnija mјera kontrole ove bolesti ne samo provođenje mјera koje će smanjiti dodir pasa s vektorima, već i edukacija vlasnika. Edukacija vlasnika jedna je od bitnih preventivnih mјera u cilju sprječavanja pojave i širenja bolesti u pasa, a time se ujedno i sprječava pojava i širenje humane dirofilarioze.

Rezultati dobiveni epidemiološkim istraživanjima potvrđuju već poznate činjenice o bolestima, a otkrivaju i neke nove detalje vezane uz pojavu bolesti. kada je u pitanju dirofilarioza i anaplasmoza na području Istre, takva istraživanja predstavljaju doprinos u poznavanju rizičnih čimbenika koji do sada nisu sustavno istraživani, definirani niti kvantificirani. Kvanticiranje rizika je preduvjet za definiranje u kojoj mjeri dirofilarioza predstavlja javnozdravstveni problem, a i čini osnovu za definiranje strategije kontrole ove bolesti u pasa, što je preduvjet za sprječavanje pojave i širenja bolesti u ljudi.

## Literatura

- ANDERSON, R. C. (2000): Nematode parasites of vertebrates, their development and transmission. 2<sup>nd</sup> Edition, CABI Publishing, 650 pages.
- BARTH, C., R. K. STRAUBINGER, C. SAUTER-LOUIS and 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.
- BATINAC, T., D. PETRANOVIC, G. ZAMOLO and A. RUZIC (2007): Lyme borreliosis and multiple sclerosis are associated with primary effusion lymphoma. Med. Hypotheses 69, 117-119.
- BECK, R., B. HABRUN, S. BOSNIĆ, M. BENIĆ, T. NEMETH-BLAŽIĆ and S. DUVNJAČ (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, p. 25.
- BERZINA, I. and I. MATISE (2013): Seroprevalence against *Borrelia burgdorferi* sensu lato and occurrence of antibody co-expression with *Anaplasma phagocytophilum* in dogs in Latvia. Irish Vet. J. 66, 9.
- BHIDE, M. M. TRAVNICEK, J. CURLIK and A. STEFANCIKOVA (2004): The importance of dogs in eco-epidemiology of Lyme borreliosis: a review. Vet. Med. Czech 49, 135-142.
- CANCIRINI, G. and S. GABRIELLI (2007): Vectors of *Dirofilaria* nematodes: biology, behaviour and host/parasite relationships. In: Genchi, C., L. Rinaldi, G. Cringoli: Mappe Parassitologiche 8: *Dirofilaria immitis* and *D. Repens* in dog and cat and human infections. Rolando Editore, pp. 47-58.
- CARO-GONZALEZ, J. A., M. E. BOLIO-GONZALEZ, F. J. ESCOBEDO-ORTEGÓN, P. MANRIQUE-SAIDE, R. I. RODRIGUEZ-VIVAS, J. C. RODRIGUEZ-BUENFIL and C. H. SAURI-ARCEO (2010): Prevalence of *Dirofilaria immitis* infection in Dogs from Celestun, Mexico, Using Polymerase Chain Reaction Test. Vector Borne Zoonotic Dis. 11, 193-196.
- DUNCAN, A. W., M. T. CORREA, J. F. LEVINE and 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 Dis. 4, 221-229.
- EBANI, V. V., F. BERTELLONI, B. TORRACCA and 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.
- FARKAS, R., M. GYURKOVSKY, Z. LUKACS, B. ALADICS and N. SOLYOMOSI (2014): Seroprevalence of Some Vector-Borne Infections of Dogs in Hungary. Vector Borne Zoonotic Dis. 14, 256-260.
- GENCHI, C., J. GUERRERO, J. W. MCCALL and L. VENCO (2007): Epidemiology and prevention of Dirofilaria infections in dogs and cats. In: 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.
- GOOSSENS, H. A. T., A. E. VAN DEN BOGAARD and M. K. E. NOHLMANS (2001): Dogs as sentinels for human Lyme borreliosis in The Netherlands. J. Clin. Microbiol. 39, 844-848.
- GRANICK, J. L., P. J. ARMSTRONG and J. B. BENDER (2009): *Anaplasma phagocytophilum* infection in dogs: 34 cases (2000-2007). J. Am. Vet. Med. Assoc. 234, 1559-1565.
- HENNINGSSON, A. J., B. E. MALMVALL, J. ERNERUDH, A. MATUSSEK and P. FORSBERG (2010): Neuroborreliosis—an epidemiological, clinical and healthcare cost study from an endemic area in the south-east of Sweden. Clin. Microbiol. Infect. 16, 1245-1251.
- HOLLER, D., A. RACZ, J. BOŠNIR i O. PETRAK (2010): Raširenost dirofilarioze na području unutrašnjosti istarskoga poluotoka. Med. Jad. 40, 67-74.
- IGLÓDYOVÁ, A., M. MITERPÁKOVÁ, Z. HURNÍKOVÁ, D. ANTOLOVÁ, P. DUBINSKÝ and V. LETKOVÁ (2012): Canine dirofilariasis under specific environmental conditions of the Eastern Slovak Lowland. Ann. Agric. Environ. Med. 19, 57-60.
- 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 and A. D. MIHALCA (2015): Current surveys on the prevalence and distribution of *Dirofilaria* spp. and *Acanthocheilonema reconditum* infections in dogs in Romania. Parasitol. Res. 114, 975-982.
- JOHNSON, J. L., H. S. GINSBERG, E. ZHIOUA, U. G. WHITWORTH, D. MARKOWSKI, K. E. HYLAND and R. J. HU (2004): Passive tick

- surveillance, dog seropositivity, and incidence of human Lyme disease. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 4, 137-142.
20. JUNITILA, T., M. PELTOMAA, H. SOINI, M. MARJAMAKI and M. K. VILJANEN (1999): Prevalence of *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes ricinus* ticks in urban recreational areas of Helsinki. *J. Clin. Microbiol.* 37, 1361-1365.
21. JURČIĆ, B., R. BECK, F. MARTINKOVIĆ, A. MILOSAVLJEVIĆ, S. PAHOVIĆ, A. MATIĆ and A. MARINCULIĆ (2007): The prevalence of *Dirofilaria* infekcions among truffle dogs in istria, Croatia. Proceedings of the First European Dirofilaria Days. Abstract book., Zagreb, pp. 33-34.
22. KAISER, R. (1998): Neuroborreliosis. [Review]. *J. Neurol.* 245, 247-255.
23. KIRTZ, G., B. CZETTEL, D. THUM and E. LEIDINGER (2007): Anaplasma phagocytophilum in dogs in Austria: a serological prevalence study (2001-2006). *Kleintierpraxis* 52, 562-568.
24. KOHN, B., C. SILAGHI, D. GALKE, G. ARNDT and K. PFISTER (2011): Infections with Anaplasma phagocytophilum in dogs in Germany. *Res. Vet. Sci.* 91, 71-76.
25. KRIKOVA, Z., A. IVANOV and D. GEORGIEVA (2007): Dirofilariasis in dogs and wild carnivores in Bulgaria. In: Genchi, C., L. Rinaldi, G. Cringoli: Mappe Parassitologiche 8: *Dirofilaria immitis* and *D. Repens* in dog and cat and human infections. Rolando Editore, p. 204.
26. KRUPKA, I., N. PANTCHEV, L. LORENTZEN, M. WEISE and 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.
27. MANFREDI, M. T., A. DI CERBO and M. GENCHI (2007): Biology of filarial worms parasitizing dogs and cats. In: Genchi, C., Rinaldi, G. Crignoli: Mappe Parassitologiche 8: *Dirofilaria immitis* and *D. Repens* in dog and cat and human infections. Rolando Editore, 39-46.
28. MENARDI, G., R. FLORIS, K. MIGNOZZI, B. BOEMO, A. ALTOBELLINI and 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 für Bakteriologie* 298, 121-124.
29. MILUTINović, M., T. MASUZAWA, S. TOMANOVić, Ž. RADULović, T. FUKUI and 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. Appl. Acarol.* 45, 171-183.
30. MIRCEAN, V., M. O. DUMITRACHE, A. GYORKE, N. PANTCHEV, R. JODIES, A. D. MIHALCA and 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.
31. MITERPÁKOVÁ, M., D. ANTOLOVÁ, Z. HURNÍKOVÁ and P. DUBINSKÝ (2008): Dirofilariasis in Slovakia - a new endemic area in Central Europe. *Helminthologia* 45, 20-23.
32. MITERPÁKOVÁ, M., D. ANTOLOVÁ, Z. HURNÍKOVÁ, P. DUBINSKÝ, A. PAVLACKA and J. NEMETH (2010): *Dirofilaria* infections in working dogs in Slovakia. *J. Helminthol.* 84, 173-176.
33. MIYOSHI, T., H. TSUBOUCHI, A. IWASAKI, T. SHIRAISHI, K. NABESHIMA and T. SHIRAKUSA (2006): Human pulmonary dirofilariasis: A case report and review of the recent Japanese literature. *Respirology* 11, 343-347.
34. OBRENOVIĆ, S., E. RISTANOVIĆ, R. ČEKANAC, Ž. RADULović and V. ILIĆ (2015): Seroprevalence of IgG antibodies against *Borrelia burgdorferi* in dogs in Belgrade area, Serbia. *Acta Vet. Beograd* 65, 99-110.
35. PANTCHEV, N., R. SCHAPER, S. LIMOUSIN, N. NORDEN, M. WEISE and 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. *Parasitol. Res.* 105, 101-113.
36. PANTCHEV, N., M. SCHNYDER, M. G. VRHOVEC, R. SCHAPER and 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.
37. POTKONJAK, A., V. VRACAR, S. SAVIC, B. LAKO, V. RADOSAVLJEVIC, M. CINCOVIC, L. SUVAJDZIC, A. JURISIC and A. PETROVIC (2015): The seroprevalence of *Anaplasma phagocytophilum* infection in dogs in the Autonomous Province of Vojvodina, Serbia. *Vet. arhiv* 85, 385-394.
38. ROHRBACH, B. W., A. ODOI and S. PATTON (2011): Survey of Heartworm Prevention Practices Among Members of a National Hunting Dog Club. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 47, 161-169.
39. RÖHRIG, E., D. HAMEL and K. PFISTER (2011): Retrospective evaluation of laboratory data on canine vector-borne infections from the years 2004-2008. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 124, 411-418.
40. SCHORN, S., K. PFISTER, H. REULEN, M. MAHLING, J. MANITZ, C. THEIL and C. SILAGHI (2011): Prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* in *Ixodes ricinus* in Bavarian public parks, Germany. *Ticks & Tick-Borne Dis.* 2, 196-203.
41. SIMÓN, F., M. SILES-LUCAS, R. MORCHÓN, J. GONZÁLEZ-MIGUEL, I. MELLADO, E. CARRETÓN and J. A. MONTOYA-ALONSO (2012): Human and Animal Dirofilariasis: The Emergence of a Zoonotic Mosaic. *Clin. Microbiol. Rev.* 25, 507-544.
42. SOFIA, C., B. BACESCU, T. COMAN, G. H. PARVU, C. DINU, T. PETRUT, N. BERCARU and A. AMFIM (2007): "Dirofilariasis in dogs and wild carnivores in Romania," in *Dirofilaria immitis* and *D. repens* in Dog and Cat and Human Infections, eds Genchi C., Rinaldi L., Cringoli G., editors. (Zagreb: Rolando Editore);, p. 203.
43. SVOBODOVÁ, Z., V. SVOBODOVÁ, C. GENCH and P. FOREJTEK (2006): The first report of autochthonous dirofilariasis in dogs in the Czech Republic. *Helminthologia* 43, 242-245.
44. VERA, C. P., S. KAPIAINEN, S. JUNNIKKALA, K. AALTONEN, T. SPILLMANN and O. VAPALAHTI

- (2014): Survey of selected tick-borne diseases in dogs in Finland. *Parasit. Vectors* 7, 285.
45. ŽIVIČNJAK, T., F. MARTINKOVIC and R. BECK (2006): Dirofilariosis in Croatia: spread and public health impact. 5<sup>th</sup> Croatian congress on infective diseases, Zadar, Croatia, pp. 23-27.
46. ŽIVIČNJAK, T., F. MARTINKOVIC and R. BECK (2007): Canine dirofilariosis in Croatia: Let's face it. Proceedings of the First European Dirofilariasis Days, FEDD 2007 Zagreb, Croatia, 22-25. February 2007, p. 35.

## Epidemiological study of certain zoonoses in dogs and assesment of risk factors

Jelena MRAOVIĆ, DVM, Faculty of Veterinary Medicine University of Zagreb, Croatia; Branko JURIĆ, DVM, MSc, Veterinary Hospital Poreč, Croatia; Miroslav KRZNARIĆ, Univ. Mag. Med. Vet., Zdravko TUS, DVM, Matija LONČAR, DVM, Veterinary Practice Rijeka, Croatia; Albert MARINCULIĆ, DVM, PhD, Full Professor, Marina PAVLAK, DVM, PhD, Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine University of Zagreb, Croatia; Vanja VRKIĆ, DVM, Croatia; Katja KRIVIČIĆ, DVM, Croatia

Using epidemiological methods for the detection and control of zoonoses is an important factor in public health. Zoonoses that are not regularly controlled and for which there are no accurate data about their prevalence pose a threat to human health. These zoonoses include granulocytic analplazmoza, borreliosis, ehrlichiosis and heart dirofilariasis. *Dirofilaria* spp. can cause a wide range of diseases, the best known and most researched disease is cardiac dirofilariasis caused by *Dirofilaria immitis* or heartworm. The most important clinical manifestation of this disease in dogs is congestive heart failure (*cor pulmonale*) which can remain asymptomatic, both in dogs and in humans. The aim of this study was to determine the seroprevalence of *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia canis/Ehrlichia ewingii* and *Dirofilaria immitis* in a healthy dog population in Istria County, and to evaluate the age, breed, keeping conditions (indoors or outdoors), and use (pets, watchdogs, hunting dogs or truffle dogs) of dogs as risk factors. Samples were taken from 134 healthy dogs in Istria County during 2015 and tested with the SNAP\* 4Dx\* Plus screening test. Of the 134 examined healthy dogs, *Dirofilaria immitis* and *Anaplasma phagocytophilum* were found in 16 (11.94%, CI

95% 6.45-17.43%) and 5 (3.73%, CI 95% 0.52-6.94%) dogs, respectively. Of 29 examined dogs tested both by the SNAP\* 4Dx\* Plus and modified Knott test, dirofilaria was found in 15 (51.72%, 15 CI 95% 33.82-70.19%) dogs using the modified Knott test and in 6 (20.69%, CI 95% 6.18-35.72%) dogs using the SNAP\* 4Dx\* Plus test, indicating that *D. immitis* was also present in 40% of the modified Knott test positive dogs. With the aim of assessing age, breed, keeping conditions and use of dogs as risk factors, significant differences were found. The most infected breeds were Labrador retrievers and English setters. Infections were twice as common amongst dogs kept outdoors than dogs kept as indoor pets. The most significant differences were found between truffle dogs and hunting dogs (OR = 12.37,  $P = 0.0046$ ). This preliminary study has shown the potential risk of exposure to *Anaplasma phagocytophilum* and *Dirofilaria immitis* in Istria County. Therefore, the role of the veterinarians in public health is of great importance, in terms of education and implementation of preventive measures to raise awareness among owners and hunters about the presence and control of these diseases both in dogs and humans.

**Key words:** epidemiological study; zoonoses; dirofilariosis; prevalence; risk factors