

Kvalitativno dokazivanje protutijela za parvovirozu i štenećak u pasa

Curiš, Mija

Master's thesis / Diplomski rad

2024

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:178:110483>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-17**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

VETERINARSKI FAKULTET

SVEUČILIŠNI INTEGRIRANI PRIJEDIPLOMSKI I DIPLOMSKI STUDIJ

VETERINARSKA MEDICINA

DIPLOMSKI RAD

Mija Curiš

Kvalitativno dokazivanje protutijela za parvovirozu i štenećak u pasa

Zagreb, 2024.

Mija Curiš

Odjel za veterinarsko javno zdravstvo i sigurnost hrane

Zavod za mikrobiologiju i zarazne bolesti s klinikom

Predstojnik: Prof.dr.sc. Vilim Starešina

Mentor: Doc.dr.sc. Matko Perharić

Članovi Povjerenstva za obranu diplomskog rada

1. Prof. dr. sc. Zrinka Štritof
2. Prof. dr. sc. Vilim Starešina
3. Doc. dr. sc. Matko Perharić
4. Izv. prof. dr. sc. Suzana Hađina (zamjena)

Rad sadržava 48 stranica, 19 slika, 1 tablicu i 72 literaturna navoda.

Zahvala

Zahvaljujem se svojem mentoru doc.dr.sc Matku Perhariću i asistentici Ivi Zečević na stručnom vodstvu, susretljivosti i pomoći tijekom izrade diplomskog rada ali i za vrijeme mojeg volontiranja na Klinici za zarazne bolesti.

Zahvaljujem se svojim kolegama i prijateljima koji su, tijekom cijelog studija sa mnom dijelili sve brige, s kojima sam zajedno učila te koji su mi uljepšali studentske dane i učinili ih nezaboravnim.

Zahvaljujem se svojim “zaražnjacima“ na dvije godine predivnog druženja, rada i zajedničkog učenja.

Najveća zahvala mojim roditeljima, sestri, bakama i djedu jer su u svakom trenutku vjerovali u mene i bodrili me u ostvarivanju mojih snova.

POPIS KRATICA

μL –mikrolitar

Ab (eng. Antibody) - protutijela

CDV (eng. *Canine distemper virus*) – štenećak

CPV (eng. *Canine parvovirus*) – pseći parvovirus

DNK – deoksiribonukleinska kiselina

ELISA (eng. *enzyme-linked immunosorbent assay*) – imunoenzimski test

IgG – imunoglobulini razreda G

IgM – imunoglobulini razreda M

RNK – ribonukleinska kiselina

PCR (eng. *polymerase chain reaction*) – lančana reakcija polimerazom

VP (eng. *virus protein*) – virusni protein

POPIS SLIKA

Slika 1. Struktura virusa parvoviroze

Slika 2. Krvavi žućkasti proljev

Slika 3. Idexx snap test

Slika 4. Struktura virusa štenećaka

Slika 5. Pas sa konjunktivitisom i periokularnim iscjetkom

Slika 6. Hiperkeratoza mekušića njuške psa

Slika 7. Hipoplazija cakline

Slika 8. Nobivac DHPPi cjepivo

Slika 9. Eurican cjepivo

Slika 10. Vangurad cjepivo

Slika 11. Megacor FASTest CDV-CPV Ab.

Slika 12. Izvođenje Megacor testa za određivanje titra za parvovirozu i štenećak

Slika 13. Rezultati Megacor semikvantitativnog testa. a) Pozitivan rezultat (visok titar), b) Pozitivan rezultat (srednji titar), c) Negativan rezultat

Slika 14. Prikaz podjele ukupnih uzoraka (n=50) na skupinu 1 (n=21) i skupinu 2 (n=29).

Slika 15. Grafični prikaz zaštićenosti pasa protiv parvoviroze i štenećaka u ispitanim uzorcima (n=50)

Slika 16. Grafični prikaz zaštićenosti/nezaštićenosti protiv parvoviroze unutar skupine 1

Slika 17. Grafični prikaz zaštićenosti/nezaštićenosti protiv štenećaka unutar skupine 1

Slika 18. Grafični prikaz zaštićenosti/nezaštićenosti protiv parvoviroze unutar skupine 2

Slika 19. Grafični prikaz zaštićenosti/nezaštićenosti protiv štenećaka unutar skupine 2

POPIS TABLICA

Tablica 1. Intervali vrijednosti titra

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. PREGLED DOSADAŠNJIH SPOZNAJA	2
2.1. Parvoviroza pasa	2
2.1.1. Etiologija i epizootiologija	2
2.1.2. Patogeneza	4
2.1.3. Klinička slika	5
2.1.4. Dijagnostika	7
2.1.5. Liječenje	8
2.2. Štenećak	9
2.2.1. Etiologija i epizootiologija	9
2.2.2. Patogeneza	11
2.2.3. Klinička slika	12
2.2.4. Dijagnostika	15
2.2.5. Liječenje	16
2.3. Imunoprofilaksa	17
3. MATERIJAL I METODE	20
4. REZULTATI	23
5. RASPRAVA	28
6. ZAKLJUČCI	30
7. LITERATURA	31
8. SAŽETAK	40
9. SUMMARY	41
10. ŽIVOTOPIS	42

1.UVOD

Parvoviroza i štenećak globalno su rasprostranjene zarazne bolesti pasa. Prijemljivost oba spola, svih dobnih skupina, visoka kontagioznost i smrtnost zaraženih jedinki osnovne su značajke obje zarazne bolesti. Suzbijanje pojave i širenja spomenutih bolesti najučinkovitije se postiže pravilnom i pravovremenom imunoprofilaksom (DECARO i sur., 2007a.).

Parvoviroza je česta zarazna bolest u populaciji pasa u Republici Hrvatskoj te se njena pojavnost ne veže isključivo za životinje mlađe životne dobi, već je bolest prisutna u jedinki svih starosnih skupina. Riječ je o vrlo kontagioznoj zaraznoj bolesti sa kliničkim znakovima profuznog proljeva, povraćanja praćenog dehidracijom i pojavom hipovolemijskog šoka. Uzročnik bolesti je DNK virus iz porodice *Parvoviridae*, koji je specifičan po tome što nema lipidnu ovojnici, što ga čini otpornim na okolišne čimbenike i većinu standardnih dezinficijensa. Visoki tenacitet virusa omogućava zadržavanje patogenosti i virulencije duži vremenski period izvan domaćina te preživljavanje u okolišu i više od godinu dana (MUZYCZKA i BERNS, 2001.). Po preboljenju infekcije psi mogu izlučivati virus putem izmeta i do četiri tjedna. Također, smatra se da nakon preboljenja bolesti većina pasa razvije doživotnu imunost na spomenutu zaraznu bolest.

Štenećak je zarazna bolest pasa, također proširena na području Republike Hrvatske. Očituje se pojavom širokog spektra kliničkih pojavnosti te razvojem akutnog encefalitisa (KRAKOWA i sur., 1985.). Uzročnik bolesti je RNK virus iz roda *Morbilivirus*, porodice *Paramyxoviridae*. Za razliku od prethodno spomenutog parvovirusa, virus štenećaka sadrži virusnu ovojnici, što ga čini nestabilnim u vanjskoj sredini i osjetljivim na standardne dezinficijense (LAMB i KOLAKOFSKY, 2001.).

Obzirom da je stvaranje aktivne umjetne imunosti cijepljenjem najučinkovitija mjera u suzbijanju pojave obje zarazne bolesti, brojna su istraživanja usmjerena na ispitivanje trajanja postvakinalne zaštite. Mnogi autori, kao i stručnjaci unutar Svjetske veterinarske organizacije za male životinje ističu trajanje imunosti oko tri godine nakon provedene imunoprofilakse parvoviroze i štenećaka u pasa (MOUZIN i sur., 2004.; SCHULTZ 2006.; SCHULTZ 2009.; MITCHELL i sur., 2012.; JENSEN i sur., 2015.).

Cilj ovog rada je utvrditi stupanj imunosti na parvovirozu i štenećak kod pasa na području Zagrebačke županije, kod kojih je prošlo tri ili više godina od posljednjeg cijepljenja.

2. PREGLED DOSADAŠNJIH SPOZNAJA

2.1. Parvoviroza pasa

2.1.1. Etiologija i epizootiologija

Uzročnik parvoviroze pasa je virus, koji prema taksonomskoj klasifikaciji pripada rodu *Protoparvovirus* i porodici *Parvoviridae*. Riječ je o vrlo malom virusu, promjera oko 25nm, bez ovojnice koji sadrži jednolančanu DNK okruženu samo sferičnom nukleokapsidom koja se sastoji od tri proteina (VP1, VP2 i VP3) (Slika 1.) (DECARO i BUONAVOGLIA, 2012.). Godine 1978. infekcija parvovirusom pasa opisana je po prvi puta (APPEL i sur., 1979.), a uzročnik, nazvan pseći parvovirus-2 (engl. *canine parvovirus*, CPV-2), razlikuje se od minutnog virusa pasa (engl. *canine minute virus*, CPV-1) po svojim antigenskim značajkama (CARMICHAEL i BINN, 1981.; CARMICHAEL i sur., 1994.). Sojevi CPV-2 virusa podliježu genetskoj mutaciji što je posljedično rezultiralo pojavom novih sojeva virusa. Godine 1980. originalni soj CPV- 2 evoluirao u podtip 2a, a 1984. godine u podtip 2b. U Italiji 2000.godine dolazi do izdvajanja podtipa 2c virusa. Navedeni soj poznat i kao Glu426, kod kojeg je došlo do zamjene aminokiseline aspartata na 426. poziciji sa glutaminskom kiselinom te promjene epitopa A, danas je raširen diljem. Te izmjene CPV soja povezuju se sa genetskim adaptacijama i promjenama kapsidnog epitopa B čime je omogućeno širenje i brža replikacija virusa. (PARRISH i sur., 1991.; BUONAVOGLIA i sur., 2001.).

Genetske mutacije površinskih transferinskih receptora virusa rezultirale su strukturalnim izmjenama koje kontroliraju adaptaciju virusa u domaćinu i mogu dovesti do unakrižne reakcije pri imunološkim testiranjima. Genetski različiti sojevi mogu se razlikovati u svojoj virulenciji (MOCHIZUKI i sur., 2002.).

Pseći parvovirus iznimno je otporan na vanjske okolišne uvjete te većinu standardnih dezinficijensa što mu omogućava preživljavanje izvan domaćina i do 12 mjeseci (MUZCYCKA i BERNS, 2001.; NANDI i KUMAR, 2010.).



Slika 1. Struktura virusa (GREENE i DECARO, 2011.).

Parvovirusna infekcija kod pasa vrlo je zarazna virusna bolest, a primarni izvor infekcije je feces zaraženih životinja (APPEL i sur., 1979.). U prirodnim uvjetima, osjetljive na infekciju CPV-2 su domaći psi, kojoti, divlji psi, vukovi, šumske lisice i druge vrste iz porodice *Canidae*. Pokazalo se da sojevi CPV-2a i CPV-2b mogu izazvati infekciju i kod mačaka, kako u prirodnim, tako i u eksperimentalnim uvjetima (MOCHIZUKI i sur., 1996.; TRUYEN i sur., 1996.). Virus ulazi kroz oronazalnu sluznicu, a infekcije se najčešće javljaju kao rezultat izravnog kontakta zdravih životinja s površinama i predmetima kontaminiranim izmetom zaraženih pasa. Dodatno, virus se može prenijeti mehanički putem ljudi, opreme, insekata i glodavaca (GREENE i DECARO, 2011.). Zaraženi psi izlučuju virus i prije pojave kliničkih znakova bolesti te nekoliko tjedana po preboljenju što dodatno pogoduje širenju zarazne bolesti među populacijom pasa (GREENE i DECARO, 2011.). Parvovirus pasa tipa 2 ima afinitet prema brzodijelećim stanicama, što dovodi do oštećenja stanica crijevnih kripti i limfnog tkiva, a može zahvatiti i druge organe, uključujući mozak (DECARO i sur., 2009.). Najteži simptomi obično se javljaju kod mladih pasa, posebno onih s endoparazitskim infestacijama ili bakterijskim infekcijama probavnog trakta. Smrtnost među osjetljivim jedinkama iznimno je visoka. Parvovirusna infekcija pasa javlja se u svim pasminama, dobnim skupinama i spolovima, ali se najčešće vidi kod pasa starih između šest tjedana i šest mjeseci. Neka istraživanja sugeriraju genetsku predispoziciju kod pasmina poput rottweilera, doberman pinča, labrador retrievera, staforskog terijera, njemačkog ovčara i aljaškog malamuta, koje su sklonije obolijevanju u usporedbi s drugim pasminama (DAY, 1999.; DYER i sur., 2012.).

2.1.2. Patogeneza

Širenje psećeg parvovirusa (CPV-2) odvija se primarno oronazalnim kontaktom psa s izmetom zaražene životinje ili kontaminiranom okolinom. Nakon ulaska u organizam, virus započinje replikaciju u limfoidnom tkivu gastrointestinalnog sustava, šireći se zatim do germinativnog epitela crijevnih kripti, gdje inficira stanice probavnog sustava, što uzrokuje proljev (POLLOCK, 1982.; GREENE i DECARO, 2011.). Uz oštećenje crijevnog epitela, CPV-2 utječe i na leukocite, dovodeći do propadanja limfnog tkiva, što može rezultirati limfopenijom i neutropenijom u težim oblicima bolesti (POLLOCK, 1982.).

Infekcija započinje izlaganjem izuzetno maloj infektivnoj dozi virusa, dok zaraženi psi izlučuju velike količine virusa putem fecesa (POLLOCK i sur., 1990.). Viremija, koja se javlja 1-5 dana nakon infekcije, omogućuje virusu da dospije u različita tkiva, uključujući epitel jezika, oralnu i ezofagealnu sluznicu, tanko crijevo te limfne organe poput timusa, limfnih čvorova i koštane srži. Virus je također prisutan u plućima, slezeni, jetri i bubrezima. Kod vrlo mlade štenadi, u dobi od 2-3 tjedna, virus može inficirati stanice miokarda, iako se taj oblik bolesti rijetko viđa zbog prisutnosti majčinih protutijela koja pružaju zaštitu mladim jedinkama (DECARO i sur., 2011.). U crijevnim kriptama uzrokuje propadanje germinativnog epitela i atrofiju crijevnih resica, dok u koštanoj srži uništava prekursore leukocita, što dovodi do limfopenije i neutropenije u krvi (DECARO i sur., 2011.). Sekundarne bakterijske infekcije predstavljaju čestu komplikaciju, jer oštećenje crijevne sluznice omogućuje prodor bakterija iz crijeva u krvotok.

Virus se aktivno izlučuje fecesom već 3-4 dana nakon početne infekcije. Izlučivanje doseže vrhunac između 7. i 10. dana, što je potvrđeno imunoenzimnim testovima (eng. *enzyme-linked immunosorbent assay*, ELISA), dok real-time PCR testovi mogu detektirati virusne varijante CPV-2a i CPV-2b i nekoliko tjedana nakon infekcije. Specifična protutijela protiv virusa mogu se detektirati u krvi najranije 3-4 dana nakon infekcije (GREENE i DECARO, 2011.).

2.1.3. Klinička slika

Infekcija parvovirusom povezuje se najčešće s kliničkim znakovima triju organskih sustava, gastrointestinalni sustav, koštana srž te miokard. Klinička slika u pasa može varirati od inaparentne pa sve do teških akutnih oblika bolesti. Težina kliničke slike je uvjetovana dobi, pasminom, prethodnim stresom i, posebno, stanjem imunološkog sustava. Mladi psi, posebice štenci mlađi od 12 tjedana, s još uvijek nezrelim imunološkim odgovorom, su najpodložniji teškim oblicima bolesti. Osim toga, brza dioba stanica u njihovim tkivima čini ih osjetljivijima na virusnu replikaciju. Kod starijih i imunološki jačih životinja, infekcija može biti blaža ili čak asimptomatska, dok se inaparentne infekcije javljaju u štenadi koja su i dalje zaštićena majčinim protutijelima (GREENE i DECARO, 2011.).

Rani klinički znakovi parvoviroze pasa uključuju depresiju, gubitak apetita, povraćanje, proljev te povišenu tjelesnu temperaturu (NANDI i KUMAR, 2010.). Najčešći oblik infekcije uzrokovane CPV-om je enteritis. Simptomi akutnog enteritisa uključuju obilno povraćanje, profuzni krvavi proljev, anoreksiju i tešku dehidraciju. Proljev je najčešće vodenast, žućkasto-sive boje, a može sadržavati primjese krvi (Slika 2.) (FLETCHER i sur., 1979.). Kod nekih pasa dolazi do gubitka peristaltike, što uzrokuje nekontrolirani proljev, često bez karakterističnog zauzimanja stava za defeciranje.

Uobičajeni nalaz u krvnoj slici kod parvoviroze je leukopenija, a u teškim slučajevima može se javiti limfopenija i neutrofilija, posebno ako je prisutna sekundarna infekcija oportunističkim bakterijama (DECARO i sur., 2005.; GREENE i DECARO, 2011.). Miokarditis je danas rijetko kliničko očitovanje parvoviroze zbog zaštite majčinim protutijelima, što sprječava razvoj ove komplikacije u vrijeme kada se stanice miokarda brzo dijele (ROBINSON i sur., 1980.). Trajanje kliničkih simptoma obično varira između 5 i 7 dana, a težina simptoma ovisi o infektivnoj dozi virusa (NANDI i KUMAR, 2010.). Smrtnost kod štenadi može biti i do 70%, dok je kod odraslih pasa ispod 1% (GREENE i DECARO, 2011.).



Slika 2. Karakterističan žućkasti proljev (Ljubaznošću djelatnika Klinike za zarazne bolesti).

Neurološki znakovi kod pasa zaraženih psećim parvovirusom (CPV-om) najčešće su posljedica hipoglikemije koja se javlja u mlade štenadi zbog anoreksije, a mogu biti rezultat i ozbiljnih komplikacija poput diseminirane intravaskularne koagulacije, sepse ili elektrolitskog disbalansa (AGUNGPRIYONO i sur., 1999.). Primarna neurološka bolest može biti povezana s CPV infekcijom, ali češće se javlja uslijed krvarenja u centralnom živčanom sustavu. Bez obzira na prisutnost neuroloških simptoma, titar protutijela na ovaj virus često je prisutan u mozgu pasa, što ukazuje na mogućnost replikacije virusa unutar moždanog tkiva (DECARO i sur., 2007b.).

Poseban oblik parvoviroze koji pogađa izrazito mladu štenad, obično u dobi od 4 do 8 tjedana, je miokarditis. Infekcija štenadi miokarditisom najčešće se događa in utero. U slučaju infekcije unutar legla, smrtnost može doseći 70% zbog zatajenja srca, dok preostalih 30 % štenadi razvija kronične patološke promjene koje dovode do smrti u kasnijoj dobi, bilo nekoliko mjeseci ili godina kasnije (MOCHIZUKI i sur., 1996.). Najčešći klinički znakovi kod štenadi s akutnim zatajenjem srca uključuju hladne ekstremitete, blijede sluznice, agonalno disanje ili konvulzije. Kod starije štenadi, u dobi iznad 8 tjedana, češće se javlja subakutno zatajenje srca, koje se očituje simptomima poput tahipneje ili dispneje, posebno nakon fizičkog napora, povećanog abdomena, hepatomegalije, ascitesa i tahikardije s aritmijama (CARPENTER i sur., 1980.). Većina štenadi ugiba zbog kardiogenog šoka. Kod ovog oblika bolesti proljev nije čest

simptom, jer se virus u ovoj dobi primarno replicira u mišićnim stanicama srca koje su u aktivnom razvoju (ROBINSON i sur., 1980.).

2.1.4. Dijagnostika

Parvoviroza se može posumnjati na temelju anamneze, cijepljenog statusa te kliničkih simptoma poput proljeva i povraćanja, no dijagnostika ne bi smjela biti zasnovana isključivo na tim parametrima jer postoje i drugi uzročnici kod pasa koji mogu pokazivati sličnu kliničku sliku (npr. koronavirusni enteritis, kampilobakterioza ili klostridioza). U suvremenoj praksi koriste se brzi SNAP testovi, koji se temelje na imunoenzimatskom testu (ELISA) i omogućuju kvalitativnu detekciju antigena virusa u izmetu (Slika 3.) (BARBIĆ i sur., 2020.). Ovi testovi su korisni za brzu i jeftinu dijagnostiku, ali njihova specifičnost često nadmašuje osjetljivost, što može utjecati na pouzdanost rezultata u detekciji parvovirusne infekcije (WANNER i sur., 2003.).

Važno je napomenuti da se virus izlučuje putem fecesa 5 do 7 dana nakon pojave kliničkih znakova, pa negativan rezultat izvan tog perioda ne isključuje infekciju te ga je potrebno potvrditi dodatnim dijagnostičkim metodama. Također, izlučivanje virusa može biti intermitentno. SNAP testovi detektiraju sve tri varijante virusa (a, b, c), a pozitivan rezultat se smatra sigurnom potvrdom parvovirusne infekcije, osim ako je test proveden neposredno nakon cijepljenja životinje atenuiranom vakcinom (GREENE i DECARO, 2011.).



Slika 3. Idexx snap test (Ljubaznošću djelatnika Klinike za zarazne bolesti).

U današnje vrijeme, molekularne metode za detekciju CPV-2 virusa, temeljene na lančanoj reakciji polimerazom (eng. *polymerase chain reaction*, PCR), sve su češće u upotrebi (NANDI i KUMAR., 2010.). PCR tehnologija nije samo izrazito osjetljiva, već omogućuje i identifikaciju različitih podtipova virusa (PEREIRA i sur., 2000.). Metoda PCR u stvarnom vremenu (eng. *real-time* PCR) može otkriti vrlo mali broj virusnih čestica u uzorku, kao i odrediti specifičan podtip, što je posebno korisno kod pasa koji su nedavno cijepljeni. Naime, kod takvih pasa prisutan je cijepni soj, koji standardni PCR ne može razlikovati od prirodno prisutnih terenskih sojeva (NANDI i sur., 2009.).

2.1.5. Liječenje

Liječenje se svodi na simptomatsku/potpornu terapiju. Glavni ciljevi terapije su stabilizacija pacijenta, rehidracija, obnova ravnoteže elektrolita, kontrola povraćanja i proljeva te prevencija sekundarnih bakterijskih infekcija (GREENE i DECARO, 2011.).

Rehidracija i obnova elektrolita predstavljaju osnovu terapije. Intravenska primjena izotoničnih tekućina često je potrebna, pri čemu se sastav i brzina infuzije prilagođavaju stanju pacijenta (MACINTIRE i SMITH-CARR, 1996.). Primjena uravnoteženih otopina obogaćenih glukozom ključni su za korigiranje hipoglikemije kod mladih pasa (MAZZAFERRO, 2020.).

Kontrola povraćanja i proljeva ostvaruje se primjenom antiemetika poput maropitanta, ondansentrona ili metoklopramida, čime se smanjuje mučnina i rizik od dodatnog gubitka tekućine, a omogućava se bolja apsorpcija hranjivih tvari. Antibiotička terapija važna je zbog rizika od sekundarnih bakterijskih infekcija koje nastaju zbog oštećenja crijevne sluznice, što omogućuje bakterijama da prodru u krvotok. Primjenjuju se antibiotici širokog spektra kao što su ampicilin, cefalosporini ili metronidazol, koji pokrivaju gram-pozitivne i gram-negativne bakterije (SYKES, 2014.). Kontrola boli, premda često zanemarena, također predstavlja značajan dio terapijskog protokola. Buprenorfin ili drugi opioidni analgetici mogu se primijeniti za smanjenje nelagode, čime se poboljšava kvaliteta života psa tijekom oporavka.

Rana enteralna prehrana preporučuje se čim pas može podnijeti hranu, jer ona pomaže u održavanju integriteta crijeva i podržava imunološki oporavak. Studije su pokazale da uvođenje blage, lako probavljive dijeta može poboljšati oporavak i skratiti vrijeme hospitalizacije (PRITTIE, 2004.).

Antivirusni lijekovi poput oseltamivira istraženi su kao dodatak terapiji, no njihova učinkovitost kod parvoviroze ostaje nedovoljno dokazana (SAVIGNY i MACINTIRE, 2010.). Također, korištenje imunoglobulina i seruma sa specifičnim antitijelima razmatra se kao terapija, no dostupnost takvih proizvoda može biti ograničena i njihova učinkovitost varijabilna (DECARO i sur., 2007a.).

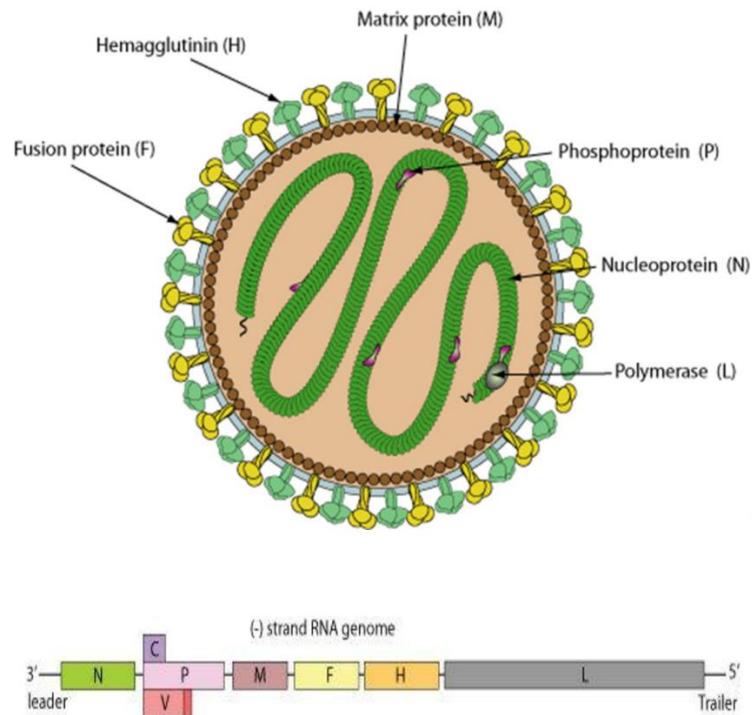
Sveobuhvatna skrb i pravodobno liječenje od iznimne su važnosti za preživljavanje i oporavak pasa zaraženih parvovirusom, a prognoza ovisi o brzini intervencije i težini kliničke slike (GREENE i DECARO, 2011.).

2.2. Štenećak

2.2.1. Etiologija i epizootiologija

Uzročnik štenećaka je RNK virus (engl. *Canine distemper virus*, CDV), veličine oko 150-250 nm, iz roda *Morbilivirus*, porodice *Paramyxoviridae*. Pleomorfnog je oblika i sadrži jednolančanu RNK okruženu s nukleokapsidom helikalna oblika (GREENE i APPEL, 2006.). Za razliku od parvovirusa, sadrži lipoproteinsku ovojnici građenu od 6 glikoproteina. Tri proteina vezana su za nukleokapsid (polimerazni protein (L), fosfoprotein (P) i RNA-vezni protein (N)) te tri membranska proteina (hemaglutininski protein (H), fuzijski protein (F) i matrični protein (M)) (LAMB i KOLAKOFSKY, 2001.; MACLACHLAN i DUBOVI, 2001.) (Slika 4.). Virus kodira proteine zaslužne za integriranje u membranu stanica što dovodi do oštećenja stanica putem imunosno-posredovane citolize (NISHI i sur., 2004.; WIENER i sur., 2007.).

Na površini limfocita i monocita nalaze se glikoproteinski i celularni receptori koji omogućavaju vezanje virusa pomoću svojih H i F proteina što omogućava njegovo brzo širenje u limfoidnim tkivima. Imunosupresija nastaje zbog virusom uzrokovane citolize stanica, ali i zbog inhibicije lučenja interferona i citokina od strane limfoidnih stanica (VON MESSLING i sur., 2006.).



Slika 4. Struktura virusa Štenećaka.

(izvor: https://viralzone.expasy.org/556?outline=all_by_species)

H protein ima ključnu ulogu u infekciji jer prepoznaje specifične molekule na površini stanica domaćina (MACLACHLAN i DUBOVI, 2011.). Na temelju genetskih razlika u H-proteinu, do danas je utvrđen samo jedan serotip virusa s više genotipova (KE i sur., 2015.). Identificirane su i različite linije virusa vezane uz geografske regije, kao što su Asia-1, Asia-2, Asia-3, Europe, America-1, America-2 (YUAN i sur., 2017.), te Africa (WOMMA i sur., 2010.).

F protein virusa štenećaka ima ključnu ulogu u procesu fuzije virusne membrane s membranom stanice domaćina, omogućavajući ulazak virusne RNK u stanicu (LAMB i KOLAKOFSKY, 2001.). Aktivacija F proteina zahtijeva proteolitičku obradu, nakon čega on mijenja konformaciju kako bi se omogućila fuzija membrana (MACLACHLAN i DUBOVI, 2011.). Također, F protein je esencijalan za širenje virusa među stanicama, čime direktno doprinosi patogenosti virusa (GREENE i APPEL, 2006.). Postoje određene razlike u patogenosti pojedinih sojeva što može utjecati na jačinu kliničke i oblik kliničke slike. Pojedini sojevi su izrazito virulentni i neurotropni što rezultira ili encefalomijelitisom ili demijelinizacijom. Osim prije navedenih F proteina, na mogućnost razvoja znakova od strane živčanog sustava utječu i N i M proteini (STETTLER i sur., 1997.).

Uzročnik je osjetljiv na ultravioletno svjetlo, temperature od 50 do 60 °C stupnjeva gdje se inaktivira nakon 30 minuta. U tkivima i sekretima na temperaturi od 37 °C stupnjeva preživljava do 1 h. Vrijeme preživljavanja virusa štenećaka duže je pri nižim temperaturama. Na temperaturama blizu smrzavanja (0 °C do 4 °C), virus preživljava u okolišu tjednima. Ispod temperature smrzavanja virus je stabilan i preživljava na -65 °C najmanje 7 godina. Virus je osjetljiv na eter, kloroform, formalin, fenol i kvarter amonijeve spojeve što omogućava njegovu eliminaciju iz okoliša temeljitom dezinfekcijom. (GREENE i VANDEVELDE, 2011.).

Virus se najčešće prenosi aerosolom ili kapljičnom infekcijom putem sekreta iz dišnog sustava te direktnim kontaktom između životinja. Uzročnika je moguće izolirati iz većine tkiva čak i urina. Kontakt između subklinički inficiranih životinja je ključan za širenje virus unutar populacije. Smatra se da je imunost na štenećak nakon preboljene infekcije doživotan. Psi koji nisu redovito cijepljeni mogu uslijed stresa ili imunosupresije postati inficirani. Zabilježeno je da stopa infekcije puno veća od same stope obolijevanja što može upućivati na prisutnu cijepnu imunost ili imunost nastalu uslijed prirodne izloženosti virusu u okolišu (CORRAIN i DiFRANCESCO, 2007.). Mnogi psi mogu postati subklinički inficirani ali uspješno eliminirati uzročnika iz organizma. Najčešća pojava štenećaka je u štenadi starosti od 3-6 mjeseci.. Zamijetilo se da se bolest češće javljala u određeno godišnje doba i to učestalije za vrijeme hladnijeg vremena (GREENE i VANDEVELDE, 2011.).

2.2.2. Patogeneza

Virus štenećaka se primarno izlučuje putem oro-nazalnih sekreta, a u organizam ulazi putem respiratornog sustava. Replikacija virusa prvo se odvija u limfoidnim tkivima respiratornog sustava i to unutar monocita i makrofaga. Virus se potom širi kroz krvotok, u prvoj fazi viremije, dosežući limfne organe, uključujući slezenu, tonzile i limfne čvorove. Ovdje CDV cilja stanice imunološkog sustava, osobito limfocite, što dovodi do limfopenije i imunosupresije, čime se kompromitira imunološka obrana domaćina (KRAKOWA i sur., 1980.; MARTINEZ-GUTIERREZ i RUIZ-SAENZ, 2016.). Sekundarna viremija javlja se nekoliko dana kasnije i nastaje kao rezultat infekcije stanica i tkiva unutar respiratornog, gastrointestinalnog, urinarnog, endokrinog, i centralnog živčanog sustava te keratinocita, fibroblasta i trombocita. (KOUTINAS i sur., 2004.).

Virus ulazi u parenhim mozga putem manjih krvnih žila i lokalizira se u perivaskularnom prostoru gdje ga se prvo može detektirati u perivaskularnim astrocitima. Putem sistemske cirkulacije virus ulazi u koroidni pleksus četvrtog ventrikula gdje se i umnaža. Tip lezije koji će se pojaviti unutar centralnog živčanog sustava ovisi o dobi psa, imunokompetenciji, neurotropnosti virusa i njegovom imunosupresivnom djelovanju (RUDD i sur., 2006., RUDD i sur., 2010.).

Akutni encefalitis javlja se rano u tijeku infekcije u mladim imunokompromitiranim životinjama. Okarakteriziran je lezijama sive i bijele tvari mozga gdje su lezije sive tvari posljedica infekcije neurona i nekroze što vodi ka poliencefalomalaciji. Aktivna replikacija nukleokapside odvija se u bijeloj tvari mozga odnosno mikroglia i astroglia stanicama i dovodi do akutne neupalne demijelinizacije. Iako ne dolazi do tolike zahvaćenosti oligodendroglia stanica ali njihova je funkcija oštećena (WÜNSCHMANN i sur., 1999.; GREENE i VANDEVELDE, 2011.). Kod subakutnog do kroničnog encefalitisa dolazi do demijelinizacije uzrokovane imunomnom reakcijom. Za vrijeme oporavka pasa od limfoidne deplecije dolazi do značajnog porasta T i B limfocita što nije vidljivo u pasa sa akutnim encefalitisom (WÜNSCHMANN i sur., 2000.).

Širenje uzročnika krvlju na središnji živčani sustav uvelike će ovisiti o humoralnoj i staničnoj imunosti jedinke. U imunokompetentnih pasa dolazi do stvaranja specifičnih IgG protutijela unutar 14 dana od infekcije, koja neutraliziraju virus ekstracelularno i onemogućavaju njegovo intracelularno umnažanje što će rezultirati uklanjanjem virusa iz organizma (GREENE i VANDEVELDE, 2011.).

2.2.3. Klinička slika

Klinički simptomi štenecaka kod pasa mogu značajno varirati, ovisno o imunomnom odgovoru životinje, dobi, virulenciji soja virusa te prisutnosti sekundarnih infekcija (GREENE i APPEL, 2006.).

Inkubacijski period štenecaka obično traje od 3 do 6 dana. Nakon tog perioda virus se širi limfnim sustavom, uzrokujući limfopeniju i imunosupresiju kod inficiranih pasa. Prvi klinički znakovi su nespecifični i uključuju vrućicu, letargiju, gubitak apetita i blagi iscjedak iz nosa i očiju. U početnoj fazi bolesti, svega nekoliko dana nakon infekcije, dolazi do pojave

povišene tjelesne temperature, dok se druga faza bolesti javlja kasnije, prateći daljnju progresiju bolesti (APPEL i sur., 1984.; WINTERS i sur., 1984.).

S progresijom bolesti CDV inficira respiratorni trakt, uzrokujući respiratorne simptome kao što su kašalj, kihanje, iscjedak iz nosa i očiju te otežano disanje (Slika 5.). Sekundarne bakterijske infekcije, poput infekcija uzrokovanih bakterijama *Bordetella bronchiseptica* i *Mycoplasma spp.*, česte su i dodatno pogoršavaju respiratorne simptome. Infekcija gastrointestinalnog sustava manifestira se simptomima poput povraćanja, proljeva i dehidracije. Proljev može biti krvav, što ukazuje na ozbiljnu infekciju crijeva i oštećenje sluznice, a dolazi uslijed djelovanja oportunističkih bakterija kao što su *Salmonelle* (MARTELLA i sur., 2008.). Ovi gastrointestinalni simptomi mogu brzo dovesti do dehidracije i iscrpljenosti, što dodatno oslabljuje imunološki sustav životinje (MARTINEZ-GUTIERREZ i RUIZ-SAENZ, 2016.).

U uznapredovalim fazama štenećaka virus često prelazi krvno-moždanu barijeru i zahvaća središnji živčani sustav. Neurološki simptomi, karakteristični za kasnije stadije bolesti, uključuju tremor, ataksiju, pareze, promjene u ponašanju, hipersalivaciju i napadaje. U najtežim slučajevima, neurološka zahvaćenost može završiti komom ili smrću zbog generaliziranih napadaja. Neurološki simptomi mogu perzistirati i nakon oporavka, uzrokujući trajna neurološka oštećenja, koja mogu značajno utjecati na kvalitetu života psa (HEADLEY i sur., 2012.).



Slika 5. Pas sa konjunktivitisom i periokularnim iscjetkom (MARTELLA i sur., 2008.).

Kožni oblik štenećaka manifestira se hiperkeratozom jastučića šapa i nosa, što predstavlja karakterističan simptom bolesti i može olakšati kliničku dijagnozu (Slika 6.). Hiperkeratoza se često javlja u kombinaciji s neurološkim simptomima i obično označava teži oblik bolesti. Zbog imunosne supresije izazvane virusom, psi oboljeli od štenećaka često su skloni sekundarnim bakterijskim infekcijama, osobito u respiratornom i gastrointestinalnom sustavu. Te infekcije pogoršavaju kliničku sliku i mogu otežati liječenje (GREENE i APPEL, 2006.).



Slika 6. Hiperkeratoza mekušci i njuške psa (GREENE i VANDEVELDE, 2011.).

U mlade štenadi prije pojave trajnih zubiju, uslijed infekcije virusom štenećaka, dolazi do oštećenje cakline, dentina i korijena zubiju. Hipoplazija cakline nije samo moguća pojava u štenadi već se može javiti i u starijih pasa koji su se oporavili od takozvanog neonatalnog štenećaka (Slika 7.) (GREENE i VANDEVELDE, 2011.).



Slika 7. Hipoplazija cakline (MARTELLA i sur., 2008.).

2.2.4. Dijagnostika

U dijagnostici štenećaka uvelike mogu pomoći laboratorijski nalazi koji u slučaju oboljele jedinke pokazuju limfopeniju uslijed limfoidne deplecije. Također, intracitoplazmatske inkluzije moguće je pronaći u ranoj fazi bolesti unutar limfocita, a rjeđe monocita i neutrofila (GREENE, 2011.).

Za detekciju antigena može se koristiti i imunofluorescencija iz obrisaka konjunktiva i nosa, ali njena osjetljivost je mala i može detektirati antigen samo 3 tjedan nakon infekcije kada se virus idalje nalazi unutar epitelnih stanica. Danas je najviše razvijena uporaba molekularnih metoda dijagnostike koje su i osjetljivije i specifičnije za dijagnostiku štenećaka. Također, putem primjene nested PCR-a moguće je razlikovati cijepne sojeve virusa od terenskih. Uzorak za PCR mogu biti puna krv, serum, cerebrospinalni likvor, bris konjunktiva, bris nosa, bris oka te bris ždrijela (MARTELLA i sur., 2007.).

Titar protutijela moguće je detektirati i do nekoliko mjeseci nakon cijepljena ili preboljene infekcije. U tu svrhu najčešće se upotrebljava ELISA, virus neutralizacijski test, indirektna imunofluorescencija. Specifična IgM protutijela mogu se moći detektirati putem ELISE i do 3 mjeseca nakon infekcije štenećakom (BLIXENKRONE- MOLLER i sur., 1991.).

2.2.5. Liječenje

Liječenje uključuje simptomatsku terapiju. Naglasak se stavlja na sprječavanje nastanka sekundarnih bakterijskih infekcija koje često dovode do pneumonija ponajviše uzrokovanim bakterijom *Bordetellom bronchisepticom*. Ponajviše se primjenjuju antibiotici širokog spektra djelovanja kao što su ampicilin, tetraciklini i slični, imajući na umu da se primjena tetraciklina ne preporučuje u mlade štenadi jer može dovesti do diskoloracije zubiju. Intravenska tekućinska terapije je obavezna, pogotovo ako je riječ o pacijentu koji ne jede. Primjena vitamina B kompleksa pokazala se dobro za poticanje apetita u životinja. Neurološki znakovi, nažalost, nisu izlječivi i u velikom broju slučajeva su ireverzibilni pogotovo mioklonus, ali konvulzije je moguće zaustaviti primjenom diazepama ili fenobarbitona. Vlasnike pasa bitno je upozoriti da neurološki znakovi mogu zaostati i biti progresivni unatoč izlječenju životinje. U slučajevima kroničnog encefalitisa moguća je primjena niskih doza glukokortikoida s čime se eventualno može kontrolirati sljepoća uslijed optičkog neuritisa (GREENE i VANDEVELDE, 2011.).

2.3. Imunoprofilaksa

Po naputku *WSAVA VGG grupe* (eng. *World Small Animal Veterinary Association Vaccination Guidelines Group*) cjeviva protiv parvoviroze i štenećaka svrstavaju se u osnovna cjeviva (eng. *Core vaccines*). Riječ je o modificiranom živom cjevivu odnosno živom atenuiranom cjevivu, koje sadrži žive ali oslabljene uzročnike bolesti kojima ostaje sposobnost inficiranja stanica i umnažanja unutar stanica čime postižu nastanak stanične i humoralne imunosti bez izazivanja nastanka bolesti. Njihova primjena potrebna je najčešće u nižim dozama, a primjena samo u jednoj dozi u periodu opadanja titra majčinih protutijela rezultira dugotrajnom imunosti i do nekoliko godina (SQUIRES i sur., 2024.).

Spomenuta majčina protutijela, koja štenad dobivaju putem kolostruma, imaju veliku ulogu u provedbi cijepljenja. Naime, ona utječu na mogućnost razvoja aktivne imunosti u mladih životinja (DIGANGI i sur., 2011.). Majčina protutijela sprječavaju nastanak imunoglobulina G i poticanje nastanka aktivne imunosti cijepljenjem. Opadanje titra majčinih protutijela na razinu koja omogućava uspješnu aktivnu imunizaciju štenadi odvija se oko 8 do 12 tjedna života. Period kad su majčina protutijela nedovoljna za zaštitu, a ometaju nastanak aktivne imunosti cijepljenjem, naziva se „period osjetljivosti“ te tijekom tog perioda, kako je već navedeno, štenad ne može odgovoriti na cijepljenje stvaranjem aktivne imunosti, ali je osjetljiva na bolest ako dođe u kontakt sa antigenom (SQUIRES i sur., 2024.).

Kako je spomenuti period jako teško predvidjeti, bez upotrebe seroloških testiranja, cijepljenje štenadi odvija se primjenom višestrukih doza s ciljem stimuliranja aktivne imunosti. Preporuka je da se prvo cijepljenje štenadi provede sa navršenih 6 do 8 tjedana starosti i ponovi svaka dva do četiri tjedna sve do navršenih 16 tjedana starosti. Najvažnija je primjena cjeviva u 16- tom tjednu starosti jer se tada očekuje da je koncentracija majčinih protutijela dovoljno niska (SQUIRES i sur., 2024.). Pokazalo se da ponekad i cijepljenje u tom 16 tjednu života, u manjem postotku pasa, ne rezultira stvaranjem aktivne imunosti (THIBAUT i sur., 2016.). Imajući to na umu, preporuka je da se cijepljenje provede još jednom sa navršenih 26 + tjedana starosti. Sa završenim cijepnim protokolom, ponavljanje cijepljenja može se provoditi svake tri godine (BÖHM i sur., 2004.).

U odraslih pasa čija povijest cijepljenja nije poznata, jedna doza cjeviva će vjerojatno biti dovoljna za nastanak dugotrajne aktivne imunosti. U određenim slučajevima, moguća je primjena i druge doze cjeviva 2 do 4 tjedna nakon prve (SQUIRES i sur., 2024.).

Najčešće danas korištena cjepiva protiv zaraznih bolesti su Nobivac (Slika 8.), Eurican (Slika 9.) i Vanguard (Slika 10.). Živi atenuirani virus parvoviroze i štenećaka nalaze se u liofilizatu odnosno prašku bjelkaste do svijetlo žućkaste boje dok se u suspenziji nalaze inaktivirani sojevi bakterije *Leptospira spp.*

Pitanje koliko često je potrebno provoditi cijepljenje protiv zaraznih bolesti, postavlja se zbog sve češće zabilježenih cjepnih nezgoda (eng. *Vaccine-associated adverse events*). Cjepne nezgode definiraju se kao štetne, nenamjerne posljedice primjene cjepiva, a uključuju reakcije preosjetljivosti, nastanak bolesti, ozljede, toksičnost. Najčešće su zabilježene lokalne reakcije poput boli i otoka na mjestu potkožne aplikacije cjepiva, ali i sistemske reakcije poput nastanka letargije, vrućice, anoreksije te povraćanja (MOORE i sur., 2005.; MIYAJI i sur., 2012.; YOSHIDA i sur., 2022.). Manjak djelotvornosti također se svrstava u cjepne nezgode, a posljedica je načina skladištenja cjepiva (SQUIRES i sur., 2024.). Jedinствена doza za sve veličine pasa navodi se kao uzrok za moguće cjepne nezgode, pogotovo u malih pasmina pasa (MOORE i sur., 2005.).

Smatra se da cijepljeni psi imaju dugotrajnu imunost protiv parviroze i štenećaka u trajanju i od nekoliko godina, čak i bez ponovnog cijepljenja (BÖHM i sur., 2004.; MOUZIN i sur., 2004.; MITCHELL i sur., 2012.; JENSEN i sur., 2015.).



Slika 8. Nobivac cjepivo (Ljubaznošću djelatnika Klinike za zarazne bolesti).



Slika 9. Eurican cjepivo (Ljubaznošću djelatnika Klinike za zarazne bolesti).



Slika 10. Vanguard cjepivo

(izvor: <https://didmena.limedika.lt/vanguard-plus-7-1ds-zoetis>).

3. MATERIJAL I METODE

Materijal korišten za potrebe ovoga istraživanja je plazma pasa. U istraživanju su analizirani arhivski uzorci plazme pasa koji su uzorkovani u svrhu kliničke obrade pacijenata na Klinici za zarazne bolesti Veterinarskog fakulteta. Za potrebe rada sveukupno je pretraženo 50 uzoraka plazme. Pretraživani uzorci plazme potječu od pasa koji su bili podvrgnuti pravilnom imunoprofilaktičnom protokolu cijepljenja protiv parvoviroze i štenećaka no od posljednjeg cijepljenja je prošlo više od tri godine. Svi psi cijepljeni su odobrenim i tržišno dostupnim cjepivima Vanguard, Eurican ili Nobivac. Venepunkcija je provedena aseptičnom metodom, sterilnom iglom i brizgalicom iz *v. jugularis* ili *v. cephalice antebrachi*. Neposredno nakon vađenja krvi i pohrane u odgovarajuću epruvetu, uzorci su centrifugirani te potom skladišteni u zamrzivač pri -30 °C. Navedeni uzorci plazme (n=50) podijeljeni su u dvije skupine. Prvu skupinu (n=21) činili su uzorci plazme pasa kod kojih je od posljednjeg cijepljenja prošlo od tri do pet godina, dok su drugu skupinu (n=29) činili uzorci plazme onih pasa kod kojih je od posljednjeg cijepljenja prošlo više od pet godina.

Nakon odmrzavanja i postepenog zagrijavanja do sobne temperature uzorci plazme pasa pretraživani su komercijalno dostupnim testom Megacor FASTest® CDV-CPV Ab (Slika 11.). Radi se o semikvantitativnom brzom imunokromatografskom testu za dokaz protutijela pasa na virus parvoviroze i štenećaka. Primarna uloga navedenog testa je utvrđivanje stupnja zaštite pasa protiv parvoviroze i štenećaka, odnosno utvrđivanje potrebe za imunoprofilaksu navedenih zaraznih bolesti. Klinički uzorak pogodan za testiranje je puna krv, plazma ili serum psa. Test se izvodi prema uputi proizvođača tako da se 5 µl plazme pomiješa sa razrjeđivačem (eng. Buffer diluent), te se potom uz pomoć priložene pipete 4 kapi dobivene otopine nakapa u za to predviđena polja na testnim kazetama (Slika 12.). Očitavanje testa provodi se nakon 10 minuta. Valjani rezultat testa može biti pozitivan, gdje se titar svrstava u visoki ili srednji te negativan (Tablica 1.).

Tablica 1. Intervali vrijednosti titra.

POZITIVAN (VISOK) TITAR	POZITIVAN (SREDNJI) TITAR	NEGATIVAN REZULTAT
CDV >1:64	CDV ≥1:16 <1:32	CDV <1:16
CPV >1:320	CPV ≥1:80 <1:160	CPV <1:80

Pozitivan nalaz testa ukazuje na zaštitni titar protutijela na spomenute zarazne bolesti, dok negativan rezultat ukazuje na nedostatnu zaštitu i potrebu za provođenjem imunoprofilakse

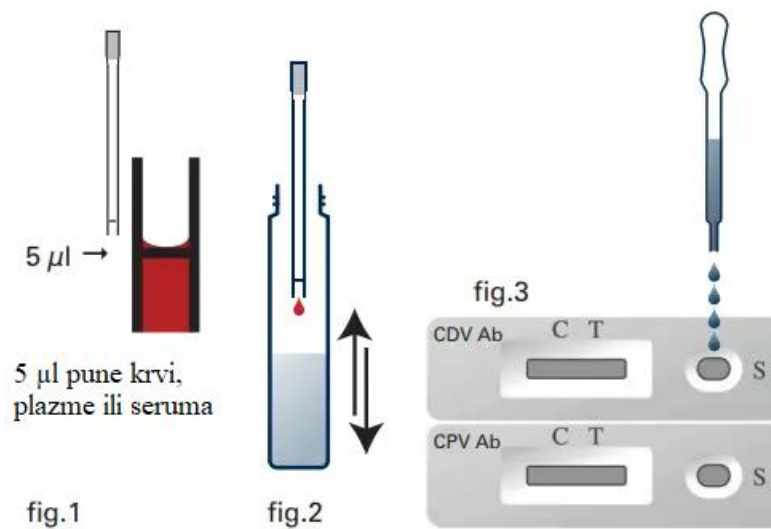
parvoviroze i štenećaka. Očitanje rezultata testa osniva se na procjeni jačine intenziteta obojenja testne linije (T linija) u odnosu na kontrolnu liniju (C linija). Kod utvrđenog niskog ili nepostojećeg titra protutijela T linija je izrazito blijeda ili izostaje. Prilikom očitavanja srednjeg detektiranog titra protutijela intenzitet obojenja linije T odgovara intenzitetu obojenja linije C, dok kod visokog titra intenzitet linije T je jači od intenziteta obojenja linije C (Slika 13.). Proizvođač testa navodi osjetljivost od 99,9 % i specifičnost od 99,4 % za određivanje titra protutijela na parvovirozu validiranu primjenom inhibicije hemaglutinacije. Osjetljivost testa za određivanje titra protutijela za štenećak iznosi 99,9 %, a specifičnost 99,8 % validiran korištenjem serum neutralizacijskog testa.

Dobiveni rezultati iskazani su i sumirani u postocima, dok je za statističku analizu i usporedbu korišten hi-kvadrat (χ^2) test kojim se uspoređivala značajnost dobivenih rezultata među pojedinim skupinama. Vrijednosti $P < 0,01$ i $P < 0,05$ smatrane su statistički značajnom.



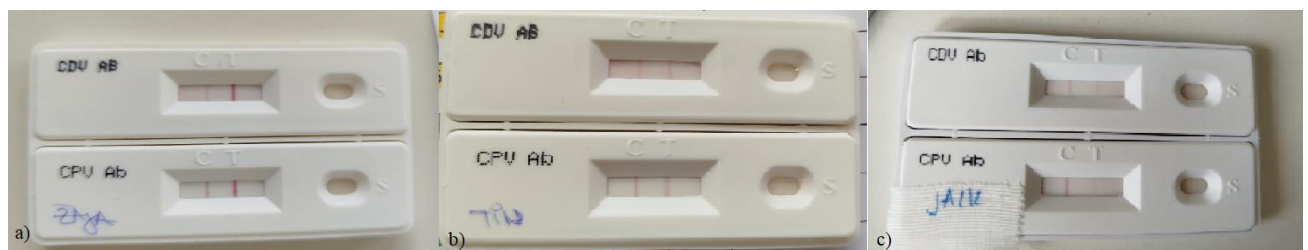
Slika 11 .Megacor FASTest CDV-CPV Ab

(izvor: https://www.megacor.at/veterinary/product/fastest_cdvcpv_ab.html?language=en).



Slika 12. Izvođenje Megacor testa za određivanje titra za parvovirozu i štenećak

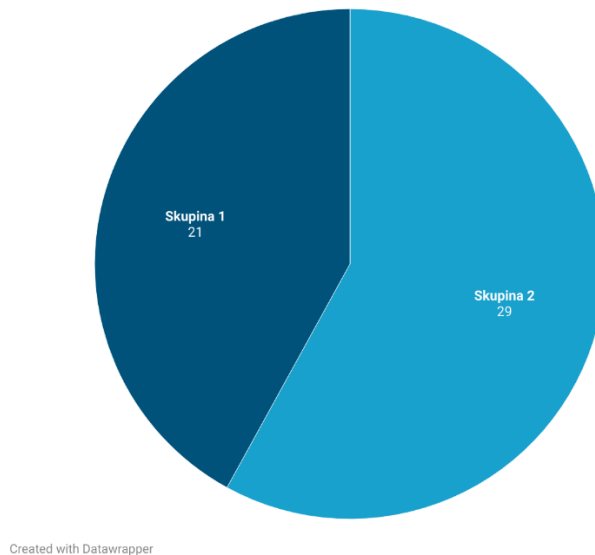
(Izvor: : <https://device.report/manual/7205513>).



Slika 13. Rezultati Megacor semikvantitativnog testa. a) Pozitivan rezultat (visok titar), b) Pozitivan rezultat (srednji titar), c) Negativan rezultat (Ljubaznošću djelatnika Klinike za zarazne bolesti).

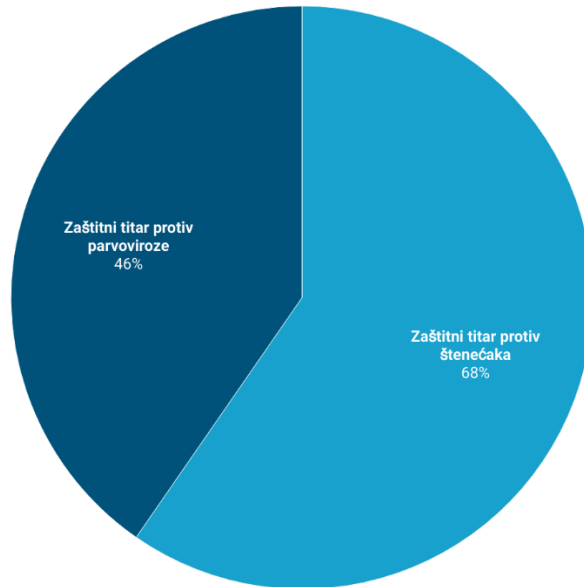
4. REZULTATI

Za potrebe izrade ovoga diplomskoga rada sveukupno je pretraženo 50 uzoraka plazme pasa zaprimljenih na Klinici za zarazne bolesti Veterinarskog fakulteta. Svi uzorci pretraženi su korištenjem komercijalno dostupnog imunokromatografskog testa Megacor FASTest® CDV-CPV Ab u svrhu utvrđivanja stupnja imunološke zaštite protiv parvoviroze pasa i štenećaka. Pretraženi uzorci plazme pasa (n=50) podijeljeni su u dvije skupine. Skupina pasa kod kojih je od posljednjeg cijepljenja protiv štenećaka i parvoviroze prošlo između tri i pet godina (n=21) te skupina pasa koji nisu cijepljeni više od 5 godina (n=29) (Slika 14.).



Slika 14. Prikaz podjele ukupnih uzoraka (n=50) na skupinu 1 (n=21) i skupinu 2 (n=29).

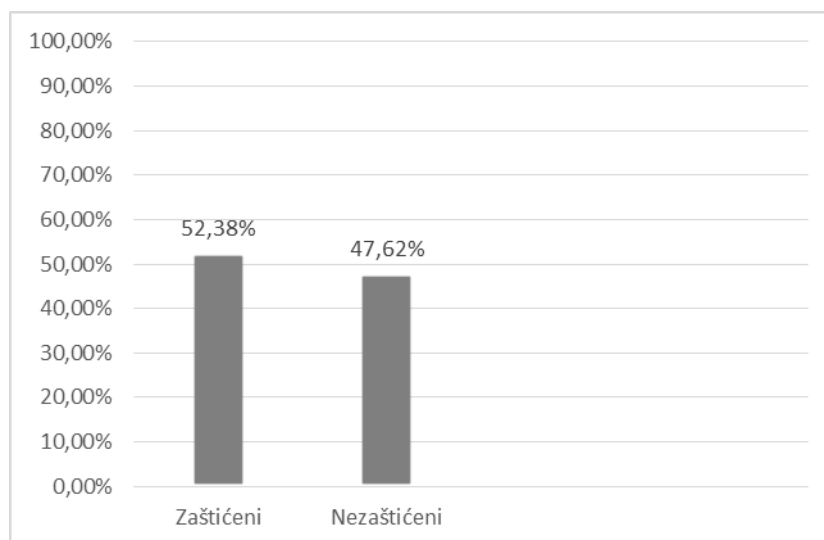
Od ukupnog broja pretraženih plazmi pasa (n=50) u njih 23 (46%) utvrđen je zaštitni titar protutijela na parvovirozu, dok je u njih 34 (68%) dokazan zaštitni titar protutijela protiv štenećaka (Slika 15.).



Created with Datawrapper

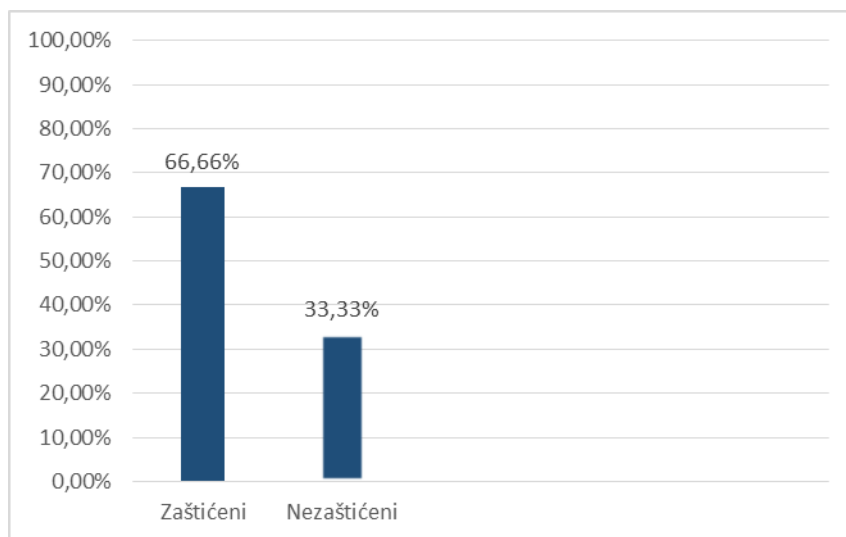
Slika 15. Grafični prikaz zaštićenosti pasa protiv parvoviroze i štenećaka u ispitanim uzorcima (n=50).

Unutar skupine pasa necijepljenih tri do pet godina (n=21) njih 11 (52,38%) imalo je zaštitni titar protutijela na parvovirus dok u 10 pretraženih pasa (47,62%) titar protutijela je bio ispod minimalno zaštitnog, odnosno nemaju adekvatnu imunološku zaštitu (Slika 16.).



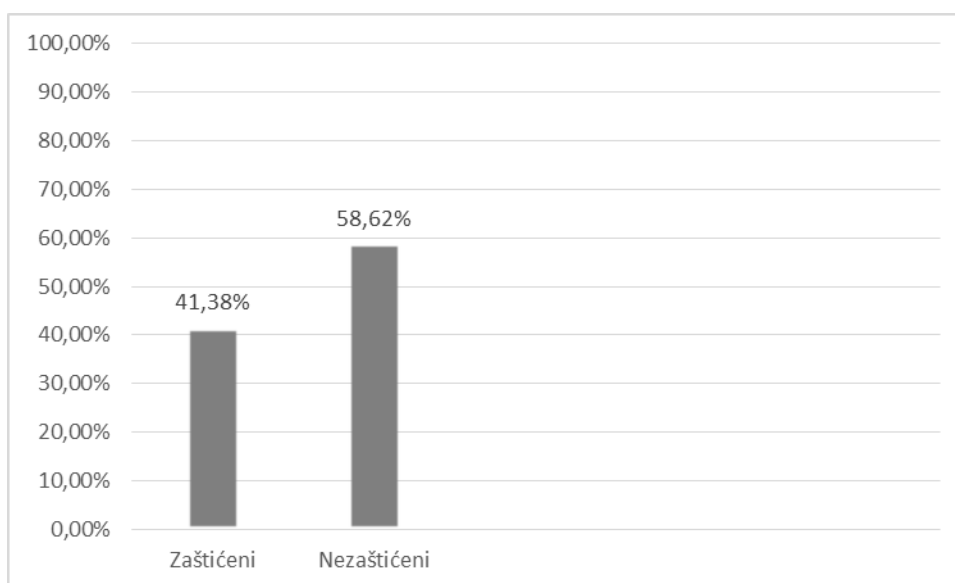
Slika 16. Grafični prikaz zaštićenosti/nezaštićenosti protiv parvoviroze unutar skupine 1.

U istoj skupini (n=21) utvrđen je zaštitni titar protutijela na štenećak u 14 pretraženih plazmi pasa (66,66%), dok u njih 7 (33,33%) protutijela u zaštitnom titru nisu dokazana (Slika 17.).



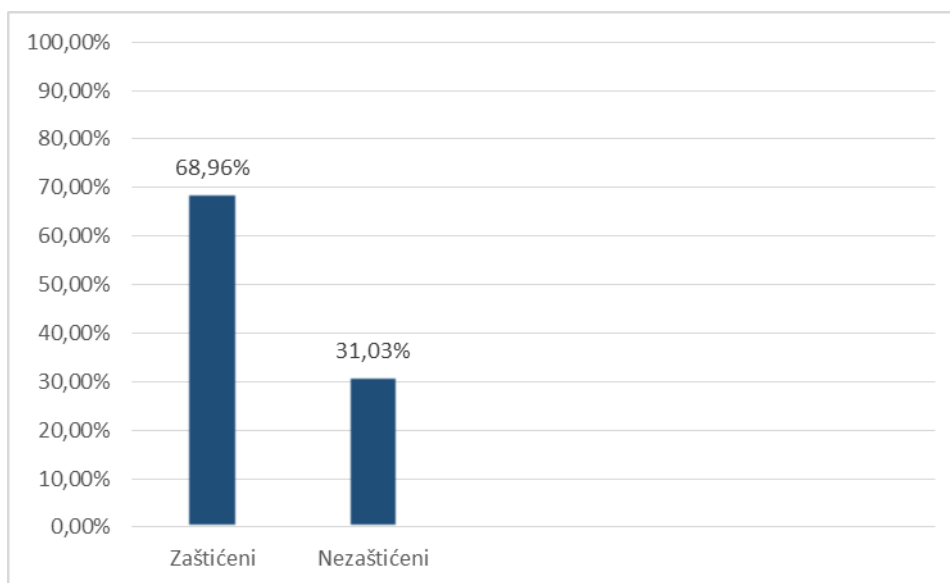
Slika 17. Grafični prikaz zaštićenosti/nezaštićenosti protiv štenećaka unutar skupine 1.

Među drugom skupinom pretraživanih pasa, necijepljenih preko pet godina (n=29) u njih 12 (41,37%) utvrđena je zaštita protiv parvoviroze, dok unutar iste skupine (n=29) 17 pasa (58,62%) nije imalo zaštitni titar protutijela na parvovirus (Slika 18.).



Slika 18. Grafični prikaz zaštićenosti/nezaštićenosti protiv parvoviroze unutar skupine 2.

Zaštitni titar protutijela na štenećak unutar iste skupine (n=29) dokazan je u 20 (68,96%) pretraženih uzoraka, dok u njih 9 (31,03%) protutijela nisu utvrđena u zaštitnom titru (Slika 19.).



Slika 19. Grafični prikaz zaštićenosti/nezaštićenosti protiv štenećaka unutar skupine 2.

Statističkom analizom skupina pasa necijepljenih tri do pet godina (n=21) i skupine necijepljenih preko pet godina (n=29) nije dokazana statistički značajna razlika (P=0,44) s obzirom na stupanj zaštite protiv parvoviroze. Također usporedbom istih skupina s obzirom na zaštitu protiv štenećaka nije utvrđena statistički značajna razlika (P=0,86).

Od ukupnog broja pretraženih pasa (n=50) njih 30 (60%) su muškog spola dok je 20 (40%) pasa bilo ženskoga spola. Unutar skupine muških jedinki (n=30) njih 13 (43,33%) imalo je zaštitni titar protutijela na parvovirus dok u njih 17 (56,67%) nije dokazan zaštitni titar. Adekvatna imunološka zaštita za virus štenećaka unutar skupine muških jedinki (n=30) utvrđena je u njih 19 (63,33%) dok u preostalih 11 (36,66%) muških pasa zaštitni titar nije utvrđen. U ovom istraživanju unutar skupine ženskih pasa (n=20) u njih 10 (50%) utvrđen je zaštitni titar za parvovirus dok u preostalih 10 (50%) ženskih jedinki adekvatna zaštita za parvovirozu nije potvrđena. Protutijela za virus štenećaka u zaštitnom titru unutar skupine ženskih jedinki (n=20) dokazana su u 15 (75%) kuja dok njih 5 (25%) nije imalo zaštitni titar. Statističkom usporedbom nije dokazana (P=0,64) značajna statistička razlika imunološke zaštite među spolovima za parvovirusnu infekciju pasa. Također nije utvrđena značajna statistička razlika (P=0,38) razine zaštite za infekciju virusom štenećaka među spolovima.

Od ukupnog broja pasa ($n=50$) u ovome istraživanju njih 18 (36%) bilo je križane pasmine a njih 32 (64%) su bili čistokrvni psi. Unutar skupine križanih pasmina ($n=18$) 8 (44,44%) pasa imalo je zaštitni titar protutijela za virus parvoviroze dok u preostalih 10 (55,55%) zaštitni titar nije dokazan. Protutijela za virus štenećaka dokazana su u zaštitnom titru kod 15 (83,33%) pasa križane pasmine dok u preostala 3 (16,67%) psa križane pasmine nije utvrđen zaštitni titar za štenećak. Među skupinom čistokrvnih pasa ($n=32$) njih 16 (50%) imao je zaštitni titar protutijela za parvovirus dok u preostalih 16 (50%) zaštitni titar nije utvrđen. Protutijela za virus štenećaka dokazana su u zaštitnom titru kod 19 (59,37%) čistokrvnih pasa dok u preostalih 13 (40,62%) nije potvrđen zaštitni titar za štenećak. Značajna statistička razlika nije utvrđena ($P=0,70$) između čistokrvnih i križanih pasmina pasa s obzirom na stupanj zaštite za parvovirusnu infekciju. Također nije utvrđena značajna statistička razlika ($P=0,08$) razine zaštite za infekciju virusom štenećaka među promatranim pasminama.

5. RASPRAVA

Parvoviroza i štenećak spadaju među najznačajnije zarazne bolesti pasa. Osnovne značajke obje zarazne bolesti su visoka kontagioznost te relativno visok letalitet, pogotovo u štenadi. Aktivna umjetna imunizacija, odnosno cijepljenje najučinkovitija je profilaktična mjera suzbijanja pojave obje zarazne bolesti u pasa (SQUIRES i sur., 2024.). Nakon pravilno provedenog imunoprofilaktičkog cijepljenog protokola, bilo u štenadi ili odraslih pasa nepoznatog cijepljenog statusa, u većine pasa zaštitni titar protutijela na parvovirus i štenećak perzistira više godina. Upravo iz navedene činjenice stručnjaci iz područja veterinarske imunologije već godinama ističu da nije potrebno cijepiti pse protiv parvoviroze i štenećaka svake godine (SCHULTZ, 2006.; MITCHELL i sur., 2012.). U ovom istraživanju pretraženo je 50 krvnih plazmi pasa pravilno cijepljenih protiv parvoviroze i štenećaka, kod kojih je od posljednjeg cijepljenja prošlo više od tri godine s ciljem utvrđivanja stupnja imunološke zaštite protiv spomenutih zaraznih bolesti. Rezultati proizašli iz ovog istraživanja ukazuju da svega 46 % pasa kod kojih je prošlo više od tri godine (interval od tri do 15 godina) od posljednjeg cijepljenja posjeduje zaštitni titar protutijela na parvovirus. Zaštitni titar za virus štenećaka utvrđen je u 68% pretraženih pasa. Unutar skupine pasa necijepljenih tri do pet godina (n=21) njih 52,38% imalo je zaštitni titar protutijela na parvovirus, dok unutar iste skupine 66,66% pasa je imalo zaštitni titar na virus štenećaka. Rezultati, odnosno udio zaštićenih pasa protiv štenećaka u ovom istraživanju u skladu je sa sličnim istraživanjem iz 2004. godine, kojim je utvrđeno da je 71,5% pretraženih pasa imalo zaštitni titar protutijela za virus štenećaka tri i više godina nakon posljednjeg cijepljenja (BÖHM i sur., 2004.). Istim istraživanjem utvrđen je znatno viši postotak od 94,4% pasa sa zaštitnim titrom protutijela na parvovirozu u odnosu na ovo istraživanje. Unutar skupine pasa posljednji put cijepljenih više od pet godina (n=29) postotak pasa sa zaštitnim titrom protutijela na parvovirozu iznosio je 41,37%. Unutar iste skupine u 68,96% pretraženih pasa dokazan je zaštitni titar za virus štenećaka. Istraživanje objavljeno 2006. godine, provedeno na približno 1000 pasa, utvrdilo je da većina pasa zadržava zaštitni titar protutijela na parvovirozu i štenećak više od tri godine, stoga je preporuka za docjepljivanje svake tri godine (SCHULTZ, 2006.). Studija objavljena 2000. godine, provedena na preko 1400 pasa, utvrđuje zaštitni titar protutijela na parvovirozu u 95,1% pasa, dok 97,6% pasa je imalo zaštitni titar na virus štenećaka (TWARK i DODDS, 2000.). Iznimno visoki postotak pasa sa zaštitnim titrom protutijela na obje zarazne bolesti u ovome istraživanju vrlo je vjerojatno posljedica činjenice da je većina pasa, njih 60% pripada skupini kojoj je od posljednjeg cijepljenja prošlo svega 12 do 24 mjeseca. Skupina pasa kojima je zadnje cijepljenje

provedeno prije dvije do 7 godina činili su 30,3% ukupnog proja pretraženih, dok 9,6% pretraženih pasa pripadalo je skupini koji su cijepljeni unutar godine dana. Statističkom obradom rezultata u ovome istraživanju, spol i pripadnost čistokrvnoj pasmini nisu bili povezani sa stupnjem imunološke zaštite nakon provedenog cijepljenja protiv parvoviroze i štenećaka. Ovaj rezultat potvrđuju i druge studije koje ne dokazuju statistički značajnu povezanost spola i pasmine na imunološki odgovor nakon cijepljenja parvoviroze i štenećaka (TWARK i DODDS, 2000.; SQUIRES i sur., 2024.). Rezultati proizašli iz ovoga istraživanja ukazuju na opravdanost i potrebu korištenja testova za utvrđivanje stupnja imunološke zaštite protiv parvoviroze i štenećaka. Uporaba navedenih testova uvelike će pomoći pri donošenju odluke o opravdanosti i pravovremenom docjepljivanju.

6. ZAKLJUČCI

1. Više od 50% pasa pretraženih u istraživanju nije imalo zaštitni titar protutijela za parvovirusnu infekciju.
2. U skupini pasa posljednji put cijepljenih prije tri do pet godina, svega polovica pasa imala je zaštitni titar protutijela na parvovirus.
3. Zaštitni titar protutijela na štenećak dokazan je u većeg broja pasa nego zaštitni titar protutijela na parvovirozu.
4. Korištenje brzih seroloških testova za utvrđivanje stupnja zaštite protiv parvoviroze i štenećaka uvelike pomaže u donošenju odluke o pravovremenom docjepljivanju protiv navedenih zaraznih bolesti.
5. Testiranje stupnja imunološke zaštite protiv parvoviroze i štenećaka uputno je provesti unutar tri godine od posljednjeg cijepljenja.
6. Spol i pripadnost čistokrvnoj pasmini nisu bili povezani sa stupanjem imunološke zaštite nakon cijepljenja pasa protiv parvoviroze i štenećaka.

7. LITERATURA

1. AGUNGPRIYONO, D.R. , K. UCHIDA , H. TABARU (1999): Subacute massive necrotizing myocarditis by canine parvovirus type 2 infection with diffuse leukoencephalomalacia in a puppy. *Vet. Pathol.* 36, 77-80.
doi: 10.1354/vp.36-1-77
2. APPEL, M. J. , F. W. SCOTT , L. E. CARMICHAEL (1979): Isolation and immunisation studies of a canine parvo-like virus from dogs with haemorrhagic enteritis. *Vet. Rec.* 105, 156- 159.
doi: 10.1136/vr.105.8.156
3. APPEL, M. J, S. G. MENDELSON, W. W. HALL (1984): Macrophage Fc receptors control infectivity and neutralization of canine distemper virus-antibody complexes. *J. Virol.* 51, 643–649.
doi: 10.1128/JVI.51.3.643-649.1984
4. BARBIĆ, LJ., J. HABUŠ, S. HAĐINA, I. LOHMAN JANKOVIĆ, K. MARTINKOVIĆ, Z. MILAS, V. MOJČEC PERKO, M. PERHARIĆ, Z. POLJAK, L. RADMANIĆ, V. STEVANOVIĆ, V. STAREŠINA, Z. ŠTRITOF, N. TURK (2020): *Zarazne bolesti domaćih životinja, vježbe 1*, izdavač: Veterinarski fakultet Sveučilišta Zagreb str. 95-96.
5. BLIXENKRONE-MOOLER, M., I.B.R PEDERESON, M. J. APPEL, C. GRIOT (1991): Detection of IgM antibodies against canine distemper virus in dog and mink sera employing enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *J. Vet. Diagn. Invest.* 3, 3-9.
doi: 10.1177/104063879100300102
6. BUONAVOGLIA, C., V. MARTELLA, A. PRATELLI, M. TEMPESTA, A. CAVALLI, D. BUONAVOGLIA, G. BOZZO, G. ELIA , N. DECARO, L. CARMICHAEL (2001): Evidence for evolution of canine parvovirus type 2 in Italy. *J. Gen. Virol.* 82, 3021-3025.
doi: 10.1099/0022-1317-82-12-3021
7. CARMICHAEL, L. E., L. N. BINN (1981): New enteric viruses in the dog. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.* 25, 1-37.

8. CARMICHAEL, L. E., D. H. SCHLAFER, A. HASHIMOTO (1994): Minute virus of canines (MVC, canine parvovirus type-1): pathogenicity for pups and seroprevalence estimate. *J. Vet. Diagn. Invest.* 6, 165-174.
doi: 10.1177/104063879400600206
9. CARPENTER, J. L. , R .M. ROBERTS, N. K. HARPSTER, N. W. KING JR (1980) : Intestinal and cardiopulmonary forms of parvovirus infection in litter of pups. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 176, 1269–1273.
10. CORRAIN, R., DI FRANCESCO A., BOLOGNINI M., CIUCCI P., BALDELLI R., GUBERTI V. (2007): Serosurvey for CPV-2, distemper virus, ehrlichiosis and leishmaniosis in free-ranging dogs in Italy. *Veterinary Record* 160, 91-92.
doi: 10.1136/vr.160.3.91
11. DAY M. J. (1999): Possible immunodeficiency in related rottweiler dogs. *Journal of Small Animal Practice* 40, 561-568.
doi: 10.1111/j.1748-5827.1999.tb03022.x
12. DECARO, N. , M. CAMPOLO, C. DESARIO, G. ELIA, V. MARTELLA, E. LORUSSO, C. BUONAVOGLIA (2005a): Maternally-derived antibodies in pups and protection from canine parvovirus infection. *Biologicals.* 33, 261-267.
doi: 10.1016/j.biologicals.2005.06.004
13. DECARO, N., C. DESARIO, G. ELIA , M. CAMPOLO, A. LORUSSO, V. MARI , V. MARTELLA, C. BUONAVOGLIA (2007a): Occurrence of severe gastroenteritis in pups after canine parvovirus vaccine administration: A clinical and laboratory diagnostic dilemma. *Vaccine* 25, 1161–1166.
doi: 10.1016/j.vaccine.2006.10.020
14. DECARO, N. , V. MARTELLA , G. ELIA (2007b): Tissue distribution of the antigenic variants od canine parvovirus type 2 in dogs. *Vet. Microbiol.* 121, 39-44.
doi: 10.1016/j.vetmic.2006.11.005
15. DECARO, N., F. CIRONE, C. DESARIO, G. ELIA, E. LORUSSO, M. L. COLAIANNI, V. MARTELLA, C. BUONAVOGLIA (2009): Severe parvovirus in a 12- year old dog that had been repeatedly vaccinated. *Vet. Rec.* 164, 593-595.
doi: 10.1136/vr.164.19.593
16. DECARO, N. , C. B. VOGLIA (2011): Canine parvovirus—A review of epidemiological and diagnostic aspects, with emphasis on type 2c. *Veterinary Microbiology* 155, 1–12.

17. DECARO N., C. BUONAVOGLIA (2012): Canine parvovirus- A review of epidemiological and diagnostic aspects, with emphasis on type 2c. *Vet. Microbiol.* 155, 1-12.
DOI: 10.1016/j.vetmic.2011.09.007.
18. DIGANGI, A. B. , J. K. LEVY, B. GRIFFIN, M. J. REESE, P. A. DINGMAN, S. J. TUCKER, E. J. DUBOVI (2011): Effects of maternally-derived antibodies on serologic responses to vaccination in kittens. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 14, 118–123.
doi: 10.1177/1098612X11432239
19. DYER, F., G. DIESEL, S. COOLES, A. TAIT (2012): Suspected Adverse Reaction Surveillance Scheme. *Veterinary Record* 170, 640-643.
doi: 10.1136/vr.e4195
20. FLETCHER, K. C., A. K. EUGSTER , R. E. SCHMIDT, G. B. HUBBARD (1979) : Parvovirus infection in maned wolves. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 175, 897–900.
21. GREENE 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.
22. GREENE, C. E., M. J. APPEL (2006): Canine Distemper. In *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. 3. izd., Elsevier, str. 25-41.
23. GREEN C. E., N. DECARO (2011): Canine viral enteritis. U: *Infection disease of the dog and cat*, 4th Edition (Green C. E., ur.), Saunders Elsevier, Athens, Georgia, str. 67-75.
24. GREEN C. E. , M. VANDEVELDE (2011): Canine distemper. U: *Infection disease of the dog and cat*, 4th Edition (Green C. E., ur.), Saunders Elsevier, Athens, Georgia, str. 67-75.
25. HEADLEY, S. A. , D. L. GRACA, A. A. ALFIERI (2012). Pathogenesis of canine distemper virus infection: Modulation of the immune response. *Journal of Infectious Diseases* 17, 278-286.
26. JENSEN , W. A. , J. S .TOTTEN, M. R. LAPPIN, R. D. SCHULTZ (2015): Use of serologic tests to predict resistance to Canine distemper virus- induced disease in vaccinated dogs. . *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 27, 576–580.

27. 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.
doi: 10.1186/s12917-015-0491-9
28. KOUTINAS, A. F. , W. BAUMGÄRTNER, D. TONTIS, Z. POLIZOPOULOU, M. N. SARIDOMICHELAKIS, S. LEKKAS (2004): Histopathology and Immunohistochemistry of Canine Distemper Virus-induced Footpad Hyperkeratosis (Hard Pad Disease) in Dogs with Natural Canine Distemper. *Vet. Pathol.* 41, 2–9.
doi: 10.1354/vp.41-1-2
29. KRAKOWA, S. , R. J. HIGGINS, A. KOESTNER (1980) : Canine distemper virus: review of structural and functional modulations in lymphoid tissues. *Am. J. Vet. Res.* 41, 284–292.
30. KRAKOWA, S. , M. K. AXTHELM, G. C. JOHNSON (1985): Canine distemper virus. In: Olsen, R.G., Krakowka, S., Blakeslee, J.R. (Eds.), *Comparative Pathobiology of Viral Diseases*, vol. 2. CRC Press, Boca Raton, str. 137–164.
31. LAMB, R. A. , D. KOLAKOSKY (2001) Paramyxoviridae: the viruses and their replication. In: Knipe, D.M., Howley, P.M. (Eds.), *Fields of Virology*, 4th ed., vol. 1. Lippincott Williams&Wilkins, Philadelphia, str. 1305– 1443.
32. MACINTIRE, D. K., S. SMITH-CARR (1997): Canine parvovirus. Part II. Clinical signs, diagnosis, and treatment. *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.* 19, 291-302.
33. MACLACHLAN, N. J., E. J. DUBOVI (2011): Paramyxoviridae. *Fenner’s veterinary virology*. 4. edn. Academic Press, San Diego, California, str. 299-325.
34. MARTINEZ-GUTIERREZ, M. , J. RUIZ-SAENZ (2016): Diversity of susceptible host cell lines to canine distemper virus infection: A systematic review and meta-analysis. *Scientific Reports* 6, 29318.
doi: 10.1186/s12917-016-0702-z
35. MARTELLA, V., G. ELIA, M. S. LUCENTE, N. DECARO, E. LORUSSO, L. BANYAI, M. BLIXENKRONE- MOLLER, N. T. LAN, R. YAMAGUCHI, F. CIRONE, L. E. CARMICHAEL, C. BUONAVOGLIA (2007): Genotyping canine distemper virus (CDV) by a hemi- nested multiplex PCR provides a rapid approach for investigation of CDV outbreaks. *Veterinary Microbiology* 122, 32–42.
doi:10.1016/j.vetmic.2007.01.005.

36. MARTELLA, V. , G. ELIA, C. BUONAVOGLIA (2008): Canine Distemper Virus. *Vet. Clin. Small Anim.* 38, 787–797.
doi:10.1016/j.virol.2005.09.007.
37. MAZZAFERRO, E. M. (2020): Update on Canine Parvoviral Enteritis. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice* 50, 1307–1325.
doi: 10.1016/j.cvsm.2020.07.008
38. MITCHELL , S. A. , R. J. ZWIJNBERG, A. HODGE, M. J. DAY (2012): Duration of serological response to canine parvovirus- type 2, canine distemper virus, canine adenovirus type 1 and canine parainfluenza virus in client- owned dogs in Australia. *Australian Veterinary Journal* 90, 468–473.
doi: 10.1111/j.1751-0813.2012.01009.x
39. MIYAJI, K. , A. SUZUKI, H. SHIMAKURA, Y. TAKASE, A. KIUCHI, M. FUJIMURA, G. KURITA, H. TSUJIMOTO, M. SAKAGUCHI (2012): Large – scale survey of adverse reactions to canine non-rabies combined vaccines in Japan. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 145, 447–452.
doi: 10.1016/j.vetimm.2011.12.023
40. MOCHIZUKI, M. , M. HORIUCHI, H. HIRAGI, M. C. SAN GABRIEL, N. YASUADA, T. UNO (1996): Isolation of canine parvovirus from a cat manifesting clinical signs of feline panleucopenia. *J Clin Microbiol.* 1996;34: 2101–2105.
doi: 10.1128/jcm.34.9.2101-2105.1996
41. MOCHIZUKI, M ., M. HASHIMOTO, T. HAJIMA, M. TAKIGUCHI , A. HASHIMOTO , Y. UNE , F. ROERINK , T. OHSHIMA , C.R. PARRISH, L. E. CARMICHAEL (2002): Virologic and serologic identification of minute virus of canines (CPV-1) from dogs in Japan. *J. Clin. Microbiol.* 40, 3933-3938.
doi: 10.1128/JCM.40.11.3993-3998.2002
42. MOORE, E. G. , L. E. GUPTIL, M. P. WARD, N. W. GLICKMAN, K. K. FAUNT, H. B. LEWIS, L. T. GLICKMAN (2005): Adverse events diagnosed within three days of vaccine administration in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 227, 1102–1108.
doi: 10.2460/javma.2005.227.1102
43. MOUZIN, D. E. , M. J. LORENZE, J. D. HAWORTH, V. L. KING (2004): Duration of serologic response to five viral antigens in dogs. . *Journal of the American Veterinary Medical Association* 224, 55–60.
doi: 10.2460/javma.2004.224.55

44. MUZYCZKA, N. , K. I. BERNS (2001) Parvoviridae: The Viruses and Their Replication. In: Knipe, D.M., Howley, P.M. (Eds.), Fields Virology. 4th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, str. 2327–2359.
45. NANDI, S., S. CHIDRI, M. KUMAR (2009): Molecular characterization and phylogenetic analysis of a canine parvovirus isolate in India. *Vet. Med. (Praha)*. 54, 483-490.
46. NANDI, S., M. KUMAR (2010.) : Canine Parvovirus: Current Perspective. *Indian J. Virol.* 21, 31–44.
doi: 10.1007/s13337-010-0007-y
47. NISHI, T., K. TSUKIYAMA-KOHARA, K. TOGASHI, N. KOHRIYAMA, C. KAI (2004): Involvement of apoptosis in syncytial cell death induced by canine distemper virus. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 27, 445-455.
48. PARRISH, C. R., C. F. AQUADRO, M. L. STRASSHEIM, J. F. EVERMANN, J. Y. SGRO, H. O. MOHAMMED (1991): Rapid antigenic-type replacement and DNA sequence evolution of canine parvovirus. *J. Virol.* 12, 6544- 6552.
doi: 10.1128/JVI.65.12.6544-6552.1991
49. PEREIRA, C.A, T.A. MONEZI, D.U. MEHNERT, M.D.ANGELO, E.L. DURIGON (2000) : Molecular characterization of canine parvovirus in Brazil by polymerase chain reaction assay. *Veterinary Microbiology* 75, 127-133.
doi: 10.1016/S0378-1135(00)00214-5.
50. POLLOCK, R.V. (1982.): Experimental canine parvovirus infection in dogs. *Cornell. Vet.* 72, 103–119.
51. POLLOCK , R. V. , H. MICHAEL, J. COYNE (1990): Canine Parvovirus. *Gastroenterology: The 1990s.*, 555-567.
doi: [https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(93\)50305-4](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(93)50305-4)
52. ROBINSON, W. F. , C. R. HUXTABLE, D. A. PASS (1980) : Canine parvoviral myocarditis; a morphological description of the natural disease. *Vet. Pathol.* 17, 282-293.
doi: 10.1177/030098588001700302
53. RUDD , P. A. , R. CATTANO, V. VON MESSLING (2006): Canine distemper virus uses both the anterograde and the hematogenous pathway for neuroinvasion. *J. Virol.* 80, 9361-9370.
doi: 10.1128/JVI.01034-06

54. RUDD, P. A. , L. E. BASTIEN-HAMEL, V. VON MESSLING (2010): Acute canine distemper encephalitis is associated with rapid neuronal loss and local immune activation. *J. Gen. Virol.* 91, 980-989.
doi: <https://doi.org/10.1099/vir.0.017780-0>.
55. PRITTIE, J. (2004) Canine Parvoviral Enteritis: A Review of Diagnosis, Management, and Prevention. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 14, 167-176.
doi: 10.1111/j.1534-6935.2004.04020.x
56. SAVIGNY, M. R. , D. K. MACINTIRE (2010): Use of oseltamivir in the treatment of canine parvoviral enteritis. *Journal of veterinary emergency and critical care* 20, 132–142.
doi: <https://doi.org/10.1111/j.1476-4431.2009.00404.x>
57. SCHULTZ, R. D. (2006.): Duration of immunity for canine and feline vaccines: A review. *Veterinary Microbiology* 117, 75–79.
doi: 10.1016/j.vetmic.2006.04.013
58. SCHULTZ , R. D. , B. THIEL, E. MUKHTAR, P. SHARP, L. J. LARSON (2009): Age and Long-term Protective Immunity in Dogs and Cats. *J. Comp. Path.* 142, 102-108.
Doi: 10.1016/j.jcpa.2009.10.009
59. STETTLER, M. , K. BECK, A. WAGNER, M. VANDEVELDE , A. ZURBRIGGEN (1997): Determinants of persistence in canine distemper viruses. *Vet. Microbiol.* 57, 83-93.
doi: 10.1016/s0378-1135(96)01281-3
60. SQUIRES, R. A., C. CRAWFORD, M. MARCONDES, N. WHITLEY:WSAVA 2024 guidelines for vaccination of dogs and cats. *Journal of Small Animal Practice* • © 2024 WSAVA.
61. SYKES, J. E. (2014). *Canine and feline infectious diseases*. St. Louis, Mo., Elsevier/Saunders.
62. THIBAUT, J. C. , J. BOUVET, L. CUPILLARD, P. M. GUIGAL (2016): Evaluation of the impact of residual maternally derived antibodies against canine parvovirus on the efficacy of a standard primary vaccination protocol. Research communications of the 25th ECVIM-CA congress. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 30, 438.
doi: 10.1006/viro.1996.0021

63. TWARK, L., J. D. DODDS (2000): Clinical use of serum parvovirus and distemper virus antibody titers for determining revaccination strategies in healthy dogs. *JAVMA* 217, 1021–1024.
doi: 10.2460/javma.2000.217.1021
64. VON MESSLING, V., N. SVITEK, R. CATTANO (2006): Receptor (SLAM [CD150]) recognition and the V protein sustain swift lymphocyte-based invasion of mucosal tissue and lymphatic organs by a morbillivirus. *J. Virol.* 80, 6084–6092.
doi: 10.1128/JVI.00357-06
65. WANNER, T., J. NOAM, S. MAZAR (2003): Post vaccination evaluation of the immunization status of puppies for canine parvo and distemper virus using an in-clinic ELISA test. *Israeli J. Vet. Med.* 58, 104–107.
66. WIENER, D., P. PLATTET, P. CHERPILLO, L.J. ZIPPERLE, M. G. DOHERR, M. VANDEVELDE, A. ZURBRIGGEN (2007): Synergistic inhibition in cell-cell fusion mediated by the matrix and nucleocapsid protein of canine distemper virus. *Virus Research* 129, 145–154.
doi: 10.1016/j.virusres.2007.07.004
67. WINTERS, K. A., L.E. MATHES, S. KRAKOWA (1984): Immunoglobulin class response to canine distemper virus in gnotobiotic dogs. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 5, 209–215.
doi: 10.1016/0165-2427(83)90022-3
68. 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. *Veterinary Microbiology* 143, 126–132.
doi: 10.1016/j.vetmic.2009.11.013
69. WÜNSCHMANN, A., S. ALLDINGER, E. KREMMER, W. BAUMGÄRTNER (1999): Identification of CD4+ and CD8+ T cell subsets and B cells in the brain of dogs with spontaneous acute, subacute-, and chronic-demyelinating distemper encephalitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 67, 101–116.
doi: 10.1016/s0165-2427(98)00216-5
70. WÜNSCHMANN, A., E. KREMMER, W. BAUMGÄRTNER (2000): Phenotypical characterization of T and B cell areas in lymphoid tissues of dogs with spontaneous distemper. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 73, 83–98.
doi: 10.1016/s0165-2427(99)00156-7

71. YOSHIDA , M., K. MIZUKAMI, M. HISASUE, I. IMANISHI, K. KURATA, M. OCHIAI, M. ITOH, T. NASUKAWA, J. UCHIYAMA, H. TSUJIMOTO, M. SAKAGUCHI (2022): Anaphylaxis after vaccination for cats in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science* 84, 149–152.
doi: 10.1292/jvms.21-0090
72. 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.
doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175416>

8. SAŽETAK

Kvalitativno dokazivanje protutijela za parvovirozu i štenećak u pasa

Mija Curiš

Parvoviroza i štenećak kontagiozne su virusne zarazne bolesti pasa. Obje zarazne bolesti proširene su diljem svijeta i imaju značajan utjecaj na zdravlje pasa. Prenose se izravnim i neizravnim kontaktom sa zaražene na primljivu jedinku te se obje bolesti ističu visokim letalitetom, pogotovo u mlađih dobnih kategorija. Pravilna imunoprofilaksa ključna je i najučinkovitija mjera za sprječavanje pojave ovih zaraznih bolesti. Nakon provedenog cijepljenja, većina pasa razvija zaštitni titar protutijela koji traje nekoliko godina. Cilj ovoga istraživanja bio je utvrditi razinu imunološke zaštite protiv parvoviroze i štenećaka u pravilno cijepljenih pasa kojima je od posljednjeg cijepljenja prošlo više od tri godine. Uzorci plazme 50 pasa pretraženi su komercijalno dostupnim testom Megacor FASTest® CDV-CPV Ab. Uporabom navedenog testa utvrđen je stupanj zaštite za navedene bolesti dokazom protutijela na virus parvoviroze i štenećaka. U svega 42% pasa (n=23) utvrđen je zaštitni titar protutijela na parvovirus dok je 68% (n=34) pretraženih pasa imalo zaštitni titar na štenećak. Među skupinom pasa kod kojih je od posljednjeg cijepljenja prošlo između tri i pet godina njih 52,38% imalo je zaštitni titar na parvovirus, dok u skupini kod kojih je prošlo više od pet godina od posljednjeg cijepljenja u 41,37% pasa je dokazan zaštitni titar na parvovirus. Zaštitni titar protutijela za štenećak dokazan je u 66,66% pretraženih pasa posljednji put cijepljenih tri do pet godina, odnosno u 68,96% pasa kod kojih je prošlo više od pet godina od zadnjeg cijepljenja. Statističkom analizom skupina pasa necijepljenih tri do pet godina i skupine necijepljenih preko pet godina nije dokazana statistički značajna razlika s obzirom na stupanj zaštite protiv parvoviroze i štenećaka. Također, spol i pripadnost čistokrvnoj pasmini nisu bili povezani sa stupanjem imunološke zaštite nakon cijepljenja pasa protiv parvoviroze i štenećaka. Rezultati ovoga istraživanja ukazuju na potrebu utvrđivanja stupnja imunološke zaštite unutar tri godine od posljednjeg cijepljenja pasa kako bi se pravovremeno provela odgovarajuća imunoprofilaksa parvoviroze i štenećaka.

Ključne riječi: parvoviroza, štenećak, imunoprofilaksa, titar protutijela, trajanje imuniteta

9. SUMMARY

Qualitative detection of antibodies against parvovirus and distemper in dogs

Mija Curiš

Canine parvovirus and canine distemper are highly contagious viral diseases that pose a significant threat to canine health globally. Both diseases are characterised by high morbidity and mortality rates, especially in young dogs, and can be transmitted through both direct and indirect contact with infected animals or contaminated environments. Effective immunoprophylaxis, primarily through vaccination, remains the cornerstone of disease prevention. Following a correctly administered vaccination protocol, most dogs retain protective immunity for several years. The aim of this study was to determine the duration of immunity in dogs that had been previously adequately vaccinated but had not received additional vaccination for three years or more. Plasma samples from 50 dogs were analysed for antibodies against parvovirus and canine distemper virus by using the Megacor FASTest® CDV-CPV Ab commercial test kit. Of all dogs, 42% (n=23) had a protective titre for canine parvovirus, while 68% (n=34) had a protective titre for canine distemper virus. Among the group of dogs that had not received vaccination boosters in the last three to five years, 52.38% had a protective antibody titre against parvovirus. In contrast, within the group of dogs that had not been vaccinated for five or more years, only 41.37% retained a protective titre against parvovirus. Regarding immunity to canine distemper, 66.66% of dogs in the three- to five-year post- vaccination group showed a protective antibody titre, while 68.96% of those unvaccinated for five years or longer maintained a protective titre against distemper. Statistical analysis revealed no statistically significant difference in protective immunity levels between the two groups of dogs regarding parvovirus and canine distemper. Furthermore, neither gender nor breed was associated with the level of protective immunity against these diseases. The findings of this study suggest that assessing protective immunity within three years of the last vaccination is advisable to ensure timely immunoprophylaxis against parvovirus and canine distemper.

Key words: parvovirus, canine distemper, immunoprophylaxis, antibody titre, duration of immunity

10. ŽIVOTOPIS

Rođena sam u Zadru gdje sam pohađala i završila Gimnaziju Vladimira Nazora. Veterinarski fakultet upisala sam 2018.godine. Tijekom studija opredijelila sam se za usmjerenje Kućni ljubimci. Terensko stručni rad odradila sam u ambulanti Pro Vet u Zaprešiću pod mentorstvom Hrvoja Karaule, DMV. Za vrijeme studija, dvije godine sam bila volonter Klinike za zarazne bolesti Veterinarskog fakulteta. Bila sam demonstrator na Zavodu za anatomiju, histologiju i embriologiju iz kolegija Anatomija s organogenezom domaćih životinja III te sam akademske godine 2023/2024. bila demonstrator na Zavodu za mikrobiologiju i zarazne bolesti s klinikom iz kolegija Zarazne bolesti domaćih životinja. Aktivno sam sudjelovala i predstavljala Kliniku za zarazne bolesti na Festivalu znanosti održanom 2023. i 2024. godine. Sudjelovala sam na 8. Kongresu veterinarara male prakse održanog u Zadru od 31.03. – 02.04. 2023. godine.