

# EPIDEMIOLOŠKE ZNAČAJKE ŠTENEĆAKA I LEPTOSPIROZE U POPULACIJI KUNA BJELICA IZ SJEVERNE HRVATSKE

---

Vrančić, Tea

Doctoral thesis / Disertacija

2021

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:178:383028>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-04-02**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Veterinary Medicine -  
Repository of PHD, master's thesis](#)





Sveučilište u Zagrebu

VETERINARSKI FAKULTET

Tea Vrančić, dr. med. vet.

**EPIDEMIOLOŠKE ZNAČAJKE ŠTENEĆAKA I  
LEPTOSPIROZE U POPULACIJI KUNA BJELICA IZ  
SJEVERNE HRVATSKE**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2021.



University of Zagreb

VETERINARY FACULTY

Tea Vrančić, DVM

**EPIDEMIOLOGIC OBSERVATIONS ON CANINE  
DISTEMPER AND LEPTOSPIROSIS IN STONE  
MARTENS FROM NORTHERN CROATIA**

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2021



Sveučilište u Zagrebu  
VETERINARSKI FAKULTET

Tea Vrančić, dr. med. vet.

**EPIDEMIOLOŠKE ZNAČAJKE ŠTENEĆAKA I  
LEPTOSPIROZE U POPULACIJI KUNA BJELICA IZ  
SJEVERNE HRVATSKE**

DOKTORSKI RAD

Mentori:

izv. prof. dr. sc. Dean Konjević, Dipl. ECZM  
dr. sc. Danko Deždek †

Zagreb, 2021.



University of Zagreb  
VETERINARY FACULTY

Tea Vrančić, DVM

**EPIDEMIOLOGIC OBSERVATIONS ON CANINE  
DISTEMPER AND LEPTOSPIROSIS IN STONE  
MARTENS FROM NORTHERN CROATIA**

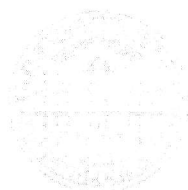
DOCTORAL THESIS

Supervisors:

Assoc Prof Dean Konjević Dipl. ECZM

Danko Deždek, DVM, PhD †

Zagreb, 2021



Sveučilište u Zagrebu  
VETERINARSKI FAKULTET

## IZJAVA

Ja, Tea Vrančić, potvrđujem da je moj doktorski rad izvorni rezultat mogega rada te da se u njegovoj izradi nisam koristila drugim izvorima do onih navedenih u radu.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Tea Vrančić', written over a horizontal line.

(potpis studenta)

Zagreb, 2021.

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

Mentori: izv. prof. dr. sc. Dean Konjević, Dipl. ECZM i dr. sc. Danko Deždek

Predstojnik: doc. dr. sc. Denis Cvitković

Doktorski rad ima:

93 stranice bez uvodnih stranica

9 slika

22 tablice

11 grafikona

## ZAHVALE

*Zahvaljujem kolegi i mentoru izv. prof. dr. sc. Deanu Konjeviću na izuzetno stručnom i poticajnom vodstvu, na svim korisnim savjetima i razgovorima te na pomoći kod pisanja tijekom cijele izrade ovog doktorata.*

*Zahvaljujem prerano preminulom kolegi dr. sc. Danku Deždeku na stručnom i vrlo kolegijalnom vodstvu i savjetima prilikom osmišljavanja teme te na pomoći u samim počecima pisanja doktorata.*

*Zahvaljujem prof. dr.sc. Krešimiru Krapincu na pomoći u obradi podataka.*

*Zahvaljujem prof. dr.sc. Gorazdu Venguštu na pomoći.*

*Zahvaljujem se Lovačkom savezu Bjelovarsko- bilogorske županije i drugim pojedincima na osiguravanju uzoraka.*

*Zahvaljujem i svim prijateljima na potpori i razumijevanju.*

*Na kraju, posebno zahvaljujem mojim roditeljima na bezuvjetnoj i iskrenoj podršci, na strpljenju i pomoći kako u ostalim segmentima života tako i pri izradi ovog doktorskog rada. Hvala i Šimunu i Mateju koji su moja snaga i inspiracija.*



## **POPIS PRILOGA – DIO I. SLIKE**

**Slika 1.** Razvrstavanje kuna (izvor: HASSANIN i sur., 2021.).

**Slika 2.** Rasprostranjenost kune bjelice u Europi (izvor: PROULX i sur., 2000.).

**Slika 3.** Bifazna narav leptospiroze i relevantne pretrage tijekom različitih stadija. (Prilagođeno iz TURNER, 1969.)

**Slika 4.** Područja istraživanja s prikazom nadmorskih visina.

**Slika 5.** Mikrotitracijske plitice u kojima se izvodi mikroskopska aglutinacija

**Slika 6.** Negativna reakcija

**Slika 7.** Pozitivna reakcija.

**Slika 8.** Šume i stalni vodotoci na području Zagrebačke i Bjelovarsko-bilogorske županije.

**Slika 9.** Prikaz kretanja SPI za mjesec listopad 2019. godine, podaci meteorološke postaje Bjelovar (izvor DHMZ).

## **POPIS PRILOGA – DIO II. TABLICE I GRAFIKONI**

**Tablica 1.** Serogroups and some serovars of *L. interrogans* sensu lato

**Tablica 2.** Popis životinja u kojih je zabilježena prirodna ili eksperimentalna infekcija virusom štenećaka. Prilagođeno iz: SUMMERS i APPEL (1994.), OSTERHAUS i sur. (1995.).

**Tablica 3.** Panel antigena koji se koristi za pretraživanje seruma ostalih vrsta životinja

**Tablica 4.** Frekvencija prisutnosti protutijela za pojedine serovarove u titru 1:100 ili većem

**Tablica 5.** Rezultati hi-kvadrat testa usporedbe spola i pozitivnog nalaza MAT

**Tablica 6.** Udio pozitivnih nalaza za pojedini serovar s obzirom na spol jedinke

**Tablica 7.** Rezultati hi-kvadrat testa za odnos spola i protutijelna na serovare Australis i Bratislava

**Tablica 8.** Udio pozitivnih nalaza prema dobi kuna.

**Tablica 9.** Rezultati hi-kvadrat testa za dob i inficiranost leptospirom

**Tablica 10.** Udio infekcije pojedinim serovarom s obzirom na dob jedinke

**Tablica 11.** Rezultati hi-kvadrat testa za dob i serovare Australis, Bratislava i Icterohaemorrhagiae

**Tablica 12.** Rezultati testa ispitivanja razlika u frekvencijama zaraženosti kuna bjelica leptospirozom bez obzira na lokalitet (brojevi označeni tamnim slovima ukazuju na statistički značajnu razliku uz prag značajnosti od 5%)

**Tablica 13.** Rezultati testa ispitivanja razlika u frekvencijama zaraženosti kune bjelice leptospirozom na lokalitetu Zagrebačka županija (brojevi označeni tamnim slovima ukazuju na statistički znakovitu razliku uz prag značajnosti od 5 %)

**Tablica 14.** Rezultati testa ispitivanja razlika u frekvencijama zaraženosti kune bjelice leptospirozom na lokalitetu Bjelovarsko-bilogorska županija (brojevi označeni tamnim slovima ukazuju na statistički znakovitu razliku uz prag značajnosti od 5 %)

**Tablica 15.** Rezultati testa ispitivanja razlika u frekvencijama zaraženosti kune bjelice leptospirozom između lokaliteta (brojevi označeni tamnim slovima ukazuju na statistički znakovitu razliku uz prag značajnosti od 5 %)

**Tablica 16.** Standardizirani oborinski indeks za mjesece uzorkovanja prema županiji (izvor DHMZ)

**Tablica 17.** Godišnja vrijednost percentila temperature za godine 2019. i 2020.

**Tablica 18.** Stanišni podaci.

**Tablica 19.** Model – prisutnost infekcije nezavisno o serovaru. Predikcija se odnosi na vrijednost varijable Infekcija = 1 (DA)

**Tablica 20.** Model – prisutnost serovara Australis. Predikcija se odnosi na vrijednost varijable Australis = 1 (DA)

**Tablica 21.** Model – prisutnost serovara Bratislava. Predikcija se odnosi na vrijednost varijable Bratislava = 1 (DA)

**Tablica 22.** Model – prisutnost serovara Icterohaemorrhagiae. Predikcija se odnosi na vrijednost varijable Icterohaemorrhagiae = 1 (DA)

**Grafikon 1.** Raspodjela uzorkovanih jedinki prema spolu i dobi.

**Grafikon 2.** Raspodjela uzoraka prema lokaciji i godini prikupljanja.

**Grafikon 3.** Udio pozitivnih (plava boja) i negativnih jedinki (narančasta boja) u cjelokupnom uzorku.

**Grafikon 4.** Predviđanje porasta pozitivnih nalaza u slučaju porasta temperature okoliša.

**Grafikon 5.** Predviđanje porasta broja pozitivnih nalaza u slučaju povećanja količine padalina.

**Grafikon 6.** Predviđanje kretanja pozitivnih nalaza na serovar Australis u slučaju povišenja temperature okoliša.

**Grafikon 7.** Predviđanje kretanja pozitivnih nalaza na serovar Australis u slučaju povećanja količine padalina.

**Grafikon 8.** Predviđanje kretanja pozitivnih nalaza na serovar Bratislava u slučaju povišenja temperature okoliša.

**Grafikon 9.** Predviđanje kretanja pozitivnih nalaza na serovar Bratislava u slučaju povećanja količine padalina.

**Grafikon 10.** Predviđanje kretanja pozitivnih nalaza na serovar Icterohaemorrhagiae u slučaju povišenja temperature okoliša.

**Grafikon 11.** Predviđanje kretanja pozitivnih nalaza na serovar Icterohaemorrhagiae u slučaju povećanja količine padalina

# SADRŽAJ

## Sažetak

---

## Extended abstract

---

<b>1. Uvod</b>	1
<b>2. Pregled dosadašnjih spoznaja</b>	3
2.1. Kuna bjelica ( <i>Martes foinea</i> )	3
2.1.1. Sistematika, rasprostranjenost i stanište	3
2.1.2. Izgled, građa tijela i način života	7
2.1.3. Ishrana	8
2.2. Leptospiroza	9
2.3. Štenećak	18
<b>3. Cilj i hipoteza istraživanja</b>	26
<b>4. Materijal i metode</b>	27
4.1. Životinje i uzorkovanje	27
4.2. Identifikacija vrste	28
4.3. Određivanje dobi	30
4.4. Pretraga na protutijela na bakteriju <i>Leptospira</i> spp.	30
4.5. Pretraga na virus štenećaka	33
4.6. Analiza okolišnih čimbenika	35
<b>5. Rezultati</b>	39
<b>6. Rasprava</b>	60
<b>7. Zaključci</b>	67
<b>8. Literatura</b>	68
<b>9. Životopis</b>	92

## SAŽETAK

Rast ljudske populacije i sve veće iskorištavanje prirodnih resursa uzrokovali su promjene ekoloških uvjeta za različite vrste divljih životinja. Mnoge od tih vrsta prilagodile su se na život u blizini ljudi, odnosno na život u urbanim staništima koristeći razne antropogene resurse za preživljavanje. Pripadnici porodice kuna (*Mustelidae*), poput kune bjelice (*Martes foina*), primjeri su koji pokazuju izrazitu prilagodljivost u pronalaženju skrovišta i hrane u ljudskim naseljima i nastambama, pa čak i u razmnožavanju u gradskim jezgrama. U nekoliko europskih zemalja zabilježeno je progresivno seljenje i smještanje kune bjelice u urbanim područjima. Usporedno s time, kao negativni aspekti rastućeg broja divljih životinja u gradovima navode se pojačani rizik od prijenosa zaraznih i invazijskih bolesti, mogući napadi na ljude i domaće životinje, oštećenja imovine, te prometne nezgode. Pored toga, promjene društvenih odnosa takvih jedinki razlog su veće aglomeracije na malom prostoru te podržavanja bliskog kontakta među pripadnicima iste vrste, što povećava rizik od održavanja i prijenosa pojedinih uzročnika bolesti u gradskim i prigradskim područjima. Upravo navedeno, kao i činjenica da je poznat veliki broj zoonotskih bolesti u divljih mesoždera, ukazuje na nužnost nadziranja populacije divljih životinja u svrhu procjene trenutnog zdravstvenog statusa i predviđanja uloge u prijenosu uzročnika bolesti. Kada govorimo o leptospirozi divljih životinja, glodavci se smatraju primarnim rezervoarom leptospira u ruralnim i urbanim sredinama. U kontekstu složenog istraživanja ekologije prirodnih ognjišta leptospiroze u Hrvatskoj naglasak je stavljen na mišolike sisavce kao primarne rezervoare leptospira u prirodi. Međutim, činjenica da su štakori rezervoari bolesti ne objašnjava raznovrsnost seroloških skupina koje su identificirane u ljudi i domaćih životinja inficiranih leptospirama. Stoga, postoji osnovana sumnja da i druge divlje životinje igraju značajnu ulogu u ciklusu prijenosa leptospira, a na što upućuje i njihova česta seroreaktivnost na leptospire, utvrđena u mnogim zemljama.

Virus štenećaka rasprostranjen je po cijelome svijetu, a sposoban je inficirati brojne vrste životinja unutar porodica *Canidae*, *Procyonidae*, *Mustelidae*, *Hyaenidae*, *Mustelidae*, *Procyonidae*, *Ursidae*, *Viverridae* i *Felidae*. U Europi je bolest prvi puta utvrđena u Španjolskoj davne 1761. godine, odakle se proširila na ostale europske zemlje. Danas je štenećak rasprostranjen po cijelome svijetu i predstavlja značajnu zaraznu bolest domaćih i divljih mesojeda s visokom stopom smrtnosti. Po značaju za mesojede svrstava se odmah iza bjesnoće. Iako je štenećak dugo godina smatram primarno bolešću mesojeda, u novije vrijeme je ustanovljeno kako je u stvarnosti riječ o virusu s vrlo širokim rasponom potencijalno prijemljivih vrsta. Održavanje uzročnika bolesti u prirodi podržava se kroz prijenos između različitih vrsta životinja. Pri tome se pasažama kroz organizme u kojih prethodno nije zabilježena pojava štenećaka povećava mogućnost za prijelaz vrsne barijere. U ovome radu analizirani su uzorci krvi, slezene i jetara 64 kune bjelice s područja Zagrebačke i Bjelovarsko-bilogorske županije na protutijela na bakteriju *Leptospira* spp. pretragom MAT, te na virus štenećaka PCR analizom. Utvrđena je prevalencija protutijela na bakteriju *Leptospira* spp. u iznosu od 37,5%. Pri tome je dokazano 8 serovarova, od kojih najviše sv Australis i Bratislava (po 17%) te sv Icterohaemorrhagiae (14%). Nisu utvrđene statistički znakovite razlike u ovisnosti o spolu, dobi (izuzev za serovar Icterohaemorrhagiae) i lokaciji. Usporedbom prema serovaru omjer izgleda (OR) govori da je 1,51 puta veća vjerojatnost da će se u kunama utvrditi protutijela na serovar Australis ili Bratislava negoli na serovar Icterohaemorrhagiae. Relativni rizik (RR) za pojavu serovara Australis ili Bratislava (zasebno gledano) iznosi 1,22, dok je isti za serovar Icterohaemorrhagiae 0,58. Relativni rizik od infekcije nešto je viši u mužjaka i iznosi 1,2, dok je u ženki 0,76. Omjer izgleda za infekciju mužjaka u odnosu na ženke iznosi 1,32. Prema modelu, porastom vrijednosti temperature za jednu jedinicu indeksa postoji čak 2,6% veća vjerojatnost pozitivnog nalaza. Utjecaj količine oborina je još veći tako da porastom SPI za jednu jedinicu indeksa vjerojatnost infekcije je 2,88 puta veća. Model za sv Australis i

Bratislava govori kako u slučaju porasta srednje vrijednosti temperature za jednu jedinicu indeksa postoji oko 3,8% manja vjerojatnost infekcije serovarom Australis/Bratislava. U slučaju porasta srednje vrijednosti oborinskog indeksa za 1, vjerojatnost od infekcije serovarom Australis je 46,1% manja, a serovarom Bratislava je 37,9% veća. Pretraga na virus štenećaka nije utvrdila pozitivne nalaze. Dobiveni rezultati su u skladu s prijašnjim istraživanjima leptospiroze u divljih životinja, s izuzetkom sv. Bratislava koji do 2010. godine nije bio u panelu antigena za MAT. Zanimljiv je negativan nalaz pretraga na virus štenećaka, koji zasigurno cirkulira među divljim mesojedima i prema brojnim studijama se smatra jednom od njihovih važnijih zaraznih bolesti..

**Ključne riječi:** kuna bjelica, leptospiroza, virus štenećaka, epidemiologija



## **EXTENDED ABSTRACT**

**INTRODUCTION:** Human population growth and increasing exploitation of natural resources have caused changes in ecological conditions for different species of wildlife. Many of these species have adapted to living near humans, i.e. to living in urban habitats using a variety of anthropogenic resources for survival. Typical adjustments include increasing social groups and increasing population density, reducing living space, and changing eating habits. Members of the marten family (*Mustelidae*), such as the beech marten (*Martes foina*), are examples that show remarkable flexibility in finding shelter and food in human settlements and dwellings, and even in breeding in urban cores. In several European countries, progressive migration and placement of the beech marten (*Martes foina*) in urban areas has been recorded. Negative aspects of the growing number of wild animals in the cities include the increased risk of transmitting infectious diseases, possible attacks on humans and domestic animals, property damage and traffic accidents. In addition, changes in social relations are the reason for greater agglomeration of individuals in a small area and maintenance of close contact among members of the same species, which increases the risk of maintaining and transmitting certain pathogens in urban and suburban areas. The above-mentioned, as well as the fact that a large number of zoonotic diseases are known in wild carnivores, indicates the need to monitor wildlife population in order to assess current health status and predict the role in disease transmission.

**REVIEW OF THE LITERATURE:** The marten family appeared in the late Eocene and early Oligocene periods when members of this family inhabited Europe and North America. Their migrations to the south of the continents were recorded first in Africa during the early Miocene and then in South America in the Quaternary. The marten family consists of five subfamilies: *Mustelinae* (weasels, minks, ferrets and martens), *Mellivorinae* (honey badger), *Melinae*

(badgers), *Mephitinae* (American ferrets) and *Lutrinae* (otters). According to the usual classification, the beech marten (*Martes foina*) is classified as a mammal of the order Carnivora, the family of marten (*Mustelidae*) and the subfamily of marten (*Mustelinae*). The genus marten (*Martes*) consists of 7 species, most of which are animals of tropical, temperate and boreal forest zones of North America, Europe and Asia. The distribution and abundance of martens is strongly influenced by changes in habitat caused by the implementation of forestry and agricultural measures. Newer classifications based on molecular analyses of the martens are included into the magnorder Boreoeutheria, the superorder Laurasiatheria and the order Carnivora. In addition to these, in some places between the superorder of Laurasiatheria and the order of Carnivora, an unranked part of Ferae or in translation “of the beast” is also mentioned. The beech marten lives in habitats from Mongolia and the northern Himalayas to most of Europe. It is relatively rare on the islands. The northern boundary of the habitat is Denmark. The prevalence of beech marten is growing in most European countries. In the Republic of Croatia, the beech marten is a native species that inhabits the entire continental part, but it is also found on the islands. It is more numerous in karst habitats, whereas in highland and mountain areas it is found during the summer, and at the beginning of winter it usually migrates to lower areas (example of vertical migration). It often lives near human settlements, mostly next to outbuildings, backyards, under piles of stones, branches, etc. Beech marten is a typical inhabitant of open areas, but is also fond of woodland edges, rocky terrain and abandoned quarries.

The beech marten is 70 to 80 cm long, and 20 to 25 cm of that length is the tail. Their height is about 25 cm, while body weight ranges from 1.5 to 2 kilograms. The body is elongated and flexible. Their skull is shaped in such a way that it can pass through small openings, searching for holes in the ground and openings in trunks. Their ears are short and the eyes are large. The claws of a beech marten are long and sharp, helping them climb and catch prey. They have a

small amount of white hair on their throat, neck and chest, after which the beech marten got its name. Their diet varies and comprises food of both plant as well as animal origin; therefore, it can be said that they belong to the group of opportunistic carnivores. In accordance with the aforesaid, beech martens usually take the food that is most available, while the prey that is harder to catch is chosen in times of crisis. They hunt mostly in wooded pastures and rocky areas. Often in the absence of prey they crawl into fowl houses and chicken coops where they can do great damage.

Leptospirosis is a bacterial infectious disease that affects domestic and wild animals and humans, resulting in a significant public health problem. The causes of leptospirosis are various serotypes of the bacterium classified within the species *Leptospira* spp. Small rodents are natural reservoirs of leptospira and can be lifelong carriers of the pathogen. Geographically, leptospirosis is widespread throughout the world, but can generally be said to be most common in areas with alkaline soils, especially in seasons when soils are warm and moist and when there is abundance of surface water. Leptospirae are thin, flexible, filamentous bacteria, 6 to 20  $\mu\text{m}$  long (sometimes longer), about 0.1  $\mu\text{m}$  in diameter, slightly spiral, and curled at one or both ends in a liquid medium. Leptospirae are obligate aerobes with optimal growth at temperatures from 28 to 30 ° C. Until 1989, the genus *Leptospira* was divided into two species, *L. interrogans*, which included all pathological strains, and *L. biflexa*, which included all saprophytic strains. Serovars that are antigenically linked are grouped within serological groups. The phenotypic classification of leptospire has been replaced by genotypic, in which all serovars are included in numerous genomic species. Based on their genetic characteristics, we now know at least 19 species of bacteria from the genus *Leptospira*, 6 of which are saprophytic and 13 pathogenic.

In each country, depending on its climatic, geological and ecological relations, appropriate enzootic / endemic areas can be identified, and in the epizootiology / epidemiology of

leptospirosis, the urinary excretion of leptospira (leptospirosis) of infected animals (especially pigs) plays a decisive role, as well as long-term survival of pathogens outside the body. When mentioning wild-type leptospirosis, rodents are considered the primary reservoir of leptospirae in rural and urban areas. In the context of a very complex research on the ecology of natural foci of leptospirosis in Croatia, emphasis has been placed on mouse-like mammals as primary reservoirs of leptospira in nature, and rodents have been determined as reservoirs of leptospira in the Sava and Drava river valleys.

Canine distemper is a very contagious, often deadly, multisystem disease of susceptible carnivores. The causative agent of canine distemper is the RNA virus (CDV is an abbreviation for “canine distemper virus”) with a size of 100 to 250 nm, and it is classified in the genus Morbillivirus and the family Paramyxoviridae. This virus is widespread throughout the world and is capable of infecting numerous species of animals within the families Canidae, Procyonidae, Mustelidae, Hyaenidae, Mustelidae, Procyonidae, Ursidae, Viverridae and Felidae. Today, canine distemper is widespread throughout the world and represents a significant infectious disease of domestic and wild carnivores with a high mortality rate. According to its importance for carnivores, it is immediately behind the rabies virus. Although canine distemper has been considered a primary carnivorous disease for many years, it has recently been established that it is in fact a virus with a very wide range of potentially susceptible species. Dogs are considered the primary reservoir of disease for wildlife. Likewise, certain species of wild animals (e.g., raccoons) may be reservoirs of disease for a susceptible population of dogs. The maintenance of pathogens in nature is supported through transmission between different species of animals. At the same time, passages through organisms in which the appearance of canine distemper has not been previously recorded increase the possibility of crossing the top barrier. When it comes to martens, canine distemper is considered one of their most important infectious diseases. Thus, in Central Europe, Austria and Germany the disease

has been reported in martens, ferrets, weasels and Eurasian badgers. Except for the martens, epidemiological characteristics of canine distemper in wild animals have also been studied on the example of Ethiopian wolves, lions, raccoon dogs, foxes and raccoons.

**MATERIAL AND METHODS:** In total 64 stone martens were collected (32 males and 32 females). The processed martens were delivered from the area of northern Croatia to the Croatian Veterinary Institute (HVI) and the Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb. Each marten was dissected at the dissection room of the Department for Pathological Morphology of the Croatian Veterinary Institute or at the dissection hall of the Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb. During the examination of the carcass, the sex was determined, and after the opening of the thoracic and abdominal cavities, blood was sampled directly from the heart or from large blood vessels, depending on the possibilities. The latter primarily depended on the location of the hit and the application of a pellet or carbine bullets. Of all the other organs the liver and spleen were sampled for the purpose of canine distemper analysis. A part of the spleen and liver was stored in a plastic bag, properly labeled and stored in the freezer until sent for analysis. For the purpose of determining the age of the marten, the lower jaw was taken, stored in a marked plastic bag and frozen until analysis. A blood sample was screened for antibodies to *Leptospira* spp. using a microscopic agglutination method (MAT). The MAT method is a reference serological method for the diagnosis of leptospirosis that determines the presence of antibodies to leptospirae in the examined serum. The reaction of antigens and antibodies (IgM and / or IgG) results in the formation of insoluble agglutinate complexes, which can be performed and read in microtiter plate with wells. The test result is read under a dark field microscope in which agglutination is most visible. The method of microscopic agglutination is a qualitative and quantitative procedure because it determines the presence and quantity (titer) of antibodies at the same time. In the qualitative part of the test, it

is determined whether there are antibodies for a certain serovar of leptospirae in the basic dilution of the tested serum. In case of a positive test result, a quantitative MAT is undertaken, which determines the amount of antibody - titer. Samples of brain, liver, and spleen will be screened for canine distemper virus by the polymerase chain reaction method. RNA Rneasy Midi Kit (Qiagen, Hilden, Germany) will be used to extract RNA from 51 samples of homogenized spleen tissue according to the manufacturer's instructions.

Spleen and liver samples were analyzed for presence of canine distemper virus according to CASTILHO i sur. (2007.). For RNA extraction RNA Rneasy Midi Kit (Qiagen, Hilden, Njemačka) was applied in accordance with manufacturer's instructions. Following RNA extraction, it was used as substrate for reverse transcriptase M-MuLV (Fermentas, Burlington, Kanada). A total of 20 µL of reaction mixture contains: 5 µL of extracted RNA (cca 500 ng), 5µl of extracted RNA was added to reverse transcriptase (C-DNA synthesis), containing 1x First Strand Buffer, 40U RNaseOUT. 1.3Mm of each Dntp, 50pmols of each primer. 8.5 mM DTT, 200U Superscript II Reverse Transcriptase and RNase/DNA-se, water till 47µl of volume and was exposed to 42°C during 60 min. For PCR amplification 10µl cDNA was added to solution containing 1 x PCR Buffer, 50pmols of each primer, 0.2Mm Dntp, 2.4 Mm Mg Cl<sub>2</sub> , 2.5 U/µl Taq DNA polymerase Recombinant i RNase/DNAse up to volume of 102 µl and exposed to initial denaturation at 94°C during 5 mins. 35 cycles at 94°C during 45s, 48°C during 45s and 72°C during 90s followed, with final extension at 72°C during 10min. PCR products were analyzed on 1% agarose gel stained with ethidium bromide. Amplified fragments of DNA were purified with GFX PCR DNA and Gel Band Pirification Kit, and subjected to bi-directional sequencing using DYEnamic ET Dye Terminator, in accordance to manufacturers instructions. Final sequence of each sample of 447 bp was analyzed using CLUSTAL/W method and Bioedit software (HALL, 1999), with homologous sequences obtained from the GenBank. Obtained data were processed by descriptive statistical methods and regression

analysis in STATISTICA 12 program, and the probability ratio in Win Episcope 2.0. The Kruskal-Wallis ANOVA test and the  $\chi^2$  test were used to test the significance of the differences. Linear regression model was applied to predict relation between positive findings and increase in ambiental temperature or precipitation.

**RESULTS:** Out of 64 analyzed animals 24 reacted positively to at least one of the *Leptospira* spp. Serovars, giving the prevalence of 37.5%. A total of 8 serovars were detected, presented here in decreasing order Australis (17%), Bratislava (17%), Icterohaemorrhagiae (14%), Pomona (9%), Saxkoebing (9%), Sejroe (6%), Poi (3%) and Haebdomadis (2%). Odds ratio shows 1.27 higher possibility to detect sv Australis or sv Bratislava, compared to sv. Icterohaemorrhagiae. According to the gender there was no statistically significant difference ( $p=0.598$ ). Odds ratio shows 1.32 higher possibility for males to be positive, compared with females. According to age Mantel-Haenszelov test showed increasing trend, but no statistically significant difference. Statistically significant difference was found in the case sv Icterohaemorrhagiae positive samples and age ( $p=0.038$ ) with statistically significant relation according to the contingency coefficient (0.341;  $p=0,038$ ). No statistically significant relation was detected between sampling location and positive samples neither for subadult ( $\chi^2=1.32$ ;  $p=0.251$ ) or adult individuals ( $\chi^2=0.09$ ;  $p=0.764$ ). Linear regression model showed 2.6% higher possibility of infection if ambiental temperature becomes higher for 1 index unit, in the same time with increasing precipitation for 1 index unit probability of infection is 2.88 times higher. Analyzing the same effects on presence of sv Bratislava and sv Australis, model predicts approx. 3.8% higher possibility of infection in case of increasing ambiental temperature for 1 unit, or 1.37 times higher possibility of infection with sv. Bratislava in case of increasing precipitation. All samples were negative for CDV.

## DISCUSSION:

Determined prevalence of 37.5% is lower than previously detected prevalence in Croatia. However, those studies were based on small sample size. Detected serovars are in general in accordance with previous findings, with exception of sv Bratislava that was added to the antigen panel much later. On the European level reported prevalence ranged from 0% to 86%. It is also necessary to mention that only one study analysed 96 samples, other were mainly up to ten animals. Serovars Bratislava and Australis are confirmed as serovars related to wildlife, while serovar Icterohaemorrhagiae may be explained by the fact that stone martens utilizes suburban areas and are frequently visiting human settlements with increasing rat population. Observed problems with studies on marten population include inadequate samples (due to exsanguination, freezing, haemolysis, etc) and small sample size due to decreasing hunting pressure on this species. Interestingly, none of the analysed samples were positive for CD virus. Further analysis are required to give better insight about role of stone martens in maintaining and spreading of leptospirosis in different habitats. Also, further research is needed to understand role of urban stone martens as source of CDV.

**Key words:** stone marten, leptospirosis, canine distemper virus, epidemiology



## 1. UVOD

Rast ljudske populacije i sve veće iskorištavanje prirodnih resursa uzrokovali su promjene ekoloških uvjeta za različite vrste divljih životinja. Mnoge od tih vrsta prilagodile su se na život u blizini ljudi, odnosno na život u urbanim staništima, koristeći razne antropogene resurse za preživljavanje. Tipične prilagodbe ovakvom načinu života uključuju povećanje društvenih grupa i povećanje gustoće populacije, smanjenje životnog prostora i promjenu prehrambenih navika. Očiti primjer ovakve prilagodbe predstavlja pojava zajedničkog korištenja jazbina (engl. *communal denning*) u gradskih lisica (*Vulpes vulpes*) (SHELDON, 1950.). Jedan od preduvjeta za navedene prilagodbe je svakako i smanjenje nagona teritorijalnosti što je izravna prilagodba promijenjenim uvjetima života. Pripadnici porodice kuna (*Mustelidae*), poput kune bjelice (*Martes foina*), primjeri su koji pokazuju izrazitu fleksibilnost u pronalaženju skrovišta i hrane u ljudskim naseljima i nastambama, pa čak i u razmnožavanju u gradskim jezgrama. U nekoliko europskih zemalja zabilježeno je progresivno seljenje i smještanje kune bjelice (*Martes foina*) u urbanim područjima. U takvim uvjetima nije utvrđeno zajedničko korištenje nastambi kao u slučaju čisica, ali je primijećen značajno manji teritorij koji okupira svaka pojedinačna kuna (HERR i sur., 2008.).

Kao negativni aspekti rastućeg broja divljih životinja u gradovima brojne studije navode pojačani rizik od prijenosa zaraznih i parazitskih bolesti, mogući napadi na ljude i domaće životinje, oštećenja imovine, te prometne nezgode (WIERZBOWSKA i sur., 2017.). Pored toga, promjene društvenih odnosa razlog su veće aglomeracije jedinki na malom prostoru te podržavanja bliskog kontakta među pripadnicima iste vrste, što povećava rizik od održavanja i prijenosa pojedinih uzročnika bolesti u gradskim i prigradskim područjima. Tako su BRADLEY i ALTIZER (2007.) razmatrali učinke urbanizacije na ekologiju bolesti u divljih

životinja. Promjene koje u okolišu nastaju kao posljedica urbanizacije mogu potencijalno utjecati na biologiju uzročnika bolesti, vektora i domaćina. Povećani i grupirani izvori hrane mogu rezultirati u povećanju gustoće populacije i posljedično u povećanju stope kontakata i prijenosa bolesti između zaraženih i prijemljivih životinja. Nadalje, novi uvjeti života u novome okolišu povezani su s nastankom takozvanog antropogenog stresa koji može povećati prijemljivost divljih životinja za različite bolesti (BRADLEY i ALITZER, 2007.). Ukupno gledano, novi uvjeti života i promjena hrane rezultiraju promjenama u pojavi i vrsti bolesti, a samim time i riziku za dravlje ljudi i domaćih životinja, posebice kućnih ljubimaca.

Upravo navedeno, kao i činjenica da je poznat veliki broj zoonotskih bolesti u divljih mesoždera, ukazuje na nužnost nadziranja populacije divljih životinja u svrhu procjene trenutnog zdravstvenog statusa i predviđanja uloge u prijenosu uzročnika bolesti. Tako je i cilj ovoga istraživanja bio proučiti prevalenciju uzročnika leptospiroze i štenećaka u kuna bjelica, kao i analizirati potencijalne trendove u slučaju promjene okolišnih uvjeta kojima danas sve češće svjedočimo.

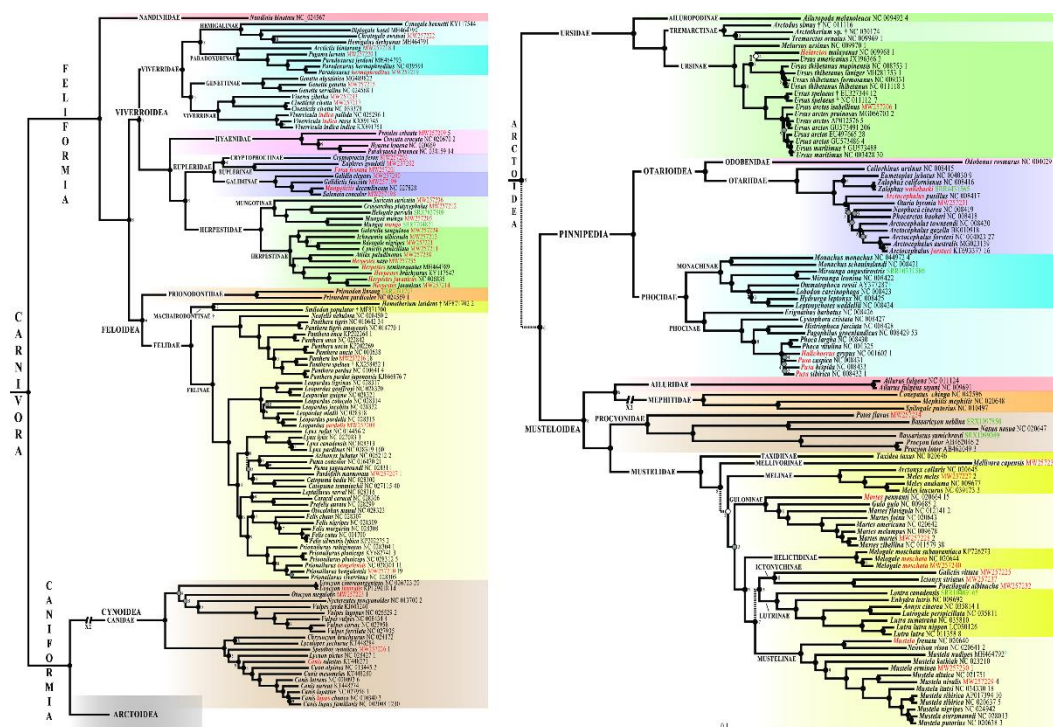
## 2. PREGLED DOSADAŠNJIH SPOZNAJA

### 2.1. Kuna bjelica (*Martes foina*)

#### 2.1.1. Sistematika, rasprostranjenost i stanište

Porodica kuna pojavljuje se u razdoblju kasnog eocena i početkom oligocena kada pripadnici ove porodice nastanjuju Europu i sjevernu Ameriku. Migracije kuna prema jugu kontinenta zabilježene su prvo u Africi tijekom ranog Miocena, a zatim u južnoj Americi u razdoblju Kvartara. Porodica kuna sastoji se od pet podporodica: *Mustelinae* (lasice, minkovi, tvorovi i kune), *Melliovorinae* (medojedni jazavac), *Melinae* (jazavci), *Mephitinae* (američki tvorovi) i *Lutrinae* (vidre) (GRZIMEK, 1990.).

Prema uobičajenom razvrstavanju kuna bjelica (*Martes foina*) svrstava se u sisavce iz reda zvijeri (Carnivora), porodice kuna (*Mustelidae*) i podporodice kune (*Mustelinae*) (JANICKI i sur., 2007.). Prema novijem razvrstavanju temeljenom na molekularnim analizama kune ubrajamo u red Carnivora, podred Caniformia i infrared Arctoidea (HASSANIN i sur., 2021.).



Slika 1. Razvrstavanje kuna (izvor: HASSANIN i sur., 2021.).

Red Carnivora se prema navedenoj novoj podjeli ubraja u magnored Boreoeutheria i nadred Laurasiatheria (HU i sur., 2012.). Rod kuna (*Martes*) sastoji se od 7 vrsta, od kojih su većina životinje tropskih, umjerenih i borealnih šumskih zona Sjeverne Amerike, Europe i Azije (PROULX i sur., 2000.). Rasprostranjenost i brojnost kuna je pod jakim utjecajem promjena u staništu nastalih provođenjem šumarskih i poljoprivrednih mjera (BRAINERD i sur., 1994., KRYŠTUFEK, 2000., MESSENGER i BIRKS, 2000., PROULX, 2000.). Dugo vremena su pripadnici ovog roda zbog svog visokocijenjenog krzna bili pod izrazitim lovnim pritiskom bilo kroz zamkarenje ili lov puškama (BANCI i PROULX, 1999.). U prilog ovome govori i činjenica da se krzno kuna koristilo kao zamjena za novac u svakodnevnoj trgovini te je dalo ishodište za naziv hrvatske valute. Danas se pak kune na području Hrvatske, a i šire znatno rjeđe love.

Kuna bjelica (*Martes foina*) živi na područjima od Mongolije i sjevernih Himalaja do većeg dijela Europe. Na otocima je razmjerno rijetka. Sjevernu granicu staništa predstavlja Danska (LACHAT, 1991.). Rasprostranjenost kune bjelice raste u većini Europskih zemalja (PROULX i sur., 2000.). Prema nekim podacima, uslijed trgovine životinjama kao kućnim ljubimcima danas postoje i populacije van navedenih tradicionalnih staništa. Tako je primjerice prisutna i populacija u Wisconsinu, u SAD-u.



**Slika 2.** Rasprostranjenost kune bjelice u Europi (izvor: PROULX i sur., 2000.).

Kuna bjelica je najbolje prilagođena toplim klimatskim područjima, a znatno manje za preživljavanje na vrlo niskim temperaturama s dubokim snijegom (npr. ima manje gusto krzno i šape nisu dostatno obrasle dlakom kao kod kune zlatice) (LACHAT i FELLER, 1993., BAKEYEV, 1994.). Međutim, s porastom populacije, kuna bjelica se širi u nova staništa pa tako nastanjuje planinske šume gotovo do subalpske zone (BAKEYEV, 1994.).

Oportunitizam u korištenju staništa ogleda se i u raznolikosti i širini staništa koja ova vrsta nastanjuje, pa ju tako nalazimo u šumama (AMORES, 1980., MICKEVICIUS i BARANAUSKAS, 1992., SANTOS-REIS i sur., 2003.), stjenovitim područjima (WAECHTER, 1975., MALLON 1991.), poljima, pašnjacima i vrtovima (LACHAT FELLER, 1993., GENOVESI i BOITANI, 1997.), te selima i gradovima (WAECHTER, 1975., CLÉMENT i ST-GIRONS, 1982., LUCHERINI i CREMA, 1993., TÓTH, 1998.).

Posebnu pozornost privlači činjenica da je povećana brojnost kune bjelice u mnogim državama Europe uzrokom sve češćeg širenja ove vrste u ljudska naselja (PROULX i sur., 2000.). Navedenom pogoduje i činjenica da su kune bjelice oportunisti prilagođeni životu u blizini ljudi (BOUCHARDY i LIBOIS, 1986., LACHAT, 1991., PROULX i sur., 2000., POSLUSZNY i sur, 2007., LANSZKI i sur., 2009., TOTH i sur., 2009.), štoviše čak koriste blizinu ljudi za pronalazak skloništa, hrane i topline (LACHAT, 1991.).

U Republici Hrvatskoj kuna bjelica je zavičajna vrsta koja naseljava cijeli njen kontinentalni dio, ali je nalazimo, iako znatno manje, i na otocima (JANICKI i sur., 2007., SINDIČIĆ i sur., 2012.). Brojnija je u krškim staništima, dok se u brdskim i brdsko planinskim područjima nalazi tijekom ljeta, a početkom zime u pravilu migrira u niže predjele (primjer vertikalne migracije). Vrlo često se nastanjuje u blizini ljudskih naselja, ponajviše uz gospodarske zgrade, okućnice, ispod hrpa kamenja, granja, itd. Navedeno nam ukazuje na korištenje napuštenih kuća i gospodarskih zgrada kao nastambi kuna. Kuna bjelica tipičan je stanovnik otvorenih područja, ali voli i rubove šuma, kamenite terene i napuštene kamenolome (JANICKI i sur., 2007.).

U većini zemalja u kojima je rasprostranjena, populacija kune bjelice je stabilna te je na tu vrstu dozvoljen lov. Prema Pravilniku o lovostaju (ANONIMUS, 2019.) kuna bjelica se smije loviti tijekom cijele godine s preporukom da se ne lovi u razdoblju kada su ženke visoko bređe ili othranjuju mladunčad. Često se doživljava kao štetočina koja pričinja štete, poglavito kroz interakcije s vozilima u prometu, te u ekstenzivnim uzgojima peradi (LACHAT 1991., PROULX i sur., 2000., LANSZKI i sur., 2009.) gdje često pokazuje takozvani "višak ubijanja". Pored toga kune se znaju naseliti i u automobilima uzrokujući štete na motorima vozila (GRZIMEK, 1990.). U takvim uvjetima rasta populacije i boravka kuna bjelica u neposrednoj ljudskoj blizini, raste i rizik od prijenosa određenih bolesti na domaće životinje i ljude (LANSZKI i sur., 2009.).

### *2.1.2. Izgled, građa tijela i način života*

Kuna bjelica duga je od 70 do 80 cm, a od te duljine na rep otpada od 20 do 25 cm. Visine je oko 25 cm, dok se tjelesna masa kreće od 1,1 do 2,3 kilograma (GRZIMEK, 1990.). Tijelo joj je izduženo i gipko. Lubanja je građena tako da glavu može provući kroz male otvore, pretražujući rupe u tlu i otvore na deblima. Na glavi su uočljive kratke uši i krupne oči. Na nogama ima duge i oštre pandže koje joj pomažu u penjanju i hvatanju plijena.

Kuna bjelica ima na grlištu, vratu i prsima malju bijele dlake po kojoj je i dobila naziv (JANICKI i sur., 2007.). Ta malja je uzdužno podijeljena na dva kraka čiji se vršci protežu do prednjih nogu, pa i prelaze na njih. Zbog svjetlije poddlake krzno kune bjelice izgleda sivkasto smeđe, jer takva poddlaka daje dojam svjetlije boje cjelokupnog dlačnog pokrivača. Njuška u kune bjelice nije pigmentirana pa ima ružičastu boju mesa. Ima 38 zubi raspoređenih na način da u trajnom zubalu čine sljedeću zubnu formulu I 3/3 C 1/1 M 4/4 i P 1/1. Kuna bjelica pronalazi skrovišta pretežito na tlu u različitim pukotinama, oborenim stablima, rupama, stijenama i napuštenim zdanjima. Upravo to je razlog da ju često vidamo po parkovima, u predgrađima i gradovima (JANICKI i sur., 2007.).

Sezona parenja kuna bjelica počinje u srpnju i traje do konca rujna. Bredost s embriotenijom traje od 250 do 280 dana. Mladi dolaze na svijet u travnju i svibnju, a rijetko ih je više od pet. Majka ih nakon dojenja od 7 do 8 tjedana postupno navikava na hranu životinjskoga podrijetla (JANICKI i sur., 2007.). Nakon dva mjeseca majka ih odbija od sise, a mladi se u potpunosti osamostaljuju u prosjeku u dobi do 1 godine (GRZIMEK, 1990.). Životni vijek kuna bjelica je do 10 godina, iako prosječna dob iznosi oko 3 godine.

### 2.1.3. *Ishrana*

Ishrana kuna bjelica je raznovrsna, a sastoji se i od hrane biljnog i životinjskoga podrijetla, te se stoga može reći da pripadaju u skupinu oportunih mesojeda. U suglasju s navedenim, kune bjelice obično uzimaju onu hranu koja im je najdostupnija, dok se za plijen koji je teže uloviti odlučuju u razdobljima krize. Najčešće love na šumovitim pašnjacima i stjenovitim područjima (LACHAT, 1991.). Lovina su joj sitni glodavci, ptice i njihova jaja, puhovi, vjeverice, mladi zečevi te insekti i njihove ličinke. Jedna od korisnih uloga kuna očituje se upravo u kontroli populacije glodavaca. Od biljne hrane rado uzima voće. Često se u nedostatku lovine zavlači u peradnjake i kokošinjce gdje može napraviti veliku štetu, jer se javlja takozvani višak ubijanja, značajke uslijed koje kune pobiju sve životinje koje se miču, iako ih ne mogu pojesti (JANICKI i sur., 2007.). Uočena je sezonska varijacija u prehranbenim navikama, koja je povezana sa sezonskim potrebama za hranjivim tvarima, a moguće je i da je uzrokovana i jakim interferencijskom kompeticijom. Tendencija konzumacije određenog plijena sezonski odražava specijalizirano ponašanje u populaciji, ali i individualnu fleksibilnost temeljenu na dostupnosti različitih izvora hrane (BAKALLOUDIS i sur., 2012.). Tako voće predstavlja važnu komponentu u ishrani tijekom ljeta i u jesen, dok su zimi i u proljeće glavna komponenta ishrane mali sisavci, od čega uglavnom glodavci (BOERTOLINO i DORE, 1995., LANSZKI i sur., 1999.). I ptice su sastavni dio prehrane kuna bjelica, a manje su zastupljene u ishrani tijekom proljeća i ljeta (BALESTRIERI i sur., 2013., BOERTOLINO i DORE, 1995.), dok su insekti u prehrani zastupljeni tijekom cijele godine (BOERTOLINO i DORE, 1995.).

Kune bjelice koje obitavaju u ruralnom okruženju konzumiraju uglavnom divlji plijen, dok se populacija koja živi u selima često oslanja na vrste plijena koje su povezane s ljudskim nastambama (npr. kućni miš, štakor, domaće životinje, itd.) (LANSZKI, 2003.).



## 2.2. Leptospiroza

Leptospiroza je bakterijska zarazna bolest od koje pobolijevaju domaće i divlje životinje te ljudi (HARTSKEERL i TERPSTRAL, 1996.), uslijed čega predstavlja i značajan javnozdravstveni problem (LEVETT, 2001., EVANGELISTA i COBURN, 2010., BHARTI i sur., 2003.). Uzročnici leptospiroze su različiti serovarovi bakterije svrstani unutar vrste *Leptospira interrogans*. Sitni glodavci predstavljaju prirodne rezervoare leptospira te mogu biti doživotni nositelji uzročnika (CVETNIĆ i sur., 2003.). Geografski gledano leptospiroza je proširena po cijelom svijetu, ali se općenito može reći da je najčešća u područjima s lužnatim tlom, posebice u sezonama kada su tla topla i vlažna i kad ima obilje površinskih voda (CVETNIĆ, 2008.).

Do 1989. godine rod *Leptospira* bio je podijeljen na dvije vrste *L. interrogans*, u koju su bili svrstani svi patološki sojevi i *L. biflexa*, u koju su bili svrstani svi saprofitski sojevi (FAINE i STALLMAN, 1982., JOHNSON i FAINE, 1984., PLANK i DEAN, 2000.). Navedene vrste, *L. interrogans* i *L. biflexa*, podijeljene su u brojne serovarove definirane na temelju aglutinacije nakon unakrižne apsorpcije s homolognim antigenom (DIKMEN i KMETY, 1978., JOHNSON i FAINE, 1984., KMETY i DIKKEN, 1993.). Do sada je zabilježeno preko 60 serovarova unutar vrste *L. biflexa* (JOHNSON i FAINE, 1984.), dok je unutar vrste *L. interrogans* zabilježeno preko 200 serovarova. Serovarovi koji su antigeno povezani grupiraju se unutar seroloških skupina (KMETY i DIKKEN, 1993.). Serološke skupine *L. interrogans* i uobičajeni serovarovi prikazani su u Tablici 1.

**Tablica 1.** Serogroups and some serovars of *L. interrogans sensu lato*

Serogrupa	Serovar
icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae, copenhageni, lai, zimbabwe
Hebdomadis	hebdomadis, jules, kremastos
Autumnalis	autumnalis, fortbragg, bim, weerasinghe
Pyrogenes	pyrogenes
Bataviae	bataviae
Grippotyphosa	grippotyphosa, canalzonae, ratnapura
Canicola	canicola
Australis	australis, bratislava, lora
Pomona	pomona
Javanica	javanica
Sejroe	sejroe, saxkoebing, hardjo
Panama	panama, mangus
Cynopteri	cynopteri
Djasiman	djasiman
Sarmin	sarmin

---

Mini	mini, georgia
Tarassovi	tarassovi
Ballum	ballum, aroborea
Celledoni	celledoni
Louisiana	louisiana, lanka
Ranarum	ranarum
Manhao	manhao
Shermani	shermani
Hurstbridge	hurstbridge

---

Prilagođeno iz LEVETT, 2001.

Svaka od varijanti može biti prilagođena određenoj životinji, odnosno prirodnom domaćinu (HARTSKEERL I TERPSTRAL, 1996.).

Fenotipsko razvrstavanje leptospira zamijenjeno je genotipskim, u kojoj su u brojne genomske vrste uvršteni svi serovarovi obje vrste, *L. interrogans* i *L. biflexa* (HAAPALA i sur., 1969, BRENDLE i sur., 1974., YASUDA i sur., 1987.). U svrhu taksonomskog tipiziranja gena primjenjuje se analiza restrikcijske endonukleaze (restriction endonuclease analysis - REA) DNA leptospira (CVETNIĆ, 2008.). Na temelju genskih značajki danas poznajemo najmanje 19 vrsta bakterija iz roda *Leptospira*, pri čemu je njih 6 saprofitskih, a 13 patogenih (ADLER i DE LA PEÑA MOCTEZUMA, 2010.; EVANGELISTA i COBURN, 2010.). Pri tome

AHMED i sur. (2006.) navode 7 vrsta kao najčešće uzročnike leptospiroze, *L. interrogans*, *L. borgpetersenii*, *L. santarosai*, *L. noguchii*, *L. weilli*, *L. kirschneri* i *L. alexanderi*.

Leptospire su tanke, gipke, nitaste bakterije, dugačke od 6 do 20  $\mu\text{m}$  (ponekad i dulje), promjera oko 0,1  $\mu\text{m}$ , blago spiralne, a u tekućem mediju su na jednom ili na oba kraja zavinute (CVETNIĆ, 2008.). Leptospire su obvezni aerobi s optimalnim rastom pri temperaturama od 28 do 30 °C (SMIBERT, 1997.).

Patogene leptospire žive u proksimalnim tubulima bubrega brojnih vrsta domaćih i divljih životinja, a izlučuju se mokraćom (HARTSKEERL I TERPSTRAL, 1996., ADLER i DE LA PEÑA MOCTEZUMA, 2010.). Izvor zaraze za ljude obično je izravni ili neizravni kontakt s mokraćom zaražene životinje. Pri tome treba znati kako se svi sisavci mogu inficirati leptospirama i mogu ih izlučivati (CVETNIĆ, 2008.), a ljudi se smatraju slučajnim nositeljima (KO i sur., 2009.). Incidencija leptospiroze je značajno viša u zemljama s toplom klimom (EVERARD i EVERARD, 1993., RATNAM, 1944.). U svakoj se zemlji, ovisno o klimatskim, geološkim i ekološkim odnosima, mogu utvrditi odgovarajuća enzooska/endemska područja, a u epizootologiji/epidemiologiji leptospiroze odlučujuću ulogu ima izlučivanje leptospira mokraćom (leptospirurija) inficiranih životinja (posebice svinja), koje može potrajati i mjesecima nakon infekcije, kao i dugotrajno preživljavanje uzročnika izvan organizma (CVETNIĆ, 2008.).

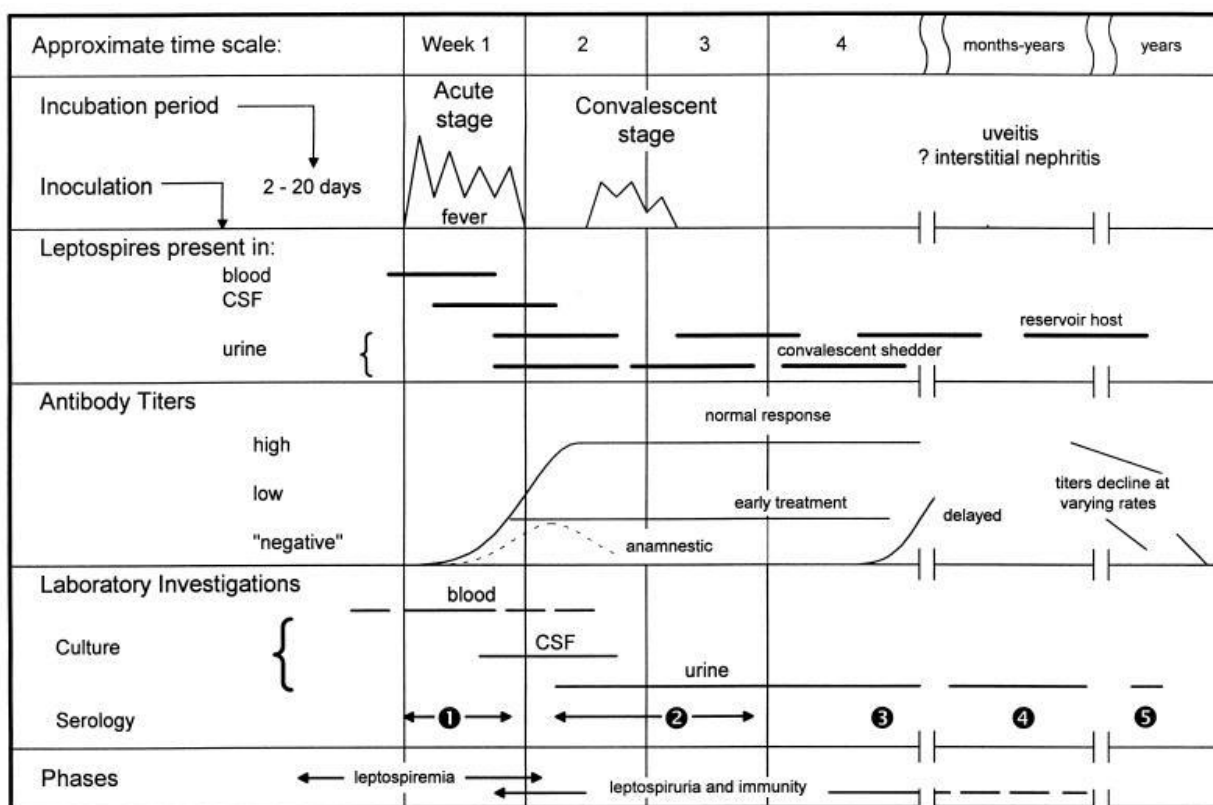
Bolest se prenosi onečišćenom vodom (LEVETT, 2001.), a rijetko i ugrizom zaražene životinje (GOLLOP i sur., 1993., LUZZI i sur., 1997.). Ulazna vrata uzročnika su najčešće ozljede na koži i sluznicama (CVETNIĆ, 2008., LEVETT, 2001.).

Vrijeme preživljavanja uzročnika izvan domaćina ovisi o vanjskim uvjetima, primarno o vlazi i temperaturi. Na sjevernoj Zemljinj polutci leptospiroza dostiže vrhunac pojavljivanja u kasno ljeto i u ranu jesen (kolovoz-rujan) (HARTSKEERL I TERPSTRAL, 1996.).

Leptospire mogu u vodi, osobito u vodama stajaćicama (barama) preživjeti i tjednima. Temperatura od 45 do 55°C ih ubija za 10-60 minuta, a pri 60°C uginu za 10 sekundi. Pri 4°C prežive mjesecima, a pri -10°C ili -18 °C svega nekoliko dana. Kiseline i lužine ih brzo unište. U kiseloj mokraći pri pH 5,0-6,5 i u gnjilom materijalu gdje je pH 9,0 i više, većinom brzo propadaju. Sušenje ih vrlo brzo ubija, a isto tako i uobičajeni dezinficijensi (CVETNIĆ, 2008.).

Leptospiroza ima bifaznu kliničku sliku (Slika 3) s akutnom ili septikemijskom fazom koja traje oko tjedan dana, nakon čega slijedi faza imunosnog odgovora koju karakterizira lučenje protutijela i izlučivanje leptospira mokraćom (EDWARDS i DOMM, 1960., TURNER, 1967., KELLEY, 1998.).

Većina komplikacija koja se javlja kod leptospiroze povezana je s lokalizacijom leptospira unutar tkiva tijekom faze imunosnog odgovora te se stoga pojavljuju tek tijekom drugog tjedna bolesti (LEVETT, 2001.).



**Slika 3.** Bifazna narav leptospiroze i relevantne pretrage tijekom različitih stadija. (Prilagođeno iz TURNER, 1969.)

Domaćine leptospira možemo podijeliti u dvije skupine - prirodne i slučajne. U prirodi se zaraza održava kroz kroničnu infekciju proksimalnih bubrežnih tubula rezervoara bolesti, primarno sitnih glodavaca (BABUDIERY, 1958., LEVETT, 2001., ATHANAZIO i sur., 2008.). Prirodni nositelji obično nemaju klinički vidljivih simptoma bolesti ili su oni tek veoma blagi. Najbitnija činjenica je da rezervoari bolesti izlučuju leptospire mokraćom kroz dulji vremenski period te čak ostaju doživotni nositelji, formirajući na taj način neprekinute cikluse prijenosa s roditelja na potomstvo (HARTSKEERL I TERPSTRAL, 1996.). Infekcija je obično endemskog obilježja, a uzročnik se prenosi izravnim kontaktom. Životinje se obično zaraze rano u životu, a prevalencija kronične ekskrecije mokraćom povećava se s porastom dobi životinje. Ostale životinje mogu se inficirati neizravnim kontaktom s prirodnim domaćinima.

Životinje mogu biti prirodni domaćini za neke serovarove, a slučajni za druge, te tada može doći do težeg oblika bolesti sa smrtnim ishodom. Opseg u kojem će doći do prijenosa uzročnika ovisi o mnogo čimbenika, uključujući klimatske uvjete, gustoću populacije i stupanj kontakta između prirodnih i slučajnih domaćina. Općenito se smatra da su štakori prirodni domaćini serovarova iz seroloških skupina *Icterohaemorrhagiae* i *Ballum*, dok su miševi prirodni domaćini za serološku skupinu *Ballum*. Domaće životinje također su prirodni domaćini leptospira, tako se navode mliječna goveda kao domaćini za serovarove *Hardjo*, *Pomona* i *Grippytyphosa*; svinje za serovar *Pomona*, *Tarassovi* i *Bratislava*; ovce za serovarove *Hardjo* i *Pomona*, a psi za serovar *Canicola* (BOLIN, 2000.). Slučajni domaćini mogu nakon infekcije razviti teže simptome bolesti koja može završiti smrtnim ishodom (HARTSKEERL i TERPSTRAL, 1996.). Međutim, ovakvi domaćini izlučuju leptospire mokraćom relativno kratko vrijeme pa time ne pridonose značajno prijenosu leptospira u smislu održavanja bolesti u okolišu (HARTSKEERL i TERPSTRAL, 1996.).

Kod različitih životinjskih vrsta postoje određene epizootiološke posebnosti. Tako na primjer u Nizozemskoj postoje tri životinjske vrste koje su prepoznate kao važan izvor infekcije za ljude. Od njih se spominju smeđi štakori (*Rattus norvegicus*) koji predstavljaju rezervoar za serovarove *Icterohaemorrhagiae* i *Copenhageni*. Drugi su voluharice kao glavni prenositelji serovara *Grippytyphosa*, dok je stoka glavni prenositelj serovara *Hardjo* (HARTSKEERL i TERPSTRAL, 1996.).

Kada govorimo o leptospirozi divljih životinja, glodavci se smatraju primarnim rezervoarom leptospira i u ruralnim i urbanim sredinama (VINETZ i sur., 1996., BHARTI i sur., 2003.). U kontekstu složenog istraživanja ekologije prirodnih ognjišta leptospiroze u Hrvatskoj naglasak je stavljen na sitne glodavce kao primarne rezervoare leptospira u prirodi (BORČIĆ i sur., 1978.). BORČIĆ i sur. (1982., 1983.) determinirali su glodavce kao rezervoare leptospira u dolinama rijeke Save i Drave. U Francuskoj se kao rezervoari leptospira spominju

štakori i to kao glavni nositelji serovara *Icterohaemorrhagiae* (AYRAL i sur., 2015.). Međutim, činjenica da su štakori rezervoari bolesti ne objašnjava raznovrsnost seroloških skupina koje su identificirane u ljudi i domaćih životinja inficiranih leptospirama. Stoga, postoji osnovana sumnja da i druge divlje životinje igraju značajnu ulogu u ciklusu prijenosa leptospira, a na što upućuje i njihova česta seroreaktivnost na leptospire, utvrđena u mnogim zemljama (SLAVICA i sur., 2007., MILLAN i sur., 2009., ESPI i sur., 2010., MONTAGNARO i sur., 2010., SLAVICA i sur., 2010., ANDREOU i sur., 2014., ŽMUDSKI i sur., 2015.).

AYRAL i sur. (2016.) su proveli istraživanje u Francuskoj s ciljem utvrđivanja sojeva leptospira koje cirkuliraju među divljim životinjama. U tu svrhu metodom lančane reakcije polimerazom (PCR) pretraženo je 3738 jedinki svrstanih u 28 životinjskih vrsta od čega: 1461 papkar (39%), 1411 (38%) mesojeda, 683 (17%) dvojezubca, 112 (3%) ježeva i 81 (2%) glodavac, osim štakora. U 201 jedinki utvrđena je infekcija patogenim leptospirama. Ukupna prevalencija jedinki kod kojih su utvrđene leptospire u bubrezima iznosila je 5,4%, od čega je najveći udio utvrđen među ježevima (37,5%), a najmanji u papkara (0,8%). Utvrđene su tri vrste uključujući vrste *L. interrogans*, *L. kirschneri* i *L. borgpetersenii*. Genetski materijal (DNA) dvije vrste leptospira (*L. kirschneri* i *L. borgpetersenii*) izdvojen je iz uzorka kune bjelice. Rezultati istraživanja pokazali su da su jazavci, kune bjelice, kune zlatice i lisice bili inficirani različitim serovarima, te se mogu koristiti kao sentinel, indikatorske vrste, a igraju i određenu ulogu u održavanju leptospira u okolišu.

MILAS i sur. (2002.) su proveli istraživanje na malim glodavcima kao rezervoarima leptospira u šumskim ekosustavima te je u tu svrhu pretražena 381 životinja. Reakcijom mikroskopske aglutinacije u 47 uzoraka ustanovljena su protutijela za serovare: Pomona, Saxkoebing, Australis i Hardjo.



Pored navedenoga, SLAVICA i sur. (2007.) su istraživali prisutnost protutijela na leptospire u divljih životinja na području Republike Hrvatske. Oni su tijekom 10 godina (u razdoblju od 1996. do 2005.) prikupili 868 uzoraka krvi različitih vrsta divljih životinja, a specifična protutijela utvrđena su u 242 uzorka. U populaciji običnog jelena (*Cervus elaphus*) najučestaliji serovarovi bili su Pomonna i Ballum, a najviši titar protutijela utvrđen je za serovar Sejroe, u srne obične (*Capreolus capreolus*) utvrđeni su serovarovi Australis i Sejroe, u divlje svinje (*Sus scrofa*) najučestaliji serovarovi bili su Australis i Pomona, od čega su isti zabilježeni i u najvišem titru, u smeđeg medvjeda (*Ursus arctos*) najučestaliji serovar bio je Icterohemorrhagiae, dok je u lisice (*Vulpes vulpes*) najučestaliji serovar bio Australis, ujedno i s najvišim zabilježenim titrom. Slijedom navedenoga, utvrđeno je da su u Republici Hrvatskoj, najznačajniji rezervoari bakterije *L. interrogans* sv. Australis lisica i divlja svinja. Tijekom istog istraživanja prikupljeno je i 7 uzoraka krvi kune bjelice, od čega su u 4 uzorka (P=57%) utvrđena specifična protutijela, za serovare Australis, Pomona, Sejroe i Icterohaemorrhagiae. Najveći broj pozitivnih uzoraka utvrđen je u nizinskim staništima u blizini rijeka Save, Drave i Dunava.

MOINET i sur. (2010.) su dokazali protutijela na leptospire u 89% pregledanih kuna bjelica na području jugozapadne Francuske.

MILAS i sur. (2013.) proveli su istraživanje na uzorcima seruma (20157) i bubrega (984) domaćih i divljih životinja prikupljenih na području cijele Hrvatske, u razdoblju od 2002. do 2011. godine.

MILLÁN i sur. (2019.) ispitivali su prisutnost leptospira PCR metodom, te su u tu svrhu pretražili 51 uzorak podrijetlom od u divljih mesoždera, 20 uzoraka podrijetlom od domaćih pasa držanih na otvorenom i 27 uzoraka podrijetlom od slobodno lutajućih domaćih mačaka. Uzorkovanje je izvršeno u suburbanom dijelu Barcelone, Španjolska. Ukupna prevalencija

pozitivnih na leptospire iznosila je 7,7% s potvrđenom DNA u 3 od 30 cibetki (*Genetta genetta*), (serovar *Icterohaemorrhagiae* i Sejrøe), 1 od 9 lisica (*Vulpes vulpes*) (serovar *Canicola*) i 2 od 27 mačaka (serovar *Icterohaemorrhagiae*). Unatoč činjenici da je većina pasa bila cijepljena protiv leptospiroze, DNA serovara *Canicola* utvrđen je u mokraći 25% vakciniranih životinja, a serovar *Icterohaemorrhagiae* u jednog nevakciniranog psa.

Epidemiološke osobitosti leptospiroze proučavane su na primjeru ljudi, te nekih domaćih i divljih životinja (PLANK i DEAN, 2000., MICHEL i sur., 2001., PAPPAS i sur., 2008., ZAVITSANOI i BABATSIKOU, 2008., SYKES i sur., 2011.)

### **2.3. Štenećak**

Štenećak je vrlo kontagiozna, često smrtonosna, multisistemska bolest prijemljivih mesojeda (YUAN i sur., 2017.). Uzročnik štenećaka je RNA virus (CDV je kratica od engl. canine distemper virus) veličine od 100 do 250 nm, a svrstan je u rod *Morbillivirus* i porodicu *Paramyxoviridae* (CVETNIĆ, 2005.).

Virus štenećaka rasprostranjen je po cijelome svijetu, a sposoban je inficirati brojne vrste životinja unutar porodica *Canidae*, *Procyonidae*, *Mustelidae*, *Hyaenidae*, *Mustelidae*, *Ursidae*, *Viverridae* i *Felidae* (SUMMERS i APPEL, 1994., OSTERHAUS i sur., 1995). Virus je pleomorfnog oblika i obavijen je lipoproteinskom ovojnicom unutar koje je smješten negativni lanac RNA (GREEN i APPEL, 2006., MACLACHLAN i DUBOVI, 2011.). Sadrži tri proteina nukleokapside (protein koji se veže za RNA (N), fosfatoprotein (P) i polimeraza protein (L)) i tri membranska proteina (protein matriksa (M), fuzijski protein (F) i hemaglutininski protein (H)) (LAMB i KOLAKOFSKY, 2001., MACLACHLAN i DUBOVI, 2001.). H protein je fundamentalan za infekciju budući da prepoznaje kompatibilne ligande na površini stanice

domaćina (MACLACHLAN i DUBOVI, 2011.). Prema KE i sur. (2015.) do danas je na temelju razlika gena na H-proteinu identificiran samo jedan serotip virusa s nekoliko genotipova. U suglasju s navedenim postoji nekoliko geografski udaljenih linija virusa (genotipova) nazvanih kao Asia-1, Asia-2, Asia-3, Europe, America-1, America-2 (YUAN i sur., 2017.), te Africa (WOMA i sur., 2010.), no taj proces nije završen i dopunjavanje ovog popisa se nastavlja i danas (RILEY I WILKES, 2015.).

U Europi je bolest prvi puta utvrđena u Španjolskoj davne 1761. godine, odakle se proširila na ostale europske zemlje (FRÖLICH i sur., 2000.). Danas je štenećak rasprostranjen po cijelome svijetu i predstavlja značajnu zaraznu bolest domaćih i divljih mesojeda s visokom stopom smrtnosti. Po značaju za mesojede svrstava se odmah iza bjesnoće. Iako je štenećak dugo godina smatram primarno bolešću mesojeda, u novije vrijeme je ustanovljeno kako je u stvarnosti riječ o virusu s vrlo širokim rasponom potencijalno prijemljivih vrsta (DEEM i sur., 2000., BEINEKE i sur., 2015.), uključujući i neke vrste majmuna poput makaka (SUN i sur., 2010., QIU i sur., 2011.). Posebnu pozornost izazivaju potencijalno prijemljive ugrožene vrste ili vrste izolirane okolišem (primjerice endemske otočne vrste), kod kojih bi pojava ovakvog uzročnika bolesti mogla predstavljati ozbiljnu prijetnju opstojnosti vrste. Tako su primjerice GRACHEV i sur. (1989.) opisali masovna uginuća tuljana (*Phoca sibirica*) na Bajkalskom jezeru tijekom 1987. godine, pri čemu je sumnja stavljena na pse ili vukove kao potencijalne izvore bolesti. Osobitosti virusa su kasnije opisali MAMAEV i sur. (1995.). Sličan je slučaj i sa velikim mačkama te etiopskim vukovima (*Canis simensis*) (APPEL i sur., 1994., ROELKE-PARKER i sur., 1996.). Posebnu pozornost privlači činjenica da su HVIŠTENDAHL (2015.) i FENG i sur. (2016.) utvrdili uginuća u uzgojima velikog pande (*Ailuropoda melanoleuca*), kao izrazito ugrožene vrste. Pri tome je u slučaju pet uginulih panda utvrđeno da virus pripada klasteru Asia-1, ali je pitanje podrijetla virusa ostavljeno otvorenim. Zanimljivo je da se, zbog

mogućnosti prijenosa virusa na različite vrste domaćina spominje i potencijalna opasnost virusa za ljude (VIANA i sur., 2015.).

Lista životinja koje se mogu prirodno ili eksperimentalno inficirati CDV-om prikazana je u Tablici 2.

**Tablica 2.** Popis životinja u kojih je zabilježena prirodna ili eksperimentalna infekcija virusom štenećaka. Prilagođeno iz: SUMMERS i APPEL (1994.), OSTERHAUS i sur. (1995.).

PORODICA	TIP INFEKCIJE	
	Prirodna	Eksperimentalna
<i>Canidae</i>	pas, rakunski pas, dingo, lisica, kojot, čagalj, vuk	pas
<i>Mustelidae</i>	lasica, domaća vretica, europski obični tvor, kanadska kuna, američki tvor, jazavac, kune, vidra, zerdav, žderonja, grizon	kanadska kuna (mink)
<i>Felidae</i>	lav, leopard, gepard, tigar, puma, jaguar, ris, divlja mačka	mačka
<i>Viverridae</i>	cibetka, velika cibetka, linsang, fosa	
<i>Ailuridae</i>	mala panda	
<i>Suidae</i>	svinja, pekari	
<i>Procyonidae</i>	koati, kinkađu, prstenastorepa mačka	rakun,

---

<i>Muridae</i>		miš, štakor
<i>Cricetidae</i>		hrčak
<i>Ursidae</i>	medvjed, veliki panda	
<i>Herpestidae</i>	Mungosi, merkati	
<i>Miscellaneous</i>	majmuni	majmuni

---

S obzirom da je prethodno navedeno da je virus štenećaka vrlo kontagiozan, razumljivo je da se među prijemljivim jedinkama prenosi i izravnim i neizravnim kontaktom, a poglavito aerosoliziranim oralnim, respiratornim ili okularnim tekućinama i eksudatima. Tijekom akutne faze infekcije virus se izlučuje i drugim ekskretima kao što su primjerice mokraća i izmet. Izlučivanje virusa može trajati i do 90 dana nakon infekcije, čak i ako je riječ o subkliničkoj infekciji (GREEN i APPLE, 1990.)

Psi se smatraju primarnim rezervoarom bolesti za divlje životinje. Isto tako, određene vrste divljih životinja poput primjerice rakuna mogu poslužiti kao rezervoari bolesti za prijemljivu populaciju pasa (GREEN i APPEL, 2006.). Kako navode NAVA i sur. (2008.), MEGID i sur. (2009., 2010.) te HUBNER i sur. (2010.) u većini slučajeva bolesti u Brazilu, u kojima su virusom štenećaka inficirane divlje vrste, došlo je do takozvanog „spill-over“ učinka putem spontanog kontakta između pasa i prijemljivih vrsta divljih životinja.

U Americi se štenećak javlja endemski u rakuna (*Procyon lotor*), te se oni smatraju rezervoarom ove bolesti za pse i divlje životinje koje s njima dolaze u kontakt u urbanim, suburbanim i semiruralnim područjima (KAPIL i sur., 2008.). Za razliku od Amerike, u Europi se kune zlatice i bjelice (*Martes martes*, *Martes foina*) smatraju divljim rezervoarom virusa

štenećaka (MEYERS i sur., 1997., PHILIPPA i sur., 2008.). Kako kune, i to poglavito bjelice, žive u blizini ljudskih naselja povećana je i mogućnost kontakta s psima, a time i vjerojatnost da se inficiraju virusom štenećaka ukoliko je riječ o zaraženim psima (PHILIPPA i sur., 2008.).

Istraživanja provedena u južnom Brazilu navode kako se najviša prevalencija ove bolesti u pasa javlja tijekom kraja zime i početkom proljeća, dok je prevalencija manja tijekom ljeta i jeseni (HEADLEY i GRACA, 2000., BORBA i sur. 2002.). Navedeno upućuje na sezonsku značajku pojavnosti bolesti koja najvišu prevalenciju dostiže tijekom najhladnijeg doba godine. Sezonske varijacije s povećanom incidencijom štenećaka tijekom hladnih mjeseci opisane su i u drugim istraživanjima (APPEL, 1987., GORHAM, 1996., MARTELA i sur., 2008.).

Spomenuta sezonost se može dovesti u svezu s činjenicom da hladnije vrijeme podržava održavanje virusa (APPEL, 1987., HEADLEY i GRACA, 2000.), te produljuje njegovo vrijeme preživljavanja van domaćina (GREEN i APPLE, 2006.). Tako se navodi da virus štenećaka na temperaturi do 4 °C može preživjeti i do nekoliko tjedana (GREEN i APPLE, 2006.). Pored toga, okolišni stres kod životinja očitovan tijekom hladnijeg doba godine, posebice kroz manju dostupnost hrane može uzrokovati i pad imuniteta u novorođene mladunčadi, kao i one neposredno po odbiću (HEADLEY i GRACA, 2000., MACLACHLAN i DUBOVI, 2011.). Nasuprot ovim opažanjima ROSCOE i sur. (1993.) su utvrdili povezanost štenećaka sa sezonom parenja u rakuna, što je opet svojevrsan oblik stresa, ali i razdoblje povećanog kontakta među jedinkama oba spola, kao i povećane migracije mužjaka i aglomeracije životinja.

Održavanje uzročnika bolesti u prirodi podržava se kroz prijenos između različitih vrsta životinja (ALEXANDER i sur., 2010.). Pri tome se pasažama kroz organizme u kojih prethodno nije zabilježena pojava štenećaka povećava mogućnost za prijelaz vrsne barijere.

Infekcija virusom štenećaka u pasa klinički se manifestira općim i/ili simptomima od strane središnjeg živčanog sustava i održavanjem virusa u pojedinim organima uključujući

središnji živčani sustav i limfatično tkivo. Glavne manifestacije bolesti uključuju simptome od strane dišnog i probavnog sustava, imunosupresiju i demijelinizirajući leukoencefalomijelitis (BEINEKE, 2009.).

Kada je riječ o kunama, štenećak se smatra jednom od njihovih najvažnijih zaraznih bolesti. Tako je u Središnjoj Europi, Austriji i Njemačkoj bolest zabilježena u kuna bjelica, tvorova, male lasice i euroazijskih jazavaca (PAVLACIK i sur., 2007.).

U odraslih kuna inkubacija traje od 10 do 14 dana. Bolest se očituje odbijanjem hrane, vrućicom, seroznim do gnojnim konjunktivitisom, seroznim do gnojnim iscjetkom iz nosa, vlažnim ekcemima na donjoj strani prsa i trbuha kao i na unutarnjoj strani stražnjih nogu. Bolest traje od 10 do 12 dana. U otprilike jedne trećine životinja stanje se popravi, ali se naknadno mogu javiti simptomi od strane središnjeg živčanog sustava. Spomenuti simptomi javljaju se u približno 50% svih oboljelih životinja. Kod kroničnog oblika bolesti životinje izrazito mršave, a mekušci orožnjaju i oteknu. Upravo ove promjene na mekušcima se smatraju patognomoničnim znakom (na engleskom govornom području ovaj oblik bolesti se naziva *hard pad disease*). Bolest može imati i apoplektičan tijek s naglim uginućem bez ikakvih prethodnih simptoma. Nasuprot tome, kod duljeg trajanja bolesti životinja uginu nakon 5-7 dana (CVETNIĆ, 2005.).

VAN MOLL i sur. (1995.) su u jugozapadnome dijelu Njemačke proveli epidemiološko, histološko i imunohistokemijsko istraživanje infekcije virusom štenećaka u divljih mesojeda. Tijekom dvogodišnjeg razdoblja prikupili su uzorke moždanog tkiva 146 kuna i 90 lisica koje su pretražili na prisutnost virusa imunohistokemijskom metodom. CDV antigen detektiran je u 54 (34%) kune i to pretežito u sivoj tvari mozga. Rastući broj infekcija u kuna primijećen je između studenog 1989. i 1990. godine s najvećom prevalencijom u ljeto 1990. godine. Antigen nije nađen u pretraženim uzorcima podrijetlom od lisica. Zaključili su da histološki i

imunohistokemijski nalazi, rana faza infekcije, visoki udio pozitivnih životinja zajedno sa sezonskom prevalencijom upućuju na epizootsku infekciju u kuna.

PAVLACIK i sur. (2007.) su u Češkoj proveli istraživanje s ciljem utvrđivanja učestalosti štenećaka u divljih kuna. U tu svrhu prikupljena su 194 uzorka mozga podrijetlom od uginulih ili vidno bolesnih životinja. Utvrđena je prevalencija od 5% u kuna sa simptomima bolesti i 0,6% kuna koje nisu pokazivale kliničke znakove bolesti.

LEMPP i sur. (2017.) su u Njemačkoj proveli istraživanje o zdravstvenom statusu lisice, kune bjelice i rakuna u prirodnim i suburbanim staništima. U tu svrhu su u vremenskom razdoblju od 2013. do 2016. godine prikupili uzorke od 79 lisica, 17 kuna bjelica i 10 rakuna. 30 životinja (16 lisica, 12 kuna bjelica i dva rakuna) su testirali na prisutnost protutijela na virus štenećaka neutralizacijskim testom, od čega je samo jedan uzorak uzet od lisice imao titar protutijela iznad 1:20 (1:160).

SANTOS i sur. (2009.) su proveli serološko istraživanje na prisutnost virusa štenećaka i parvovirus pasa u Portugalu, u vremenskom razdoblju od 1995. do 2006.godine. U tu svrhu prikupili su uzorke seruma i pluća 120 slobodno živućih divljih mesojeda (ukupno 13 životinjskih vrsta među kojima 17 uzorka podrijetlom od kune bjelice). Protutijela za virus štenećaka utvrđena su u pet uzoraka, podrijetlom od vuka (*Canis lupus*; 3/27) i lisice (*Vulpes vulpes*; 2/22).

FRÖLICH i sur (2000.) su proveli istraživanje kojem je svrha bila procijeniti ulogu divljih mesojeda u epidemiologiji štenećaka u domaćih pasa na području Njemačke. Protutijela za virus štenećaka utvrđena su uzorcima seruma lisice (30 od 591 (5%)) i kune bjelice (2 od 10 (20%)). U uzorcima tkiva pluća i slezene (lisica, jazavac, kuna bjelica, tvor, rakun), metodom RT-PCR virus štenećaka je utvrđen u 13 od 253 (5.1%) lisica, 2 od 13 (15,4%) kune bjelice i 2 od 6 (33%) jazavaca.



U Republici Hrvatskoj su KONJEVIĆ i sur. (2011.) dokazali uginuće mladunaca sibirskog tigra od akutnog štenećaka. Predmetni tigrovi bolovali su od bolesti manifestirane želučano-crijevnim simptomima. Od tri mladunca dva su uginula, a samo jedan je preživio do odrasle dobi. U stjenci crijeva uginulih mladunaca metodom imunohistokemije dokazani su virusi štenećaka. Kao možebitni prijenosnik uzročnika u ovome se radu spominju pas (koji je u to vrijeme boravio u zoološkom vrtu) i kune.

Osim na primjeru kuna, epidemiološke osobitosti štenećaka u divljih životinja proučavane su i na primjeru etiopskih vukova, lavova, kunopasa, lisica i rakuna (MACHIDA i sur., 1993., ROSCOE, 1993., CLEVELAND, 1996., HAYDON i sur., 2002.). U tom smislu pozornost treba pridati morbilivirusima, s posebnim naglaskom na virus štenećaka. Ovaj paramyxovirus naglo se širi u populaciji divljih životinja uključujući divlje mesoždere kao što su lisica, rakuni, rakunski psi ili američki minkovi. Također, zabilježene su infekcije virusom štenećaka i u morskih sisavaca (ALLDINGER i sur., 1993., VAN MOLL i sur., 1995., BAUMGARTNER i sur., 2003., BENIKE i sur., 2015.). Tako su u populaciji tuljana, u 1998., 2000., i 2001. godini, zabilježena masovna izbijanja bolesti uzrokovane virusom štenećaka na području Europe s visokim stopama pomora (KUIKEN i sur., 2006., KREUTZER i sur., 2008., BUTINA i sur., 2010., BEINKE i sur., 2015.). Stoga se smatra kako kopneni mesožderi mogu uzrokovati prelijevanje (spill-over) virusa štenećaka na populaciju morskih sisavaca (BEINKE i sur., 2015.). Ovaj fenomen zabilježen je i kao mogući put za prijenos infekcije između različitih vrsta mesoždera, te između majmuna (KREUTZER i sur., 2008., KAPIL i YEARY, 2011., QUI i sur., 2011.).

### 3. CILJ I HIPOTEZA ISTRAŽIVANJA

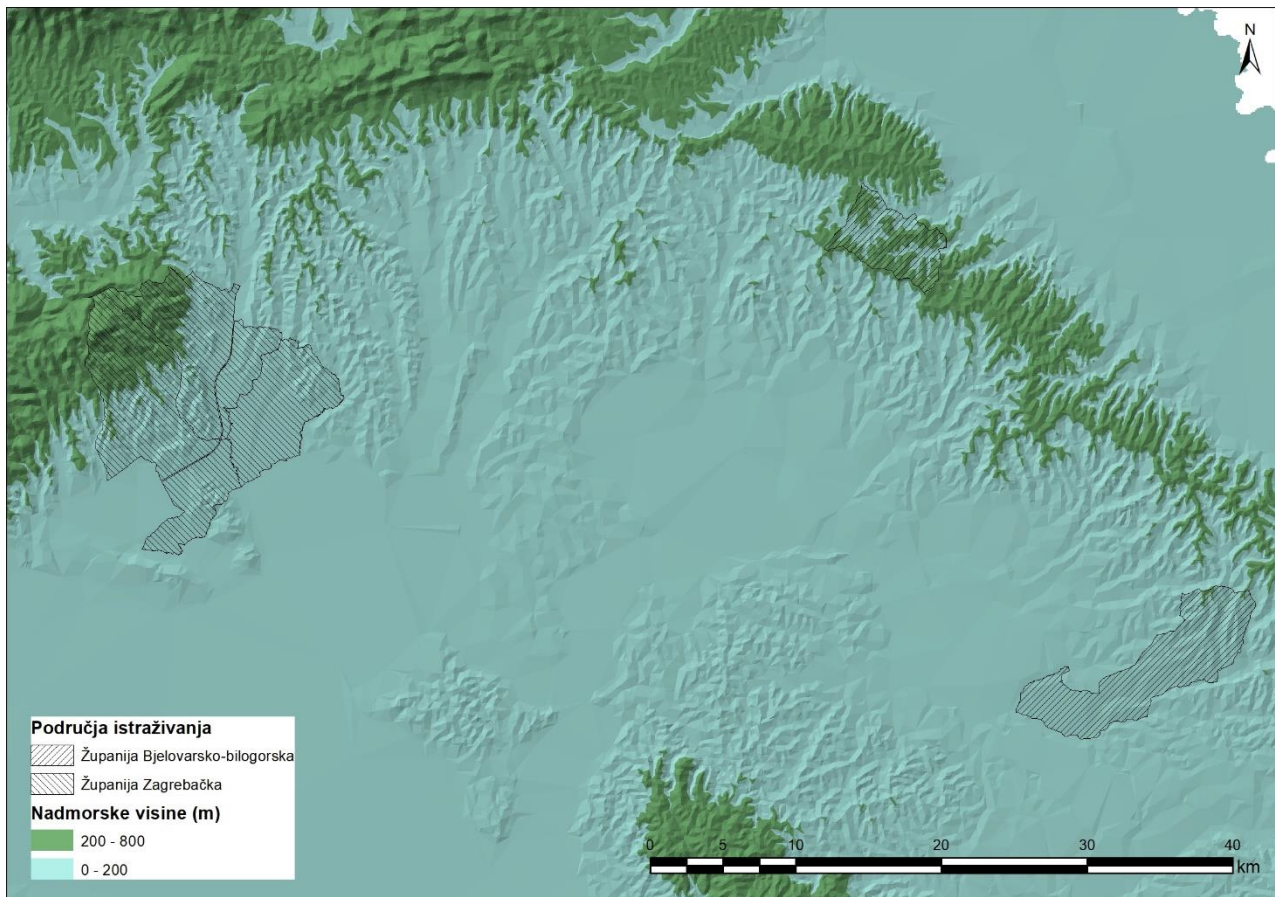
Unatoč porastu populacije kune bjelice u ruralnim i prigradskim područjima, a dobrim dijelom i u gradovima, spoznaje o njenim bolestima, a poglavito bolestima s zoonotskim potencijalom su i nadalje vrlo oskudne. Ovo se posebice odnosi na infekcije koje u velikom broju slučajeva prolaze asimptomatski, a pri tome ovi domaćini nastavljaju izlučivati uzročnika u okoliš. Ciljevi ovog istraživanja su:

- ✓ utvrditi učestalost štenećaka i leptospiroze u kuna bjelica iz ruralnog i prigradskih područja sjeverne Hrvatske,
- ✓ utvrditi koji serovarovi bakterija *Leptospira* spp. i u kojem omjeru se pojavljuju u pretraživanih kuna,
- ✓ utvrditi povezanost pozitivnih nalaza s lokacijom uzorkovanja,
- ✓ utvrditi odnos pozitivnih nalaza prema spolu kuna,
- ✓ utvrditi odnos pozitivnih nalaza prema dobnoj kategoriji,
- ✓ izrada analize rizika prema lokaciji.

## 4. MATERIJALI I METODE

### 4.1. Životinje i uzorkovanje

Istraživanje je obuhvatilo dva područja i dvije sezone. Jedinke kuna bjelica prikupljene su iz pet lovišta, od čega se tri (zajednička potvorena lovišta br.: I/148 – "BERTOVINA – STRMEC", I/149 – "ŠUŠAK - ZELINSKA GORA" i I/158 – "MOKRICE") nalaze u Zagrebačkoj, a dva (zajednička otvorena lovišta br.: VII/104 – "MOSTI – ZDELJA" i VII/401 – "GRĐEVICA – KOVAČICA") u Bjelovarsko-bilogorskoj županiji (Slika 4.).



Slika 4. Područja istraživanja s prikazom nadmorskih visina.

Odstrijeljene kune i one nastaradale u prometu dostavljene su na Hrvatski veterinarski institut (HVI) i Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu s područja sjeverne Hrvatske. Ukupno su prikupljene 64 jedinke, od čega 32 mužjaka i 32 ženke, u dobi od jedne do četiri godine. Kune su odstrijeljene u sklopu provedbe redovitih lovnih zahvata sukladno planu propisanom lovnogospodarskom osnovom te dostavljene ljubaznošću lovaca ili u okviru sustava za pregled na bjesnoću. Svaka kuna razuđena je u dvorani za razudbe Odjela za patologiju HVI-a ili u dvorani za razudbe Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Tijekom pregleda lešine određen je spol i vrsta na temelju vanjskih, morfoloških značajki. Po otvaranju grudne i trbušne šupljine uzorkovana je krv izravno iz srca ili iz velikih krvnih žila, ovisno o mogućnostima. Potonje je primarno ovisilo o mjestu pogotka te oštećenjima nastalima tijekom odstrjela ili naleta vozila. Od ostalih organa uzorkovani su jetra i slezena za potrebe analize na virus štenecaka. Dio slezene i jetre spremljen je u plastičnu vrećicu, propisno označen te pohranjen u zamrzivač do slanja na analizu. Za potrebe određivanja dobi kuna uzeta je donja čeljust, pohranjena u označenu plastičnu vrećicu i smrznuta do analize.

#### 4.2. Identifikacija vrste

Predmet ovoga istraživanja je kuna bjelica. Pored ove vrste na teritoriju Republike Hrvatske boravi i kuna zlatica (*Martes martes*). Za razlikovanje ovih dviju vrsta postmortalno koriste se odgovarajući morfološki znaci. Glavnu značajku kuna bjelica čini podvoljak (lisa) bijele boje koji se na donjem dijelu prsa račva i prelazi na prednje noge. U kune bjelice ova lisa je zlatno-žute boje i završava neposredno prije noge, ne prelazeći na njih. Boja ovoga podvoljka ishodište je za naziv vrsta (JANICKI i sur., 2007.). S obzirom da boja i oblik ovih lisa nisu uvijek u skladu s prethodno opisanim, prate se i druge morfološke značajke. U njih ubrajamo: boju krzna, duljinu repa, obraslost šapa krznom, oblik lubanje, oblik uški i razmak među njima, boju

vrha njuške, oblik obrazne strane zadnjeg pretkutnjaka i prvog kutnjaka (JANICKI i sur., 2007.). U slučaju otežane identifikacije na temelju lise korišteni su drugi pokazatelji. S obzirom na velike sličnosti u izgledu i građi ove dvije kune, potrebno je navesti i dodatne anatomske i druge detalje pomoću kojih je moguće točnije razlikovati ove dvije vrste. Prema JANICKI i sur. (2007.) navode se sljedeće značajke na temelju kojih je moguće provesti detaljnije razlikovanje.

Njuška kune bjelice je svjetla, ružičaste boje poput boje mesa, dok je kod zlatice izrazito tamna gotovo crna. U kune zlatice je izrazit obrazni dio glave, pri čemu je lice izduljeno pa glava izgleda zašiljena, duža i uža. Nasuprot tome glava kune bjelice je kraća te izgleda šira i zdepastija. Na temelju ovoga oblika glave javljaju se i ostale značajke. Tako je oblik otvora nosne šupljine na ogoljenoj lubanji zlatice je ovalan dok je u bjelice okrugao, oblik i razmak uški u bjelice je veći, a uške su kraće i šire sa zaobljenijim vrhovima. Pored toga, u razlikovanju vrsta se koristi i usporedba oblika trećeg pretkutnjaka i prvog kutnjaka gornje vilice. Naime u bjelice je pretkutnjak s vidljive, vanjske strane zaobljen, dok je kutnjak udubljen. U kune zlatice je suprotno tome treći pretkutnjak je udubljen dok je kutnjak malo zaobljen ili ravan. Nadalje, u kune zlatice stopala, prsti, prostor između njih i jastučići prstiju izrazito su obrasli dlakom. U kune bjelice je dlakavost slabije izražena. Kuna zlatica ima tamnije krzno, odnosno tamnosmeđe sa svjetlijom dlakom na truhu. Njeno krzno je gušće i bogatije dlakom koja je svilenkasta i meka, što ga čini vrlo cijenjenim. U kune bjelice nijansa dlake je drukčija, odnosno sivosmeđa pa njeno krzno općenito izgleda svjetlije.

Konačno, razlike postoje i prema mjestu ulova ili nalaza kune. Tako, ukoliko je ono u blizini ljudskog naselja, u priobalju ili na otoku može se pretpostaviti da se radi o kuni bjelici. Kune zlatice uglavnom borave u šumama. Nalaz jednog izmeta dublje u šumi na istaknutom mjestu poput panja ili mravinjaka upućuje na kunu zlaticu. Obratno nalaz hrpice izmeta uz naselje, zgrade ili ograde upućuje na kunu bjelicu.

#### 4.3. *Određivanje dobi*

Za potrebe određivanja dobi rezana je donja čeljust kuna u području pretkutnjaka. Čeljusti s zubima rezane su na dijamantnoj rezalici. Isječak debljine približno 0,5 µm promatran je pod lupom. Brojanjem prstenova u sloju zubnoga cementa utvrđena je dob predmetnih kuna. Dodatno, zbog smanjenja grupa pri statističkoj analizi rezultata kune su razvrstane u dvije dobne skupine mlade jedinke u dobi do jedne godine života i odrasle jedinke s navršenom jednom godinom života.

#### 4.4. *Pretraga na protutijela na bakteriju *Leptospira* spp.*

Uzorak krvi pretražen je na protutijela na bakterije *Leptospira* spp. metodom mikroskopske aglutinacije (MAT). Metoda MAT je referentna serološka metoda za dijagnosticiranje leptospiroze kojom se utvrđuje prisutnost protutijela na leptospire u pretraživanom serumu. Prilikom reakcije antigena i protutijela (IgM i/ili IgG) dolazi do tvorbe netopivih kompleksa-aglutinata, što se može izvesti i očitati u jažicama za mikrotitraciju. Rezultat pretrage očitava se mikroskopom s tamnim poljem u kojem je aglutinacija najvidljivija.

Za provedbu MAT-a potreban je živi antigen odnosno živa kultura leptospira i ispitujući serum. Leptospire se za ovaj test uzgajaju u tekućem mediju od 7 do 10 dana na temperaturi od 20 °C do 30 °C kroz razdoblje do 4 dana. Gustoća leptospira određuje se brojačem stanica i optimalna je  $2 \times 10^8$  leptospira po mililitru. Titar 1:100 ili veći smatra se pozitivnim.

S obzirom na serološku raznolikost bakterija iz roda *Leptospira* prilikom izvođenja testa koristi se takozvani panel antigena. Paneli antigena sastavljeni su od referentnih serovara čija se prisutnost na području Republike Hrvatske potvrdila dosadašnjim epidemiološkim i epizootiološkim analizama. Panel antigena prilagođen je pojedinoj vrsti životinje, a njegov je odabir izuzetno bitan zbog nedostatka unakrižne reaktivnosti između seroloških skupina leptospira koji se pojavljuju prilikom izvođenja mikroskopske aglutinacije.

**Tablica 3.** Panel antigena koji se koristi za pretraživanje seruma ostalih vrsta životinja

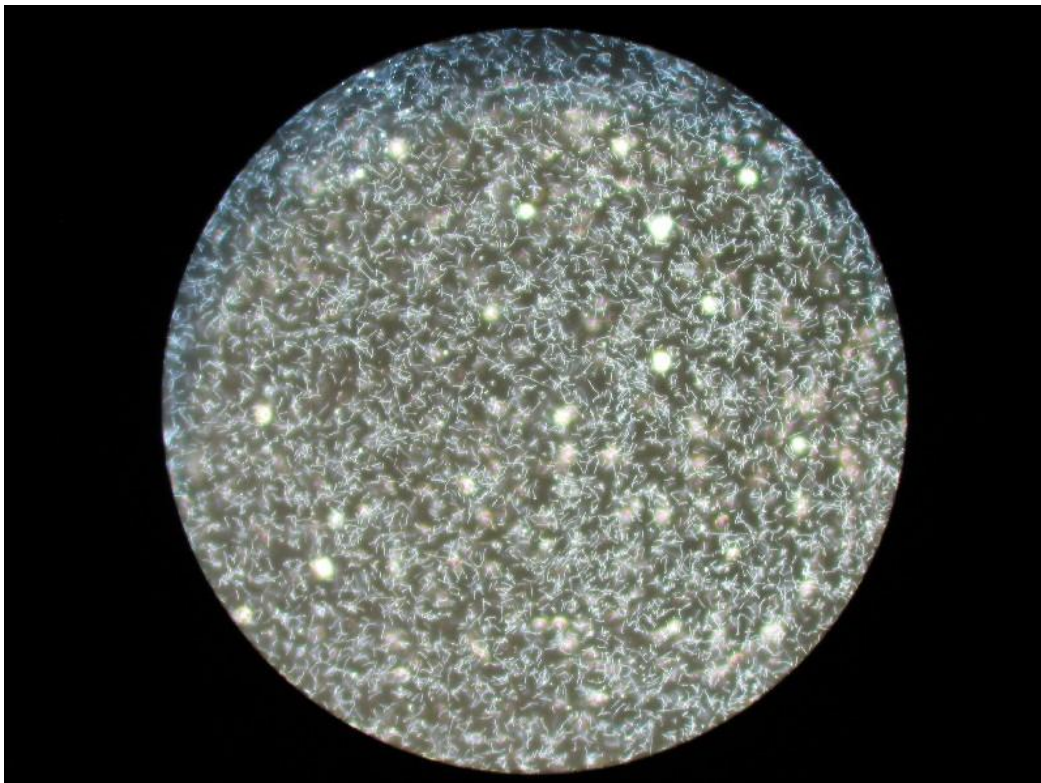
Rb.	Serološka skupina	Serovar	Soj	Genomska vrsta
1	Grippotyphosa	Grippotyphosa	Moskva V	<i>L. kirschneri</i>
2	Sejroe	Sejroe	M 84	<i>L. borgpetersenii</i>
3	Australis	Bratislava	Jež Bratislava	<i>L. interrogans</i>
4	Pomona	Pomona	Pomona	<i>L. interrogans</i>
5	Canicola	Canicola	Hond Utrecht IV	<i>L. interrogans</i>
6	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	RGA	<i>L. interrogans</i>
7	Tarassovi	Tarassovi	Perepelitsin	<i>L. borgpetersenii</i>
8	Sejroe	Saxkoebing	Mus 24	<i>L. interrogans</i>
9	Ballum	Ballum	Mus 127	<i>L. borgpetersenii</i>
10	Bataviae	Bataviae	Swart	<i>L. interrogans</i>
11	Javanica	Poi	Poi	<i>L. borgpetersenii</i>
12	Sejroe	Hardjo	Hardjobovis	<i>L. interrogans</i>



**Slika 5.** Mikrotitracijske plitice u kojima se izvodi mikroskopska aglutinacija

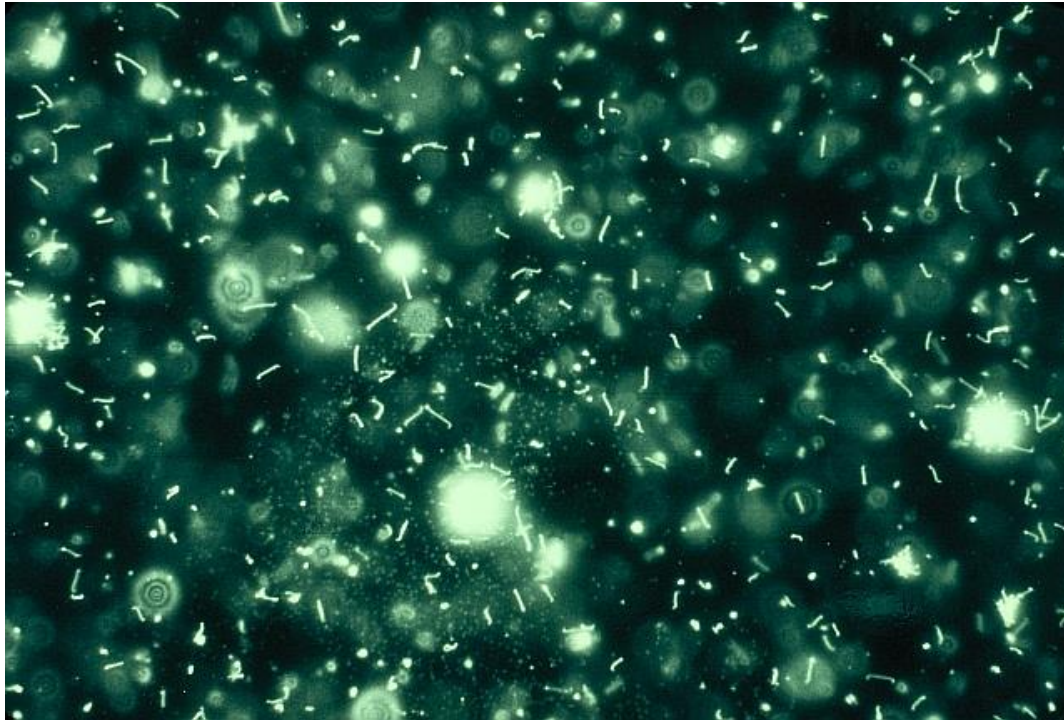
Metoda mikroskopske aglutinacije je kvalitativni i kvantitativni postupak jer se njime istodobno određuje prisutnost i količina (titar) protutijela. U kvalitativnom dijelu pretrage utvrđuje se da li u osnovnom razrjeđenju pretraživanog seruma postoje protutijela za određeni serovar

leptospira. U slučaju pozitivnog rezultata pretrage pristupa se izradi kvantitativne MAT kojim se određuje količinu protutijela – titar. Prilikom izvođenja kvantitativnog dijela pretrage rade se dvostruka serijska razrjeđenja seruma za serovarove koji su polučili pozitivan rezultat u kvalitativnom dijelu reakcije. Pozitivna reakcija određuje se procjenjivanjem broja slobodno plivajućih živih leptospira u odnosu na negativnu kontrolu. Svaki serum u kojem je aglutiniralo najmanje 50% leptospira (uspoređujući s kontrolom antigena) smatra se pozitivnim. Aglutinirane leptospire formiraju veće ili manje nakupine (aglutinati) u kojima je vidljivo gibanje slobodnih krajeva leptospira. Kada je aglutinacija potpuna u vidnom polju se ne vide niti slobodne niti aglutinirane leptospire, odnosno polje je „prazno“.



**Slika 6.** Negativna reakcija





**Slika 7.** Pozitivna reakcija.

Mikroskopskom aglutinacijom mogu se utvrditi protutijela protiv leptospira koja se u serumu javljaju 5 do 10 dana nakon početka bolesti.

#### *4.5. Pretraga na virus štenećaka*

Uzorci mozga, jetre i slezene pretraženi su na virus štenećaka metodom lančane reakcije polimeraze prema CASTILHO i sur. (2007.). Za izdvajanje RNA iz 51 uzorka homogeniziranog tkiva slezene koristio se RNA Rneasy Midi Kit (Qiagen, Hilden, Njemačka) prema uputama proizvođača. Kao pozitivna kontrola primijenjena je RNA iz 10  $\mu$ L rekonstituirane vakcine Vanguard 5 (Pfizer, New York, SAD). Uspješnost izolacije provjerena je elektroforezom u 1% gelu agaroze, a koncentracija izolirane RNA apsorbancijom pri valnoj duljini od 260 nm prema prethodno

opisanom protokolu. Neposredno nakon izolacije, RNA se koristi kao supstrat za reverznu transkripciju M-MuLV reverznom transkriptazom (Fermentas, Burlington, Kanada). Reakcijska smjesa ukupnog volumena 20  $\mu$ L sadrži: 5  $\mu$ L izolirane RNA (oko 500 ng),

Volumen od 5 $\mu$ l ekstrahirane RNA dodano je reverznoj-transkriptazi (C-DNA sinteza), mješavini koja sadrži 1x First Strand Buffer, 40U RNaseOUT, 1.3Mm svake Dntp, 50pmols svakog primera, 8.5 mM DTT, 200U Superscript II reverzne transkriptaze i RNaze/DNAze te slobodne vode do volumena od 47 $\mu$ l te je izloženo temperaturi od 42°C kroz 60 min.

Za PCR amplifikaciju, 10 $\mu$ l cDNA dodano je mješavini koja sadrži 1 x PCR Buffer, 50pmols svakog primera, 0.2Mm Dntp, 2.4 Mm Mg Cl<sub>2</sub>, 2.5 U/ $\mu$ l Taq DNA polimeraze i RNaze/DNAze slobodne vode do ukupnog volumena od 102  $\mu$ l te izloženo inicijalnoj denaturaciji na 94°C kroz 5 minuta nakon koje su uslijedila 35 ciklusa na 94°C na 45s, 48°C na 45s i 72°C na 90s, i završni ciklus za ekstenziju na 72°C kroz 10min. PCR produkti analizirani su elektroforezom na 1% agarozu gelu obojanom etidium bromidom.

Amplificirani fragmenti DNA pročišćeni su s GFX PCR DNA i Gel Band Purification Kit-om i podvrgnuti dvosmjernom sekvencioniranju upotrebom DYEnamic ET Dye Terminator – om prema uputama proizvođača; sekvence su određene pomoću MegaBACE DNA.

Završna sekvenca svakog uzorka od 447 bp analizirana je pomoću CLUSTAL/W metode s Bioedit programom (HALL, 1999) s homolognim sekvencama dobivenim iz GenBank.

#### 4.6. Analiza okolišnih čimbenika

U ovom istraživanju promatrani su okolišni čimbenici koji mogu imati utjecaj na pojavu leptospiroze u prirodi. Tako je pojava pojedinih serovarova leptorpira analizirana u odnosu na količinu padalina, temperaturu i prisutnost šumskih vrsta koje daju urod teškog šumskog sjemena (žir, bukvice). Nadmorska visina nije zasebno analizirana jer se ne razlikuje značajnije između dvije analizirane županije. Uvažavajući činjenicu da podaci o klimatskim značajkama ovise o broju i rasporedu meteoroloških postaja s ciljem smanjenja potencijalne pogreške korišteni su standardizirani oborinski indeks i temperaturni percentili.

##### *Standardizirani oborinski indeks*

Standardizirani oborinski indeks (SPI) temelji se na normaliziranoj gama-distribuciji oborina. Podatci za ove vrijednosti preuzeti su sa stranice Državnog hidrometeorološkog zavoda (DHMZ), za postaje Bjelovar i Zagreb. Promatrano je razdoblje od mjeseca listopada do mjeseca siječnja za 2019., 2020. i siječanj 2021. godine. Sam SPI predstavlja broj standardnih devijacija u odnosu na medijan te time ukazuje na odstupanje oborina od medijana za iznose standardne devijacije. Prema DHMZ za izračun SPI korištene su količine oborina iz klimatološkog razdoblja od 1981. do 2010., te iz aktualnog mjeseca i prethodna 23 mjeseca. Razdiobi čestina oborine na mjesečnoj ili višemjesečnoj skali prilagođena je gama funkcija gustoće vjerojatnosti primjenom metode maksimalne vjerodostojnosti za određivanje parametara razdiobe  $\alpha$  i  $\beta$ . Time je određena kumulativna funkcija vjerojatnosti razdiobe količina oborine koja se potom transformira u normalnu razdiobu sa srednjakom nula i standardnom devijacijom jedan (Izvor DHMZ, [https://meteo.hr/klima.php?section=klima\\_pracenje&param=spi&el=prspi](https://meteo.hr/klima.php?section=klima_pracenje&param=spi&el=prspi)). Primjenom SPI moguće je promatrati oborine kroz dulje vremensko razdoblje i primijeniti ih na različite vremenske ljestvice. Pozitivna vrijednost SPI upućuje na veće količine oborina u odnosu na

srednju višegodišnju vrijednost, a negativna na manje. Indeks standardiziranih oborina ima određene granične vrijednosti što omogućava usporedbu između različitih područja.

### *Analiza temperature*

Temperaturni percentili predstavljaju postotnu procjenu vjerojatnosti da odgovarajuća vrijednost anomalije u promatranom razdoblju nije bila narušena. Primjerice, percentil 75 kazuje da u 75% slučajeva prethodnih godina odgovarajuća vrijednost nije prekoračena, odnosno da se u stogodišnjem razdoblju može očekivati 25 godina u kojima će ova vrijednost biti nadmašena. Pomoću percentila se može procijeniti povratni period  $T$  u godinama iz slijedeće jednadžbe:

$$T = 100/P \text{ ako je } P < 50, \quad \text{odnosno } T = 100/100 - P \text{ ako je } P > 50$$

Iz primjera, ukoliko je  $P = 2\%$ , a  $T = 50$  godina, vjerojatnost da će se ta temperatura pojaviti u 100 godina je 2, odnosno 1 u 50 godina. Percentilne ocjene jedine daju točan smještaj pojedinog razdoblja u odnosu na dugogodišnje vrijednosti.

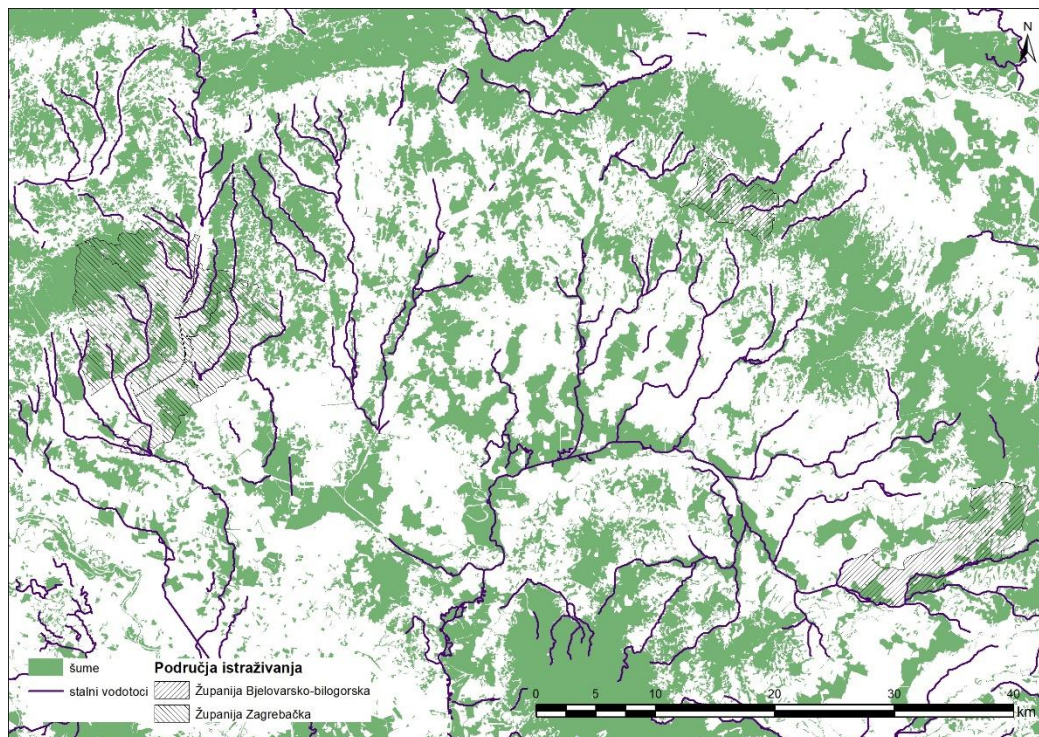
Ocjena je provedena primjenom modificirane metode po Conrad-Chapmanu koja na temelju tridesetogodišnjeg niza (1961. – 1990.) daje slijedeće razvrstavanje:

ekstremno hladno <2  
vrlo hladno 2-9  
hladno 9-25  
normalno 25-75  
toplo 75-91  
vrlo toplo 91-98  
ekstremno toplo >98

Podaci su preuzeti sa stranice Državnog hidrometeorološkog zavoda, za meteorološke postaje Zagreb-Maksimir i Bjelovar.

## Analiza staništa

Analiza staništa provedena je u programu ArcGIS na temelju podataka portala <http://gis.hrsume.hr/hrsume/wms> i <http://www.bioportal.hr/gis/>. S ovih portala dobiveni su podaci o udjelu šuma općenito, kao i o udjelu sastojina koje daju urod takozvanog teškog šumskog sjemena (hrast *Quercus* spp. i bukva *Fagus sylvatica*). Također su dobiveni i podaci o udjelu panjača, odnosno degradiranih šumskih sastojina. Pored navedenoga, određen je i udio naselja te gustoća vodotokova u površini pojedine županije.



**Slika 8.** Šume i stalni vodotoci na području Zagrebačke i Bjelovarsko-bilogorske županije.

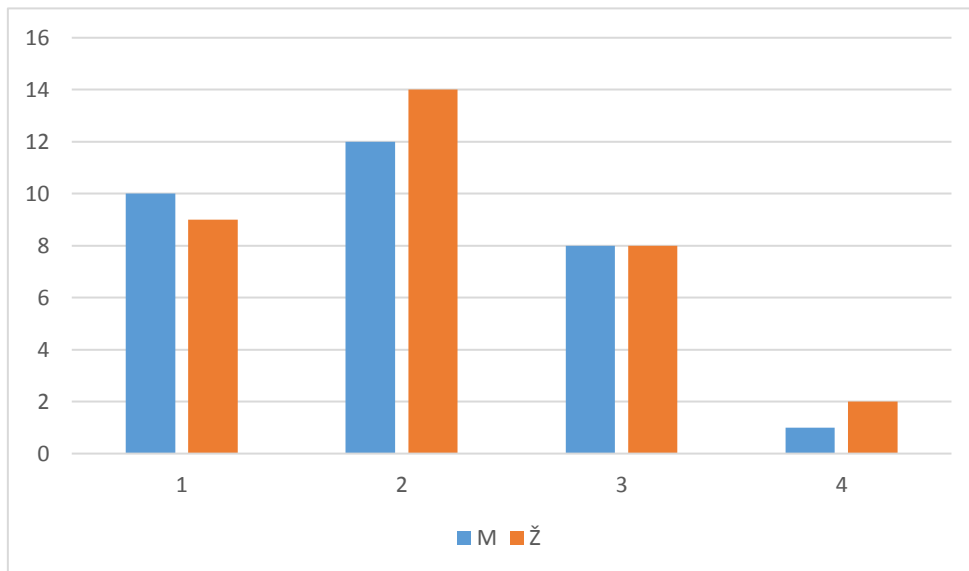
### 4.7. Statističke analize

Prikupljeni podaci obradit će se deskriptivnim statističkim metodama i regresijskom analizom u programu SPSS, a omjer vjerojatnosti u programu MedCalc. Za testiranje

značajnosti razlika korišten je  $\chi^2$  test uz korekciju pomoću Phi koeficijenta. Dodatno, razlike u učestalosti titra 1:100 ili više za pojedine serovarove između spolova su ispitane Fisher-ovim egzaktnim testom,  $\chi^2$  testom te McNemar  $\chi^2$  testom. Granična vrijednost  $\chi^2$  uz jedan stupanj slobode na razini značajnosti od 5% iznosi 3,842. Ovisnost varijabli staništa, standardiziranog onborinskog indeksa i temperaturnih percentila prema infekciji pojedinim serovarom analizirana je pomoću logističke regresije.

## 5. REZULTATI

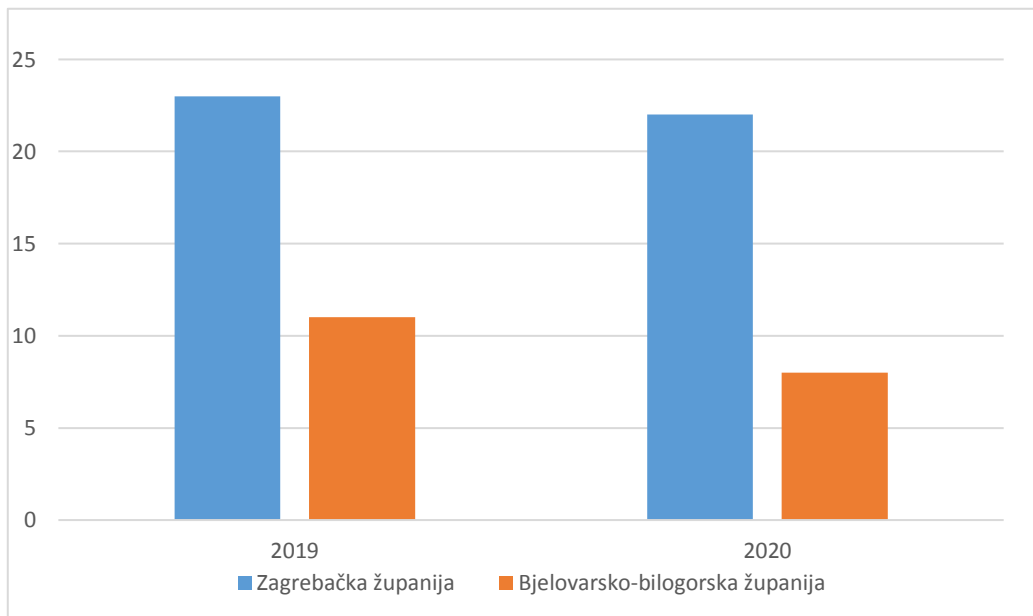
Uzorak za analizu sastojao se od 64 jedinke, 32 muškarca i 32 ženke u dobi od jedne do četiri godine.



**Grafikon 1.** Raspodjela uzorkovanih jedinki prema spolu i dobi.

Iz Grafikona 1. vidljivo je da su jedinke u dobi od dvije godine činile glavninu uzorka. Kao što je i očekivano s obzirom na prosječnu životnu dob kuna u divljini, najmanji udio predstavljale su jedinke u dobi od 4 godine, što je ujedno predstavljalo i krajnju utvrđenu dob u ovom istraživanju.

U Grafikonu 2. prikazana je raspodjela uzoraka prema lokaciji (Zagrebačka ili Bjelovarsko-bilogorska županija) i godini prikupljanja (2019. ili 2020.). Pri tome je važno napomenuti kako sezona uzorkovanja ne obuhvaća čitavu godinu, već se za 2019. odnosi samo na razdoblje od listopada 2019. do kraja siječnja 2020., a za 2020. od listopada 2020. do kraja siječnja 2021. U tom je razdoblju naime moguća uobičajena provedba odstrjela grabežljivaca, uključivo i kuna.



**Grafikon 2.** Raspodjela uzoraka prema lokaciji i godini prikupljanja.

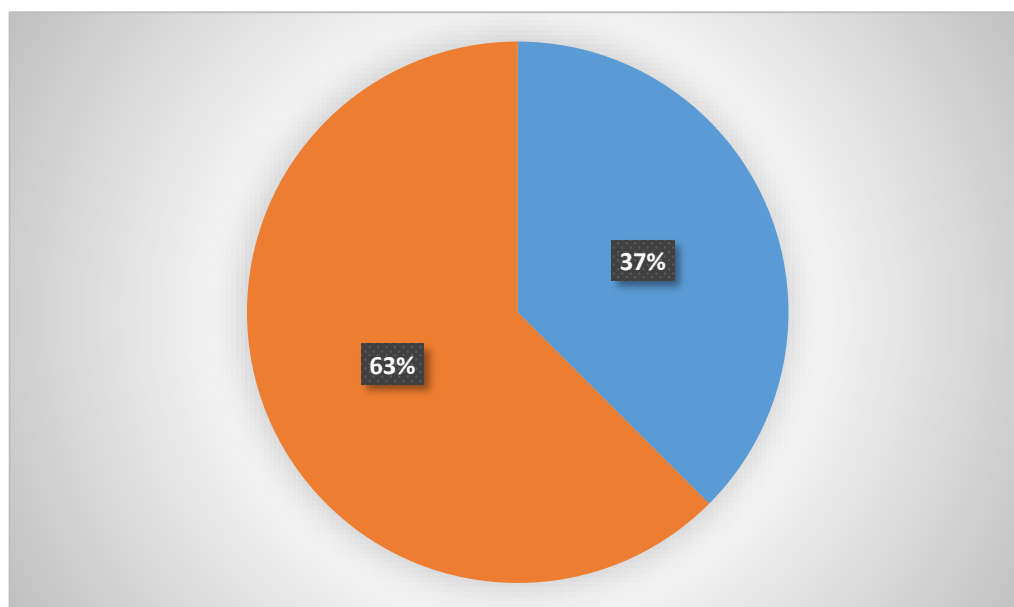
U analiziranim uzorcima krvi kuna bjelica utvrđena je prisutnost protutijela na 8 serovarova leptospira: Australis, Bratislava, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae, Poi, Pomona, Saxkoebing i Sejroe. Među pozitivnim jedinkama najučestalije su utvrđena protutijela na serovar Australis (17%) i serovar Bratislava (17%). Za njima slijede serovar Icterohaemorrhagiae (14%), te Pomona i Saxkoebing (9%), zatim Sejroe (6%), a u najmanjoj mjeri prisutni su Poi (3%) i Hebdomadis (2%). U Tablici 4. prikazana je učestalost protutijela za pojedine serovarove u titru 1:100 ili većem.



**Tablica 4.** Frekvencija prisutnosti protutijela za pojedine serovarove u titru 1:100 ili većem

Serovar	Broj uzoraka u kojima je utvrđen titar 1:100 ili veći	Postotak pozitivnih uzoraka
Australis	11	17%
Bratislava	11	17%
Icterohaemorrhagiae	9	14%
Pomona	6	9%
Saxkoebing	6	9%
Sejroe	4	6%
Poi	2	3%
Hebdomadis	1	2%

Od 64 jedinke, u njih 24 (37,5%) utvrđena su protutijela protiv jednog ili više serovarova leptospira, dok je 40 njih (62,5%) bilo negativno.



**Grafikon 3.** Udio pozitivnih (plava boja) i negativnih jedinki (narančasta boja) u cjelokupnom uzorku.

Usporedbom prema serovaru omjer izgleda (OR) govori da je 1,27 puta veća vjerojatnost da će se u kunama utvrditi protutijela na serovar Australis ili Bratislava negoli na serovar Icterohaemorrhagiae. Relativni rizik (RR) za pojavu serovara Australis ili Bratislava iznosi 1,22, dok je isti za serovar Icterohaemorrhagiae 0,58. Vjerojatnost da će se utvrditi

serovar Australis u odnosu na serovar Icterohaemorrhagiae iznosi OR = 1,51. RR za serovar Icterohaemorrhagiae iznosi 0,74.

### Usporedba prema spolu

Prema provedenim pretragama, s jednim ili s više serovarova leptospira inficirano je 12 mušjaka (37,5%) i 10 ženki (31,3%) kune bjelice.

Kako bi se utvrdilo da li je razlika u prisutnosti protutijela među spolovima statistički značajna, proveden je hi-kvadrat test na razini signifikantnosti od 5% ( $p < 0,05$ ) i izračunat je *Phi* koeficijent asocijacije za spol i infekciju bilo kojim serovarom leptospire. Hi-kvadrat testom nije utvrđena statistički značajna razlika u inficiranosti s obzirom na spol ( $p = 0,598$ ). Rezultati analize prikazani su u Tablici 5.

**Tablica 5.** Rezultati hi-kvadrat testa usporedbe spola i pozitivnog nalaza MAT

	Hi-kvadrat	Stupnjevi slobode (df)	Koef. asocijacije <i>Phi</i>	Signifikantnost (p)
Inficiranost	0,277	1	0,125	0,598

Jednak broj muških i ženskih jedinki inficiran je serovarom Pomona, Saxkoebing, Sejroe i Poi.

Serovarima Australis i Bratislava zaraženo je nešto više muških nego ženskih jedinki pa je tako serovarom Australis zaraženo 18,8% muških i 15,6% ženskih, a serovarom Bratislava 21,8% muških i 12,5% ženskih. Serovar Hebdomadis prisutan je u višem titru (1:1600) samo kod jedne muške jedinice (Tablica 6.).

Relativni rizik od infekcije nešto je viši u mušjaka i iznosi 1,2, dok je u ženki 0,76. OR za infekciju mušjaka u odnosu na ženke iznosi 1,32.

**Tablica 6.** Udio pozitivnih nalaza za pojedini serovar s obzirom na spol jedinke

	Učestalost infekcije pojedinim serovarem s obzirom na spol jedinke							
	Aust.	Brat.	Ict.	Pom.	Saxkoe.	Sejr.	Poi	HB
<b>M</b>	<b>19%</b>	<b>22%</b>	13%	9%	9%	6%	3%	3%
<b>Ž</b>	<b>16%</b>	<b>16%</b>	16%	9%	9%	6%	3%	0%
<b>Ukupno inficiranih</b>	<b>11</b>	<b>10</b>	<b>9</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>4</b>	<b>2</b>	<b>1</b>

Kako bi se utvrdilo da li je razlika u broju muških i ženskih jedinki u kojih je utvrđen titar protutijela za serovare Australis i Bratislava 1:100 ili viši, statistički značajna, proveden je hi-kvadrat test na razini signifikantnosti od 5% ( $p < 0,05$ ) te je izračunat *Phi* koeficijent asocijacije. Analizom nije utvrđena statistički znakovita razlika u inficiranosti serovarima Australis ( $p=0,784$ ) i Bratislava ( $p=0,320$ ) s obzirom na spol niti statistički znakovita asocijacija između spola i inficiranosti navedenim serovarima. Rezultati analize prikazani su u Tablici 7.

**Tablica 7.** Rezultati hi-kvadrat testa za odnos spola i protutijelna na serovare Australis i Bratislava

	Hi-kvadrat	Stupnjevi slobode (df)	Koef. asocijacije <i>Phi</i>	Signifikantnost (p)
Australis	0,109	1	0,03	0,740
Bratislava	1,641	1	0,12	0,200

## Usporedba prema dobi

Pozitivan nalaz pretrage na protutijela prema dobi prikazan je u Tablici 8.

**Tablica 8.** Udio pozitivnih nalaza prema dobi kuna.

Dob (godine)	Broj pozitivnih jedinki	Postotak pozitivnih jedinki
1	5	26%
2	8	31%
3	9	38%
4	1	33%
<b>Ukupno</b>	<b>34</b>	<b>100%</b>

Kako bi se utvrdilo da li je razlika u inficiranosti leptospirom s obzirom na dob statistički znakovita, proveden je hi-kvadrat test na razini značajnosti od 5% ( $p < 0,05$ ) i izračunat koeficijent kontingencije za dob i infekciju bilo kojim serovarom leptospire. Hi-kvadrat testom nije utvrđena statistički značajna razlika u inficiranosti s obzirom na dob. Mantel-Haenszelov test trenda također nije dao statistički znakovit rezultat iako postoji određeni porast broja pozitivnih jedinki prema dobnim skupinama. Hi-kvadrat test iznosi 3,924, dok je  $p=0.268$ .

**Tablica 9.** Rezultati hi-kvadrat testa za dob i inficiranost leptospirom

	pozitivni	negativni	Ukupno
1. godina	5 (6.83) [0.49]	14 (12.17) [0.27]	19
2. godine	8 (9.34) [0.19]	18 (16.66) [0.11]	26
3. godine	9 (5.75) [1.84]	7 (10.25) [1.03]	16
4. godine	1 (1.08) [0.01]	2 (1.92) [0.00]	3
<b>Ukupno</b>	<b>23</b>	<b>41</b>	<b>64</b>

S obzirom na malu prisutnost pojedinih serovara u analiziranim uzorcima, proveden je hi-kvadrat test razlike u inficiranosti trima najzastupljenijim serovarima – Australis, Bratislava i Icterohaemorrhagiae – s obzirom na dob jedinki. Udio infekcije ovim serovarima prema dobi jedinki prikazan je u Tablici 10.

**Tablica 10.** Udio infekcije pojedinim serovarom s obzirom na dob jedinke

Dob	Učestalost pozitivnih nalaza na pojedini serovar s obzirom na dob jedinke		
	Australis	Bratislava	Icterohaemorrhagiae
1	26%	16%	0%
2	15%	15%	23%
3	19%	19%	19%
4	0%	0%	0%
<b>Ukupno inficiranih</b>	<b>19</b>	<b>11</b>	<b>14</b>

Kako bi se utvrdio je li razlika u broju jedinki inficiranih serovarima Australis, Bratislava i Icterohaemorrhagiae s obzirom na dob statistički znakovita, proveden je hi-kvadrat test na razini značajnosti od 5% ( $p < 0,05$ ) te je izračunat koeficijent kontingencije. Analizom nije utvrđena statistički znakovita razlika u inficiranosti serovarima Australis ( $p = 0,403$ ) i Bratislava ( $p = 0,823$ ) s obzirom na dob niti statistički značajna povezanost između dobi i inficiranosti navedenim serovarima. Međutim, analizom je utvrđena statistički značajna razlika u inficiranosti serovarom Icterohaemorrhagiae s obzirom na dob ( $p = 0,038$ ) te je utvrđena statistički značajna povezanost infekcije Icterohaemorrhagiaeom i dobi, izražena koeficijentom kontingencije koji iznosi **0,341** ( $p = 0,038$ ). Rezultati analize prikazani su u Tablici 11.

**Tablica 11.** Rezultati hi-kvadrat testa za dob i serovare Australis, Bratislava i Icterohaemorrhagiae

	Hi-kvadrat	Stupnjevi slobode (df)	Koef. kontingencije	Statistička znakovitost (p)
Australis	2,929	3	0,209	0,403
Bratislava	0,909	3	0,118	0,823
Icterohaemor.	8,410	3	0,341	<b>0,038</b>

Infekcija serovarom Icterohaemorrhagiae učestalija je kod jedinki u dobi između 2 i 3 godine u odnosu na mlađe i starije jedinke, a posebno je izražena kod jedinki u dobi od 2 godine.

#### Usporedba prema lokalitetu

Ukoliko se objedinjeno analiziraju podaci za oba lokaliteta (Tablica 12.) tada nema statistički znakovite razlike u frekvenciji pozitivnih mužjaka i pozitivnih ženki, neovisno o činjenici da li se radi o mladim ( $\chi^2=1,32$ ;  $p=0,251$ ) ili odraslim ( $\chi^2=0,09$ ;  $p=0,764$ ) kunama, odnosno općenito među spolovima iako je u ovoj potonjoj, objedinjenoj kategoriji razlika u frekvenciji zaraženosti relativno blizu statistički znakovitoj ( $\chi^2=3,25$ ;  $p=0,072$ ). Uzrok toj vrijednosti može biti relativno visoka frekvencija zaraženosti odraslih mužjaka u odnosu na subadultne ( $\chi^2=4,40$ ;  $p<0,05$ ). Kod ženki nije bilo razlika u zaraženosti s obzirom na dob.

**Tablica 12.** Rezultati testa ispitivanja razlika u frekvencijama zaraženosti kuna bjelica leptospirozom bez obzira na lokalitet (brojevi označeni tamnim slovima ukazuju na statistički značajnu razliku uz prag značajnosti od 5%)

KATEGORIJE	OČEKIVANE FREKVENCIJE		$\chi^2$ vrijednost	p
	POZITIVNIH GRILA			
	MUŽJACI	ŽENKE		
SUBADULTNI	30,16	23,81	1,32	0,251
ADULTNI	31,05	15,79	0,09	0,764
SVE ZAJEDNO	35,71	28,57	3,25	0,072
	SUBADULTNI	ADULTNI		
MUŽJACI	<b>13,79</b>	<b>51,72</b>	<b>4,40</b>	<b>&lt;0,05</b>
ŽENKE	9,38	37,50	0,92	0,34

Osim što između mužjaka i ženki nema statistički znakovite razlike u zaraženosti ako se jedinke promatraju neovisno o lokalitetu, nije ustanovljena niti znakovita razlika na razini svakog lokaliteta zasebno (Tablica 13. i 14.). Međutim, postoji statistički značajna razlika u frekvencijama zaraženosti u Zagrebačkoj županiji – frekvencija zaraženih odraslih mužjaka je statistički znakovito viša nego mladih ( $\chi^2=5,43$ ;  $p<0,05$ ). Budući da se ista statistički znakovita razlika javlja i među objedinjenim podacima (Tablica 12.) uzrok ovakvoj razlici je visoka frekvencija zaraženih odraslih mužjaka u Zagrebačkoj županiji.

**Tablica 13.** Rezultati testa ispitivanja razlika u frekvencijama zaraženosti kune bjelice leptospirozom na lokalitetu Zagrebačka županija (brojevi označeni tamnim slovima ukazuju na statistički znakovitu razliku uz prag značajnosti od 5 %)

KATEGORIJE	OČEKIVANE FREKVENCIJE		$\chi^2$ vrijednost	p
	POZITIVNIH GRILA			
	MUŽJACI	ŽENKE		
SUBADULTNI	20,00	20,00	0,04	0,833
ADULTNI	40,00	30,00	3,09	0,079
SVE ZAJEDNO	33,33	26,67	1,20	0,273
	SUBADULTNI	ADULTNI		
MUŽJACI	<b>13,64</b>	<b>54,55</b>	<b>5,43</b>	<b>&lt;0,05</b>
ŽENKE	1304	39,19	0,35	0,554

**Tablica 14.** Rezultati testa ispitivanja razlika u frekvencijama zaraženosti kune bjelice leptospirozom na lokalitetu Bjelovarsko-bilogorska županija (brojevi označeni tamnim slovima ukazuju na statistički znakovitu razliku uz prag značajnosti od 5 %)

KATEGORIJE	OČEKIVANE FREKVENCIJE		$\chi^2$ vrijednost	p
	POZITIVNIH GRILA			
	MUŽJACI	ŽENKE		
SUBADULTNI	25,00	25,00	1,33	0,248
ADULTNI	21,43	21,43	0,00	1,00
SVE ZAJEDNO	22,22	16,67	0,23	0,629
	SUBADULTNI	ADULTNI		
MUŽJACI	11,11	33,33	0,03	0,858
ŽENKE	0,00	33,33	1,29	0,257



**Tablica 15.** Rezultati testa ispitivanja razlika u frekvencijama zaraženosti kune bjelice leptospirozom između lokaliteta (brojevi označeni tamnim slovima ukazuju na statistički znakovitu razliku uz prag značajnosti od 5 %)

KATEGORIJE	OČEKIVANE FREKVENCIJE		$\chi^2$ vrijednost	p
	POZITIVNIH GRILA			
	ZAGREBAČKA	BJELOVARSKO- BILOGORSKA		
SUBADULTNI - MUŽJACI	20,00	20,00	0,04	0,833
SUBADULTNI - ŽENKE	25,00	0,00	1,33	0,248
ADULTNI - MUŽJACI	40,00	30,00	3,09	0,079
ADULTNI - ŽENKE	21,43	21,43	0,00	1,00

Testovi nisu pronašli statistički znakovite razlike u frekvenciji pozitivnih grla s obzirom na spol i dob između lokaliteta (Tablica 15), čak usprkos tome što na području Bjelovarsko-bilogorske županije nije zabilježena niti jedna pozitivna subadultna ženka. Kod adultnih mužjaka, iako nije nađena statistički znakovita razlika u učestalosti pozitivnih jedinki,  $\chi^2$  vrijednost je na samom pragu statističke znakovitosti ( $\chi^2=3,09$ ;  $p=0,079$ ).

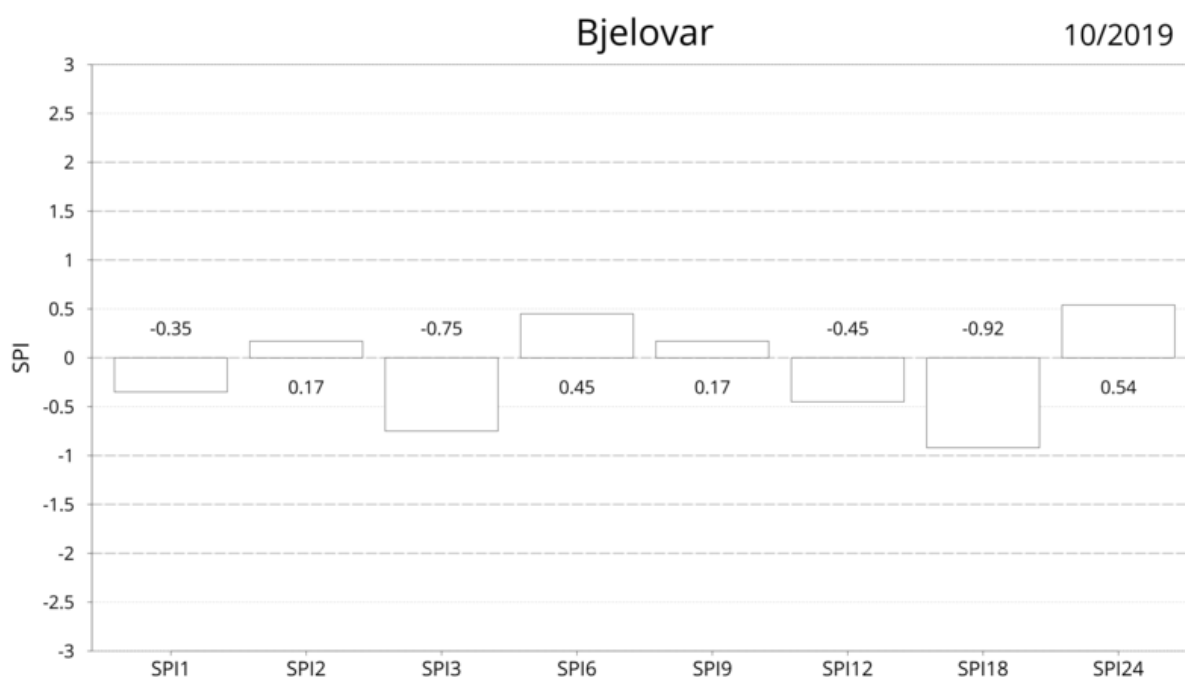
## Usporedba u odnosu na padaline i temperaturu

Analiza standardiziranog oborinskog indeksa prema mjesecima u kojima su prikupljane kune dala je slijedeće vrijednosti.

**Tablica 16.** Standardizirani oborinski indeks za mjesece uzorkovanja prema županiji (izvor DHMZ)

Mjeseci uzorkovanja	Zagrebačka županija	Bjelovarsko-bilogorska županija
10. 2019.	0,055	-0,142
11.2019.	1,051	0,82
12.2019.	1,22	0,88
1.2020.	0,522	0,556
Prosjek	0,712	0,528
10.2020.	1,445	1,001
11.2020.	0,818	-0,028
12.2020.	1,086	0,453
1.2021.	1,265	0,673
Prosjek	1,153	0,525

Prema kategorizaciji, vrijednosti SPI ukazuju na slijedeće: izrazito kišno 2,0 i više; vrlo kišno od 1,5 do 2,0; umjereno kišno od 1,0 do 1,5; normalno od -1,0 do 1,0 i umjereno sušno od -1,5 do -1,0. Prema prikazanim podacima razvidno je da je Zagrebačka županija u promatrane dvije godine u ovdje navedenom razdoblju u vrijednostima od normalnog do umjereno kišnog. Za razliku od nje, Bjelovarsko-bilogorska županija se cijelo vrijeme nalazi unutar vrijednosti normalno.



**Slika 9.** Prikaz kretanja SPI za mjesec listopad 2019. godine, podaci meteorološke postaje Bjelovar (izvor DHMZ).

Analiza temperaturnih percentila za sezone 2019. i 2020., prema promatranim županijama prikazana je u Tablici 17.

**Tablica 17.** Godišnja vrijednost percentila temperature za godine 2019. i 2020.

	<b>2019.</b>	<b>2020.</b>
<b>Zagrebačka županija</b>	87,8	76,8
<b>Bjelovarsko-bilogorska županija</b>	86,8	82,8

Iz navedenih podataka razvidno je kako se temperaturno gledano obje promatrane županije nalaze u kategoriji toplo, pri čemu je vrijednost percentila za Zagrebačku županiju u 2020. godini na donjoj granici kategorije toplo.

Rezultati stanišne analize prikazani su u Tablici 18.

**Tablica 18.** Stanišni podaci.

STANIŠNI POKAZATELJ	ZAGREBAČKA ŽUPANIJA	BJELOVARKO- BILOGORSKA ŽUPANIJA
PLOŠTINA (ha)	19 370	9 427
UDIO POVRŠINE PREKO 200 m NV (%)	23,4	20,6
NADMORSKA VISINA	106 do 574 m	109 do 216 (m)
udio šuma	28,66	33,25
udio panjača	6,38	1,12
udio sastojina teškog šumskog sjemena	22,82	25,71
udio naselja	6,08	2,53
gustoća stalnih vodotoka (km/1 000 ha)	2,45	2,36

Analiza staništa ukazuje na dva vrlo slična područja. Budući da je udio površine do 200 m nadmorske visine na oba područja preko 75 % može se reći kako se radi o nizinskim područjima (0 do 200 m.n.v., s malim udjelom brdskog staništa (200 do 800 m.n.v.). Ako se usporede stanišni podaci oba lokaliteta tada se može reći kako između oba lokaliteta nema razlike u udjelu šuma, udjelu sastojina teškog šumskog sjemena i gustoće stalnih vodotoka. Ipak, na području Zagrebačke županije je daleko viši udio šumskih sastojina panjača (degradiranih šuma) (6,38 %), u odnosu na područje Bjelovarsko-bilogorske županije (1,12 %). Također je viši i udio naselja (6,08% u odnosu na 2,53%).

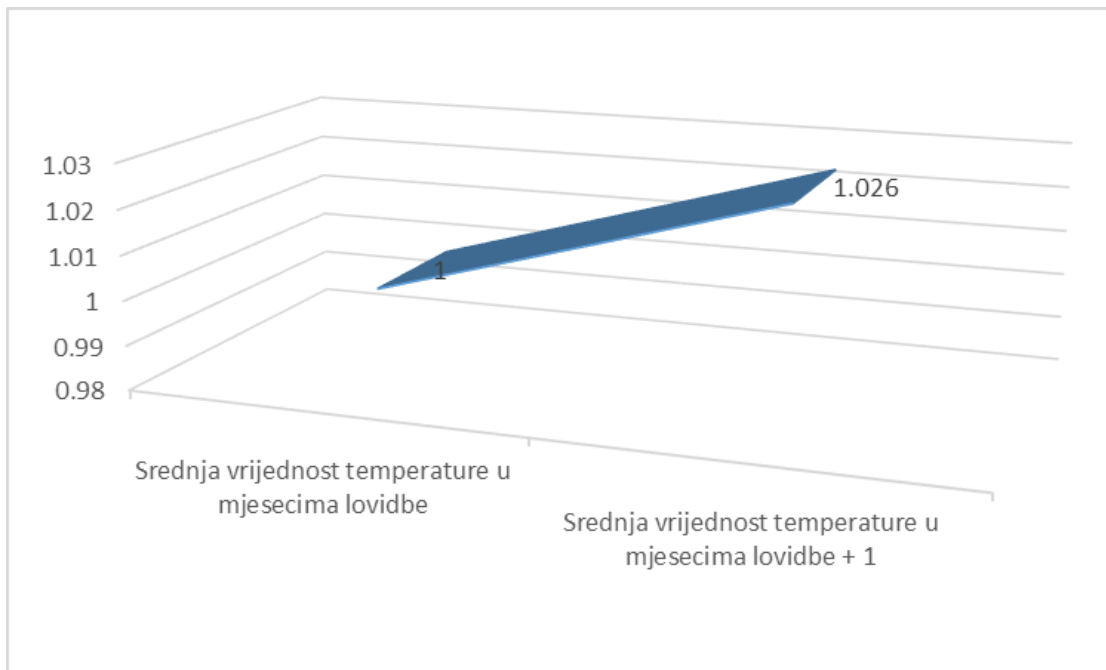
Kako bi se utvrdio utjecaj temperature i standardiziranog oborinskog indeksa na vjerojatnost nalaza pozitivnih jedinki općenito, a zatim i na vjerojatnost infekcije serovarovima Australis i Bratislava, provedena su 2 modela logističke regresije.

**Tablica 19.** Model – prisutnost infekcije nezavisno o serovaru. Predikcija se odnosi na vrijednost varijable Infekcija = 1 (DA)

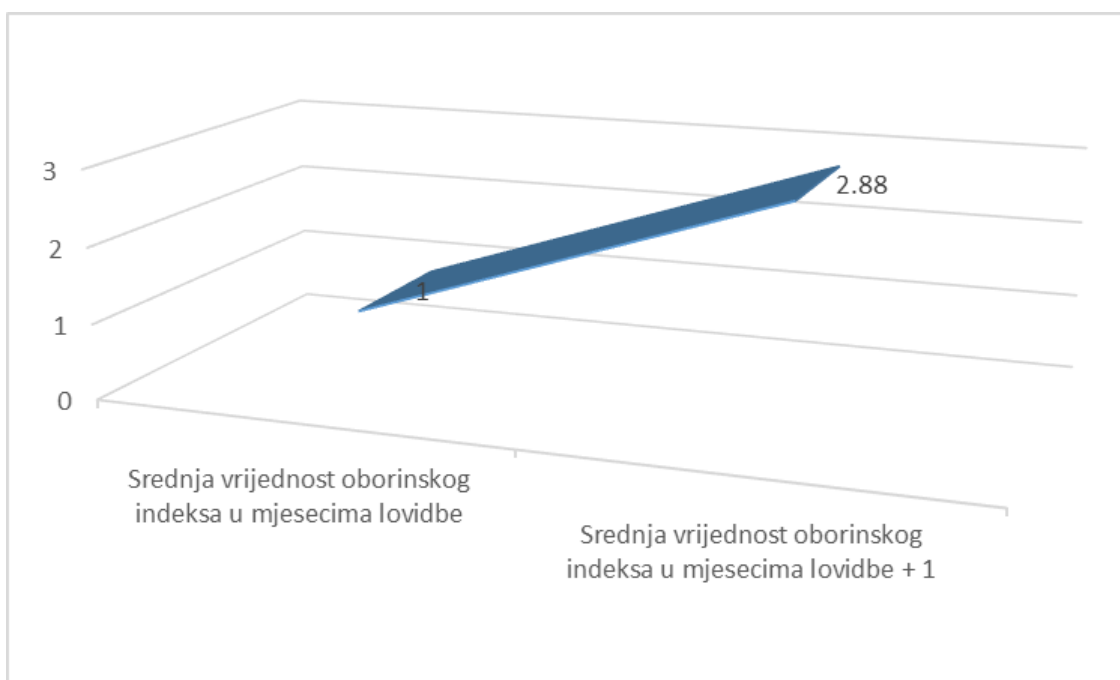
Varijable u jednadžbi		Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)	
			Lower	Upper
Step 1 <sup>a</sup>	Sr. vrijednost temperature u mjesecima lovidbe	1.026	.840	1.254
	Sr. vrijednost oborinskog indeksa u mjesecima lovidbe	2.880	.064	130.619

S obzirom na to da su nezavisne varijable kontinuirane – indeks temperature i standardizirani oborinski indeks – vjerojatnost infekcije (Exp(B)) izražena je za porast nezavisne varijable za vrijednost 1.

U slučaju porasta srednje vrijednosti temperature za 1 jedinicu indeksa, procijenjeno je da postoji 2,6% veća vjerojatnost infekcije. U slučaju porasta srednje vrijednosti oborinskog indeksa za 1, vjerojatnost od infekcije je 2,88 puta veća (288%).



**Grafikon 4.** Predviđanje porasta pozitivnih nalaza u slučaju porasta temperature okoliša.



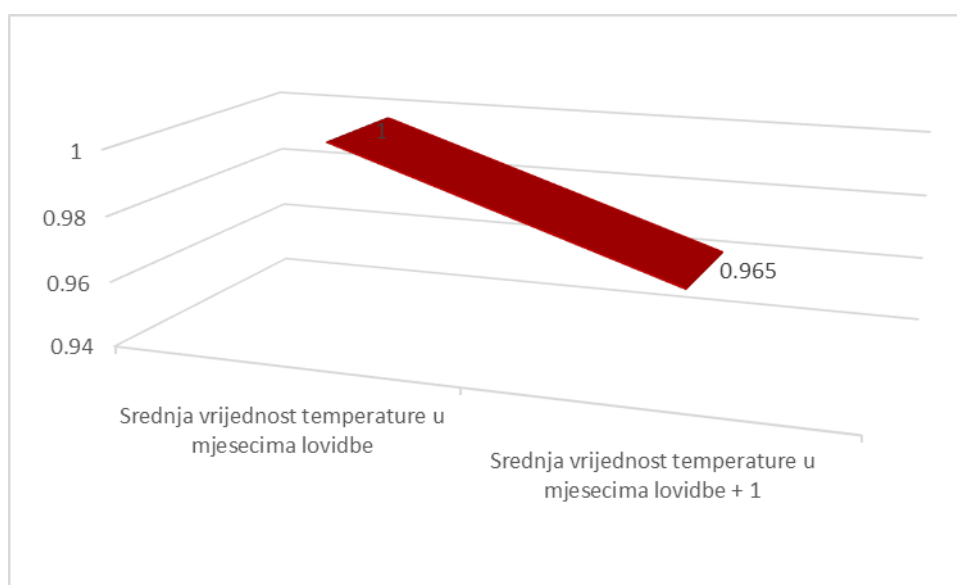
**Grafikon 5.** Predviđanje porasta broja pozitivnih nalaza u slučaju povećanja količine padalina.

Logistička regresija prema serovaru Australis i Bratislava, promatrano zasebno.

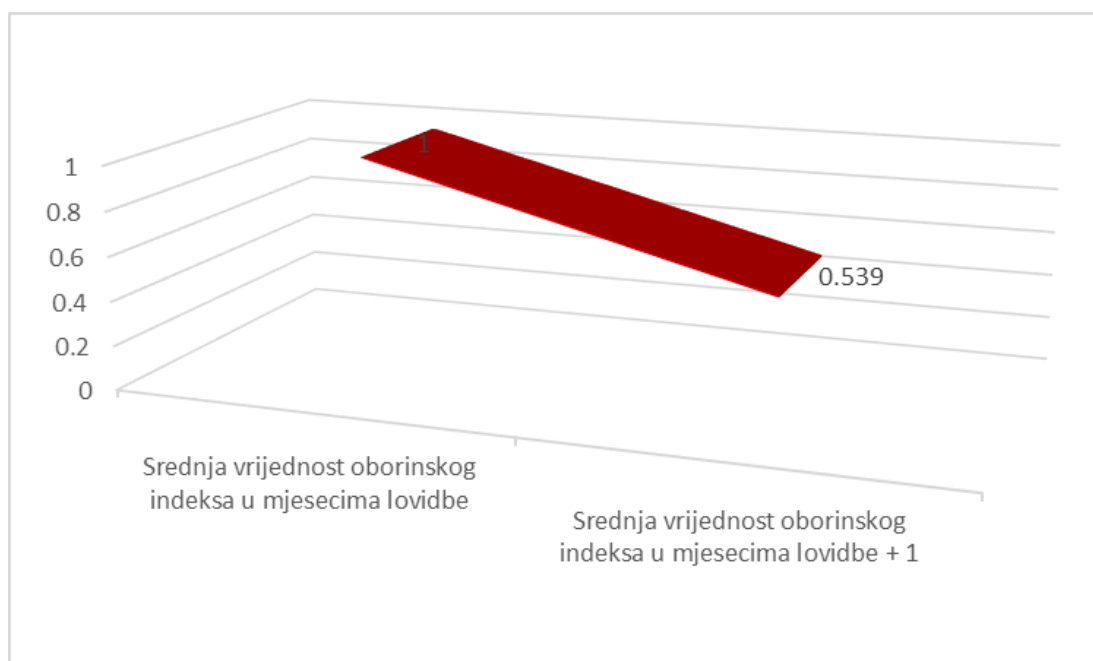
**Tablica 20.** Model – prisutnost serovara Australis. Predikcija se odnosi na vrijednost varijable Australis = 1 (DA)

Varijable u jednadžbi	Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)	
		Lower	Upper
Step 1 <sup>a</sup> Sr. vrijednost temperature u mjesecima lovidbe	0.965	.754	1.235
Sr. vrijednost oborinskog indeksa u mjesecima lovidbe	0.539	.006	50.779

Utjecaj temperature i oborine na infekciju serovarom Australis je obrnuto proporcionalan infekciji. U slučaju porasta srednje vrijednosti temperature za 1 jedinicu indeksa, procijenjeno je da postoji 3,5% manja vjerojatnost infekcije serovarom Australis. U slučaju porasta srednje vrijednosti oborinskog indeksa za 1, vjerojatnost od infekcije je serovarom Australis je 46,1% manja.



**Grafikon 6.** Predviđanje kretanja pozitivnih nalaza na serovar Australis u slučaju povišenja temperature okoliša.



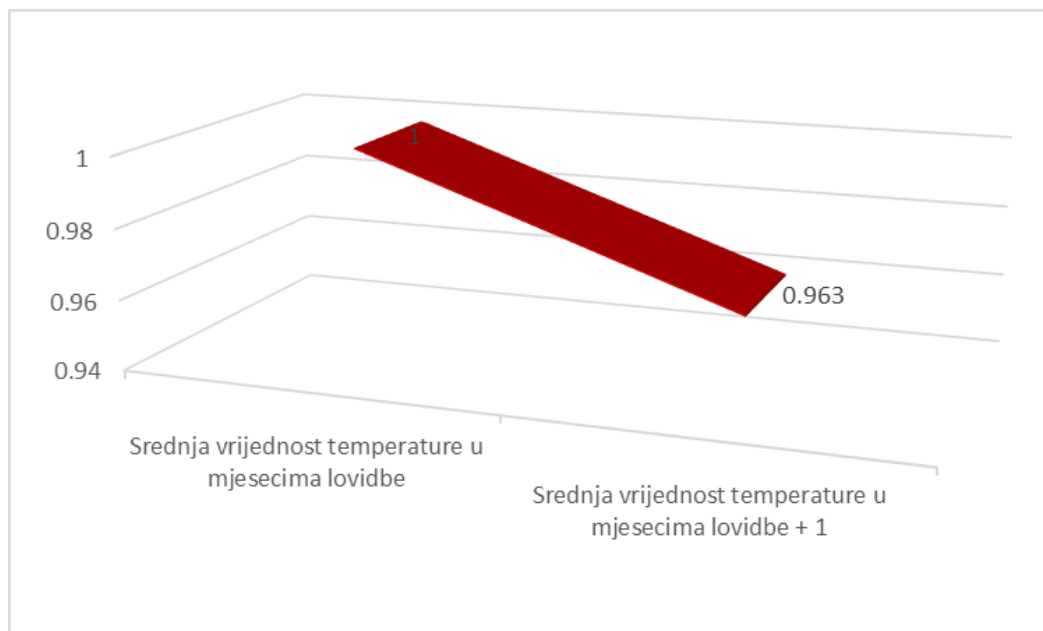
**Grafikon 7.** Predviđanje kretanja pozitivnih nalaza na serovar Australis u slučaju povećanja količine padalina.

**Tablica 21.** Model – prisutnost serovara Bratislava. Predikcija se odnosi na vrijednost varijable Bratislava = 1 (DA)

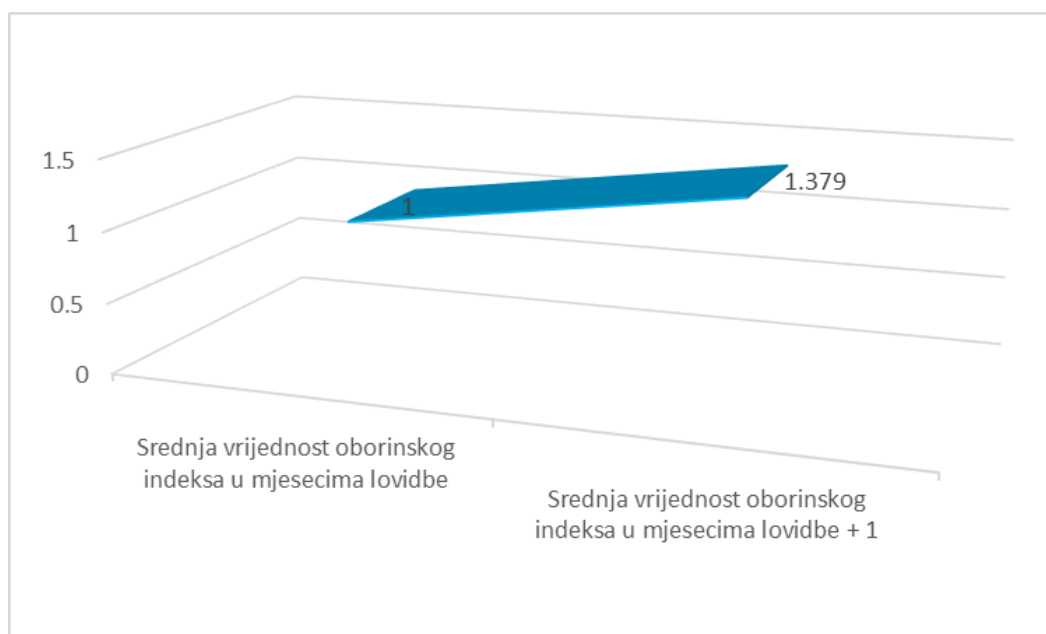
Varijable u jednadžbi		Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)	
			Lower	Upper
Step 1 <sup>a</sup>	Sr. vrijednost temperature u mjesecima lovidbe	.963	.742	1.252
	Sr. vrijednost oborinskog indeksa u mjesecima lovidbe	1.379	.010	181.712

Utjecaj temperature na infekciju serovarom Bratislava je obrnuto proporcionalan infekciji. U slučaju porasta srednje vrijednosti temperature za 1 jedinicu indeksa, procijenjeno je da postoji 3,7% manja vjerojatnost infekcije serovarom Bratislava. U slučaju porasta srednje vrijednosti oborinskog indeksa za 1, vjerojatnost od infekcije je serovarom Bratislava je 37,9% veća.





**Grafikon 8.** Predviđanje kretanja pozitivnih nalaza na serovar Bratislava u slučaju povišenja temperature okoliša.

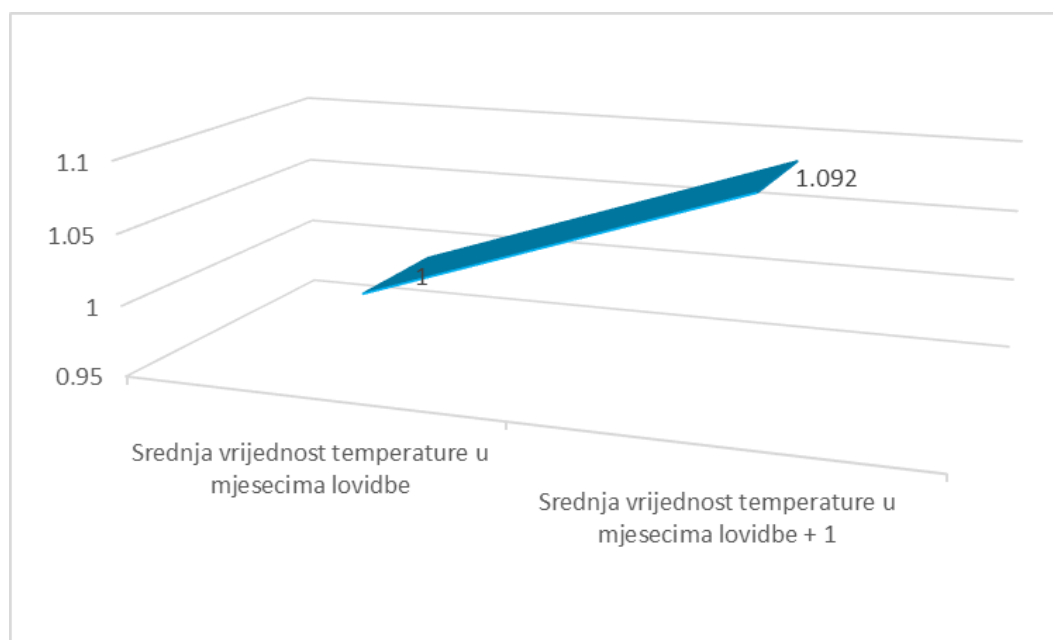


**Grafikon 9.** Predviđanje kretanja pozitivnih nalaza na serovar Bratislava u slučaju povećanja količine padalina

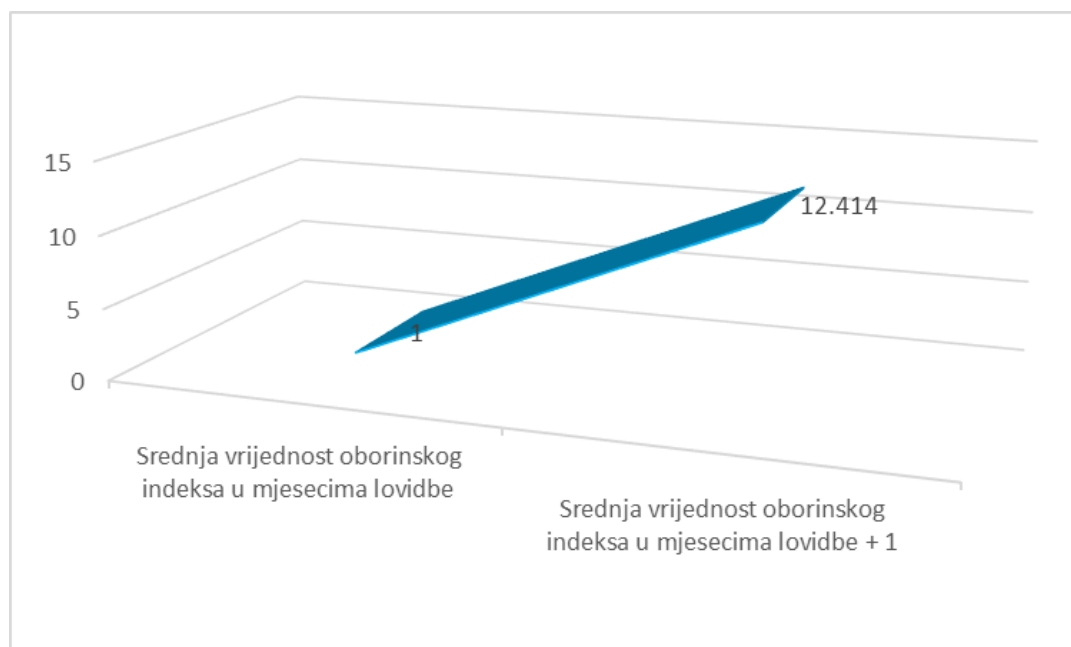
**Tablica 22.** Model – prisutnost serovara *Icterohaemorrhagiae*. Predikcija se odnosi na vrijednost varijable *Icterohaemorrhagiae* = 1 (DA)

Varijable u jednadžbi		Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)	
			Lower	Upper
Step 1 <sup>a</sup>	Sr. vrijednost temperature u mjesecima lovidbe	1.092	.802	1.487
	Sr. vrijednost oborinskog indeksa u mjesecima lovidbe	12.414	.024	6347.156

U slučaju porasta srednje vrijednosti temperature za 1 jedinicu indeksa, procijenjeno je da postoji 9,2% veća vjerojatnost infekcije serovarom *Icterohaemorrhagiae*. U slučaju porasta srednje vrijednosti oborinskog indeksa za 1, vjerojatnost od infekcije serovarom *Icterohaemorrhagiae* je 12,4 puta veća.



**Grafikon 10.** Predviđanje kretanja pozitivnih nalaza na serovar *Icterohaemorrhagiae* u slučaju povišenja temperature okoliša.



**Grafikon 11.** Predviđanje kretanja pozitivnih nalaza na serovar *Icterohaemorrhagiae* u slučaju povećanja količine padalina

Logistička regresija prema udjelu naselja, nadmorskoj visini, udjelu šumskih asocijacija s urodom teškog šumskog sjemena, udjelu panjača i gustoći vodotoka prema pozitivnom nalazu pretrage daje slabu korelaciju i nije od značaja ( $R^2=0,0104$ ,  $y=1,1176x-2.427$ ).

### **Pretraga na prisutnost virusa štenećaka**

Analizom svih prikupljenih uzoraka kuna bjelica s oba lokaliteta nije utvrđen niti jedan pozitivan nalaz na virus štenećaka.

## 6. RASPRAVA

Promatramo li divlje životinje, mišoliki glodavci su zasigurno najznačajniji rezervoari leptospira i u seoskim i u gradskim područjima (BHARTI i sur., 2003.). Činjenica da se mišoliki glodavci nalaze na jelovniku velikog broja divljih i domaćih životinja te da s njima i ljudima dijele životne prostore, neupitna je njihova uloga u održavanju i širenju leptospira. Upravo zbog toga je uloga glodavaca u održavanju i širenju leptospiroze najčešće istraživana u svjetskim, ali i hrvatskim okvirima. Ipak, sama prisutnost mišolikih glodavaca kao rezervoara ne pojašnjava nalaz različitih serovarova u ljudi i domaćih životinja, odnosno brojni autori naglašavaju kako je u studije neophodno uključiti i druge vrste.

Kako je kuna bjelica oportuni mesojed koji glavninu svoje prehrane bazira upravo na mišolikim glodavcima razumljivo je očekivanje povezanosti između leptospiroze ove vrste mesojeda i mišolikih glodavaca. Tako su u svom istraživanju MILAS i sur. (2002.) utvrdili seroprevalenciju od 4,5% u žutogrlog miša (*Apodemus flavicollis*) do 71,4% u kućnog miša (*Mus musculus*). Utvrđeni serovarovi leptospira varirali su ovisno o vrsti, a ukupno je utvrđeno 8 serovarova. Ove nalaze su nešto kasnije potvrdili i TURK i sur. (2003.) uz podatak da su umjesto dosadašnjih 8 utvrdili 11 različitih serovarova, kao i po prvi puta u Hrvatskoj serovarove Tarassovi i Lora. Također je potrebno naglasiti kako su dosadašnje epizootiološke studije na području Republike Hrvatske pokazale da postoji određeni, razmjerno visok stupanj prilagodbe među pojedinim serovarovima leptospira i pojedinim vrstama životinja (ZAHARIJA i sur., 1982; BORČIĆ i sur., 1986; MILAS i sur., 2002; TURK i sur., 2003; ŠTRITOF MAJETIĆ i sur., 2010). Dodatno, ovdje je bitno naglasiti i da su MILAS i sur. (2013.) utvrdili da mišoliki glodavci predstavljaju rezervoare serovarova Australis i Bratislava. Pored toga su analizirajući krvni serum i bubrege 59 lisica utvrdili prevalenciju serološki pozitivnih od 57,6%, te da je serovar Australis utvrđen kao serovar s najvišim titrom u čak 17 analiziranih lisica (50,0%). Na temelju dobivenih podataka MILAS i sur. (2013.) zaključuju da

se serovarovi Australis, Bratislava i Lora, iz serogrupe Australis, održavaju upravo u divljim životinjama. Ovu tvrdnju potvrđuje i podatak da je na pojedinim područjima, među ekstenzivno držanim svinjama (tradicionalno pašarenje i žirenje) najčešći serovar bio upravo Australis, kao i u pašno držanih svinja analiziranih u istraživanju MILAS i sur. (2013.), dok je u svinja koje ne idu na pašu najčešći serovar Pomona (RAČIĆ i sur., 2012.).

Leptospirozu kuna bjelica u Hrvatskoj u manjem su dijelu u svom istraživanju spomenuli SLAVICA i sur. (2007.). U okviru navedene studije je tijekom deset godina (od 1996. do 2005.), pored ostalih uzoraka više vrsta divljači, prikupljeno sedam uzoraka od kune bjelice. Analizom su utvrđena četiri pozitivna uzorka (P=57,14%). Gledano prema serovaru dokazani su po jednom serovar Australis, Pomona, Sejroe i Icterohaemorrhagiae. Iako autori s pravom zaključuju kako visoka prevalencija u kuna u ovom istraživanju nema statističku snagu, ipak zaključuju i da je dobar pokazatelj uloge kuna u održavanju i prijenosu leptospira u prirodi. Konačno, na temelju cjelokupnog istraživanja SLAVICA i sur. (2007.) zaključuju kako je serovar Australis najčešće utvrđeni serovar u divljih svinja i divljih mesojeda. U drugom istraživanju SLAVICA i sur. (2006.) su na uzorku od 586 divljih mesojeda (lisice i kune) zaključili kako je najčešće dokazani serovar u kuna Australis (24,5%), kojeg slijede Pomona (21,8%) i Sejroe (21,6%). Nažalost, iz podataka u radu nije razvidan udio kuna u uzorku mesojeda, te je nemoguće govoriti o prevalenciji leptospiroze u kuna. U europskim okvirima, MILLAN i sur. (2019.) su na području sjevero-istočne Španjolske analizirali uzorke domaćih i divljih mesojeda, od čega se uzorak divljih mesojeda sastojao od cibetki (n=30), kune bjelice (n=8), jazavca (n=2), male lasice (n=2) i lisice (n=9). Utvrdili su svega tri pozitivne cibetke (serovar Icterohaemorrhagiae, Sejroe i jedan nedefiniran nalaz) i jednu pozitivnu lisicu (serovar Canicola). MOINET i sur. (2010.) su između ostaloga pregledali 19 kuna, od kojih je 17 bilo serološki pozitivno (P=86%). Najviša prevalencija je utvrđena za serovar Icterohaemorrhagiae (P=68%), a zatim za serovar Australis (58%). Zanimljivo je da su isti autori analizirali i uzorke

kuna zlatica te utvrdili seroprevalenciju od čak 73%, uz najvišu prevalenciju za serovar Australis 53% te 47% za serovar Icterohaemorrhagiae. Također je neophodno spomenuti kako nisu utvrdili serovar Bratislava po čemu se njihovi rezultati uvelike razlikuju od rezultata ovoga istraživanja. Na Sardiniji su PIREDDA i sur. (2021.) utvrdili serovar Australis u tamošnjoj podvrsti lasice (*Mustela nivalis bocammela*), kune zlatice (*Martes martes latinorum*) i lisice (*Vulpes vulpes ichnusae*). Pored serovara Australis, u uzorcima podrijetlom od kuna je još dokazan i serovar Ballum, a uzorcima lisice serovar Pomona.

U ovom istraživanju utvrđena su protutijela u 37,5% uzoraka. Ovakav nalaz je niži od nalaza MOINET i sur. (2010.), kao i od dosadašnjih nalaza za ovu divljač na području Republike Hrvatske. Ipak treba napomenuti kako je u prethodnim studijama analiziran mali broj uzoraka podrijetlom od kune bjelice. Prema serovaru najčešće su utvrđeni serovarovi Australis i Bratislava iz serogrupe Australis. Ovakav je nalaz u skladu s istraživanjem MILAS i sur. (2013), dok za razliku od ovoga istraživanja u istraživanju SLAVICA i sur. (2006., 2007.) nije utvrđen serovar Bratislava. Ovo je razumljivo ukoliko je poznato da je serovar Bratislava dodan 2010. godine na listu antigena (MILAS i sur., 2013.). Nalaz serovara Icterohaemorrhagiae moguće je objasniti njegovom prisutnošću u štakora, a s obzirom da se kune rado zadržavaju u blizini naselja, kao i u napuštenim štalama i sjenicima, te na tavanima, razumljiva je dostupnost ovoga plijena. Usporedbom prema serovaru omjer izgleda (OR) govori da je 1,51 puta veća vjerojatnost da će se u kunama utvrditi protutijela na serovar Australis ili Bratislava negoli na serovar Icterohaemorrhagiae. Relativni rizik (RR) za pojavu serovara Australis ili Bratislava (zasebno gledano) iznosi 1,22, dok je isti za serovar Icterohaemorrhagiae 0,58.

Utvrđene razlike u inficiranosti među spolovima u ovom su istraživanju male te nisu statistički znakovite, što je i očekivano s obzirom da je način života mužjaka i ženki kune bjelice identičan, kao i činjenice da se životni teritoriji različitih spolova međusobno preklapaju te time koriste izvore hrane s istoga područja. Na taj je način i izloženost leptospirama praktički

identična. Relativni rizik od infekcije nešto je viši u mužjaka i iznosi 1,2, dok je u ženki 0,76. Omjer izgleda za infekciju mužjaka u odnosu na ženke iznosi 1,32. Promatrano prema dobi također nije utvrđena statistički znakovita razlika. Ovo je i razumljivo s obzirom na činjenicu da je životni vijek kuna razmjerno kratak u današnjim okolnostima te da je od osamostaljenja svaka jedinka morala zauzeti određeni teritorij na kojemu će boraviti do trenutka uginuća ili gubitka teritorija od druge kune. Sukladno navedenom, kune su vjerne teritoriju te će time nalaz njihove pretrage uvelike ovisiti o prilikama na tom teritoriju, više negoli o samoj dobi jedinke. Iako je razvidan blagi porast pozitivnih nalaza prema dobi kuna, nije utvrđen niti statistički znakovit nalaz primjenom Mantel-Haenszelovog testa. Jedina statistički znakovita razlika prema dobi utvrđena je u broju pozitivnih nalaza na serovar *Icterohaemorrhagiae*, gdje je najveći broj pozitivnih jedinki utvrđen u dobi od dvije godine. Osim hi-kvadrat testom ova povezanost je statistički znakovita i prema koeficijentu kontingencije C. Nasuprot tome, usporedbom prema lokalitetu nisu dobivene statistički znakovite razlike. Ovaj podatak ne čudi s obzirom da je riječ o dvjema susjednim županijama u kojima su prisutni manje-više podjednaki okolišni čimbenici. Izuzetak čini viši udio degradiranih šumskih sastojina (panjača) te udjel naselja, koji su viši na području Zagrebačke županije, ali očito nisu imali veći utjecaj na pojavu leptospiroze. To nam ujedno govori na kruženje unutar prirodnih (divljih) staništa, s manjim utjecajem vezanim uz naselja. Nešto viši udio pozitivnih odraslih mužjaka u odnosu na subadultne smatramo mogućom posljedicom većeg kretanja tijekom sezone parenja.

Poznavajući ovisnost leptospira o okolišnim čimbenicima izrađena su dva modela za ukupni nalaz, kao i zasebno za serovarove Australis i Bratislava. Prema njima porastom vrijednosti temperature za jednu jedinicu indeksa postoji čak 2,6% veća vjerojatnost pozitivnog nalaza. Utjecaj količine oborina je veći tako da porastom SPI za jednu jedinicu indeksa vjerojatnost infekcije je 2,88 puta veća. Model za sv Australis i Bratislava govori kako u slučaju porasta srednje vrijednosti temperature za jednu jedinicu indeksa postoji 3,5% manja vjerojatnost

infekcije serovarov Australis, odnosno 3,7% manja za serovar Bratislava. U slučaju porasta srednje vrijednosti oborinskog indeksa za 1, vjerojatnost od infekcije serovarov Australis je 46,1% manja, dok je za serovar Bratislava 37,9% veća. U slučaju porasta srednje vrijednosti temperature za 1 jedinicu indeksa, procijenjeno je da postoji 9,2% veća vjerojatnost infekcije serovarov Icterohaemorrhagiae, a u slučaju porasta srednje vrijednosti oborinskog indeksa za 1, vjerojatnost od infekcije je 12,4 puta veća.

Sa stajališta veterinarskog javnog zdravstva treba napomenuti kako činjenice da se kuna bjelica u glavnini svoje prehrane oslanja upravo na mišolike glodavce, kao i da rado boravi u blizini ljudskih naselja (JANICKI i sur., 2007.), ukazuju na određen rizik od prijenosa uzročnika bolesti općenito, pa samim time i leptospira na ljude i domaće životinje.

Iako je leptospiroza stara bolest, s lakoćom se može zaključiti kako je njen značaj u većini svijeta dobrim dijelom podcijenjen. Ovo posebno dolazi do izražaja ukoliko se u obzir uzmu spomenute klimatske promjene, čiji je učinak sve vidljiviji. Ovdje je također neophodno napomenuti i određene probleme i nedostatke u izvođenju ove studije. Naime, smanjenjem lovnog interesa za kunu bjelicu u Republici Hrvatskoj istodobno je došlo i do otežanog prikupljanja adekvatnog broja uzoraka odgovarajuće kvalitete za analize, što svakako otežava provedbu istraživanja. Navedeno je vidljivo i iz prethodno spomenutih istraživanja na području Republike Hrvatske i Europe, gdje je uglavnom analiziran uzorak do deset jedinki ove vrste. Nadalje, drugi bitan problem predstavlja kvaliteta uzoraka. Naime, s obzirom da je kuna bjelica sitna divljač, vrlo često dolazi do jačih oštećenja tijekom odstrjela, uslijed čega dolazi do razaranja unutarnjih organa i iskrvarenja pa je iznimno teško prikupiti uzorke. Također, danas sve veći dio uzoraka dolazi kao posljedica naleta vozila na ovu vrstu divljači, nažalost, ovi su uzorci u pravilu još lošije kvalitete. Konačno, pri uzimanju uzoraka treba imati na umu i da se dio uzoraka smrzava zbog nemogućnosti pravodobne dostave na analizu, ali i da u uzorcima krvi divljači razmjerno brzo dolazi do hemolize. Ovo su sve dodatne otegotne okolnosti



istraživanja i stjecanja kvalitetnih rezultata. Pored navedenoga treba napomenuti i određene poteškoće u detektiranju serovara koji je uzrok infekcije, posebice kada se analize provode u više laboratorija. Problem predstavljaju zajednički antigeni unutar i među serogrupama kao i potencijalne unakrižne reakcije uslijed čega je moguća prisutnost više serovarova s visokim titrom istodobno u uzorku (MILLER i sur., 2010.). Ovo se odnosi i na detekciju sv Australis i Bratislava koji dolaze iz iste serogrupe.

Virus štenećaka se ubraja među neke od najkontagioznijih virusa pasa (LANSZKI i sur., 2021.), a pored toga može inficirati veliki broj različitih vrsta, kao i prijeći međuvrsku barijeru (Kapil i Yeary, 2011., Martinez-Gutierrez i Ruiz-Saenz, 2016.). Tako su poznate infekcije divljih pripadnika porodice pasa, kuna, medvjeda, rakuna, pandi, cibetki, hijena ili velikih mačaka (za pregled vidi BEINEKE i sur., 2015.). Posebno je zanimljiva i činjenica da se perajari mogu zaraziti ne samo morbilivirusom tuljana, već i virusom štenećaka (BEINEKE i sur., 2015.). Tako su primjerice u epidemijama štenećaka u Kaspijskih tuljana vukovi smatrani izvorom infekcije. Ovdje je također neophodno napomenuti kako je zbog čitavog niza godina od kada postoji cijepljenje, moguće da je značaj štenećaka i njegovog održavanja u prirodi prebačen s domaćih pasa na divlje životinje. Tako su tijekom epizootije štenećaka u lavova u Serengetiju upravo domaći psi smatrani potencijalnim izvorom uzročnika, neovisno da li je virus prije toga pasirao kroz hijene. Ipak, i danas postoje brojna područja s niskom stopom vakcinacije, i poznato je da virus cirkulira i u domaćih pasa i u divljih mesojeda te da se uslijed nekontroliranog držanja pasa povećava rizik od prijenosa virusa na divlje mesojede i obratno (ALMUNA i sur., 2021.). BALBONI i sur. (2021.) su opisali štemećak u kuna držanih u rehabilitacijskom centru za divlje životinje u Bolonji. Od šest kuna ukupno dvije su uginule, dok je od preostale četiri samo jedna pokazala kliničke znakove štenećaka. COSTANZI i sur. (2021) su proučavali prisutnost odabranih uzročnika bolesti u domaćih pasa i divljih mesojeda na području Nacionalnog parka Gran Paradiso u Alpama, Italija. U njihovom istraživanju, od

33 uzorka dobivena od pripadnika porodice kuna (jazavac kuna bjelica, kuna zlatica i mala lasica) svega dva uzorka su bila pozitivna na virus štenećaka (P=6%). Istodobno je utvrđena prevalencija od čak 18% u lisica. Trogu i sur. (2021) su analizirali uzorke divljih mesojeda prikupljenih tijekom pasivnog monitoringa na području Lombardije. Utvrdili su prevalenciju od 39,7% u lisica, 52,6% u jazavaca i 14,3% u kuna. Pri tome treba napomenuti kako se uzorak kuna sastojao od svega 7 jedinki. Spomenute novije studije potvrđuju ranije utvrđenu prisutnost virusa štenećaka u populaciji kuna koja se kretala od 2% (FRÖLICH i sur., 2000.) pa do 100 % (MELI i sur., 2010.). U ovom istraživanju uzorci 64 kune bjelice bili su negativni na virus štenećaka. Slično, i PAVLACIK i sur. (2007.) su na uzorku 96 kuna bjelica utvrdili da su svi uzorci bili negativni. Ovakva istraživanja nedostaju na području Republike Hrvatske i njenoj okolici. Tako su primjerice dostupni podaci o doktoratu ANIČIĆ (2019.) koji je na području Srbije istraživao prisutnost štenećaka u lisica. Od 68 pretraženih uzoraka u njih 25 su utvrdili prisutnost protutijela na virus štenećaka (36,8%). JUNTES i sur. (2012.) su na području Slovenije iz većeg uzorka lisica nasumično odabrali 9 uzoraka i imunohistokemijskim metodama utvrdili 7 pozitivnih (u variranju od slabo do jako), dok su u dva uzorka nalazi bili nepouzdana. U Hrvatskoj je zabilježen nalaz virusa štenećaka u dva sibirski tigra iz Zagrebačkog ZOO vrta, retrospektivno na uzorcima uklopljenim u parafinske blokove (KONJEVIĆ i sur., 2011.). U radu je sumnja postavljena na moguć prijenos od strane pasa ili kuna koje obitavaju u području oko ZOO vrta. U svakom slučaju podaci o prisutnosti virusa štenećaka u kuna u Republici Hrvatskoj su oskudni. I inače, izuzev podataka dobivenih istraživanjem PAVLACIK i sur. (2007.), u ostalim istraživanjima riječ je o malom broju kuna, od jedne do deset po istraživanju, što zasigurno ne predstavlja statistički relevantan broj. Ovdje prikazani rezultati analiza trebali bi se nadopuniti s analizama kuna s prigradskih i gradskih područja, gdje je veći broj nekontroliranih pasa, kako bi se stekla realnija slika o cirkuliranju virusa štenećaka u populaciji kuna.

## 7. ZAKLJUČCI

- ✓ virus štenećaka nije utvrđen u uzorku kuna
- ✓ prevalencija na leptospire u pretraženom uzorku kuna iznosi 37,5%
- ✓ najčešće utvrđeni serovarovi su Australis i Bratislava (po 17%), a slijedi serovar Icterohaemorrhagiae s 14%
- ✓ nije utvrđena korelacija pozitivnih nalaza s lokacijom uzorkovanja, što je pripisivo gotovo identičnim okolišnim uvjetima
- ✓ nešto veći broj mužjaka je pozitivan, ali razlika nije statistički znakovita,
- ✓ nije utvrđena korelacija pozitivnih nalaza prema dobi, izuzev u slučaju nalaza sv Icterohaemorrhagiae,
- ✓ utvrđen je viši rizik od infekcije sv Australis i Bratislava u odnosu na sv Icterohaemorrhagiae, te viši rizik infekcije mužjaka u odnosu na ženke

## 8. LITERATURA

ADLER, B., A. DE LA PEÑA MOCTEZUMA (2010): *Leptospira* and leptospirosis. *Vet. Microbiol.* 140, 287-296.

AHMED, N., S. M. DEVI, M. DE L. VALVERDE, P. VIJAYACHARI, R. S. MACHANG'U, W. A. ELLIS, R. A. HARTSKEERL (2006): Multilocus sequence typing method for identification and genotypic classification of pathogenic *Leptospira* species. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 5, 28.

ALEXANDER, K. A., J. W. McNUTT, M. B. BRIGGS, P. E. STANDERS, P. FUNSTON, G. HEMSON, D. KEET, M. VAN VUUREN (2010): Multi-host pathogens and carnivore management in southern Africa. *Comparative Immunology, Microbiol. Infect. Dis.* 33, 249-265.

ALLDINGER, S., W. BAUMGÄRTNER, P. VAN MOLL, C. ORVELL (1993): In vivo and in vitro expression of canine distemper viral proteins in dogs and non-domestic carnivores. *Arch. Virol.* 132, 421-428.

ALMUNA, R., A. M. LÓPEZ-PÉREZ, R. E. SARMIENTO, G. SUZÁN (2021): Drivers of canine distemper virus exposure in dogs at a wildlife interface in Janos, Mexico. *Vet. Rec. Open.* 8:e7.

AMORES, F. (1980): Feeding habits of the stone marten *Martes foina* (Erxleben, 1777) in southwestern Spain. *Säugetierkundliche Mitteilungen* 28, 316–322.

ANDREOLI, E., E. RADAELLI, I. BERTOLETTI, A. BIANCHI, E. SCANZIANI, S. TAGLIABUE, S. MATTIELLO (2014):. *Leptospira* spp. infection in wild ruminants: a survey in Central Italian Alps. Vet. Ital. 50, 285–291.

ANIČIĆ, M. (2019): Analiza morfoloških promena, ekspresije i distribucije virusnog antigena u mozgu lisica prirodno inficiranih virusom štenećaka. Disertacija. Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu. Beograd, Srbija, 108. str.

ANONIMUS (2019): Pravilnik o lovostaju. Narodne novine br. 94/2019.

APPEL, M. J. (1987): Canine distemper virus. In: Virus infections of vertebrates (Appel, M. J., ed.). Elsevier, Amsterdam, p. 133-159.

APPEL, M. J., R. A. YATES, G. L. FOLEY, J. J. BERNSTEIN, S. SANTINELLI, L. H. SPELMAN, L. D. MILLER, L. H. ARP, M. ANDERSON, M. BARR, S. PEARCE-KELLING, B. A. SUMMERS (1994): Canine distemper epizootic in lions, tigers, and leopards in North America. J. Vet. Diagn. Invest. 6, 277–288.

ATHANZIO, D. A., E F. SILVA, C. S. SANTOS, G. M. ROCHA, M. A. VANNIER-SANTOS, A. J. A. Mc BRIDE, A. I. KO, M. G. REIS (2008): *Rattus norvegicus* as a model for persistent renal colonisation by pathogenic *Leptospira interrogans*. Acta Trop. 105, 176-180.

AYRAL, F., A-L. ZILBER, D. J. BICOUT, A. KODJO, M. ARTOIS, Z. DJELOUADJI (2015): Distribution of *Leptospira interrogans* by multispacer sequence typing in urban Norway rats (*Rattus norvegicus*): a survey in France in 2011–2013. PLOS ONE. 10, e0139604.

AYRAL, F., Z. DJELOUADJI, V. RATON, A.-L. ZILBER, P. GASQUI, E. FAURE, F. BAURIER, G. VOURCH, A. KODJO, B. COMBES (2016): Hedgehogs and Mustelid Species: Major Carriers of Pathogenic *Leptospira*, a Survey in 28 Animal Species in France (20122015). PLoS ONE 11, e0162549

BABUDIERY, B. (1958): Animal reservoirs of leptospirosis. Ann. NY Acad. Sci. 70, 393–413.

BAKALLOUDIS, D. E., C. G. VLACHOS, M. A. PAPAKOSTA, V. A. BONTZORLOS, E. N. CHATZINIKOS (2012): Diet Composition and Feeding Strategies of the Stone Marten (*Martes foina*) in a Typical Mediterranean Ecosystem. ScientificWorldJournal, 2012: 163920.

BAKEYEV, Y. N. (1994): Stone martens in the Commonwealth of Independent States. In: Martens, sables, and fishers: biology and conservation (Buskirk, S. W., A. S. Harestad, M. G. Raphael, R. A. Powell, eds). Cornell University Press, Ithaca, New York, USA, 243–245.

BALBONI, A., F. SAVINI, A. SCAGLIARINI, E. BERTI, M. NALDI, L. URBANI, M. C. FONTANA, E. CARRA, L. RITA, M. GIBELLI, F. GOBBO, E. BOLOGNA, D. ZAMBELLI, R. CECCHERELLI, M. BATTILANI (2021): Natural distemper infection in stone martens (*Martes foina*): From infection to neutralizing antibodies. Res. Vet. Sci. 138, 196-200.

BALESTRIERI, A., L. REMONTI, R.B. CAPRA, L. CANOVA, C. PRIGIONI (2013): Food habits of the stone marten (*Martes foina*) (Mammalia: Carnivora) in plain areas of Northern Italy prior to pine marten (*M. martes*) spreading. It. J. Zool. 80, 60-68.

BANCI, V., G. PROULX (1999): Resiliency of furbearers to trapping in Canada. In: Mammal trapping (Proulx, G., ed.) Alpha Wildlife Research & Management Ltd., Sherwood Park, Alberta, Canada, 175–203.

BAUMGÄRTNER, W., S. ALLDINGER, A. BEINEKE, S. GRÖTERS, C. HERDEN, U. KAIM, G. MÜLLER, F. SEELIGER, P. VAN MOLL, P. WOHLSEIN (2003): Canine distemper virus--an agent looking for new hosts. Dtsch. Tierarztl. Wochenschr. 110, 137-142.

BEINEKE, A., C. PUFF, F. SEEHUSEN, W. BAUMGÄRTNER (2009): Pathogenesis and immunopathology of systemic and nervous canine distemper. Vet. Immunol. Immunopathol. 127, 1-18.

BEINEKE, A, W. BAUMGÄRTNER, P. WOHLSEIN (2015): Cross-species transmission of canine distemper virus – an update. One Health 1, 49–59.

BERTOLINO, S., B. DORE (1995): Food habits of the stone marten (*Martes foina*) in "La Mandria" Regional Park (Piedmont Region, north-western Italy). Hysrrix. 7, 105-111.

BHARTI, A. R., J. E. NALLY, J. N. RICALDI, A. M. MATTHIAS, M. M. DIAZ, M. A. LOVETT, P. N. LEVETT, R. H. GILMAN, M. R. WILLIG, E. GOTUZZO (2003): Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. Lancet Infect. Dis. 12, 757-771.

BOLIN, C. (2000): Leptospirosis. In: Emerging diseases of animals (Brown, C., C. Bolin, eds). ASM Press, Washington, D.C., USA, 185–200.

BORBA, T. R., R.C. MANNIGEL, C.K. FRAPORTI, S.A. HEADLEY, T.B. SAITO ( 2002): Cinomose: dados epidemiológicos Maringá-PR (1998-2001). Iniciação Científica Cesumar, Maringá. 1, 53-56.

BORČIĆ B., H. KOVAČIĆ, N. TVRTKOVIĆ, Z. ŠEBEK , B. ALERAJ (1978): Small rodents as reservoirs of leptospire in the lowlands of the Republic of Croatia (in Croatian). Lij. Vjesnik 100, 465–470.

BORČIĆ, B., H. KOVAČIĆ, Z. ŠEBEK, B. ALERAJ, N. TVRTKOVIĆ (1982): Small terrestrial mammals as reservoirs of leptospirosis in the Sava Valley (Croatia). Folia Parasitol. (Praha) 29, 177–182.

BORČIĆ, B., H. KOVAČIĆ, Z. ŠEBEK, B. ALERAJ, N. TVRTKOVIĆ (1983): Small terrestrial mammals as reservoirs of leptospire in the Drava Valley (in Croatian). Vet. arhiv, 53, 41–49.

BOUCHARDY, C., R. LIBOIS (1986): La fouine (*Martes foina*). Office National de la Chasse, Bulletin Mensuel No. 105, Fiche No. 34, Paris, France.

BRADLEY, C. A., S. ALTIZER (2007): Urbanization and the ecology of wildlife diseases. Trends Ecol. Evol. 22, 95-102

BRAINERD, S., J. O. HELLDIN, E. LINDSTRÖM, J. ROLSTAD (1994): Eurasian pine martens and old industrial forest in southern boreal Scandinavia. In: Martens, sables, and



fishers: biology and conservation (Buskirk, S. W., A. S. Harestad, M. G. Raphael, R. A. Powell, eds). Cornell University Press, Ithaca, New York, USA, 343–354.

BRENDLE, J. J., M. ROGUL, A. D. ALEXANDER (1974): Deoxyribonucleic acid hybridization among selected leptospiral serotypes. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 24, 205–214.

BUTINA, T. V., N. N. DENIKINA, S. I. BELIKOV (2010): Canine distemper virus diversity in Lake Baikal seal (*Phoca sibirica*) population. *Vet. Microbiol.* 144, 192-7.

CASTILHO, J. G., P. E. BRANDAO, P. CARNIELI JR., R. N. OLIVEIRA, C. I. MACEDO, Z. M. P. PEIXOTO, M. I. CARRIERI, I. KOTAIT (2007): Molecular analysis of the N gene of canine distemper virus in dogs in Brazil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 59, 654-659.

CLEMENT, R., M. C. SAINT GIRONS (1982): The diet of the stone marten, *Martes foina* (Erxleben 1977) in Nantes Town and suburbs. *Mamalia* 46, 550-553.

CLEAVELAND, S. (1996): The epidemiology of rabies and canine distemper in the Serengeti, Tanzania. PhD thesis. London School of Hygiene & Tropical Medicine.

COSTANZI, L., A. BRAMBILLA, A. DI BLASIO, A. DONDO, M. GORIA, L. MASOERO, M. S. GENNERO, B. BASSANO (2021): Beware of dogs! Domestic animals as a threat for wildlife conservation in Alpine protected areas. *Eur. J. Wildl. Res.* 67, 70.

CVETNIĆ, Z., J. MARGALETIĆ, J. TONČIĆ, N. TURK, Z. MILAS, S. ŠPIČIĆ, M. LOJKIĆ, S. TERZIĆ, A. HUMSKI, M. MITAK, B. HABRUN, B. KRT (2003): A serological survey and isolation of leptospirae from small rodents and wild boars in the Republic of Croatia. *Vet. Med.-Czech.* 48, 321–329.

CVETNIĆ, S. (2005): Virusne bolesti životinja. Školska knjiga, Zagreb.

CVETNIĆ, S. (2008): Bakterijske i gljivične bolesti životinja. Medicinska naklada Zagreb.

DEEM, S. L., L. H. SPELMAN, R. A. YATES, R. J. MONTALI (2000): Canine distemper in terrestrial carnivores. *J. Zoo Wildl. Med.* 31, 441-451.

DIKKEN, H., E. KMETY (1978): Serological typing methods of leptospire. In: *Methods in Microbiology*, Vol. 11 (Bergan, T., J. R. Norris, eds. Academic Press, London, UK, 259–307.

EDWARDS, G. A., B. M. Domm (1960): Human leptospirosis. *Medicine* 39, 117–156.

ESPI, A., J.M. PRIETO, V. ALZAGA (2010): Leptospiral antibodies in Iberian red deer (*Cervus elaphus hispanicus*), fallow deer (*Dama dama*) and European wild boar (*Sus scrofa*) in Asturias, Northern Spain. *Vet. J.* 183, 226–227.

EVANGELISTA, K., V., J. COBURN (2010): *Leptospira* as an emerging pathogen: a review of its biology, pathogenesis and host immune responses. *Future Microbiol.* 5, 1413-1425.

EVERARD, J. D., C. O. R. EVERARD (1993): Leptospirosis in the Caribbean. *Rev. Med. Microbiol.* 4, 114–122.

FAINE S., N. D. STALLMAN (1982): Amended Descriptions of the Genus *Leptospira* Noguchi 1917 and the Species *L. interrogans* (Stimson 1907) Wenyon 1926 and *L. biflexa* (Wolbach and Binger 1914) Noguchi 1918. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 32, 461-463.

FENG, N., Y. YU, T. WANG, P. WILKER, J. WANG, Y. LI, Z. SUN, Y. GAO, X. XIA (2016): Fatal canine distemper virus infection of giant pandas in China. *Sci. Rep.* 6, 27518.

FRÖLICH, K., O. CZUPALLA, L. HAAS, J. HENTSCHE, J. DEDEK, J. FICKEL (2000): Epizootiological investigations of canine distemper virus in free-ranging carnivores from Germany. *Vet. Microbiol.* 74, 283-292.

GENOVESI, P., L. BOITANI (1997): Social ecology of the stone marten in central Italy. In: *Martes: taxonomy, ecology, techniques, and management* (Proulx, G., H. N. Bryant, P. M. Woodard, eds). Provincial Museum of Alberta, Edmonton, Alberta, Canada, 110-120.

GOLLOP, J. H., A. R. KATZ, R. C. RUDOY, D. M. SASAKI (1993): Rat-bite leptospirosis. *West. J. Med.* 159, 76-77.

GORHAM, J. R. (1966): The epizootiology of distemper. *JAMVA* 5, 610-622.

GREEN C. E., M. J. APPEL (1990): Canine distemper. In: *Infectious Diseases in Dog and Cat* (Greene C., ed.). W. B. Saunders, Philadelphia, USA, pp. 25-41, 50-59.

GRIZIMEK, B. (1990): *Martes foina*. In: *Grizimek's Encyclopedia of Mammals, Vol. 3, 6th Edition* (Grzimek, B., ed.). McGraw-Hill, Boston, USA, pp. 411-412, 416, 442.

GRACHEV, M. A., V. P. KUMAREV, L. V. MAMAEV, V. L. ZORIN, L. V. BARANOVA, N. N. DENIKINA, S. I. BELIKOV, E. A. PETROV, V. S. KOLESNIK, R. S. KOLESNIK, V. M. DOROFEEV, A. M. BEIM, V. N. KUDELIN, F. G. NAGIEVA, V. N. SIDORIV (1989): Distemper virus in Baikal Seals. *Nature* 338, 209.

HAAPALA, D. K., M. ROGUL, L. B. EVANS, A. D. ALEXANDER (1969): Deoxyribonucleic acid base composition and homology studies of *Leptospira*. *J. Bacteriol.* 98, 421–428.

HALL, T. A. (1999) BioEdit: A User-Friendly Biological Sequence Alignment Editor and Analysis Program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41, 95-98.

HASSANIN, A., G. VERON, A. ROPIQUET, B. JANSEN VAN VUUREN, A. LÉCU, S. M. GOODMAN, J. HAIDER, T. THANH NGUYEN (2021): Evolutionary history of Carnivora (Mammalia, Laurasiatheria) inferred from mitochondrial genomes. *PLOS ONE* 16(2), e0240770.

HARTSKEERL, P. A., W.J. TERPSTRA (1996): Leptospirosis in wild animals, *Vet. Quart.* 18, 149-150.

HAYDON, D. T., M. K. LAURENSEN, C. SILLERO-ZUBIRI (2002): Integrating Epidemiology into Population Viability Analysis: Managing the Risk Posed by Rabies and Canine Distemper to the Ethiopian Wolf. *Conserv. Biol.* 16, 1372-1385.

HEADLEY, S. A., D. L. GRAÇA (2000): Canine distemper: epidemiological findings of 250 cases. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 2, 136-140.

HERR, J., L. SCHLEY, T. J. ROPER (2008): Socio-spatial organization of urban stone martens. *J. Zool.* 277, 54-62.

HU, J., Y. ZHANG, L. YU. (2012): Summary of Laurasiatheria (Mammalia) Phylogeny. *Zool. Res.* 33, 65-74.

HÜBNER, S. A., F. G. PAPPEN, J. L. RUAS, G. D. VARGAS, G. FISCHER, T. VIDOR (2010): Exposure of pampas fox (*Pseudalopex gymnocercus*) and crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) from the Southern region of Brazil to Canine distemper virus (CDV), Canine parvovirus (CPV) and Canine coronavirus (CCoV). *Braz. Arch. Biol. Technol.* 3, 593-597.

HVISTENDAHL, M. (2015): Captive pandas succumb to killer virus. *Science* 347, 700-701.

JANICKI, Z., A. SLAVICA, D. KONJEVIĆ, K. SEVERIN (2007): *Zoologija divljači*. Zavod za patologiju i uzgoj divljači, Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet.

JOHNSON, R. C., S. FAINE (1984): *Leptospira*. In: *Bergey's manual of systematic bacteriology*, vol. 1 (Krieg, N. R., J. G. Holt, eds.) Williams & Wilkins, Baltimore, USA, pp. 62–67.

JUNTES, P., G. VENGUŠT, D. ŽELE, P. HOSTNIK, T. PALLER, M. POGAČNIK (2012): Increased mortality in red foxes (*Vulpes vulpes*) in Slovenia – preliminary study results. Book of Abstracts 30<sup>th</sup> ESVP meeting, Annual Meeting of ECVP, and 24<sup>th</sup> Annual Meeting of Spanish Society of Veterinary Pathology, Leon, Spain, p. 235.

KAPIL, S., R. W. ALLISON, III. L. JOHNSTON, B. L. MURRAY, S. HOLLAND, J. MEINKOTH, B. JOHNSON (2008): Canine distemper virus strains circulating among North American dogs. *CVI* 4, 707-712.

KAPIL, S., T. J. YEARY (2011): Canine distemper spillover in domestic dogs from urban wildlife. *Vet. Clin. North Am. Small. Anim. Pract.* 41, 1069-1086.

KE, G. M., C. H. HO, M. J. CHIANG, B. SANNO-DUANDA, C. S. CHUNG, M. Y. LIN, Y. Y. SHI, M. H. YANG, Y. C. TYAN, P. C. LIAO, P. Y. CHU (2015.): Phylodynamic analysis of the canine distemper virus hemagglutinin gene. *BMC Vet. Res.* 11, 164.

KELLEY, P. W. (1998): Leptospirosis. In: *Infectious diseases*. 2nd edn. (Gorbach, S. L., J. G. Bartlett, N. R. Blacklow, eds. W. B. Saunders, Philadelphia, USA, pp. 1580–1587.

KMETY. E., H. DIKKEN (1993): Classification of the species *Leptospira interrogans* and history of its serovars. University Press Groningen, Groningen, The Netherlands.

KO, A. I., C. GOARANT, M. PICARDEAU (2009): Leptospira: the dawn of the molecular genetics era for an emerging zoonotic pathogen. *Nat. Rev. Microbiol.* 7, 736-747.

KONJEVIĆ D., R. SABOČANEC, Ž. GRABAREVIĆ, A. ZURBRIGGEN, I. BATA, A. BECK, A. GUDAN KURILJ, D. CVITKOVIĆ (2011): Canine distemper in Siberian tiger cubs from Zagreb ZOO : case report. Acta Vet. (Brno) 80, 47-50.

KREUTZER, M., R. KREUTZER, U. SIEBERT (2008): In search of virus carriers of the 1988 and 2002 phocine distemper virus outbreaks in European harbour seals. Arch. Virol. 153, 187

KRYŠTUFEK, B. (2000): Mustelids in the Balkans – small carnivores in the European biodiversity hot-spot. In: Management and conservation aspects of small carnivore human interactions (Griffiths, H. I., ed.). Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands, pp. 281–294.

KUIKEN, T., S. KENNEDY, T. BARRETT, M. W. G. VAN DE BILDT, F. H. BORGSTEEDE, S. D. BREW, G. A. CODD, C. DUCK, R. DEAVILLE, T. EYBATOV, M. A. FORSYTH, G. FOSTER, P. D. JEPSON, A. KYDYRMANOV, I. MITROFANOV, C. J. WARD, S. WILSON, A. D. M. E. OSTERHAUS (2006): The 2000 canine distemper epidemic in Caspian seals (*Phoca caspica*): pathology and analysis of contributory factors. Vet. Pathol. 43, 321-38.

LACHAT, N. (1991): Stone martens and cars: a beginning of war?. Small Carnivore Conservation 5, 4-6.

LACHAT FELLER, N. (1993): Eco-éthologie de la fouine (*Martes foina* Erxleben, 1777) dans le Jura suisse. PhD Thesis, Université de Neuchâtel, Suisse, Switzerland.

LAMB, R. A., D. KOLAKOFSKY (2001): Paramyxoviridae: the viruses and their replication. In: Fields virology, 4th edn. (Fields, D. M., D. M. KNIPE, P. M. HOWLEY, eds.). Lippincott-Williams & Wilkins, Philadelphia, pp. 1305-1443.

LANSZKI, J., S. KORMWENDI, C.S. HANZ, A. ZALEWSKI (1999): Feeding habits and trophic niche overlap in a Carnivora community of Hungary. *Acta Theriol.* 44, 429-442.

LANSZKI, J. (2003): Feeding habits of stone martens in a Hungarian village and its surroundings. *Folia Zool.* 52, 367-377.

LANSZKI, J., B. SARDI, G. L. SZELES (2009): Feeding habits of the stone marten (*Martes foina*) in villages and farms in Hungary. *Natura Somogyiensis* 15, 231-246.

LANSZKI, Z., B. ZANA, S. ZEGHBIB, F. JAKAB, N. SZABÓ, G. KEMENES (2021.): Prolonged Infection of Canine Distemper Virus in a Mixed-Breed Dog. *Vet. Sci.* 8, 61.

LEMPP, C., N. JUNGWIRTH, M.L., GRILO., A. RECKENDORF, A. ULRICH, A. VAN NEER, R. BODEWES., V.M. PFANKUCHE, C. BAUER, A. D. OSTERHAUS, W. BAUMGÄRTNER, U. SIEBERT (2017): Pathological findings in the red fox (*Vulpes vulpes*), stone marten (*Martes foina*) and raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*), with special emphasis on infectious and zoonotic agents in Northern Germany. *PLoS ONE*, 12 (4): 0175469

LEVETT, P. N. (2001): Leptospirosis. *Clin. Microbiol.* 14, 296-326.



LUCHERINI, M., G. CREMA (1993): Diet of urban stone martens in Italy. *Mammalia* 57, 274–277.

LUZZI, G. A., L. M. MILNE, S. A. WAITKINS (1987): Rat-bite acquired leptospirosis. *J Infect.* 15, 57–60.

MACLACHLAN, N. J., E. J. DUBOVI (2011): Paramyxoviridae. *Fenner's veterinary virology*. 4. edn. Academic Press, San Diego, California, pp. 299-325.

MACHIDA, N., K. KIRYU, K. OH-ISHI, E. KANDA, N. IZUMISAWA, T. NAKAMURA (1993): Pathology and epidemiology of canine distemper in raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*). *J. Comp. Pathol.* 108, 383-392.

MALLON, D. (1991): Mustelids in Ladakh, India. *Mustelid and Viverrid Conservation* 5, 9.

MAMAEV, L. V., N. N. DENIKINA, S. I. BELIKOV, V. E. VOLCHKOV, I. K. G. VISSER, M. FLEMING, C. KAI, T. C. HARDER, B. LIESS, A. OSTERHAUS, T. BARRETT (1995): Characterisation of morbilliviruses isolated from Lake Baikal seals (*Phoca sibirica*). *Vet. Microbiol.* 44, 251–259.

MARTELLA, V., G. ELIA, C. BUONAVOGLIA (2008): Canine distemper virus. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 38, 787–797.

MARTINEZ-GUTIERREZ, M., J. RUIZ-SAEN (2016): Diversity of susceptible hosts in canine distemper virus infection: A systematic review and data synthesis. *BMC Vet. Res.* 12, 78.

MATTHEW, C., R. WILKES, R. P. WILKES (2015): Sequencing of emerging canine distemper virus strain reveals new distinct genetic lineage in the United States associated with disease in wildlife and domestic canine populations. *Virology* 12, 219.

MEGID, J., V. A. F. SOUZA, C. R. TEIXEIRA, A. CORTEZ, R. L. AMORIN, M. B. HEINEMANN, D. Q. CAGNINI, L. J. RICHTZENHAIN (2009): Canine distemper virus in a crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) in Brazil: case report and phylogenetic analyses. *J. Wildl. Dis.* 45, 527-530.

MEGID, J., C. R. TEIXEIRA, R. L. AMORIN, A. CORTEZ, M. B. HEINEMANN, J. M. A. P. ANTUNES, L. F. COSTA, F. FORNAZARI, J. R. B. CIPRIANO, A. CREMASCO, L. J. RICHTZENHAIN (2010): First identification of canine distemper virus in hoary fox (*Lycalopex vetulus*): pathologic aspects and virus phylogeny. *J. Wildl. Dis.* 46, 303-305.

MELI, M. L., P. SIMMLER, V. CATTORI, F. MARTÍNEZ, A. VARGAS, F. PALOMARES, J. V. LÓPEZ-BAO, M. A. SIMÓN, G. LÓPEZ, L. LEÓN-VIZCAINO, R. HOFMANN-LEHMANN, H. LUTZ (2010): Importance of canine distemper virus (CDV) infection in free-ranging Iberian lynxes (*Lynx pardinus*). *Vet. Microbiol.* 146, 132-137.

MESSENGER, J. E., J. D. S. BIRKS (2000): Monitoring the very rare: pine marten populations in England and Wales. In: Management and conservation aspects of small carnivore human interactions (Griffiths, H. I., ed). Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands, pp. 217–230.

MEYERS, D. L., A. ZURBRIGGEN, H. LUTZ, A. POSPISCHIL (1997): Distemper: not a new disease in lions and tigers. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 4, 180–184.

MICKEVICIUS, E., K. BARANAUSKAS (1992): Status, abundance, and distribution of mustelids in Lithuania. Small Carnivore Conservation 6, 11–14.

MICHEL, V., N. RUVOEN-CLOUET, A. MENARD, C. SONRIER, C. FILLONNEAU, F. RAKOTOVAO, J. P. GANIÈRE, G. ANDRÉ- FONTAINE (2001): Role of the coypu (*Myocastor coypus*) in the epidemiology of leptospirosis in domestic animals and humans in France. Eur. J. Epid. 17, 111-121.

MILLER, M. D., K. M. ANNIS, M. R. LAPPIN, K. F. LUNN (2006): Variability in results of the microscopic agglutination test in dogs with clinical leptospirosis and dogs vaccinated against leptospirosis. J. Vet. Intern. Med. 25, 426–432.

MILLÁN, J., M. G. CANDELA, J. V. LÓPEZ-BAO, M. PEREIRA, M. A. JIMÉNEZ, L. LEÓN-VIZCAÍNO (2009): Leptospirosis in wild and domestic carnivores in natural areas in Andalusia, Spain. Vector Borne Zoonotic Dis. 9, 549–554.

MILLÁN, J., R. VELARDE, A.D. CHIRIFE, L. LEÓN-VIZCAÍNO (2019): Carriage of pathogenic *Leptospira* in carnivores at the wild/domestic interface. Pol. J. Vet. Sci. 4, 781–784.

MILAS, Z., N. TURK, V. STAREŠINA, J. MARGALETIĆ, A. SLAVICA, D. ŽIVKOVIĆ, Z. MODRIĆ (2002): The role of myomorphous mammals as reservoirs of leptospira in the pedunculate oak forests of Croatia. Vet. arhiv 72, 119-129.

MILAS, Z., Z. ŠTRITOF MAJETIĆ, J. HABUŠ, V. MOJČEC PERKO, V. STAREŠINA, LJ. BARBIĆ, V. STEVANOVIĆ, M. PERHARIĆ, B. LJUBIĆ, N. TURK (2013): The occurrence and maintenance of Leptospira serovars Australis and Bratislava in domestic and wild animals in Croatia. Vet. arhiv 83, 357-369.

MOINET, M., C. FOURNIER-CHAMBRILLON, G. ANDRÉ-FONTAINE, S. AULAGNIER, A. MESPLÈDE, B. BLANCHARD, V. DESCARSIN, P. DUMAS, Y. DUMAS, C. COÏC, L. COUZI, P. FOURNIER (2010): Leptospirosis in free-ranging endangered European mink (*Mustela lutreola*) and other small carnivores (Mustelidae, Viverridae) from southwestern France. J. Wildl. Dis. 46, 1141-51.

MONTAGNARO, S., S. SASSO, L. DE MARTINO, M. LONGO, V. IOVANE, G. GHIURMINO, G. PISANELLI, D. NAVA, L. BALDI, U. PAGNINI (2010): Prevalence of antibodies to selected viral and bacterial pathogens in wild boar (*Sus scrofa*) in Campania region, Italy. J Wildl Dis. 46, 316–319.

NAVA, A. F. D., L. CULLEN JUNIOR, D.A. SANA, M.S. NARDI, J.D. RAMOS FILHO, T.F. LIMA, K.A. ABREU, F. FERREIRA (2008): First evidence of canine distemper in Brazilian free-ranging felids. EcoHealth 4, 513-518.

OSTERHAUS, A. D., R. L. DE SWART, H. W. VOS, P. S. ROSS, M. J. KENTER, T. BARRETT (1995): Morbillivirus infections of aquatic mammals: newly identified members of the genus. *Vet. Microbiol.* 44, 219-227.

PAPPAS, G., P. PAPADIMITRIOU, V. SIOZOPOULOU, L. CHRISTOU, N. AKRITIDIS (2008): The globalization of leptospirosis: worldwide incidence trends. *Int. J. Infect. Dis.* 12, 351-357.

PAVLACIK, L., V. CELER, P. KOUBEK, I. LITERAK (2007): Prevalence of canine distemper virus in wild mustelids in the Czech Republic and a case of canine distemper in young stone martens. *Vet. Med. (Praha)* 52, 69–73.

PHILIPPA, J., C. FOURNIER-CHAMBRILLON, P. FOURNIER, W. SCHAFTENAAR, M. BILDT, R. HERWEIJNEN, T. KUIKEN, M. LIABEUF, S. DITCHARRY, L. JOUBERT, M. BEGNIER, A. OSTERHAUS, A (2008): Serologic survey for selected viral pathogens in free-ranging endangered European mink (*Mustela lutreola*) and other mustelids from southwestern France. *J. Wildl. Dis.* 44, 791-801.

PIREDDA, I., M. N. PONTI, B. PALMAS, M. NOWOROL, A. PEDDITZI, L. REBECHESU, V. CHISU (2021): Molecular Typing of Pathogenic *Leptospira* Species Isolated from Wild Mammal Reservoirs in Sardinia. *Animals* 11, 1109.

PLANK, R., D. DEAN (2000): Overview of the epidemiology, microbiology, and pathogenesis of *Leptospira* spp. in humans. *Microbes Infect.* 2, 1265-1276.

POSLUZYNY, M., M. PILOT, J. GOSZCZYNSKI, B. GRALAK (2007): Diet of sympatric pine marten (*Martes martes*), and stone marten (*Martes foina*) identified by genotyping of DNA from feces. *Ann. Zool. Fennici* 44, 269-284.

PROULX, G., K. B. AUBRY, J. BIRKS, S. W. BUSKIRK, C. FORTIN, H. C. FROST, W. B. KROHN, L. MAYO, V. MONAKHOV, D. PAYER, M. SAEKI, M. SANTOS-REIS, R. WEIR, W. J. ZIELINSKI (2000): World distribution and status of the genus *Martes* in 2000. In: *Martens and fisher (Martes) in human-altered landscapes: an international perspective* (Harrison, D. J., A. K. Fuller, G. Proulx). Springer Science+Business Media, New York, New York, USA, pp. 21-76.

QIU, W., Y. ZHENG, S. ZHANG, Q. FAN, H. LIU, F. ZHANG, W. WANG, G. LIAO, R. HU (2011): Canine distemper outbreak in rhesus monkeys, China. *Emerg Infect Dis.* 17, 1541–1543.

RAČIĆ, I., A. VUJNOVIĆ, M. ZDELAR-TUK, Ž. CVETNIĆ, S. DUVNJAK, S. ŠPIČIĆ (2012): Seroepizootiological investigation of leptospirosis in swine in Croatia. *Book of Abstracts, European Meeting of Leptospirosis, Eurolepto 2012, 31 May - 2 June, Dubrovnik, Croatia*, pp. 75.

RATNAM, S. (1994.): Leptospirosis: an Indian perspective. *Indian J. Med. Microbiol.* 12, 228–239.

ROELKE-PARKER, M. E., L. MUNSON, C. PACKER, R. KOCK, S. CLEVELAND, M. CARPENTER, S. J. O'BRIEN, A. POSPISCHIL, R. HOFMANN-LEHMANN, H. LUTZ, G.

L. MWAMENGELE, M. N. MGASA, G. A. MACHANGE, B. A. SUMMERS, M. J. APPEL (1996): A canine distemper virus epidemic in Serengeti lions (*Panthera leo*). *Nature* 379, 441–445.

ROSCOE, D. E. (1993): Epizootiology of canine distemper in New Jersey raccoons. *J. Wildl. Dis.* 29, 390-395.

SANTOS, N., C. ALMENDRA, L. TAVARES (2009.): Serologic Survey for Canine Distemper Virus and Canine Parvovirus in Freeranging Wild Carnivores from Portugal. *J. Wildl. Dis.* 45, 221-226.

SANTOS-REIS, M., M. J. SANTOS, S. LOURENÇO, T. MARQUES, I. PEREIRA, B. PINTO (2005): Relationships between stone martens, genets and cork oak woodlands in Portugal. In: *Martens and fishers (Martes) in humanaltered environments: An international perspective* (Harrison, D. J., A. K. Fuller, G. Proulx, eds). Kluwer Academic Press, Boston, Massachusetts, USA, pp. 147–172

SINDIČIĆ, M., T. GOMERČIĆ, Ž. VOLOVIĆ, I. VRANEŠEVIĆ, D. DEŽĐEK, A. SLAVICA (2012): Usporedba raznolikosti mitohondrijske DNA kontinentalne i otočke populacije kune bjelice (*Martes foina*) iz Hrvatske. Zbornik sažetaka 11. hrvatski biološki kongres s međunarodnim sudjelovanjem (Jelaska, S., G. Klobučar, L. Šerić Jelaska, D. Leljak Levanić, Ž. Lukša, ur.). Hrvatsko biološko društvo 1885, Zagreb, str. 162-163.

SHELDON, W. G. (1950): Denning Habits and Home Range of Red Foxes in New York State. *J. Wildl. Manage.* 14, 33-42.

SLAVICA, A., Z. ŠTRITOF, Z. MILAS, D. KONJEVIĆ, Z. JANICKI, K. SEVERIN, D. DEŽĐEK, V. STAREŠINA, M. SINDIČIĆ, N. TURK (2006): Pojavnost protutijela za bakteriju *Leptospira* spp. u divljih i domaćih mesojeda na području kontinentalne Hrvatske. Zbornik radova Šesti hrvatski veterinarski kongres s međunarodnim sudjelovanjem (Harapin, I., ur.). Hrvatska Veterinarska Komora, Veterinarski fakultet u Zagrebu, Zagreb, str. 229-242.

SLAVICA, A., Ž. CVETNIĆ, Z. MILAS, Z. JANICKI, N. TURK, D. KONJEVIĆ, K. SEVERIN, J. TONČIĆ, Z. LIPEJ (2007): Incidence of leptospiral antibodies in different game species over a 10-year period (1996–2005) in Croatia. *Eur. J. Wildl. Res.* 54, 305-311.

SLAVICA, A., Z. CVETNIĆ, D. KONJEVIĆ, Z. JANICKI, K. SEVERIN, D. DEŽĐEK., V. STAREŠINA, M. SINDIČIĆ, J. ANTIĆ (2010): Detection of *Leptospira* spp. serovars in wild boars (*Sus scrofa*) from Continental Croatia. *Vet Arh.* 80, 247–257.

SMIBERT, R. M. (1977): The Spirochaetales. In: CRC handbook of microbiology. 2nd edn. Vol 1 (Laskin, A. I., H. A., Lechavelier, eds). CRC Press, Cleveland, Ohio, pp. 195–228.

SUMMERS, B. A., M. J. APPEL (1994): Aspects of canine distemper virus and measles virus encephalomyelitis. *Neuropath. Appl. Neurobiol.* 6, 525-534.

SUN Z., A. LI, H. YE, Y. SHI, Z. HU, L. ZENG (2010): Natural infection with canine distemper virus in hand-feeding Rhesus monkeys in China. *Vet. Microbiol.* 141, 374–378.



SYKES, J. E., K. HARTMANN, K. F. LUNN, G. E. MOORE, R. A. STODDARD, R. E.

GOLDSTEIN (2011.): 2010 ACVIM Small Animal Consensus Statement on Leptospirosis: Diagnosis, Epidemiology, Treatment, and Prevention. *J. Vet. Int. Med.* 25, 1-13.

ŠTRITOF MAJETIĆ, Z. (2010): Molecular epizootiology of leptospirosis in mouse-like rodents. Disertacija. Sveučilište u Zagrebu Veterinarski fakultet, Zagreb, Hrvatska.

TÓTH, M. A. (1998): Data to the diet of the urban stone marten (*Martes foina* Erxleben) in Budapest. *Opuscula Zoologica Budapest* 31, 113–118.

TÓTH, M., A. BÁRÁNY, R. KIS (2009): An evaluation of Stone marten (*Martes foina*) records in the city of Budapest, Hungary. *Acta Zool. Acad. Sci. Hung.* 55, 199–209.

TROGU, T., S. CANZIANI, S. SALVATO, A. BIANCHI, I. BERTOLETTI, L. R. GIBELLI, G. L. ALBORALI, I. BARBIERI, A. GAFFURI, G. SALA, E. SOZZI, D. LELLI, A. LAVAZZA, A. MORENO (2021): Canine Distemper Outbreaks in Wild Carnivores in Northern Italy. *Viruses* 13, 99.

TURK, N., Z. MILAS, J. MARGALETIĆ, V. STAREŠINA, A. SLAVICA, N. RIQUELME-SERTEUR, E. BELLENGER, G. BARANTON, D. POSTIĆ (2003): Molecular characterization of *Leptospira* spp. strains isolated from small rodents in Croatia. *Epidemiol. Infect.* 130, 159-166.

TURNER, L. H. (1967): Leptospirosis I. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 61, 842–855.

TURNER, L. H. (1969): Leptospirosis. *Brit. Med. J.* 1, 231-235.

VAN MOLL, P., S. ALLDINGER, W. BAUMGÄRTNER, M. ADAMI (1995): Distemper in wild carnivores: An epidemiological, histological and immunocytochemical study. *Vet. Microbiol.* 44, 193-199.

VIANA, M., S. CLEVELAND, J. MATTHIOPOULOS, J. HALLIDAY, C. PACKER, M. E. CRAFT, K. HAMPSON, A. CZUPRYNA, A. P. DOBSON, E. J. DUBOVI, E. ERNEST, R. FYUMAGWA, R. HOARE, J. G. C. HOPCRAFT, D. L. HORTON, M. T. KAARE, T. KANELLOS, F. LANKESTER, C. MENTZEL, T. MLENGEYA, I. MZIMBIRI, E. TAKAHASHI, B. WILLETT, D. T. HAYDON, T. LEMBO (2015): Dynamics of a morbillivirus at the domestic–wildlife interface: Canine distemper virus in domestic dogs and lions. *PNAS* 112, 1464-1469.

VINETZ, J. M., G. E. GLASS, C. E. FLEXNER, P. MUELLER, D. C. KASLOW (1996): Sporadic urban leptospirosis. *Ann. Intern. Med.* 125, 794–798.

WAECHTER, A. (1975): Ecologie de la fouine en Alsace. *La Terre et La Vie* 24, 399–457.

WIERZBOWSKA, I., A. ZALEWSKI, A. GAJDA (2017): Urban carnivores: A case study of sympatric stone marten (*Martes foina*) and red fox (*Vulpes vulpes*) in Kraków, Southern Poland. In: *The Martes Complex in the 21st century: ecology and conservation* (Zalewski, A., I. A. Wierzbowska, K. B. Abury, J. D.S. Birks, D. T. O'Mahony, G. Proulx, eds.) pp. Mammal Research Institute Polish Academy of Sciences, Białowieża, Poland, pp. 161-178.

WOMMA, T.Y., M. VAN VUUREN, A-M. BOSMAN, M. QUAN, M. OOSTHUIZEN (2010): Phylogenetic analysis of the haemagglutinin gene of current wild-type canine distemper viruses from South Africa: lineage Africa. *Vet. Microbol.* 143, 126-132.

YASUDA, P. H., A. G. STEIGERWALT, K. R. SULZER, A. F. KAUFMANN, F. ROGERS, D. J. BRENNER (1987): Deoxyribonucleic acid relatedness between serogroups and serovars in the family Leptospiraceae with proposals for seven new *Leptospira* species. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 37, 407–415.

YUAN, C., W. LIU, Y. WANG, J. HOU, L. ZHANG, G. WANG (2017): Homologous recombination is a force in the evolution of canine distemper virus. *PLoS ONE* 12, 0175416.

ZAVITSANO, A., F. BABATSIKOU (2008.): Leptospirosis: epidemiology and preventive measures. *HSJ* 2, 75-82.

ZAHARIJA, I., J. FALIŠEVAC, B. BORČIĆ, Z. MODRIĆ (1982): Leptospiroze. 30-godišnje (1982): Leptospiroze. 30-godišnje istraživanje i izučavanje u SR Hrvatskoj. JUMENA, JAZU, Zagreb.

ŻMUDZKI, J., A. JABŁOŃSKI, A. NOWAK, S. ZĘBEK, Z. ARENT, Ł. BOCIAN, Z. PEJSAK (2015): First overall report of *Leptospira* infections in wild boars in Poland. *Acta Vet. Scand.* 58, 3.

## 9. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 19. rujna 1980. godine u Zagrebu. Osnovnu i srednju školu pohađam u razdoblju od 1987. do 1999. godine, u školama OŠ Vladimir Nazor, Zagreb i II. gimnazija, Zagreb. Po završetku srednjoškolskog obrazovanja 1999. godine upisujem Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu kao redovan student. Zvanje doktor veterinarske medicine stječem 2007. godine obranom diplomskoga rada „Endoskopsko uklanjanje stranih tijela iz probavnog trakta u pasa“ pod mentorstvom prof. dr. sc. Dalibora Potočnjaka. Po završetku Fakulteta od 2007. do 2009. godine obavljam vježbenički staž u Veterinarskoj stanici Grada Zagreba, te polažem stručni ispit za samostalno obavljanje stručnih poslova iz područja veterinarske medicine.

Tijekom 2009. godine započinjem sa radom u Upravi za veterinarstvo Ministarstva poljoprivrede na mjestu stručnog suradnika za krizno planiranje, gdje se uglavnom bavim implementacijom zakonodavstva iz područja zaraznih bolesti. Državni stručni ispit polažem 2010. godine, a u Upravi za veterinarstvo Ministarstva poljoprivrede ostajem do 2012. godine kada se selim u Zadar. Iste godine započinjem sa radom na radnom mjestu veterinarskog inspektora u Biogradu na moru, a 2018. godine postajem viši veterinarski inspektor. U 2019. godini osnivanjem Državnog inspektorata do danas obavljam poslove višeg veterinarskog inspektora u Ispostavi u Zadru. Ujedno sam i majka dva prekrasna sina, Šimuna i Mateja.

Popis radova:

DEŽDEK, D., Z. LIPEJ, A. SLAVICA, T. LISICIN (2012): Učestalost salmoneloze u crvene lisice (*Vulpes vulpes*) na području kontinentalne Hrvatske. Zbornik sažetaka 47.hrvatski i 7. međunarodnog simpozija agronoma (Pospišil, M., I. Filipović, ur.). Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb str. 156-157.

BILANDŽIĆ, N., D. DEŽĐEK, M. ĐOKIĆ, M. SEDAK, B. ŠIMIĆ, N. RUDAN, M. BRSTILO, T. LISICIN,(2012): Trace elements in tissues of wild carnivores and omnivores in Croatia. *Environmental monitoring and assessment*, 88, 94-99.

POTOČNJAK, D., M. POPOVIĆ, I. ŠMIT, LJ. BEDRICA, D. GRAČNER, Z. ŽVORC, I. POPOVIĆ, T. LISICIN (2008): Biljezi za procjenu aktivnosti idiopatske upalne bolesti crijeva u pasa. Zbornik radova (Harapin, I., ur.). Hrvatska veterinarska komora i Veterinarski fakultet Zagreb, Zagreb, str. 95-103..

LISICIN, T., D. POTOČNJAK (2008): Endoskopsko uklanjanje stranih tijela iz probavnog trakta u pasa. *Veterinarska stanica*, 39, 41-50.