UTJECAJ BOLESTI PRENOSIVIH ČLANKONOŠCIMA NA KLINIČKI OBLIK I TIJEK BABEZIOZE U PASA Mentori: Prof. dr. sc. Vladimir Mrljak Prof. dr. sc. Tatjana Živičnjak Zagreb, 2013 ...

Torti, Marin

Doctoral thesis / Disertacija

2013

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

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:178:310518

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

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

Repository / Repozitorij:

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



Sveučilište u Zagrebu

VETERINARSKI FAKULTET

Marin Torti

UTJECAJ BOLESTI PRENOSIVIH ČLANKONOŠCIMA NA KLINIČKI OBLIK I TIJEK BABEZIOZE U PASA

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2013

University of Zagreb

FACULTY OF VETERINARY MEDICINE

Marin Torti

THE INFLUENCE OF ARTHROPOD-BORNE DISEASES ON THE CLINICAL FORM AND CLINICAL COURSE OF CANINE BABESIOSIS

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2013

Sveučilište u Zagrebu

VETERINARSKI FAKULTET

Marin Torti

UTJECAJ BOLESTI PRENOSIVIH ČLANKONOŠCIMA NA KLINIČKI OBLIK I TIJEK BABEZIOZE U PASA

DOKTORSKI RAD

Mentori:

Prof. dr. sc. Vladimir Mrljak

Prof. dr. sc. Tatjana Živičnjak

Zagreb, 2013

University of Zagreb

FACULTY OF VETERINARY MEDICINE

Marin Torti

THE INFLUENCE OF ARTHROPOD-BORNE DISEASES ON THE CLINICAL FORM AND CLINICAL COURSE OF CANINE BABESIOSIS

DOCTORAL THESIS

Supervisors:

Prof. Vladimir Mrljak, DVM, PhD

Prof. Tatjana Živičnjak, DVM, PhD

Zagreb, 2013

ZAHVALA

Najteže je napisati zahvalu, sjetiti se svih koji su dali svoj doprinos nastanku ovoga doktorskog rada, pa se zapravo i na početku želim sjetiti svih Vas bez kojih mene i ovog doktorskog rada ne bi bilo.

Hvala Vesni (Matijatko), predstojnici Klinike za unutarnje bolesti, ali i mojoj učiteljici, koja je svojom ustrajnošću i strpljivošću oblikovala (ali i još uvijek oblikuje) veterinara u meni! Teško je dovoljno Vam se zahvaliti na svemu što ste za mene učinili.

Mojim mentorima, prof. dr. Vladimiru Mrljaku i prof. dr. Tatjani Živičnjak, hvala na strpljivosti, razumijevanju, ohrabrivanju i korisnim savjetima. Bili ste neprekinuti i snažan „vjetar u leđa“, a Vaša strpljivost je (unatoč svim mojim ekscentrizmima) bila neizmjerna.

Zahvaljujem se prof. dr. Ljubi Barbiću, koji je u pravom trenutku dodao esenciju istraživanju koje i čini ovaj doktorski rad. Bitno je bilo naći se na pravome mjestu i u pravo vrijeme! Hvala Ljubo!

Mene kao znanstvenog novaka ne bi bilo da se u mojim početcima nisu našle prof. dr. Lidija Kozačinski i prof. dr. Ljiljana Pinter, moja prva mentorica. Vi ste mi pružile ruku u presudnom trenutku, hvala Vam na svoj dobroti koju ste mi pružili, hvala Vam na potpori i razumijevanju.

Hvala i dr. sc. Relji Becku i dr. sc. Miroslavu Beniću, s Hrvatskog veterinarskog instituta. Relja, bez tvoje podrške (i „ljudske“ i stručne) izrada ovog doktorskog rada bila bi nezamisliva. Kolegi Beniću zahvaljujem na besprijekornoj statističkoj obradi rezultata istraživanja! Spominjajući statistiku, zahvaljujem se i prof. dr. Igoru Štokoviću, našem „kućnom“ statističaru, na pomoći u ključnim trenutcima.

Veliko hvala svim mojim kolegama, drugovima, iz ambulante Klinike za unutarnje bolesti! Hvala ti Mirna, Iva Š., Ines, Jelena, Karol, Darko, Gabi, Martina, Iva M. i Ivana. Hvala vam što ste svakog dana sa mnom pisali ovaj rad, što ste svakodnevno poput gumice natezali svoje ambulantne rasporede kako bih mogao nesmetano raditi na svojem istraživanju i pisanju rada.

Hvala svim mojim prijateljima na nesebičnoj podršci koju su mi neprestano pružali.

I na samome kraju dolaze oni bez čije bezgranične ljubavi, podrške, zagrljaja, osmjeha i pomoći ovoga doktorskog rada (za)stvarno ne bi bilo: mojim roditeljima Lavoslavu i Mari, mojoj supruzi Nikolini i našoj Miji – najveća vam hvala na svemu, vi ste, u pravom smislu te riječi, moj *spiritus movens*!

SAŽETAK

Utjecaj bolesti prenosivih člankonošcima na klinički oblik i tijek babezioze u pasa

Ključne riječi: člankonošcima prenosive bolesti, babezioza, pas, anaplazmoza

Bolesti prenosive člankonošcima uzrokovane su mikroorganizmima koji se prenose ubodom hematofagnog člankonošca, u većini slučajeva krpelja ili komarca, te su ovisne i određene klimatskim uvjetima i staništem. Pod utjecajem globalnih klimatskih promjena dolazi i do promjena u samim vektorima, prvenstveno u smislu poboljšanja njihove sposobnosti širenja bakterija, virusa, protozoa i helminta. Parazitski člankonošci (pr. krpelji, buhe, komarci i papatači) učinkoviti su prijenosnici velikog broja bakterija, virusa, protozoa i helminta koji inficiraju stoku, kućne ljubimce i čovjeka. Najznačajnije su bolesti prenosive vektorima u pasa one koje prenose krpelji i komarci, a u Republici Hrvatskoj su dokazani slijedeći uzročnici: *Babesia canis*, *Babesia vogeli*, *Babesia caballi*, *Babesia gibsoni*, *Theileria annae*, *Theileria equi*, *Babesia microti*, *Hepatozoon canis*, *Leishmania infantum*, *Anaplasma platys*, *Anaplasma phagocytophilum* i *Borellia burgdorferi* sensu lato.

Ciljevi su ovog istraživanja bili: pridonijeti boljem poznavanju patogeneze babezioze, utvrditi prevalenciju koinfekcije u pasa oboljelih od babezioze, utvrditi prevalenciju koinfekcije u pasa oboljelih od kompliciranog oblika babezioze, utvrditi postoji li korelacija između koinfekcije i kliničkog tijeka, oblika i ishoda babezioze i utvrditi razlike u kliničkoj slici i laboratorijskim pokazateljima u pasa oboljelih od nekompliciranog i kompliciranog oblika babezioze ovisno o prisutstvu ko-infekcije.

Istraživanjem je obuhvaćeno ukupno 127 pasa zaprimljenih u ambulantu Klinike za unutarnje bolesti Veterinarskog fakulteta u Zagrebu u razdoblju od 01.01.2009. do 31.12.2012. godine. Svim psima je potvrđena dijagnoza babezioze pronalaskom protozoe *Babesia canis* u razmasku periferne krvi. Neposredno nakon postavljanja dijagnoze jednokratno je svim psima apliciran imidokarb dipropionat. U svim je pretraženim uzorcima krvi pasa PCR metodom potvrđena vrsta *Babesia canis*. Od 127 pasa uključenih u istraživanje, 15% ih je bilo seropozitivno na vrstu *Anaplasma*

phagocytophilum, dok ih je 85% bilo seronegativno. Niti jedan pas nije bio seropozitivan na vrste *Ehrlichia canis*, *Borellia burgdorferi*, *Leishmania infantum*, te u niti jednog psa nije dokazan antigen vrste *Dirofilaria immitis*. Kod niti jednog psa seropozitivnog na vrstu *Anaplasma phagocytophilum* PCR metodom nije dokazana DNA specifična za rod *Anaplasma*, kao niti za vrstu *Anaplasma phagocytophilum*.

Ovim istraživanjem je utvrđeno da postoji statistički značajna obzirom na dobnu strukturu istraživane populacije. Naime, veća je frekvencija pojave seropozitivnosti na vrstu *Anaplasma phagocytophilum* u srednjoj do starijoj dobi. Nadalje, u seropozitivnih pasa utvrđena je statistički značajno niža temperatura u odnosu na seronegativne pse. Razmatrajući pojavu komplikacija babezioze, najčešće su bile prisutne: sindrom višestrukog zatajivanja organa (MODS), akutna ozljeda bubrega, akutna rabdomioliza i imunosno-posredovana hemolitička anemija. Kompliciran oblik babezioze pojavio se u ukupno 29% istraživane populacije pasa, a utvrđena je statistički značajna razlika u pojavnosti kompliciranog oblika babezioze u seropozitivnih u odnosu na seronegativne pse. Nadalje, utvrđena je statistički značajna veća pojavnost MODS-a, akutne ozljede bubrega, akutne rabdomiolize, imunosno-posredovane hemolitičke anemije i diseminirane intravaskularne koagulacije u serpozitivnih pasa. U ovom istraživanju je utvrđeno da je vjerojatnost pojave komplikacija 4,81 puta veća u seropozitivnih nego u seronegativnih životinja, te da se vjerojatnost pojave komplikacija povećava što je životinja starija. U diferencijalnoj krvnoj slici zabilježen je statistički značajno veći udio nesegmentiranih neutrofilnih leukocita i monocita u seropozitivnih pasa, a od biokemijskih pokazatelja statistički značajno viša aktivnost kreatin kinaze i aspartat-aminotransferaze. Što se mortaliteta tiče, u ovom je istraživanju iznosio 6,3%. Ishod babezioze bio je statistički značajno nepovoljniji kod pasa koji su razvili komplicirani oblik babezioze, a istraživanje je pokazalo da seropozitivnost na *Anaplasma phagocytophilum* predstavlja čimbenik rizika za razvoj kompliciranе babezioze, koji u konačnici i utječe na konačni ishod bolesti.

SUMMARY

The influence of arthropod-borne diseases on the clinical form and clinical course of canine babesiosis

Arthropod-borne diseases are caused by microorganisms transmitted by the bite of a hematophagous arthropod, in the majority of cases by the bite of a tick or mosquito. They are dependant on global climate conditions and habitat, which are interconnected with the biological needs of the microorganism, its arthropod vector and reservoir host (mammal). Influenced by the global climatic changes, changes in the vectors themselves appear, namely, changes in their ability to trasmitt bacteria, viruses, protozoa, and helminths. Parasitic arthropods (i. e. ticks, fleas, mosquitos, sandflies) are effective carriers of numerous bacteria, viruses, protozoa and helminths, with which in turn cattle, companion animals and humans are infected. The most significant vector-borne diseases in dogs are those transmitted by arthropod vectors, and in the Republic of Croatia following microorganisms have been demostrated: *Babesia canis*, *Babesia vogeli*, *Babesia caballi*, *Babesia gibsoni*, *Theileria annae*, *Theileria equi*, *Babesia microti*, *Hepatozoon canis*, *Leishmania infantum*, *Anaplasma platys*, *Anaplasma phagocytophilum* i *Borellia burgdorferi* sensu lato.

The main goals of this study were to contribute to better understanding of canine babesiosis pathogenesis, determine the rate of co-infection in dogs with babesiosis, especially in the cases of complicated babesiosis. Also, to establish if there is a correlation between co-infection and clinical course, form and outcome of canine babesiosis, and to determine differences in clinical signs and laboratory findings between dogs that are in co-infection and those that are not.

In this study 127 dogs addmited at the Clinic for Internal Diseases, Faculty of Veterinary Medicine in Zagreb between January 1 2009 and December 31 2012, that were diagnosed with canine babesiosis were included. Diagnosis of canine babesiosis was established by finding of protozoa *Babesia canis* in the smear of peripheral blood. All dogs received single dose of antibabesial drug, imidocarb-dipropionate. In blood samples of all dogs, by the means of PCR, *Babesia canis* as a causative agent has been confirmed. Of 127 dogs included in the study which were tested with IDEXX Snap4DX, 15% of dogs tested positive for *Anaplasma phagocytophilum*, while 85% of dogs tested negative. None of the dogs tested positive for *Ehrlichia canis*, *Borellia*

burgdorferi, *Leishmania infantum*, and *Dirofilaria immitis*. In dogs that tested positive additionaly PCR was done to establish active infection, but in none of the dogs *Anaplasma*-specific DNA was not demonstrated.

This study showed that statistically significant difference exists in regard to age structure of the studied population. Increased frequency of seropositivity was demonstrated in middle aged to older dogs. Furthermore, in seropositive dogs statistically significant lower temperature was found, compared to seronegative dogs. Most frequently observed complication of canine babesiosis was multiple organ dysfunction syndrome (MODS), followed by acute kidney injury, acute rhabomyolysis and immune-mediated hemolytic anemia. Complicated babesiosis developed in 29% of dogs, and statistically significant difference in development of complicated babesiosis between seropositive and seronegative dogs was demonstrated. Also, in seropositive dogs statistically significant higher incidence of MODS, acute kidney injury, acute rhabdomyolysis, immune-mediated hemolytic anemia and disseminated intravascular coagulation was demonstrated. Dogs that tested seropositive had a 4.81 times higher probability for development of complications of canine babesiosis. The probability for development of complications also increased with age. In differential blood count statistically significant increase in numbers of nonsegmented neutrophils and monocytes were observed in the group of seropositive dogs. Of biochemical parameters, dogs that tested seropositive had statistically higher activity of creatin kinase and aspartate aminotranspherase. Regarding the mortality rate, in this study it totaled 6.3%. In dogs that developed complicated babesiosis statistically higher incidence of unfavourable outcome was demostrated, while seropositivity to *Anaplasma phagocytophilum* represented a risk factor for development of complicated canine babesiosis, which in turn influences the final outcome of the disease.

SADRŽAJ

1. UVOD 1
2. PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA 4
2.1. ČLANKONOŠCI KAO VEKTORI ZARAZNIH BOLESTI 4
2.1.1. Krpelji 4
2.1.2. Komarci 6
2.1.3. Papatači 7
2.1.4. Muhe i buhe 8
2.2. IMUNOPATOLOGIJA BOLESTI PRENOSIVIH ČLANKONOŠCIMA 10
2.2.1. Međuodnos krpelj-nositelj 11
2.2.2. Međuodnos papatač-nositelj 13
2.2.3. Imunosni odogovor nositelja na člankonošca 14
2.3. PREGLED BOLESTI PRENOSIVIH ČLANKONOŠCIMA 16
2.3.1. Babezioza 16
2.3.1.1. Geografska rasprostranjenost 17
2.3.1.2. Prijenos 17
2.3.1.3. Patogeneza 18
2.3.1.4. Klinička slika 19
2.3.1.5. Dijagnostika 21
2.3.1.6. Terapija 22
2.3.1.7. Profilaksa 25
2.3.2. Monocitotropična erlihioza 25
2.3.2.1. Patogeneza 26
2.3.2.2. Klinička slika 28
2.3.2.3. Dijagnostika 29
2.3.2.4. Terapija 30
2.3.2.5. Profilaksa 31
2.3.3. Granulocitotropična anaplazmoza 32
2.3.3.1. Prijenos 32
2.3.3.2. Ko-infekcije i multi-infekcije 34
2.3.3.3. Patogeneza 34

2.3.3.4. Klinička slika. 36
2.3.3.5. Dijagnostika 36
2.3.3.6. Terapija 38
2.3.3.7. Profilaksa 39
2.3.4. Lajmska borelioza 39
2.3.4.1. Prijenos 41
2.3.4.2. Patogeneza 42
2.3.4.3. Klinička slika 45
2.3.4.4. Dijagnostika 46
2.3.4.5. Terapija 47
2.3.4.6. Profilaksa 50
2.3.5. Lišmanioza 51
2.3.5.1. Patogeneza 53
2.3.5.2. Klinička slika 54
2.3.5.3. Dijagnostika 56
2.3.5.4. Terapija 57
2.3.5.5. Profilaksa 60
2.3.6. Dirofilarioza 60
2.3.6.1. Razvojni ciklus 61
2.3.6.2. Patogeneza 62
2.3.6.3. Klinička slika 63
2.3.6.4. Dijagnostika 64
2.3.6.5. Terapija 65
2.3.6.6. Profilaksa 67
3. OBRAZLOŽENJE TEME 68
4. MATERIJALI I METODE 69
4.1. Životinje 69
4.2. Klinička obrada pasa 69
4.3. Uzimanje i priprema uzoraka 71
4.4. Obrada uzoraka 72
4.4.1. Dijagnostika babezioze 72
4.4.2. Dijagnostika anaplazmoze, borelioze, erlihioze, dirofilarioze i lišmanioze 72

4.4.3. Određivanje vrste babezija lančanom reakcijom polimerazom 73
4.4.4. Kompletna krvna slika 76
4.4.5. Biokemijski pokazatelji 76
4.4.6. Potvrđivanje dijagnoze akutnog pankreatitisa 77
4.5. Statistička obrada podataka 78
5. REZULTATI 79
5.1. Osnovni prikaz cjelovite skupine istraživanih pasa 79
5.2. Zastupljenost spolova u skupini istraživanih pasa 80
5.3. Dobna struktura skupine istraživanih pasa 88
5.4. Anamnestički podatci, klinički znakovi, laboratorijski pokazatelji i oblik babezioze 90
5.4.1. Anamnestički podatci, klinički znakovi i oblik babezioze 90
5.4.2. Istraživani pokazatelji obzirom na serološki status pasa 102
6. RASPRAVA 126
6.1. Epizootiološki podatci 126
6.2. Anamnestički podatci i klinički znakovi babezioze 127
6.3. Oblik i komplikacije babaezioze 130
6.4. Laboratorijski pokazatelji 132
6.5. Ishod babezioze 134
6.6. Seropozitivnost u pasa oboljelih od babezioze 135
7. ZAKLJUČCI 139
8. LITERATURA 142
9. PRILOZI 183
9.1. Kazalo slika 183
9.2. Kazalo tablica 185
10. ŽIVOTOPIS 187

POPIS OZNAKA I KRATICA

ACVIM – Američka škola veterinarske interne medicine (engl. *American College of Veterinary Internal Medicine*)

ADP – adenozin difosfat

AKI – akutna ozljeda bubrega (engl. *acute kidney injury*)

ALT – alanin-aminotransferaza

ALP – alkalna fosfataza

AMY - amilaza

APTV – aktivno parcijalno tromboplastinsko vrijeme

ARDS – akutni respiratorni distresni sindrom (engl. *acute respiratory distress syndrome*)

AST – aspartat-aminotransferaza

ATIII – antitrombin III

bp – parovi baza (engl. *base pairs*)

CARS – sindrom kompezacijskog protuupalnog odgovora (engl. *compensatory antiinflammatory response syndrome*)

CDC – Centar za kontrolu bolesti (engl. *Center for Disease Control*)

CHOL - kolesterol

CPK – kreatin-kinaza

CRT – vrijeme ponovnog punjenja kapilara (engl. *capillary refill time*)

cTnI – srčani troponin I

DNA – deoksiribonukleinska kiselina (engl. *deoxyribonucelinic acid*)

DIK – diseminirana intravaskularna koagulacija

ELISA – imunoenzimni test (engl. *enzyme-linked immunosorbent assay*)

gGT – gama-glutamil transferaza

HCT - hematokrit

IFAT – indirektna imunofluorescencija (engl. *immunofluorescent antibody testing*)

IFN – interferon

IgG – imunoglobulin G

IgM – imunoglobulin M

i. j. – internacionalna (međunarodna) jedinica

IL – interleukin

im. - intramuskularno

IMHA – imunosno-posredovana hemolitička anemija (engl. *immune-mediated haemolytic anaemia*)

IOM – Medicinski institut Nacionalne akademije znanosti Sjedinjenih Američkih Država (engl. *Institute of Medicine*)

IR – nepromijenjiva regija lipoproteina vanjske membrane (engl. *invariable region*)

IRIS – Međunarodno interesno društvo za bubrege (engl. *International Renal Interest Society*)

iv. – intravenski

KC-like – čimbenik sličan keratinocit kemoatraktantu (engl. *keratinocyte chemoattractant like factor*)

K-EDTA – dikalijeva sol etilendiaminotetraoctene kiseline (engl. *dipotassium ethylenediaminetetraacetic acid*)

LIP - lipaza

LPS – lipopolisaharidi

MCP – kemotaksijski protein monocita (engl. *monocyte chemoattractant protein*)

MIP – upalni protein makrofaga (engl. *macrophage inflammatory protein*)

MODS – sindrom višestrukog zatajivanja organa (engl. *multiple organ dysfunction syndrome*)

Osp – lipoproteini vanjske membrane (engl. *outer surface proteins*)

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

PDGF – čimbenik rasta iz trombocita (engl. *platelet-derived growth factor*)

PG – prostaglandin

PLE – nefropatija sa gubitkom proteina (engl. *protein-losing nephropathy*)

po. – peroralno

PSGL – glikoproteinski ligand P-selektina (engl. *P-selectin gylcoprotein ligand*)

PTE – plućna tromboembolija

PV – protrombinsko vrijeme

RANTES – kemokin, prema engl. *regulated upon activation, normal T-cell expressed and secreted*

RNA – ribonukleinska kiselina (engl. *ribonucleic acid*)

rRNA – ribosomska ribonukleinska kiselina (engl. *ribosomal ribonucleic acid*)

Salp – krpeljni slinski protein (engl. *(tick) saliva protein*)

Slc11c1 – porodica topivih gena (engl. *solute carrier family 11 member a1*)

SIRS – sindrom sustavnog upalnog odgovora (engl. *systemic inflammatory response syndrome*)
sk. – subkutano
SŽS – središnji živčani sustav
Th – T-pomoćnički limfociti
TNF – čimbenik nekroze tumora (engl. *tumor necrosis factor*)
TRIG - trigliceridi
UPCR – omjer proteina i kreatinina u mokraći (engl. *urinary protein to creatinin ratio*)
VlsE – lipoprotein vanjske membrane (engl. *variable major protein-like sequence*)
WB – Western blot

1. UVOD

Bolesti prenosive člankonošcima uzrokovane su parazitima, bakterijama ili virusima, mikroorganizmima koji se prenose ubodom ili prihvaćanjem hematofagnog člankonošca, u većini slučajeva krpelja ili komarca (PAROLA i sur., 2005); one su ovisne i određene klimatskim uvjetima i staništem koje je usklađeno sa biološkim potrebama mikroorganizma, njegovog vektora-člankonošca i u konačnici rezervoara-sisavca (FRITZ, 2009). Suzbijanje bolesti prenosivih člankonošcima prvenstveno zahtijeva multidisciplinaran pristup, posebice kada se uzme u obzir činjenica da veliki broj navedenih bolesti posjeduje zoonotski potencijal. Nadalje, u prošlom desetljeću svjedočimo pojavi novih bolesti, kao i novoj pojavi već poznatih, ali sa promjenama u epidemiološkim značajkama, poput primjerice prevalenciji, geografskoj rasprostranjenosti i patogenosti (SHAW i sur., 2001; PAROLA i sur., 2005). BEUGNET i MARIÉ (2009) navode da se pojavnost nekih bolesti prenosivih člankonošcima povećava u europskim zemljama, te da uzročnici „slobodnije“ prometuju među različitim zemljama. Navedeno je prvenstveno posljedica djelovanja čovjeka. Klimatske promjene (osobito globalno zagrijavanje) utječu i na gustoću populacije određenog člankonošca-vektora, na njegovu geografsku rasprostranjenost i vektorsku sposobnost (BEUGNET i MARIÉ, 2009). Ljudi trenutno prolaze kroz besprimjerne životne promjene, kao i njihov odnos sa životinjama, bilo ljubimcima ili životinjama namijenjenim za proizvodnju; promjene se ne odnose samo na svjetske klimatske promjene (TABACHNICK, 2010), već i na dramatične demografske promjene, promjene u ponašanju, načinu iskorištavanja dobara i promjene u okolišu (SUTHERST, 2004). Navedene promjene, samostalno ili udruženo djelujući, dovode i do promjena međudjelovanja između čovjeka, životinje i uzročnika bolesti, što u konačnici rezultira pojavom novih ili izmijenjenih „starih“ bolesti (JONES i sur., 2008.; OTRANTO i EBERHARD, 2011). U takvim uvjetima i pod utjecajem navedenih promjena dolazi i do promjena u samim vektorima (pr. krpeljima, buhama, komarcima i papatačima), tako dolazi i do poboljšanja njihove sposobnosti da šire bakterije, viruse, protozoe i helminte (COLWELL i sur., 2011). Dakle, bolesti prenosive člankonošcima, ili šire rečeno bolesti prenosive vektorima dio su stalnih promjena u svijetu, te se posljedično tome i trajno prilagođavaju novim uvjetima postojanja. Mijenjaju vektore kojima se šire, mijenjaju nositelja, rasprostranjenost i virulenciju (PAROLA i sur., 2008; COLWELL i sur., 2011).

U posljednjih deset godina primijećena je pojava, uvjetno rečeno, novih bolesti u ljudi, kopitara i mesoždera, primjerice babezioze u sjevernoj Njemačkoj (HÄSELBARTH i sur., 2007), Nizozemskoj (MATJILA i sur., 2005) i Norveškoj (ØINES i sur., 2010), monocitne erlihioze u južnoj Europi (DOMINGOS i sur., 2011), anaplazmoze uzrokovane vrstom *Anaplasma playts* (*A. platys*) u Francuskoj (BEAUFIL i sur., 2002), te anaplazmoze uzrokovane vrstom *Anaplasma phagocytophilum* (*A. phagocytophilum*) u goveda, konja, pasa i mačaka u sjevernoj Europi (BEUGNET i MARIÉ, 2009).

Briga o emergentnim infekcijama nije vezana isključivo uz javno zdravstvo. Medicinski institut Nacionalne akademije znanosti Sjedinjenih Američkih Država (*Institute of Medicine*, IOM) u svojoj raspravi objavljenoj 1992. godine naglašava da složeni ciklusi bolesti prenosivih člankonošcima često obuhvaćaju brojne vrste sisavaca, drugih kralježnjaka i nekralježnjaka; pritom je čovjekova međusobna povezanost sa domaćim mesožderima od posebnog interesa, osobito u svijetlu bolesti koje prenose krpelji (LEDERBERG i sur., 1992). Uz činjenicu da su psi osjetljivi na bolesti prenosive krpeljima, oni postaju i rezervoarima patogenih mikroorganizama, i to u smislu konačnih nositelja i prenositelja krpelja, te u konačnici pokazatelja regionalnog rizika određene bolesti (FRITZ, 2009).

Parazitski člankonošci (pr. krpelji, buhe, komarci i papatači) učinkoviti su prijenosnici velikog broja bakterija, virusa, protozoa i helminta koji inficiraju stoku, kućne ljubimce i čovjeka globalno (OTRANTO i sur., 2009). Globalno gledajući, bolesti prenosive člankonošcima pogađaju zdravlje ljudi i životinja, te svjetsku ekonomiju, čineći pritom 17% svih zaraznih bolesti i uzrokujući milijunske štete stočnoj industriji godišnje (WHO, 2004).

Svojevrsna eksplozija pseće populacije, društvena uloga pasa u razvijenim zemljama svijeta (pr. terapijski psi i psi vodiči slijepih) i sve bliskiji odnos sa čovjekom predstavljaju sve veći javnozdravstveni rizik (ORMEROD i sur., 2005; OTRANTO i sur., 2009).

Najznačajnije bolesti prenosive vektorima u pasa su one koje prenose krpelji, komarci i papatači (člankonošci): babezioza, erlihioza, anaplazmoza, dirofilarioza, lišmanioza, borelioza, bartoneloza, hepatozoonoza i krpeljno-prenosivi meningoencefalitis (RANDOLPH, 2004; BOWMAN i sur., 2009). Nadalje, sve se češće opisuju slučajevi koinfekcija, sa više uzročnika bolesti prenosivih člankonošcima istovremeno, kako u čovjeka, tako i u pasa. Istovremena infekcija sa više uzročnika bolesti prenosivih

člankonošcima najvjerojatnije je posljedica prijenosa više uzročnika istim vektorom ili pak prijenosa više uzročnika putem različitih vektora, u različitim vremenskim razdobljima (KORDICK i sur., 1999).

U Republici Hrvatskoj su dokazani brojni uzročnici bolesti prenosivih člankonošcima: *Babesia canis*, *Babesia vogeli*, *Babesia caballi*, *Babesia gibsoni*, *Theileria annae*, *Theileria equi* (BECK i sur., 2009), *Babesia microti* (BECK i sur., 2011), *Hepatozoon canis* (VOJTA i sur., 2009), *Leishmania infantum* (ŽIVIČNJAK i sur., 2005), *Anaplasma platys* (DYACHENKO i sur., 2011), *Anaplasma phagocytophilum* i *Borellia burgdorferi* sensu lato (TURK i sur., 2008). Pritom jer važno istaknuti da neki člankonošci mogu prenositi i više bolesti istodobno. Također je važno napomenuti da je u Hrvatskoj mortalitet u pasa oboljelih od babezioze veći od 10%, što je značajno više u odnosu na mortalitet u ostalim dosada istraženim dijelovima Europe, izuzev Mađarske (MATIJATKO i sur., 2012).

2. PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA

2.1. ČLANKONOŠCI KAO VEKTORI ZARAZNIH BOLESTI

Brojne osobitosti (pr. hematofagija) velikog broja člankonožaca čine ih važnim vektorima brojnih zaraznih bolesti u pasa i mačaka (WALL i PITTS, 2005). Među člankononošcima najvažnije vektorske vrste su: krpelji, komarci, papatači, muhe i buhe.

2.1.1. KRPELJI

Krpelji su obvezatni hematofagni ektoparaziti i smatraju se najznačajnijim vektorima zaraznih bolesti (RIJPKEMA i sur., 1996). Pripadaju koljenu člankonožaca (*Arthropoda*), razredu paučnjaka (*Arachnida*), podrazredu grinja (*Acari* ili *Acarina*) i srodnici su šugaraca i pauka. Značajnu ulogu u prijenosu zaraznih bolesti imaju krpelji šikare (porodica *Ixodidae*), odnosno unutar porodice pripadnici rodova *Rhipicephalus*, *Ixodes* i *Dermacentor*. Pripadnici krpelja nastambi (porodica *Argasidae*) prvenstveno parazitiraju na pticama, šišmišima i reptilima, te nisu od značaja kao vektori zaraznih bolesti u pasa i mačaka (WALL i PITTS, 2005). Krpelje, nakon komaraca, smatramo u medicinskom smislu najvažnijom skupinom člankonožaca (JAENSON i JENSEN, 2007).

Pseći smeđi krpelj ili krpelj štenare (*Rhipicephalus sanguineus*) globalno gledano je najrašireniji vrsta krpelja, njegov nositelj je pas, a na nositelju mogu parazitirati svi razvojni stadiji ovog krpelja. Česte su invazije štenara i skloništa za napuštene pse ovim krpeljom, gdje je on aktivan tijekom cijele godine. Diljem euroazijskog kontinenta najprošireniji je obični ili šumski krpelj (*Ixodes ricinus*), kojeg nalazimo na livadama i u šumama, gdje larvalni i nimfalni stadiji prvenstveno parazitiraju na manjim sisavcima (poput primjerice, miševa) i pticama, dok odrasle jedinke nalazimo na divljim i domaćim životinjama. Rasprostranjenost ovoga krpelja se povećava, osobito posljedično toplijim zimskim razdobljima, pa je on aktivan gotovo cijelu godinu. Osim navedenog krpelja istoj vrsti pripada i pseći ili ježev krpelj (*Ixodes hexagonus*), rasprostranjen diljem periurbanih područja Europe, te u sjevernoj Africi. Često parazitira na mačkama. Krpelje pripadnike roda *Dermacentor*, prvenstveno vrstu *Dermacentor reticulatus*, nalazimo rasprostranjene po europskom i sjeverno-američkom kontinentu. Odrasle

jedinke navedene vrste parazitiraju prvenstveno na psima, dok larvalne i nimfalne stadije nalazimo na glodavcima (WALL i PITTS, 2005).

Što se rasprostranjenosti krpelja porodice *Ixodidae* tiče, na području Republike Hrvatske zabilježena je 21 vrsta (KRČMAR, 2012). U pasa i mačaka nađene su vrste *Dermacentor marginatus*, *D. reticulatus*, *Rhipicephalus sanguineus*, *R. turanicus*, *Ixodes ricinus* i *I. hexagonus*. Krpelj vrste *D. reticulatus* zabilježen je tek nedavno na području Republike Hrvatske (DOBEC i sur., 2009).

Životni ciklus krpelja šikare obuhvaćen je četirima stadijima: stadijem jajašca, šestonožne ličinke, osmonožne nimfe i osmonožne odrasle jedinke. Tijekom izmjenjivanja navedenih stadija, ličinke, nimfe i odrasle jedinke parazitiraju na životinjama. Pretpostavlja se da je parazitizam krpelja evoluirao posljedično bliskoj povezanosti sa nositeljima koji grade gnijezda, no tijekom vremena krpelji su razvili mehanizme pomoću kojih trajno ostaju na nositelju ili imaju sposobnost pronalaženja nositelja u okolišu. Većina krpelja šikare ipak nije aktivno u potrazi za nositeljem, već čeka svojeg nositelja, skriveno u vegetaciji (primjerice, na vrhovima vlati trave). Krpelji otkrivaju potencijalnog nositelja pomoću kemoreceptora koji se nalaze na tarzusima prvog para nogu, osjećajući tragove ugljičnog dioksida i drugih kemijskih spojeva koje otpušta nositelj. Po kontaktu sa nositeljom prelaze sa vegetacije na njegovu površinu te traže mjesto prihvata (NEEDHAM i TEAL, 1991).

Većina je krpelja šikare rasprostranjena u područjima sa relativno velikim brojem nositelja i uvjetima okoliša koji podržavaju njihov opstanak tijekom razdoblja životnog ciklusa u kojem se ne nalaze na nositelju, pa se životni ciklus takvih krpelja odvija preko tri nositelja (trikseni krpelji). U takvom životnom ciklus ličinke se prihvaćaju na odgovarajućeg nositelja, počinju se hraniti krvlju (što traje od četiri do šest dana), te se nakon hranjenja otpuštaju, padaju na tlo i pretvaraju se u nimfe. Nimfe se ponovo prihvaćaju na odgovarajućeg nositelja, na njemu se hrane krvlju te se po završetku ciklusa hranjenja otpuštaju i padaju na tlo. Nimfe se presvlače u odrasle jedinke, muškog i ženskog spola, ponovo se prihvaćaju na nositelja, sišu krv, te se nakon obroka pare i odlažu jaja na tlo. Relativno mali broj krpelja šikare (pedesetak vrsta) koji nastanjuju područja u kojima je broj nositelja nizak i uvjeti okoliša su nepovoljni prilagodio je svoj životni ciklus razvojem na jednom (monokseni krpelji) odnosno dva nositelja (dikseni krpelji) (WALL i PITTS, 2005).

Vektorski potencijal krpelja je značajan, pa su tako svi trikseni krpelji prenosioci različitih bolesti pasa i mačaka, jer baš takav životni ciklus, okarakteriziran kretanjem

među različitim nositeljima kao i činjenica da nisu vrsno-specifični u smislu hranjenja, čini ih vrlo važnim vektorima bolesti. Divlje životinje su posebno značajne kao rezervoari patogenih mikroorganizama, osobito kada ih gledamo u svjetlu razvojnog ciklusa krpelja, odnosno gledano kao cjelina divlja životinja-krpelj-domaća životinja. Osim navedenog, čimbenici koji doprinose tzv. vektorskom kapacitetu krpelja su: čvrsta veza sa nositeljem, duga razdoblja hranjenja (što omogućuje unos i prijenos velikog broja patogenih mikroorganizama), visoki reproduktivni potencijal krpelja, te transstadijski i transovarijski prijenos patogenih mikroorganizama. Infekciju nositelja mogu pospješiti slinski antikoagulansi i druge tvari koje utječu na kutani imunosni odgovor kao i upalu, te dovode do vazodilatacije sa posljedičnim povećanjem pritoka krvi u područje prihvata krpelja. Slinska tekućina je glavni način prijenosa patogenih mikroorganizama (ALEKSEEV i DUBININA, 2008; BEUGNET i MARIÉ, 2009; PAZ i sur., 2010).

2.1.2. KOMARCI

Komarci su kukci koji pripadaju porodici *Culicidae*, redu dvokrilaca (*Diptera*). Porodica obuhvaća preko tri tisuće različitih vrsta koje nastanjuju sva područja svijeta, od polarnih do tropskih. Porodica je podijeljena na tri podporodice: *Anophelinae*, *Culicinae* i *Toxorhynchitinae*. Podporodica *Culicinae* broji više od 2500 vrsta, a glavni su rodovi navedene podporodice *Aedes* i *Culex* (WALL i PITTS, 2005). Brojne su vrste komaraca podporodice *Culicinae* rasprostranjene na području Republike Hrvatske, no najveću opasnost javnom zdravstvu, ne samo Hrvatske već i Europe, predstavlja azijski tigrasti komarac (*Aedes albopictus*), koji prenosi brojne patogene mikroorganizme: alfaviruse (pr. uzročnika istočnog encefalitisa konja), flaviviruse (pr. uzročnika dengue groznice) i nematode (*Dirofilaria immitis* i *Dirofilaria repens*) (MEDLOCK i sur., 2012).

Komarci su mali i vitki kukci, dužine dva do deset milimetara, koji svoja jaja polažu na površini vode, osobito u vlažnim predjelima i tijekom noći. Sa svakim polaganjem ženke polože do 200 jaja. Ličinke svih vrsta komaraca su akvatične, te ih nalazimo u različitim staništima: od lokvica, jezera, rubova potoka sve do bazena i otvorenih rezervoara vode. Životni ciklus komaraca je obuhvaćen sa četiri razvojna stadija: jaje, ličinka, kukuljica i odrasla jedinka. Prva tri stadija se odvijaju u vodi, dok je odrasla jedinka leteći kukac. Do parenja obično dolazi unutar 24 sata od nastanka odrasle jedinke. Komarci se uglavnom hrane nektarom i biljnim sokovima, dok za razvoj jaja

ženka treba sisati krv. Komarci su najaktivniji tijekom noći, te u sumrak i svitanje, a raspon njihovih nositelja je velik; nositelja uočavaju pomoću kretanja, osjeta tjelesne topline, orijentacije prema smjeru puhanja vjetra i putem različitih kemijskih tvari izlučenih od strane nositelja (WALL i PITTS, 2005; HENDRICKX i LANCELOT, 2010; LAAKSONEN i sur., 2010; JAVED i sur., 2013; VALLE i sur., 2013).

Vektorski potencijal komaraca je velik, jer oni su prenosioci različitih vrsta virusa, nematoda i protozoa, te su vrlo otporni na čimbenike okoliša, pa se patogeni mikroorganizmi u njima mogu održati tijekom različitih godišnjih doba. Tako primjerice, kada odrasli komarac siše krv nositelja zaraženog virusom, on biva unešen sa obrokom i dospijeva u srednje crijevo gdje invadira epitelne stanica crijeva i u njima se umnaža. Nakon što umnoženi virus dospije u cirkulaciju biva raznesen po cijelome organizmu i dospijeva u različita tkiva, u slinske žlijezde, masna tjelešca, jajnike i živce. Patogeni se mikroorganizam najčešće širi sisanjem krvi, no u nekih vrsta opisano je i transovarijsko širenje virusa (WALL i PITTS, 2005).

2.1.3. PAPATAČI

Papatači ili nevidi pripadaju dvokrilcima (*Diptera*), porodici *Psychodidae*, podporodici *Phlebotominae* i rasprostranjeni su u tropskim i subtropskim područjima, kao i mediteranskom području. Unutar podporodice *Phlebotomiae* dva su roda od značaja u veterinarskoj medicini: rod *Phlebotomus* i rod *Lutzomyia*. Papatači su značajni kao vektori lišmanioze u pasa i mačaka (QUINNELL i COURTENAY, 2009; DEPAQUIT i sur., 2010; ESCH i PETERSEN, 2013).

Na području Republike Hrvatske, prvenstveno srednje i južne Dalmacije, prema navodima MIŠČEVIĆA i sur. (1998), rasprostranjene su slijedeće vrste papatača: *Phlebotomus papatasi*, *P. neglectus*, *P. perfiliewi*, *P. tobbi* i *Sergentomyia minuta*. BOSNIĆ i sur. (2006) je u svojem istraživanju rasprostranjenost papatača u Dalmaciji, zabilježila slijedeće vrste: *P. tobbi*, *P. neglectus*, *P. perfiliewi*, *P. mascittii* i *S. minuta*.

Papatači su maleni kukci, veličine do pet milimetara, a u svojem životnom ciklusu prolaze kroz četiri razvojna stadija: stadij jaja, ličinke, kukuljice i odrasle jedinke. Ženka polaže od 50 do 100 jaja, u pukotinama stabala, nakupinama suhoga lišća ili uz korijenje stabala u šumama. Ličinke se hrane organskim raspadnim produktima (feces, raspadnuti dijelovi biljaka), a razvojni je ciklus papatača spor i traje od sedam do deset tjedana. Odrasle jedinke papatača se hrane nektarom, biljnim i voćnim sokovima, te

žive do šest tjedana. Kao i kod komaraca, samo odrasle ženke sišu krv, jer je krvni obrok potreban za razvoj jaja. Papatači su vrlo ograničeni pri pronalasku nositelja, jer su udaljenosti koje oni mogu prijeći, a u usporedbi sa komarcima, male, te ih privlače ugljikov dioksid i feromoni drugih papatača. Kreću se „u skokovima“, sa doletom od 100 do 200 metara (READY, 2013).

Kao što je već prije navedeno, papatači su najvažniji kao vektori lišmanioze u pasa i mačaka. Pri hranjenju na zaraženom nositelju papatači unose amastigote lišmanija, koji se razvijaju izvanstanično u srednjem i stražnjem crijevu. Tri dana po ingestiji amastigoti postaju promastigoti i migriraju u prednje crijevo, gdje se umnažaju. Infektivni promastigoti bivaju regurgitirani pri hranjenju na novom nositelju. Prijenos promastigota je pospješen opetovanim pokušajima hranjenja, jer je prednje crijevo opstruirano nakupljenim parazitima što otežava uspješno hranjenje papatača. Nadalje, infekciju pospješuju i vazodilatacijske tvari koje se nalaze u slini papatača (WALL i PITTS, 2005; DOSTÁLOVA i VOLD, 2012; READY, 2013).

2.1.4. MUHE I BUHE

Redu dvokrilaca (*Diptera*) pripadaju dvije velike porodice čiji su pripadnici vektori različitih bolesti: porodica obada *(Tabanidae*) i muha (*Muscidae*). Od veterinarsko-medicinskog značaja su: iz porodice obada rodovi *Tabanus*, *Chrysops* i *Haematopota*, te iz porodice muha vrste *Musca domestica*, *M. sorbens*, *M. autumnalis*, *M. vetustissima*, *Haematobia irritans* i *Stomoxys calcitrans* (WALL i PITTS, 2005).

Vrste iz porodice obada i muha važni su mehanički vektori virusa, bakterija, protozoa i nematoda. Tako primjerice, kada se ženka obada hrani, prije samog sisanja krvi ubrzigava u ranu slinu koja sadržava antikoagulans, a pri prestanku hranjenja na usnama i usnim dijelovima zaostaje manja količina krvi. Ukoliko se patogeni mikroorganizam nalazi u krvi, on na ovaj način može preživjeti i do sat vremena, pa tako i biti prenešen na slijedećeg nositelja, dakle radi se o mehaničkom prijenosu patogenog mikroorganizma (HORNOK i sur., 2008; WANG i sur. 2009).

Redu polukrilaca (*Hemiptera*), podredu stjenica *(Heteroptera*) pripada porodica kukaca predatora *Reduviidae*, koji su vektori protozoa *Trypanosma cruzi*, uzročnika tripanosomoze, Chagasove bolesti. Kukac unosi uzročnika bolesti sisanjem krvi zaraženog nositelja, a u njemu se uzročnik umnaža nespolno, te se u stražnjem crijevu razvijaju metaciklički tripomastigoti. Uzročnik se prenosi fecesom kukca, kojeg on

polaže nakon sisanja krvi, a kojeg nositelj trljanjem i češkanjem unosi u ugriznu ranu, ali i na sluznice oka, usta i nosa (VICKERMAN, 1985; COURA i BORGES-PEREIRA, 2012).

Buhe su mali, dobro pokretni i beskrilni hematofagni kukci, koji pripadadaju redu *Siphonaptera*. Vrste buha od značaja u veterinarskoj medicini su pseća (*Ctenocephalides canis*) i mačja (*Ctenocephalides felis*) buha. Vektorski potencijal buha proizlazi iz činjenice da se buhe hrane krvlju i da nisu specifične u izboru nositelja, tako da se hrane na vrlo velikom broju nositelja (mačja buha pronađena je na više od pedeset različitih vrsta). Vektorskom potencijalu buha pridonosi i činjenica trans-ovarijskog širenja patogenih mikroorganizama (rikecije) kao i putem fecesa (vrsta *Bartonella henselae*) (WALL i PITTS, 2005).

2.2. IMUNOPATOLOGIJA BOLESTI PRENOSIVIH ČLANKONOŠCIMA

Prijenos patogenog mikroorganizma hematofagnim člankonošcima zapravo zahtijeva jedinstven oblik međuodnosa između člankonošca, patogenog mikroorganizma i imunosnog sustava nositelja. U takovom „trokutu“ jedini je cilj člankonošca hranjenje, što postiže na vrlo jednostavan način, koji je uglavnom jednak među različitim vrstama člankonožaca. Tako člankonožac do obroka dolazi pomoću mehaničke penetracije epidermisa nositelja i lučenja vazoaktivnih i antikoagulacijskih molekula, koje potiču lokalan protok krvi i omogućuju sisanje nekoagulirane krvi. Dodatno, posljedično djelovanju različitih molekula izlučenih od strane člankonošca u mjesto penetracije, lokalni imunosni i upalni odgovor biva moduliran. Taj lokalni imunosni i upalni odgovor često postaje sustavni, šireći se na područne limfne čvorove te preko njih sustavno, po cijelome organizmu nositelja, djelujući supresivno i omogućujući člankonošcu duže zadržavanje na nositelju (kao što je to slučaj kod krpelja) (DAY, 2005; DAY, 2011).

Navedeni način manipulacije dermalnog „mikrookoliša“ od strane inficiranog člankonošca zapravo pridonosi infekciji patogenim mikroorganizmom, jer optimizira uvjete samog prijenosa, te kasnije širenja infekcije. Nadalje, samo prisutstvo patogenog mikroorganizma u člankonošcu utječe na biologiju ponašanja inficiranog člankonošca, kao što je to primjerice slučaj kod krpelja koji su inficirani borelijama (NAUMOV, 1999; KEMPF i sur., 2009; DAI i sur., 2010; ROMASHCHENCKO i sur., 2012) ili papatača inficiranih lišmanijama (FAIMAN i sur., 2011; CHELBI i sur., 2012; PINTO i sur., 2012; DE OLIVEIRA i sur., 2013). Sa vremenom zapravo dolazi do određene ko-evolucije člankonošca i mikroorganizma kojeg (pre)nose u sebi (ESTRADA-PEÑA i sur., 2009; TAYLOR i sur., 2012).

Patogeni mikroorganizmi koje prenose člankonošci uzrokuju bolesti koje su patogenetski složene i kojih su posljedice često vezane uz sekundarne, imunosno-posredovane promjene. Do razvoja navedenih sekundarnih promjena dolazi dijelom zbog učinka samog člankonošca, ali i djelovanja patogenog mikroorganizma (DAY, 2005).

2.2.1. MEĐUODNOS KRPELJ-NOSITELJ

Krpelji su evolucijski razvili brojne specijalizirane mehanizme koji ih čine visoko učinkovitim hematofagnim parazitima; pritom je većina navedenih mehanizama vezana uz lučenje različitih slinskih proteina, koji su u, biokemijskom i molekularnom smislu, dobro proučeni. U određenih vrsta krpelja, pojedini se slinski proteini razlikuju između mužjaka i ženki. Od specijaliziranih mehanizama slijedeći će biti spomenuti: krpeljni cement, slinske antikoagulanse, slinske toksine, slinske protuupalne molekule i slinske imunomodulacijske molekule.

Izlučivanje posebne kombinacije slinskih proteina nazvane cement, kojeg krpelj luči prva dva dana sisanja, omogućuje čvrsti prihvat krpelja za nositelja te zadržavanje krpelja na nositelju tijekom dužeg razdoblja, što olakšava hranjenje i prijenos patogenog mikroorganizma sa krpelja na nositelja. Radi se o različitim proteinima (molekularne mase 29 kDa, 36 kDa i 90 kDa), koji izazivaju jaki imunosni odgovor, a cijepljenje kunića proteinom molekularne mase 29 kDa čak štiti od prihvata krpelja (SAUER i sur., 1995; MULENGA i sur., 1999; BISHOP i sur., 2002).

Kontinuirani protok krvi iz ubodnog mjesta do probavnog sustava krvi vrlo je važan za uspješno hranjenje krpelja. Navedeno krpelj postiže lučenjem brojnih slinskih antikoagulansa, koje bivaju injicirane u mjesto uboda. Primjerice, velik broj vrsta krpelja luči apirazu, koja djeluje inhibirajući nakupljanje trombocita potaknuto adenozin-difosfatom (ADP); slina krpelja *Ambylomma americanum* inhibira čimbenik Xa i trombin, a slina krpelja *I. ricinus* sadržava najmanje dva antikoagulansa, antitromboplastin (iksodin) i inhibitor trombina (iksin) (KAZIMÍROVÁ i sur., 2002; NARASIMHAN i sur., 2002; IMAMURA i sur., 2005; MONTEIRO i sur., 2008).

Uz navedeno, tvorbu cementa i lučenje antikoagulansa, slinska žlijezda krpelja od važnosti je za osmoregulaciju, posebice porodica proteina nazvana akvaporinima. Suvišak tekućine u isisanoj krvi biva ponovo izlučen u nositelja putem sline, a krpelj putem slinske žlijezde apsorbira vodenu paru u atmosferskom zraku (BOWMAN i SAUER, 2004; BALL i sur., 2009; CAMPBELL i sur. 2010). Tkivo slinske žlijezde tijekom hranjenje hipertrofira, najvjerojatnije pod utjecajem živčanog sustava, te neurotransmitora dopamina i dušikovog oksida (BOWMAN i SAUER, 2004; VALENZUELA, 2004.). Nadalje, slinske žlijezde luče i snažne neurotoksine (pr. krpelji roda *Rhipicephalus*), koji prvenstveno djeluju na razini neuromišićnog spoja, što može biti uzrokom paralize i smrti nositelja posljedično paralizi dišnog mišićja (VILJOEN i sur., 1986; NAFE, 1988; OTRANTO i sur., 2012).

U slini se nalaze i protuupalne molekule, koje se izlučuju lokalno u mjesto uboda, a kako bi krpelj mogao opstati na nositelju kroz duža vremenska razdoblja. Slina krpelja sadrži prostaglandine (RIBEIRO i sur., 1985; BOWMAN i sur., 1996). Tako prostaglandin E_2 (PGE_2) vezivanjem na vezna mjesta u slinskoj žlijezdi dovodi do lučenja brojnih bioaktivnih molekula koje pospješuju hranjenje krpelja. Nadalje, PGE_2, iako nema značajan imunosupresivan učinak posjeduje lokalni vazodilatacijski učinak (RIBEIRO i sur., 1985; SÁ-NUNES i sur., 2007). Važno je za napomenuti da se u organizmu krpelja ne može sintetizirati preteča prostaglandinske molekule, arahidonska kiselina, već je krpelj unosi sa krvlju nositelja (DAUGSCHIES i JOACHIM, 2000). Osim PGE_2, u krpelja su izdvojeni i $PGF_{2\alpha}$, PGD_2 i PGB_2 (ALJAMALI i sur., 2002). Nadalje, krpelji luče visoko selektivne proteine (evanzine) koji se vežu na kemokine te ih neutraliziraju, što slabi prirodnu imunost organizma i posljedično tome imunosni odgovor (DÉRUAZ i sur., 2008). Vrsta *I. scapularis* izlučuje kininaze koje djeluju inhibitorno na bradikinin, te se na taj način smanjuje lokalno osjet bola, kao i upalna reakcija. Osim kininaza, luči i sialostatin L, protein koji djeluje inhibirajući proliferaciju citotoksičnih T-limfocita (KOTSYFAKIS i sur., 2006; STEEN i sur., 2006). Imunomodulacijski učinak sline krpelja očituje se posljedično poremećaju uravnoteženog odgovora T-limfocita izazvanog antigenima podrijetlom od krpelja ili patogenog mikroorganizma, koji je najlakše otkriti citokinskim profilom aktiviranih T-limfocita. Naime, izlaganje T-limfocita antigenima u slini krpelja dovodi do polarizacije populacije T-limfocita, te stimulacije T2-pomoćničkih limfocita (Th2), odnosno destimulacije T1-pomoćničkih limfocita (Th1) (MEJRI i sur., 2001; KOVÁR i sur., 2002). Th1-limfociti odgovorni su za stanični imunosni odgovor te pomažu B-limfocitima u tvorbi imunoglobulina G_2. Općenito govoreći, da bi organizam učinkovito odstranio (uništio) unutarstanično smještenog patogenog mikroorganizma potreban je snažan stanični imunosni odgovor posredovan aktivnošću Th1-limfocita. Th2-limfociti posreduju humoralan imunosni odgovor i pomažu B-limfocitima u tvorbi imunoglobulina E, A i G_1. Th-limfociti međusobno se antagoniziraju lučenjem specifičnih inhibicijskih citokina (MEJRI i sur., 2001; MÜLLER-DOBLIES i sur., 2007; ZEIDNER i sur., 2008). FERREIRA i SILVA (1999) su istraživanjem učinka sline vrste *R. sanguineus* dokazali imunomodulatorni učinak sa jasnim Th2 citokinskim profilom, odnosno dokazali su pojačanu tvorbu interleukina 4 (IL-4), IL-10 i transformirajućeg čimbenika rasta beta (TGFß), te smanjenu tvorbu IL-2 i interferona gama (IFNγ).

Istraživanja imunomodulacijskog učinka sline krpelja kod pasa su pokazala da invazija krpeljom dovodi do supresije tvorbe protutijela, smanjenja funkcije neutrofila i odgovora limfocita na mitogene, te dovodi do supresije i T- i B-limfocitnih podpopulacija (MATSUMOTO i sur., 2001; MATSUMOTO i sur., 2003).

2.2.2. MEĐUODNOS PAPATAČ-NOSITELJ

Međuodnos hematofagnih kukaca i nositelja, u usporedbi sa odnosom krpelja i nositelja, je prvenstveno prolazne prirode. No unatoč navedenoj činjenici, hematofagni insekti ubrizgavaju prilikom hranjenja u svoje nositelje snažne vazoaktivne tvari, antikoagulanse i modulatore imunosnog odgovora (DAY, 2005).

Proteinski sastav sline složeniji je u ženki kukaca, te se povećava tijekom prvih tri dana od izlaska iz kukuljice, a sadržaj proteina se mijenja ovisno o starosti i prehrani papatača (PRATES i sur., 2008). Slina papatača posjeduje snažan antikoagulansni učinak posredovan aktivnošću apiraza (VALENZUELA i sur., 2001). Slina vrste *Lutzomyia longipalpis* sadržava snažan vazodilatacijski polipeptid maksadilan (GUILPIN i sur., 2002), dok slina flebotoma (pr. vrste *P. papatasi*) ispoljava svoj vazodilatacijski učinak putem adenozina i 5'-adenozin-trifosfata (KATZ i sur., 2000).

Slina papatača posjeduje snažan imunomodulatoran učinak te se smatra da poboljšava infekciju lišmanijama (KAMHAWI, 2000). Tako MBOW i sur. (1998) opisuju učinak lizata slinske žlijezde vrste *P. papatasi* na imunosni odgovor u miša inficiranih vrstom *Leishmania major*: dolazi do polarizacije populacije T-limfocita u korist Th2-limfocita, sa porastom tvorbe IL-4 i smanjenem tvorbe IFNγ, te *in vitro* inhibicije makrofaga. Sličan je učinak opisan i kod vrste *L. longipalpis*: lizat slinske žlijezde dovodi do inhibicije prezentacije antigena *L. major* makrofagima sa posljedičnom supresijom proliferacije limfocita. Makrofagi u kulturi lizata slinske žlijezde *L. longipalpis* bili su neosjetljivi na aktivaciju IFNγ, te nisu tvorili dušični oksid, vodikov peroksid i proupalne citokine, tvari potrebne za uništenje unutarstanično smještenih amastigota (HALL i TITUS, 1995). Navedeni učinci posredovani su maksadilanom, koji uz navedeni imunomodulatorni učinak posjeduje i, kako je već prije navedeno, vazodilatacijski učinak (SOARES i sur., 1998; ROHOUSOVÁ i sur., 2005; BRODIE i sur., 2007).

2.2.3. IMUNOSNI ODGOVOR NOSITELJA NA ČLANKONOŠCA

Zaštitni mehanizmi nositelja usmjereni su na odstranjivanje člankonošca, te se općenito govoreći radi o humoralnom i staničnom imunosnom odgovoru usmjerenima prvenstveno prema slinskim proteinima, koji bivaju uhvaćeni od strane dendritičkih stanica (stanice koje prezentiraju antigen) u epidermisu i dermisu. Nakon prihvata bivaju dopremljeni u područne limfne čvorove gdje dolazi do aktivacije za antigen specifičnih T- i B-limfocita, te dolazi do tvorbe specifičnih protutijela. Za antigen specifični T-limfociti, posredstvom navodećih receptora i adresina, bivaju privučeni na mjesto uboda člankonošca, a lokalno nastali citokini i kemokini privući će i druge vrste leukocita, prvenstveno eozinofilne i bazofilne leukocite (ANDRADE i sur., 2005; DAY, 2005; DAY, 2011).

Proučavajući upalni odgovor nositelja na invaziju krpelja vrste *R. sanguineus* u psa i zamorčića, SZABÓ i sur. (1999) su primjetili da psi, za razliku od zamorčića, ne mogu razviti otpornost na invaziju. U istraživanju su autori promatrali histopatološke promjene na mjestu penetracije krpelja u različitim vremenskim razdobljima (4, 24, 48 i 96 sati po prihvaćanju) primarne, sekundarne i tercijarne invazije. Iako su obje životinjske vrste reagirale prvenstveno sa mononuklearnom infiltracijom na mjestu penetracije, kod pasa je još dominirala i neutrofilna infiltracija, dok su u zamorčića dominirale eozinofilna i bazofilna infiltracija, čime se može objasniti rezistencija zamorčića na ponovljenu invaziju. U sličnom istraživanju uspoređivani su nalazi intradermalnog kožnog testiranja na iscrpinu krpelja vrste *R. sanguineus* u neinvadiranih i invadiranih pasa, miševa i zamorčića. U kontrolnih životinja nije zabilježen značajan odgovor, u invadiranih pasa i miševa zabilježena je prvenstveno reakcija preosjetljivosti ranog tipa, a u zamorčića reakcije preosjetljivosti ranog i kasnog tipa (FERREIRA i sur., 2003). Zaključno se može reći da je za eliminaciju krpelja od strane nositelja od presudne važnosti stanična imunost.

Imunosni odgovor nositelja na slinske proteine u slini papatača iscrpno je proučavan u eksperimentalnim modelima koji su pokazali da nakon uboda neinficiranog papatača, ubrzigavanja lizata slinske žlijezde papatača i rekombinantnih slinskih proteina papatača, organizam reagira tvorbom antitijela i reakcijom preosjetljivosti kasnog tipa (KAMHAWI, 2000). Koliko je autoru poznato, iz dostupne literature, do sada nije provedeno istraživanje koje bi obuhvatilo odgovor organizma nositelja na slinu papatača kao i narav kutanih lezija koje bi se mogle razviti posljedično ubodu.

2.3. PREGLED BOLESTI PRENOSIVIH ČLANKONOŠCIMA

2.3.1. BABEZIOZA

Babezioza je krpeljno-prenosiva bolest uzrokovana intraeritrocitnim protozoama roda *Babesia*, koje pripadaju koljenu *Apicomplexa*, razredu *Sporozoa*, redu *Piroplasmida*, porodice *Babesiidae*. Glavni su vektori babezioze, bolesti globalne rasprostranjenosti, krpelji šikare (*Ixodidae*). Bolest je po prvi puta opisana 1888. godine, kada su po prvi puta opisane intraeritrocitne inkluzije (BABES, 1888), a nedugo zatim su SMITH i KILBOURNE (1893) opisali uzročnika teksaške groznice u goveda i nazvali ga *Pyrosoma*. Do danas je pojava bolesti opisana u pasa, mačaka, vukova, lisica, dinga, šakala, leoparda, lavova i čovjeka (IRWIN, 2005). Babezije predstavljaju, u pravilu, vrsno specifične parazite, no primjenom molekularnih metoda istraživanja pokazalo se da nositeljska specifičnost babezija nije onakva kakvom ju se smatralo, odnosno češće se nalaze babezije u kralježnacima koji nisu njihovi primarni nositelji (ZAHLER i sur., 2000; HERWALDT i sur., 2003; KIM i sur., 2007). Nadalje, smatra se da su babezije, nakon tripanosoma, najčešći krvni paraziti sisavaca, što ih čini od značaja u smislu globalnog javnog zdravstva (HUNFELD i sur., 2008). U Hrvatskoj je babezioza po prvi puta opisana u ovce 1911. godine, psa 1939. godine (ZAHARIJA i sur., 1973), a kod čovjeka 1957. godine (ŠKRABALO i DEANOVIĆ, 1957).

Prvotno se smatralo da babeziozu pasa uzrokuje isključivo jedna vrsta babezija, no nakon otkrića razlika u veličini i smještaju merozoita u eritrocitu babezije su podijeljene na dvije osnovne skupine: velike, kod kojih su merozoiti duži od promjera eritrocita (*Babesia canis*), i male babezije, kod kojih su merozoiti manji od promjera eritrocita (*Babesia gibsoni*). Navedena se podjela tijekom godina nije bitnije mijenjala, a promjene u podjeli su uslijedile u kasnim osamdesetim godinama prošloga stoljeća, temeljem nalaza molekularnih i filogenetskih istraživanja. Slijedom navedenog babezije možemo podijeliti na velike babezije, kojima pripadaju vrste *Babesia canis*, *B. vogeli*, *B. rossi*, *Babesia* spp. (Coco) i *B. caballi*, i male babezije, kojima pripadaju *B. microti*-slična piroplazma (*Theileria annae*), *B. gibsoni* i *B. conradae* (SCHETTERS i sur., 1997; CARRET i sur., 1999; PASSOS i sur., 2005; UILENBERG, 2006; BECK i sur., 2009).

2.3.1.1. GEOGRAFSKA RASPROSTRANJENOST

Geografska rasprostranjenost velikih babezija prvenstveno ovisi o rasprostranjenosti vektora, odnosno krpelja, pa se tako širenjem krpelja na nova područja šire i babezije koje krpelj prenosi, pa se danas opisuju slučajevi babezioze u predjelima svijeta u kojima je prije nije bilo (TROTZ i TREES, 2003). *B. canis* proširena je diljem Europe, a prenosi je krpelj *D. reticulatus*. Babezioza uzrokovana *B. canis* očituje se širokim rasponom kliničkih znakova, od blagih pa sve do izrazitih, sa posljedičnim uginućem životinje. *B. vogeli* je zapravo najrasprostranjenija babezija u pasa, prvenstveno zahvaljujući kozmopolitskoj nastanjenosti krpelja koji je prenosti, vrste *R. sanguineus*. *B. vogeli* najmanje je patogena velika babezija pasa. *B. rossi* je najpatogenija vrsta velikih babezija i geografski je ograničena samo na područje istočne i južne Afrike (MATIJATKO i sur., 2012). Prenosi je krpelj *Haemaphysalis elliptica*. *Babesia* spp. (Coco) izdvojena je u Sjevernoj Karolini, Sjedinjenim Američkim Državama (LEHTINEN i sur., 2008.). *B. caballi* pripada velikim babezijama i po prvi puta je izdvojena u Hrvatskoj, 2009. godine (BECK i sur., 2009). Od malih babezija je najrasprostranjenija *B. gibsoni*, prvenstveno po američkom i azijskom kontinentu, dok se na europskom kontinentu javlja u pojedinačnim slučajevima (dokazana je i u Hrvatskoj) (BECK i sur., 2009). Biološki su vektori navedene babezije krpelji *H. longicornis* i *H. bispinosa*, a zanimljivo je da se može prenijeti i izravnim dodirom, prvenstveno među borbenim psima (BIRKENHEUER i sur., 2005). Od ostalih malih babezija vrsta *B. conradae* izdvojena je u Kaliforniji, vektor joj je još nepoznat (KJEMTRUP i sur., 2006), dok je *B. microti*-slična piroplazma, privremeno nazvana *T. annae*, dokazana na području sjeverozapadne Španjolske (ZAHLER i sur., 2000), ali i u Hrvatskoj (BECK et al, 2009).

2.3.1.2. PRIJENOS

Različite vrste krpelja šikare prenose babezije na nositelje, što zapravo i predstavlja osnovni način prijenosa babezija. Osim krpeljima, opisan je i ijatrogeni (transfuzijski) prijenos (STEGMAN i sur., 2003), transplacentalni (FUKUMOTO i sur., 2005) i, u slučaju *B. gibsoni*, prijenos putem ugriza (BIRKENHEUER i sur., 2005). Babezije su prilagođene „korištenju“ krpelja kao vektora (MARTINSEN i sur., 2008), pa njihov razvojni ciklus uključuje spolno razmnožavanje u krpelju, koje završava razvojem sporozoita u slinovnicama. Nespolni dio razvojnog ciklusa zbiva se u eritrocitima

kralježnjaka, a završava razvojem merozoita. Merozoiti su razvojni oblik babezija odgovoran za prijenos s kralježnjaka na krpelja, a sporozoiti za prijenos s krpelja na kralježnjaka (HIGUCHI i sur., 1995).

Prilikom hranjenja slinom invadiranog krpelja sporozoiti dospijevaju u krvotok nositelja, u kojem se prihvaćaju za eritrocite, te u njih i prodiru endocitozom. Unutar eritrocita započinje nespolan dio razvojnog ciklusa, u kojem dvojnom diobom, nastaju merozoiti, koji zatim po lizi inficiranog eritrocita prodiru u druge eritrocite. Inficirane eritrocite prilikom hranjenja u organizam unosi neinvadirani krpelj. Do danas nije do kraja razjašnjeno dolazi li do preobrazbe merozoita u gametocite u nositelju ili u krpelju (BIRKENHEUER, 2012). No, spolni dio razvojnog ciklusa zbiva se u probavnom sustavu krpelja i započinje fuzijom gameta u zigotu. Nastala zigota invadira epitelne stanice crijeva krpelja, u kojima sporogonijom nastaju ookinete. Ookinete napuštaju epitelne stanice crijeva krpelja te migriraju u slinske žlijezde i jajnike, što omogućava transstadijski i transovarijski prijenos babezija (BÜSCHER, 1988; CHAUVIN i sur., 2009).

2.3.1.3. PATOGENEZA

Babezioza je multisistemska bolest koja se u pasa klinički očituje u dva osnovna oblika, kao nekomplicirani i komplicirani oblik. JACOBSON i CLARK (1994) smatraju da se nekomplicirani oblik babezioze javlja prvenstveno posljedično hemolizi, a komplicirani oblik posljedično razvoju sindroma sustavnog upalnog odgovora (engl. *systemic inflammatory response syndrome*, SIRS) i sindroma višestrukog zatajivanja organa (engl. *multiple organ dysfunction syndrome*, MODS). Prema tome se i težina bolesti kreće od vrlo blage bolesti, subkliničkog tijeka, sve do izrazito teške bolesti sa višestrukim zatajivanjem organa i uginućem životinje (IRWIN, 2005; IRWIN, 2010). Pritom je najvažnija, ako ne i kritična, odrednica težine bolesti vrsta (ili soj) babezije (IRWIN, 2005). Pritom ne treba zaboraviti na težinu bolesti utječu i dodatni čimbenici, poput imunosnog statusa jedinke, istovremenog postojanja drugih bolesti, te u konačnici jačina nastalog upalnog odgovora invadirane jedinke (IRWIN, 2010; MATIJATKO i sur., 2012).

Nekomplicirani oblik babezioze je, općenito govoreći, povezan sa blagom do umjerenom anemijom, letargijom, slabošću i hepatosplenomegalijom, te je osnovni oblik kojim se očituje infekcija vrstom *B. vogeli*. Povišenje tjelesne temperature

posljedica je otpuštanja endogenih pirogena i upalnih medijatora, podrijetlom iz upaljenog i hipoksičnog tkiva (IRWIN, 2010).

Komplicirani oblik babezioze očituje se znakovima koji se ne mogu objasniti isključivo hemolitičkom krizom. Navedeni je oblik babezioze detaljno istraživan u južnoj Africi, gdje je babezioza pasa uzrokovana izrazito virulentom vrstom *B. rossi*. Komplicirana babezioza očituje se teškom anemijom i poremećajem funkcije jednog ili više organa (IRWIN i HUTCHINSON, 1991; JACOBSON, 2006; SCHOEMAN i sur., 2007; MATIJATKO i sur., 2010). JACOBSON i CLARK (1994) postavljaju hipotezu kojom objašnjavaju različita očitovanja babezioze pasa, te navode da se većina nastalih promjena u babeziozi može pripisati odgovoru nositelja (na parazita), a ne isključivo djelovanju parazita. Prema tome babezioza se dovodi u vezu s drugim ozbiljnim bolestima, poput teških opeklina, akutnog pankreatitisa, teške traume i sepse, stanja koja u konačnici mogu rezultirati pojavom SIRS-a i MODS-a. Zbog navedenog danas babeziozu možemo smatrati protozoalnom sepsom (BONE i sur., 1992; JACOBSON i sur., 2002). Komplikacije babezioze su: MODS, akutna ozljeda bubrega (engl. *acute kidney injury*, AKI), koagulopatije, akutna hepatopatija sa žuticom, imunosno-posredovana hemolitička anemija (engl. *immune-mediated haemolytic anaemia*, IMHA), akutni respiratorni distresni sindrom (engl. *acute respiratory distress syndrome*, ARDS), hemokoncentracija, šok, oštećenje srca, cerebralna babezioza, akutni pankreatitis, mješoviti acido-bazni poremećaji i diseminirana intravaskularna koagulacija (DIK) (KELLER i sur., 2004; JACOBSON, 2006).

2.3.1.4. KLINIČKA SLIKA

Babezioza pasa može se javiti kao perakutna, akutna ili kronična bolest, a očituje se širokim rasponom kliničkih znakova (tablica 1.). Inkubacija kod babezioze se kreće od četiri do dvadeset i jednog dana (BOOZER i MACINTIRE, 2003). Tipični su znakovi kojima se babezioza pasa očituje letargija, opća slabost, anoreksija i povišenje tjelesne temperature (SELANEC i sur., 2012). Na nekomplicirani oblik babezioze upućuju slijedeći klinički znakovi: blijede vidljive sluznice, žutica, hepatosplenomegalija i tamno obojena mokraća, a koji nastaju posljedično hemolitičkom procesu u organizmu (IRWIN, 2005). Obzirom na stupanj anemije nekomplicirani oblik babezioze možemo podijeliti na blagi, umjereni i teški (JACOBSON i CLARK, 1994).

Komplicirani se oblik babezioze očituje znakovima zatajivanja jednog ili više organa, naime, poremećajem funckije središnjeg živčanog sustava (cerebralna babezioza), pojavom DIK-a, hemokoncentracije, IMHA-e, ARDS-a, AKI-a, akutne hepatopatije, oštećenja srca, acido-baznih poremećaja i akutnog pankreatitisa (LOBETTI, 1998; NEL i sur., 2004; MATIJATKO i sur., 2007). Komplikacije koje se mogu razviti u babeziozi različita su stupnja i razlikuju se od pacijenta do pacijenta (individualne su), tako da nije moguća podjela na jedinstvene skupine pacijenata (BÖHM i sur., 2006). Komplicirani oblik babezioze rezultira visokom smrtnošću, i često je perakutnog tijeka (MATIJATKO i sur., 2010).

Kronični oblik babezioze, poznat i kao stanje premunicije, javlja se bez obzira je li životinja liječena ili nije. Kronične su infekcije uglavnom asimptomatske, no pas ostaje inficiran, pa se bolest kod izloženosti stresu ili u imunosupresiji ponovo javlja. Nije poznatno koliko dugo inficirani pas ostaje prenositelj, no pretpostavlja se da se radi o dužem vremenskom razdoblju, ako ne i doživotno (IRWIN, 2010).

Od laboratorijskih promjena babeziozu pasa prate regenerativna anemija, trombocitopenija, promjenjivi broj leukocita (sniženi/normalan/povišen), pojava autoaglutinacije, povišenje aktivnosti alanin-aminotransferaze (ALT), aspartat-aminotransferaze (AST), alkalne fosfataze (ALP), bilirubina, kreatin-kinaze (CPK), te povišenje koncentracije ureje i kreatinina (prerenalnog ili renalnog podrijetla). Trombocitopenija predstavlja najčešću promjenu u krvnoj slici, a ne javlja se u svega 1% slučajeva (KETTNER et al, 2003.; MATIJATKO i sur., 2009; SELANEC i sur., 2012).

Tablica 1. Klinički znakovi babezioze pasa (prema BIRKENHEUER, 2012).

Raspon kliničkih znakova	Trajanje kliničkih znakova
TIPIČNI ZNAKOVI	**PERAKUTNA BOLEST**

Anoreksija Letargija Opća slabost Povišena tjelesna temperatura Gubitak na tjelesnoj masi	Snižena tjelesna temperatura Šok Koma DIK Metabolička acidoza Uginuće
ATIPIČNI ZNAKOVI	**AKUTNA BOLEST**
Ascites/edemi Konstipacija/proljev Ulcerozni stomatits Krvarenja Hiperemične vidljive sluznice Policitemija Iscjedak iz očiju i nosnica Respiratorni distres Mastikatorni miozitis Bolnost u području temporomanibularnog zgloba Bolnost u području kralježnice Neurološki znakovi: epileptoidni napadi, ataksija, pareza	Hemolitička anemija Žutica Splenomegalija Limfadenopatija Povraćanje **KRONIČNA BOLEST** Intermitentno povišenje tjelesne temperature Parcijalna anoreksija Loše gojno stanje Limfadenopatija Splenomegalija Asimptomatska bolest

2.3.1.5. DIJAGNOSTIKA

Na temelju opisanih kliničkih znakova, praćenih anemijom i trombocitopenijom, može se sumnjati na babeziozu. Anamnestički podatci o invaziji krpeljima, te boravak u području u kojem su prisutni krpelji, nedavna transfuzija krvi ili sukobi s drugim psima dodatno potvrđuju sumnju (SELANEC i sur., 2012).

Mikroskopska pretraga razmaska krvi obojenog po Pappenheimu, May-Grünwald-Giemsi, Giemsi ili Wrightu, predstavlja najjednostavniju i najpristupačniju metodu dijagnostike babezioze, nalazom babezija unutar eritrocita. Navedena se metoda smatra metodom izbora samo u slučajevima klinički manifestnog, akutnog oblika bolesti, jer je tada dovoljno osjetljiva (IRWIN, 2005). U slučajevima kroničnih infekcija, kao i asimptomatskih infekcija mikroskopska pretraga razmaska krvi nije podesna, te se tada koriste osjetljivije dijagnostičke metode, najbolje molekularne metode dijagnostike, točnije lančana reakcija polimerazom (engl. *poylmerase chain reaction*,

PCR) (IRWIN, 2010). Prag otkrivanja babezija pomoću PCR-a znatno nadmašuje prag mikroskopskog otkrivanja, no i ova metoda ima svoje nedostake. Naime, mogući su lažno negativni rezultati kod kroničnog oblika babezioze (BIRKENHEUER i sur., 2003; JEFFERIES i sur., 2007). Od seroloških metoda dijagnostike u svrhu dijagnostike babezioze mogu se primjenjivati indirektna imunofluorescencija (engl. *immunofluorescent antibody testing*, IFAT) i imunoenzimna imunofluorescencija (engl. *enzyme-linked immunosorbent assay*, ELISA) (ABOGE i sur., 2007). Općenito govoreći, nedostatak je seroloških metoda dijagnostike njihova slaba specifičnost i nemogućnost razlikovanja trenutne od preboljele infekcije.

Kod postavljene dijagnoze babezioze opravdano je, zbog sve većeg broja slučajeva koinfekcija, isključiti i moguću istovremenu infekciju nekim drugim uzročnikom prenosivim člankonošcima (primjerice, anaplazme ili erlihije) (YABSLEY i sur., 2008). SELANEC i sur. (2012) navodi da unatoč razvijenoj laboratorijskoj dijagnostici, niti jedan dijagnostički postupak nije 100% siguran u smislu detekcije babezija. Zbog toga se kombinacija seroloških i molekularnih metoda dijagnostike smatra naboljim načinom dijagnostike babezioze.

2.3.1.5. TERAPIJA

Primarni je cilj terapije babezioze eliminacija ili supresija parazita primjenom specifičnog, antibabezijskog, lijeka i rješavanje potencijalno smrtonosne anemije. Terapija nadalje podrazumijeva i potpornu terapiju te liječenje komplikacija, u slučajevima kompliciranih oblika babezioze (tablica 2.). Psi koji boluju od nekompliciranog oblika babezioze pokazuju kliničke znakove oporavka unutar 24 do, najkasnije, 72 sata po primjeni antibabezijskog lijeka, no opisani su i slučajevi kod kojih je do oporavka došlo sedam dana po primjeni lijeka (LOBETTI, 2000.; BIRKENHEUER, 2012).

Imidokarb dipropionat, karbanilid, pripada skupini diamidina i primjenjuje se u liječenju babezioze uzrokovane *B. canis*. U propisanoj dozi od 6,6 mg/kg tjelesne mase, odnosno 7,5 mg/kg tjelesne mase primjenjen supkutano (sk.) ili intramuskularno (im.), učinkovito uklanja infekciju *B. canis*, te uklanja infektivnost krpelja koji se u trenutku liječenja nalazi na životinji, koja traje do četiri tjedna. Također, imidokarb dipropionat posjeduje i zaštitni, profilaktički učinak trajanja do šest tjedana (BIRKENHEUER, 2012). Neželjeni učinci su uglavnom blagi i prolazne prirode, a javljaju se posljedično

antikolinesteraznom učinku imidokarb dipropionata. Najčešći neželjeni učinci su: bolnost pri aplikaciji, prolazno pojačano slinjenje, povraćanje, proljev, mišićni tremor, nemir, tahikardija i, ponekad, otežano disanje.

Skupini diamidina pripadaju još i diminazen-aceturat, fenamidin-izetionat i pentamidin-izetionat. Diminazen-aceturat i fenamidin-isetionat posjeduju dobru učinkovitost u liječenju *B. canis*. Nisu podobni za profilaksu babezioze, jer uglavnom posjeduju kratak protektivan učinak. Diminazen-aceturat se primjenjuje u dozi od 3,5 do 5 mg/kg tjelesne mase im., fenamidin-izetionat 15 do 20 mg/kg tjelesne mase sk., a pentamidin-izetionat 16,5 mg/kg tjelesne mase im. Terapijski je indeks diminazen-aceturata nizak, a toksični se neželjeni učinci očituju stuporom, neprekidnim glasanjem, ataksijom, opistotonusom, rigidnošću ekstenzornih mišića, nistagmusom i epileptoidnim napadima (LOBETTI, 2000; BIRKENHEUER, 2012).

Tablica 2. Načela liječenja babezioze pasa (prema LOBETTI, 2000).

OBLIK/KOMPLIKACIJA	**NAČELA TERAPIJE**
NEKOMPLICIRANI OBLIK	
Blaga do umjerena hemolitička bolest	Antibabezijski lijek
Teška hemolitička bolest	Antibabezijski lijek Transfuzija pune krvi
KOMPLICIRANI OBLIK	

Akutna ozljeda bubrega	Antibabezijski lijek Iv. infuzija kristaloidnih otopina Diuretici Dobutamin
Koagulopatija	Antibabezijski lijek Svježe zamrznuta plazma Heparin
Akutna hepatopatija sa žuticom	Antibabezijski lijek Iv. infuzija kristaloidnih otopina uz dodatak kalija i glukoze Transfuzija pune krvi
Imunosno-posredovana hemolitička anemija	Antibabezijski lijek Imunosupresivni lijekovi (kortikosteroidi, azatioprin, ciklofosfamid i sl.) Transfuzija pune krvi
Akutni respiratorni distresni sindrom	Antibabezijski lijek Oksigenoterapija Iv. primjena koloidnih otopina Diuretici
Hipotenzija	Antibabezijski lijek Iv. primjena kristaloidnih i koloidnih otopina Transfuzija pune krvi
Hemokoncentracija	Antibabezijski lijek Iv. primjena kristaloidnih otopina Iv. primjena koloidnih otopina
Cerebralna babezioza	Antibabezijski lijek Oksigenoterapija, odignut položaj glave Antiepileptici Diuretici

2.3.1.6. PROFILAKSA

Profilaksa se babezioze temelji na raznim metodama kontrole krpelja i prekidanju lanca prenošenja babezija u okolišu. Sprječavanje invazije krpeljima primjerenom i redovitom uporabom repelenata i akaracida osnovni je način zaštite (BRKLJAČIĆ, 2012).

Cijepljenje pasa protiv babezioze također predstavlja jedan od način profilakse. Tako je u Francuskoj od 1980. godine dostupno cjepivo koje sadržava *in vitro* kultiviran topljivi antigen (engl. *soluble parasitic antigen*, SPA) manje patogenog soja *B. canis*, no učinkovitost je ovog cjepiva pri infekciji drugim sojevima babezija izrazito varijabilna (CARCY i sur., 2006). Postoji i kombinirano cjepivo u kojem se nalaze antigeni europskog soja *B. canis* i južnoafričkog soja *B. rossi*, čime je postignuta veća mogućnost zaštite (SCHETTERS i sur., 2001). Učinkovitost je cjepiva za prevenciju babezioze između 70 i 100%, a ponekad se po cijepljenju javljaju i izrazito blage infekcije (MOREAU i sur., 1988).

Budući da se psi mogu inficirati i putem transfuzije, potrebno je kontrolirati i pse donore krvi za transfuzije (STEGMAN i sur., 2003).

2.3.2. MONOCITOTROPIČNA ERLIHIOZA

Monocitotropična erlihioza pasa uzrokovana je obvezatnim unutarstaničnim mikroorganizmom *Ehrlichia canis* (*E. canis*), koji pripada skupini alfa-proteobakterija, koje se nalaze između klasičnih bakterija i virusa. *E. canis* pripada porodici anaplazmataceja (*Anaplasmataceae*), rodu *Ehrlichia*, zajedno sa slijedećim mikroorganizmima: *E. chaffeensis, E. ewingii*, *E. muris* i *E. ruminantium*. Bakterije pripadnice roda *Ehrlichia*, osim što su obvezatni unutarstanični paraziti, su pleomorfni gram-negativni kokobacili, veličine oko 0.5 μm koji rastu u aerobnim uvjetima. *E. canis* najčešće nalazimo smještenu unutar citoplazme monocita i makrofaga, u kojoj čini nakupine ili morule (RIKIHISA i sur., 1985; RIKIHISA i sur., 1997). Erlihioza uzrokovana *E. canis* po prvi puta je opisana 1935. godine kod pasa u Alžiru (DONATIEN i LESTOQUARD, 1937).

E. canis ubikvitaran je mikroorganizam koji je globalno rasprostranjen po azijskom, europskom, afričkom i američkim kontinentima, te u Japanu. Do sada jedino u Australiji nije opisana infekcija uzrokovana *E. canis* (TROTZ i TREES, 2003). Nositelji (kralježnjaci) *E. canis* su životinje pripadnici porodice *Canidae*, a kojoti, lisice, šakali i psi se smatraju prirodnim rezervoarom uzročnika (GROVES i sur., 1975; HARRUS i sur., 2012). Vektor bolesti je člankonožac, pseći smeđi krpelj (*R. sanguineus*), trikseni krpelj koji se tijekom svojeg razvojnog ciklusa hrani isključivo na psu. Eksperimentalno je infekcija prenešena i američkim psećim krpeljom (*D. variabilis*) (JOHNSON i sur., 1998; DANTAS-TORRES, 2008). Krpelji se inficiraju erlihijama u stadiju ličinke ili

nifme, hraneći se na inficiranim psima, te prenose uzročnika osjetljivim psima u razdoblju od najmanje 155 dana nakon infektivnog obroka, što omogućuje preživljavanje uzročnika tijekom zimskih mjeseci u inficiranom krpelju (LEWIS i sur., 1977). Većina se slučajeva pseće monocitotropične erlihioze javlja u toplijim mjesecima godine, najčešće kasno proljeće i ljeto, kada je broj vektora najveći, no može se javljati i tijekom cijele godine, posljedično dugom subkliničkom razdoblju u kronično inficiranih pasa (DRYDEN i PAYNE, 2004; HARRUS i sur., 2012).

2.3.2.1. PATOGENEZA

Sekvencioniranjem genoma vrste *E. canis* otkriveni su geni koji su odgovorni za oblik i tijek bolesti, te je na taj način postignuto bolje razumijevanje patogeneze bolesti (MAVROMATIS i sur., 2006). Predloženo je da u samom prihvatu i ulasku erlihija u stanicu značajnu ulogu imaju adhezini (DE LA FUENTE i sur., 2004), a kako erlihijama nedostaju geni vezani uz metaboličke procese, one različite hranjive tvari unose iz okoline putem pora i kanala vanjske opne (KUMAGAI i sur., 2008). Erlihije se razmnožavaju u makrofagima mononuklearnog-fagocitnog sustava binarnom diobom, te se smatra da se infekcija širi od stanice do stanice putem susjednih citoplazamatskih izdanaka. Dioba se događa u vakuolama, vezanim za staniču membranu, te su na taj način erlihije zaštićene od imunosnog sustava nositelja, lizosoma i slobodnih kisikovih radikala (BOWMAN, 2001). Erlihije bivaju otpuštene iz inficirane stanice rupturom stanične membrane, u razvojnom obliku morule (HARRUS i sur., 2012).

Erlihijama nedostaju enzimi potrebni za biosintezu peptidoglikana i lipopolisaharida (LPS), tvari koje daju čvrstoću vanjskoj staničnoj opni mikroorganizmima. Nedostatak peptidoglikana i LPS-a značajan je za preživljavanje erlihija u stanicama krpelja ali i nositelja. Naime, imunosni sustav krpelja prepoznaje i reagira na prisutstvo LPS-a, kao i makrofagi te neutrofili u stanicama sisavaca. Navedena reakcija vezivanja kompetentne stanice imunosnog sustava za proteine mikroorganizma (peptidoglikan i LPS) dovodi do snažnog odgovora organizma sa ciljem eliminacije uzročnika. Iz svega navedenog proizlazi da nedostatak peptidoglikana i LPS-a pridonosi intraleukocitnom preživljavanju erlihija (HUANG i sur., 2008; RIKIHISA, 2010).

Po završenoj inkubaciji, bolest se razvija kroz tri stadija: akutni, supklinički i kronični stadij. Akutni stadij može potrajati od jedan do četiri tjedna i većina se pasa nakon provedenog liječenja oporavi (UNVER i sur., 2009; LITTLE, 2010). Psi koje se ne liječi

ili ih se liječi na neodgovarajući način se mogu oporaviti od bolesti, no bolest prelazi u subklinički stadij karakteriziran isključivo trombocitopenijom. Tijekom supkliničkog stadija psi su kliconoše *E. canis* tijekom više mjeseci, pa čak i godina. Rezultati istraživanja eksperimentalne infekcije pasa vrstom *E. canis* su pokazali da je svojevrstan rezervoar erlihija u organizmu slezena (WANER i sur., 1997). Nadalje, u prirodno inficiranih pasa se pokazalo da se morule erlihije prije uoče u aspiratima slezene, nego u razmascima *buffy coat*-a periferne krvi (FARIA i sur., 2010). Smatra se da slezena ima značajnu ulogu u patogenezi i kliničkom očitovanju erlihioze, jer su u istraživanju splenektomizirani psi eksperimentalno inficirani vrstom *E. canis* razvili blagi oblik bolesti, u odnosu na nesplenektomizirane pse (HARRUS i sur., 1998).

Perzistirajuće inficirani psi mogu se spontano oporaviti od infekcije ili pak prijeći u kronični stadij bolesti. Teška pancitopenija, posljedično hipoplaziji koštane srži, tipičan je nalaz u kroničnom stadiju bolesti. Ukupan broj leukocita, kao i broj trombocita, te hematokrit su sniženi, te su često nepovoljni pokazatelji. Uginuće životinje posljedično je krvarenju i/ili sekundarnim infekcijama (CODNER i FARRIS-SMITH, 1986; MCCLURE i sur., 2010; PROCAJŁO i sur., 2011).

Hematološke promjene u psećoj monocitopeničnoj erlihiozi povezane su sa upalnim i imunosnim procesima potaknutim infekcijom. Najčešća je promjena u krvnoj slici kod erlihioze pasa trombocitopenija i nalazimo je u svim stadijima bolesti. Trombocitopenija se javlja posljedično povećanoj potrošnji trombocita, imunosno-posredovanom uništenju i kraćem vijeku trajanja trombocita (BULLA i sur., 2004). U kroničnom stadiju bolesti trombocitopeniju prati i poremećaj funkcije trombocita, kojim se i objašnjava sklonost takvih pasa krvarenjima (HARRUS i sur., 2012).

Kod većine pasa inficiranih *E. canis* prisutna je hiperproteinemija, posljedično hipergamaglobulinemiji, koja je uglavnom poliklonalne naravi. Uloga je cirkulirajućih specifičnih protutijela eliminacija intracelularno smještenog uzročnika, no njihov je učinak minimalan. Nadalje, hipergamaglobulinemija može pogoršati bolesti zbog nastanka sekundarnih, imunosno-posredovanih oštećenja (HARRUS i sur., 1997a).

Infekcija *E. canis* očituje se jakom infiltracijom parenhimskih organa i koštane srži plazma-stanicama. Osobito je naglašeno perivaskularno nakupljanje plazma-stanica u plućima, moždanim ovojnicama, slezeni i bubrezima (CVETNIĆ, 2013).

2.3.2.2. KLINIČKA SLIKA

Pseća monocitotropična erlihioza je zapravo multisistemska bolesti koja se pojavljuje u akutnom, subakutnom i kroničnom obliku. Tipični su klinički znakovi kojima se infekcija očituje depresija, letargija, anoreksija, gubitak na tjelesnoj masi i sklonost krvarenju (pojava ekhimoza i/ili petehija), najčešće iz nosa. U 20 do 25% pacijenata nalaze se tijekom kliničkog pregleda limfadenopatija i splenomegalija. Kako je vektor pseći smeđi krpelj (*R. sanguineus*) nije neobično naći ko-infekciju sa vrstama *B. vogeli* ili *Hepatozoon canis* (*H. canis*) (HARRUS i sur., 2012). Posljedično infekciji može doći do promjene boje očiju ili akutnog sljepila; često se nalaze anteriorni uveitis, korioretinitis, edem papile, krvarenje u mrežnicu i ablacija mrežnice (HARRUS i WANER, 2011). Poremećaj funkcije živčanog sustava prvenstveno je posljedica meningitisa i krvarenja u moždane ovojnice. Epileptoidni napadi, stupor, ataksija, akutni centralni ili periferni vestibularni sindrom, anizokorija, cereberalna disfunkcija i dr. poremećaji funkcije živčanog sustava opisani su u pasa oboljelih od pseće monocitotropične erlihioze. DINIZ i sur. (2008) su dokazali da kod pasa inficiranih *E. canis* u akutnom obliku bolesti postoji opasnost od ozljede miokarda, koja se očituje porastom koncentracije srčanog troponina I (cTnI). U jednog psa dokazane su i elektrokardiografske promjene povezane sa infekcijom vrstom *E. canis* (WANER i OHAD, 2008). Kod pasa koji boluju od subakutnog oblika bolesti uglavnom nema klinički manifestnih znakova (HARRUS i sur., 2012; CVETNIĆ, 2013).

Kronični se oblik pseće monocitotropične erlihioze očituje letargijom, gubitkom na tjelesnoj masi, artropatijama, nefropatijom, neurološkim smetnjama, opsežnim krvarenjima, općom iscrpljenošću i pojavom edema (CVETNIĆ, 2013).

2.3.2.3. DIJAGNOSTIKA

Dijagnozu pseće monocitotropične erlihioze obično postavljamo temeljem anamnestičkih podataka, kliničkih znakova, promjena u krvnoj slici i nalaza seroloških metoda dijagnostike. Promjene u krvnoj slici, manje ili više, tipične za erlihiozu su: umjerena do teška trombocitopenija, blaga anemija i leukopenija. Trombocitopeniju, koja se smatra tipičnim znakom akutnog oblika bolesti, često prati i megatrombocitoza (MYLONAKIS i sur., 2004). Subakutan oblik bolesti također prati trombocitopenija, sa leukopenijom, i kasnije blagom anemijom (HARRUS i sur., 2012). Kroničan oblik

bolesti, u teškim slučajevima, karakteriziran hipoplazijom koštane srži i pancitopenijom. Povremeno se javlja i granularna limfocitoza, karakterizirana porastom apsolutnog broja limfocita, koji svojim izgledom podsjećaju na limfocite koji se javljaju u slučajevima dobro diferencirane limfatičke leukemije (HEEB i sur., 2003). Od promjena biokemijskih pokazatelja najčešće nalazimo: hiperproteinemiju zbog hiperglobulinemije, hipoalbuminemiju i porast aktivnosti ALT-a i ALP-a. Od ostalih promjena u laboratorijskim pokazateljima kod pseće monocitotropične erlihioze možemo naći produženo vrijeme krvarenja (protrombinsko vrijeme, PV, i aktivno parcijalno tromboplastinsko vrijeme, APTV), to proteinuriju (omjer proteina i kreatinina, UPCR, od 4.5 do 23.2) (EZEOKOLI, 1978; KUEHN i GAUNT, 1985; HARRUS i WANER, 2011; HARRUS i sur., 2012).

Kod onih pasa kod kojih na temelju anamestičkih podataka, nalaza kliničke pretrage i laboratorijskih nalaza sumnjamo na pseću monocitotropičnu erlihiozu, dijagnozu možemo potvrditi citološki, dokazom morula u stanicama mononuklearnog-fagocitnog sustava, serološkim metodama pretrage ili, najbolje, pomoću PCR-a. Materijal podesan za citološku pretragu su razmasci periferne krvi, aspirati tkiva (slezene, pluća ili limfnih čvorova) te sinovija (HARRUS i WANER, 2011). Serološke metode dijagnostike koje se koriste u dijagnostici pseće monocitotropične erlihioze su: IFAT, ELISA i imunoblot test (Western blot, WB). IFAT predstavlja serološki zlatni standard u dijagnostici erlihioze (GUILLÉN i sur., 2002; OKEWOLE i ADEJINMI, 2009). Ipak, glavni su nedostataci navedenog testa mogućnost pojave lažno pozitivnih nalaza i pojava ukrižene reaktivnosti. Naime, infekcija drugim vrstama erlihija, neorikecijama kao i ponekad anaplazmama, može biti uzrokom pojave lažno pozitivnih rezultata (OLIVEIRA i sur., 2008). Pomoću WB-a i PCR-a moguće je razriješiti dilemu ukrižene reaktivnosti, te razlikovati infekcije uzrokovane različitim erlihijama, anaplazmama i neorikecijama (IQBAL i sur., 1994; KAKOMA i sur., 1994; ZHI i sur., 1997; UNVER et al, 2001; O'CONNOR i sur., 2006). CVETNIĆ (2013) navodi da se pomoću PCR-a može izdvojiti deoksiribonukleinska kiselina (DNA) specifična za *E. canis* i to iz bioloških uzoraka, najčešće krvi.

2.3.2.4. TERAPIJA

Terapija pseće monocitotropične erlihioze podrazumijeva primjenu antibakterijskih lijekova (tablica 3.) i potpornu (simptomatsku) terapiju. Antibakterijski lijekovi koji su se

pokazali učinkovitima u terapiji erlihioze su tetraciklini i kloramfenikol. Općenito govoreći, što se terapija akutno oboljelog psa prije započne prognoza je povoljnija. Psi koji boluju od kroničnog oblika bolesti uglavnom ne reagiraju na antibakterijsko liječenje, zbog multisistemske prirode bolesti i razvoja teške mijelosupresije (LITTLE, 2010; HARRUS i WINER, 2011).

Tetraciklinski antibakterijski lijekovi djeluju inhibirajući sintezu proteina na ribosomima, te posjeduju bakteriostatički učinak širokog spektra, koji obuhvaća većinu gram-pozitivnih i gram-negativnih bakterija, uključujući mikroorganizme koji su smješteni unutarstanično (poput klamidija, mikoplazmi, rikecija itd.) (FRANCETIĆ i MERĆEP, 2003; FRANCETIĆ i sur., 2003). Tetraciklini izbora za liječenje pseće monocitotropične erlihioze su doksiciklin i minociklin, a u slučajevima nedostupnosti istih mogu se primjenjivati i stariji tetraciklini oksitetraciklin i tetraciklin (HARRUS i sur., 2012). Doksiciklin je polusintetski, liposolubilni tetraciklin koji se dobro resorbira i postiže visoke koncentracije u krvi, tkivima i unutarstaničnom prostoru (VAN HEERDEN i IMMELMAN, 1979). Dodatne su prednosti doksiciklina u odnosu na ostale tetracikline dugo poluvrijeme izlučivanja i postizanje visokih koncentracija u cerebrospinalnom likvoru (FRANCETIĆ i sur., 2003). Doksiciklin primjenjivan tijekom 16, 23 i 28 dana pokazao se učinkovitim u eradikaciji *E. canis* u pasa oboljelih od akutnog i subakutnog oblika bolesti, no kod pasa oboljelih od kroničnog oblika bolesti nije se pokazao učinkovitim (BREITSCHWERDT i sur., 1998; HARRUS i sur., 1998; MCCLURE i sur., 2010). Preporuka je Američke škole veterinarske interne medicine (ACVIM) da se liječenje erlihioze u pasa provodi doksiciklinom i to u dozi od 10 mg/kg tjelesne mase tijekom 28 dana (NEER i sur., 2002). Do kliničkog poboljšanja dolazi unutar 24 do 48 sati od započinjanja terapije, a broj trombocita se vraća unutar referentnog raspona 10 do 14 dana po započinjanju terapije (HARRUS i sur., 2012).

U štenadi se može umjesto tetraciklina, zbog taloženja njihovih soli u kostima i pojave žutog prebojavanja zubi, primjenjivati kloramfenikol. U pasa koji su anemični ili pancitopenični se kloramfenikol mora primjenjivati sa oprezom (Little, 2010).

Imidokarb dipropionat, antibabezijski lijek, se prije koristio u liječenju erlihioze pasa, no bez većeg uspjeha. No, njegova je upotreba indicirana u kombinaciji sa doksiciklinom u slučajevima ko-infekcije *B. canis* ili *H. canis* (VAN HEERDEN i VAN HEERDEN, 1981; SAINZ i sur., 2000).

Tablica 3. Antibakterijski lijekovi za terapiju monocitotropične erlihioze pasa (prema HARRUS i sur., 2012).

LIJEK	DOZA (MG/KG)	NAČIN PRIMJENE (ALTERNATIVA)	INTERVAL (SATI)	TRAJANJE (DANI)
Doksiciklin	10 5	po. (iv.) po., iv.	24 12	21-28 21-28
Minociklin	10	po.	12	21-28
Tetraciklin	22	po.	8	21-28
Oksitetraciklin	7,5-10	iv.	8	21-28
Kloramfenikol	25-50	po. (iv., sk.)	8	21-28

Osim primjene antibakterijskih lijekova, potporna terapija je vrlo važna, a uključuje: iv. primjenu infuzijskih otopina u dehidriranih životinja, transfuziju pune krvi u izrazito anemičnih životinja, te primjenu imunosupresivne terapije u slučajevima imunosno-posredovanih komplikacija (HARRUS i sur., 2012).

2.3.2.5. PROFILAKSA

Trenutno još uvijek ne postoji učinkovito cjepivo protiv pseće monocitotropične erlihioze (RUDOLER i sur., 2012), pa profilaksa prvenstveno podrazumijeva kontrolu proširenosti krpelja i kemoprofilaksu. Pse treba redovito tretirati protiv krpelja, i to najbolje tijekom cijele godine, repelentim i akaracidnim pripravcima (LITTLE, 2010). Kemoprofilaksa podrazumijeva preventivnu primjenu tetraciklina, posebice u radnih pasa koji su izloženi krpeljima, najbolje doksiciklinom u dozi od 100 mg/psu po. dnevno. Najveći je problem kemoprofilakse nastanak rezistencije mikroorganizama (DAVOUST i sur., 2005).

Zbog postojanja potencijalne opasnosti od prijenosa erlihija među psima putem transfuzija pune krvi, potrebno je kontrolirati pse donore krvi za transfuziju (MCKECHNIE i sur., 2000; LEIBY i sur., 2002; REINE, 2004; HARRUS i sur., 2012).

2.3.3. GRANULOCITOTROPIČNA ANAPLAZMOZA

Granulocitotropična anaplazmoza pasa uzrokovana je vrstom *Anaplasma phagocytophilum* (prije *E. equi* ili *E. phagocytophila* ili uzročnik humane granulocitne erlihioze), gram-negativnim, nepokretnim, kokoidnim do elipsoidnim mikroorganizmom, koji je obično i pleomorfan, te mu se veličina kreće od 0.2 do 2 µm. Anaplazme su obvezatni aerobni i obvezatni unutarstanični paraziti (DUMLER i sur., 2001; DINIZ i BREITSCHWERDT, 2012). Sve vrste roda *Anaplasma* nalaze se unutarstanično, u vakuolama nezrelih i zrelih hematopoetskih stanica sisavaca, prvenstveno granulocita (neutrofila, ali i eozinofila), u kojima čine mikrokolonije ili morule (CARRADE i sur., 2009). Uzročnik granulocitotropične anaplazmoze opisan je po prvi puta u ovaca, u Škotskoj (FOGGIE, 1951), a prva pojava bolesti u pasa opisana je u Kaliforniji 1968. godine (MADIGAN i GRIBBLE, 1987). Granulocitotropična anaplazmoza pasa je bolest globalne rasprostranjenosti, sa slučajevima pojave opisanim u Sjedinjenim Američkim Državama, Kanadi, Europi, sjevernoj i južnoj Africi, te Aziji (CARRADE i sur., 2009; DINIZ i BREITSCHWERDT, 2012).

2.3.3.1. PRIJENOS

Granulocitotropična anaplazmoza pasa prvenstveno se prenosi krpeljima roda *Ixodes* (tablica 4.), posebice pripadnicima *I. persulcatus* kompleksa (RICHTER, i sur., 1996), poput *I. scapularis*, *I. pacificus*, *I. ricinus* i *I. persulcatus* (TELFORD i sur., 1996). Postoje pojedinačni opisi slučajeva prijenosa anaplazmi bez krpelja kao vektora bolesti. Tako je u Kini opisana u čovjeka nozokomijalna infekcija, nakon kontakta sa krvlju i respiratornim sekretom pacijenta oboljelog od humane granulocitne anaplazmoze (ZHANG i sur., 2008). U čovjeka je opisan i transplacentalni prijenos i prijenos transfuzijom inficirane krvi (HOROWITZ i sur., 1998; KEMPERMAN i sur., 2008). U kuje je opisana perinatalna infekcije *A. phagocytophilum*, sa posljedičnom mumifikacijom jednog ploda, dok u ostalih živorođenih plodova nije postavljena dijagnoza granulocitotropične erlihioze (PLIER i sur., 2009). Ovisno o geografskom položaju, različiti mali glodavci, poput miševa, šumskih štakora, voluharica i sl., kao i jelena te ptica predstavljaju rezervoare *A. phagocytophilum* (tablica 4.) (CARRADE i sur., 2009). Tako su primarni rezervoari u Sjedinjenim Američkim Državama bjelonogi miševi (*Peromyscus leucopus*), američke prugaste vjeverice i sive vjeverice (WALLS i sur., 1997; NIETO i FOLEY, 2008), a u Europi šumska voluharica (*Clethrionomys glareolus*), šumski miš (*Apodemus sylvaticus*), žutovrati miš (*Apodemus flavicollis*),

šumska rovka (*Sorex araneus*), srna obična (*Capreolus capreolus*) i jelen obični (*Cervus elaphus*) (POLIN i sur., 2004; CHRISTOVA i GLADNISHKA, 2005; DINIZ et al, 2012; OVERZIER i sur., 2013). Migratorne vrse ptica imaju prvenstveno ulogu u širenju infekcije, no postoje i dokazi da su i rezervoari bolesti (KEESING i sur., 2012; PALOMAR i sur., 2012).

Tablica 4. Prikaz geografske rasprostranjenosti, vektora, rezevoara i nositelja *A. phagocytophilum* (prema DINIZ i sur., 2012).

Vrsta	*Anaplasma phagocytophilum*		
Rasprostranjenost vektora	Sjevernoamerički kontinent		Euroazijski kontinent
Vrsta krpelja	*I. scapularis*	*I. pacificus* *I. spinipalpis*	*I. ricinus* *I. persulcatus* *I. trianguliceps*
Primarni rezervoar mali glodavci	*Peromyscus leucopus* (Bjelonogi miš)	*Neotoma fuscipes* (Šumski štakor)	*Apodemus sylvaticus* (Šumski miš)
Primarni rezervoar divlje životinje	*Odocoileus virginianus* (Jelen bjelorepi)	*Odocoileus hemionus columbianus* (Jelen crnorepi) *Cervus canadensis* (Kanadski jelen)	*Capreolus capreolus* (Srna obična) *Cervus elaphus* (Jelen obični)
Nositelj	Čovjek, pas, konj, mačka		

U Sjedinjenim Američkim Državama granulocitotropična anaplazmoza pasa najčešće je dijagnosticirana u razdoblju od ranog proljeća do ranog ljeta, te u jesen, no opisana je i pojava bolesti tijekom ljetnih i zimskih mjeseci. Sezonska pojava bolesti i geografska rasprostranjenost infekcije *A. phagocytophilum* određene su navikama hranjenja krpelja. Budući da su krpelji roda *Ixodes* trikseni krpelji, te da se anaplazme prenose transstadijski, potencijalni vektori su nimfe i odrasle jedinke (DINIZ i sur., 2012).

2.3.3.2. KO-INFEKCIJE I MULTI-INFEKCIJE

Ko-infekcije i multi-infekcije su česte, prvenstveno zbog istih vektora – člankonožaca i/ili izloženosti brojnim (različitim) vrstama krpelja. Nadalje, prisutnost protutijela na uzročnike drugih bolesti prenosivih vektorima može biti čimbenikom rizika u slučajevima granulocitotropične anaplazmoze (CARRADE i sur., 2009). Kako se vrsta *Borellia burgdorferi* sensu lato prenosi istom vrstom iksodidnog krpelja i održava se u silvatičnom ciklusu istog rezervoara – glodavca, nerijetko su slučajevi granocitotropične anaplazmoze kompliciranі istovremenom infekcijom borelijama, kada dva uzročnika međusobno pojačavaju svoju patogenost (NYARKO i sur., 2006; NIETO i FOLEY, 2009). U pasa koji su veći dio dana izloženi velikom broju ektoparazita javljaju se multi-infekcije, koje prati dramatičan porast morbiditeta i mortaliteta. Tako je u jednoj psetari utvrđena u 40% pasa istovremena seropozitivnost na *Anaplasma* spp., *B. canis*, *Bartonella vinsonii*, *E. canis* ili *Rickettsia rickettsii* (KORDICK i sur.,1999).

2.3.3.3. PATOGENEZA

Vrsta *A. phagocytophilum* prenosi se transstadijski, a krpelj se mora hraniti 36 do 48 sati kako bi došlo do prijenosa uzročnika na nositelja (KATAVOLOS i sur., 1998). Inkubacija, nakon prihvaćanja krpelja, se kreće od jedan do dva tjedna (DINIZ i sur., 2012). Patogeneza granulocitotropične anaplazmoze uključuje rano umnožavanje, prihvaćanje za površinu stanice, internalizaciju, sekrecijski transport, prihvaćanje za endotel i inhibiciju apoptoze, izbjegavanje imunosnog sustava, umnožavanje i otpuštanje iz mrtve stanice (MAYER-SCHOLL i sur., 2004; BROWN, 2012).

Točan mehanizam kojim nastaje bolest nije poznat. Anaplazmoza je u pasa povezana sa blagom do umjerenom trombocitopenijom, limfopenijom i blagom anemijom. Predloženi patomehanizmi navedenih promjena uključuju mijelosupresiju izazvanu citokinima, stvaranje auto-protutijela, inficiranje hematopoetskih preteča i potrošnju krvnih stanica, osobito trombocita (DINIZ i sur., 2012). *In vitro*, neutrofili inficirani *A. phagocytophilum* potiču stvaranje IL-8, upalnog proteina makrofaga-1α (engl. *macrophage inflammatory protein-1α*, MIP-1α), MIP-1β, kemotaksijski protein monocita-1 (engl. *monocyte chemoattractant protein-1*, MCP-1) i kemokina RANTES (engl. *regulated upon activation, normal T-cell expressed and secreted*). MIP-1α, MIP-1β, MCP-1 i IL-8 *in vitro* i *in vivo* inhibiraju hematopoezu (CARLYON i FIKRIG, 2003; BROWN, 2012). IL-8 djeluje kemotaktično na neutrofile i naivne T-limfocite, poboljšava fagocitozu, „respiratornu staničnu eksploziju“ neutrofila (engl. *neutrophil cellular*

respiratory burst activity) i angiogenezu, dok MIP-1α i MIP-1β djeluju kemotaktično na monocite, makrofage i T-limfocite. MCP-1 i RANTES aktiviraju monocite, makrofage i T-limfocite (BROWN, 2012; DINIZ i sur., 2012). Tvorba i lučenje navedenih leukocitnih kemoatraktanata, koji ispoljavaju i supresijski učinak na hematopoezu, dovodi u konačnici do mijelosupresije (DINIZ i sur., 2012). Trombocitna protutijela otkrivena su u serumima ljudi i pasa oboljelih od granulocitotropične anaplazmoze, što govori u prilog postojanju imunosno-posredovanog mehanizma oštećenja trombocita (WONG i THOMAS, 1998; GRIDEM i sur., 1999). Ipak, u istraživanjima na mišjim modelima trombocitopenije uzrokovane *A. phagocytophilum* nije dokazano da je uzrok trombocitopenije imunosno-posredovano oštećenje trombocita. Nadalje, *A. phagocytophilum* može inficirati i megakariocite (praćeno ekspresijom glikoproteinskog liganda P-selektina 1, PSGL-1), iako za sada nema dokaza da infekcija megakariocita dovodi do smanjenja tvorbe trombocita (GRANICK i sur., 2008; JOHNS i sur., 2009). U perifernoj je krvi u *in vitro* uvjetima dokazana pojačana prokoagulacijska aktivnost monocita (BEHL i sur., 2000). Iz svega navedenog proizlazi, da uz moguće imunosno-posredovano oštećenje trombocita, do trombocitopenije dolazi i zbog pojačane potrošnje.

U ljudi infekcija uzrokovana *A. phagocytophilum* može biti samoograničavajuća, a slično je opisano i u prirodno inficiranih pasa i drugih životinja. Mehanizam kojim nositelj nadjača humoralnu i staničnu imunomodulaciju uzokovanu infekcijom *A. phagocytophilum* vezan je za lučenje citokina u prvim danima infekcije, koji ograničavaju stupanj rikecijemije (DINIZ i sur., 2012). U prvim danima infekcije IL-12, IL-18, IL-23 i IFN tipa 1 stvoreni od strane dentritičkih stanica potiču stvaranje IFNγ od strane T-limfocita (prvestveno stanica prirodnih ubojica). Porast koncentracije IFNγ osobito je naglašen prvih osam do deset dana po infekciji (AKKOYUNLU i FIKRIG, 2000). CD4+ T-limfociti imaju osobitu ulogu u rješavanju infekcije u mišjim modelima granulocitotropične anaplazmoze (BIRKNER i sur., 2008).

Modulacija neutrofilnog odgovora i ekspresije citokina povezanih sa kočenjem fagocitoze i baktericidnih aktivnosti mogu predisponirati nositelja na sekundarne, oportunističke infekcije (DINIZ i sur., 2012).

2.3.3.4. KLINIČKA SLIKA

Raspon kliničkih znakova kojima se granulocitotropična anaplazmoza očituje je zaista širok, no najčešće se javlja kao akutni febrilni sindrom. Inkubacijsko razdoblje je različito, no uglavnom se kreće od četiri do četrnaest dana, ovisno o imunosnom statusu nositelja i soju *A. phagocytophilum* kojim je inficiran (BJÖERSDORFF, 2005). Najčešći su klinički znakovi infekcije letargija i povišena tjelesna temperatura, zatim anoreksija i gubitak apetita, te šepavost i nelagoda pri kretanju (CARRADE i sur., 2009). U nekih pasa je pojava šepavosti vezana uz nastanak neutrofilnog poliartritisa (FOLEY i sur., 2007). Povremeno se javljaju mekan i neproduktivan kašalj praćen otežanim disanjem, posljedično pojavi neutrofilnih infiltrata u plućima (CARRADE i sur., 2009). Od ostalih se kliničkih znakova mogu javiti (iako rijetko): povraćanje, proljev, limfadenomegalija, splenomegalija, hepatomegalija, injiciranost bjeloočnica, polidipsija, krvarenje iz nosa, melena i bljedilo vidljivih sluznica (KOHN i sur., 2008; DINIZ et al, 2012). Znakovi od strane središnjeg živčanog sustava (SŽS) javljaju se vrlo rijetko, a uključuju ataksiju, epileptoidne napade i pojavu proprioceptivnih deficita (MARETZKI i sur., 1994). Kako je infekcija uglavnom samoograničavajuća, slučajevi kronične infekcije nisu opisani.

2.3.3.5. DIJAGNOSTIKA

Na granulocitotropičnu anaplazmozu treba uvijek posumnjati u pasa sa znakovima akutnog febrilnog sindroma, posebice u područjima gdje je infekcija endemična, a znakovi su se pojavili u doba godine kada su krpelji aktivni (BJÖERSDORFF, 2005). Pri postavljanju dijagnoze granulocitotropične anaplazmoze možemo se koristiti kriterijima Centra za kontrolu bolesti Sjedinjenih Američkih Država (CDC USA), prema kojima u prilog dijagnozi bolesti govore: (1) nalaz morula unutar neutrofila i pozitivan titar protutijela na *A. phagocytophilum*, (2) porast ili pad titra protutijela unutar četiri tjedna, (3) pozitivan nalaz PCR ili (4) izdvajanje *A. phagocytophilum* iz krvi bolesne životinje (BAKKEN i DUMLER, 2008). Iako nalaz morula u neutrofilima periferne krvi obojene prema Romanowskom, osobito u endemskim područjima, ukazuje na granulocitotropičnu anaplazmozu, valja naglasiti da ih nije moguće morfološki razlikovati od morula erlihija, poput primjerice *E. ewingii*, pa je za konačnu potvrdu dijagnoze ipak potrebna primjena seroloških ili molekularnih metoda dijagnostike (CARRADE i sur., 2009).

Od promjena u krvnoj slici koje prate granulocitotropičnu anaplazmozu, u 90% slučajeva nalazimo trombocitopeniju, a raspon u kojem se kreće broj trombocita je od 5,000 do 164,000/µL (GREIG i sur., 1996; KOHN i sur., 2008). Nadalje, kod većine pasa nalazimo limfopeniju (KOHN i sur., 2008), a anemija, ukoliko se i javi, je tipično blaga i neregenerativna (CARRADE i sur., 2009). Od biokemijskih promjena opisane su: blaga hipoalbumijenija, hiperglobulinemija i blagi porast aktivnosti jetrenih enzima (posebice ALP) (GREIG i sur., 1996; EGENVALL i sur., 1997; KOHN i sur., 2008), te hiperbilirubinemija (KOHN i sur., 2008).

Za postavljanje konačne dijagnoze granulocitotropične anaplazmoze dostupno je nekoliko različitih PCR metoda (PCR u „realnom“ vremenu ili *Real-time* PCR), pomoću kojih se može otkriti *A. phagocytophilum* u uzorcima periferne krvi, koštane srži, tkivu slezene i *buffy coat*-u (CARRADE i sur., 2009). U eksperimentalno inficiranih pasa PCR nalaz je bio pozitivan šest do osam dana prije i tri dana nakon pojave morula u razmascima periferne krvi (EGENVALL i sur., 1998; EGENVALL i sur., 2000).

Konačnu dijagnozu granulocitotropične anaplazmoze možemo postaviti i temeljem nalaza seroloških pretraga, prvenstveno koristeći se parnim serumima. U većini se veterinarskih laboratorija u dijagnostici granulocitotropične anaplazmoe koristi IFAT serološkom metodom. Protutijela IgG razreda moguće je otkriti otprilike osmog dana po izloženosti, odnosno dva do pet dana po pojavi morula. Zbog navedenog, tijekom akutne faze bolesti, protutijela nije moguće otkriti, pa je za ranu dijagnostiku podesniji PCR. Nadalje, kako pozitivan titar protutijela može ukazivati i na prijašnju izloženost uzročniku, potrebno je utvrditi četverostruki porast titra protutijela, pomoću parnih seruma (EGENVALL i sur., 1997; CARRADE i sur., 2009). Protutijela mogu perzistirati tijekom više mjeseci, prema podacima POITOUT i sur. (2005) i do 12 mjeseci po izlaganju. Osim IFAT-a, u serološkoj dijagnostici granulocitotropične anaplazmoze mogu se još koristiti ELISA i WB metode. Općenito govoreći, nedostatci su seroloških metoda dijagnostike, pojava lažno pozitivnih (zbog ukrižene reaktivnosti) ali i lažno negativnih (osobito u akutnoj fazi bolesti) rezultata. Ukrižena je reaktivnost česta između vrsta *A. phagocytophilum* i *A. platys* i rijetka između *A. phagocytophilum* i erlihija (*E. canis*, *E. ewingii* ili *E. chaffeensis*) (DINIZ i sur., 2012).

I na kraju, sojevi *A. phagocytophilum* mogu biti uzgojeni *in vitro* na staničnim kulturama krpeljnih embrija i leukemijskih stanica čovjeka (linija stanica HL-60) i to isključivo u laboratorijskim uvjetima, u smislu istraživanja, a ne dijagnostike bolesti. Uzgoj i

izdvajanje *A. phagocytophilum* traje tijekom više tjedana (AGUERO-ROSENFELD, 2002; DINIZ i sur., 2012).

2.3.3.6. TERAPIJA

U *in vitro* uvjetima rast *A. phagocytophilum* inhibiraju doksiciklin, rifampin i levofloksacin. Tetraciklinski antibakterijski lijekovi isključivo se preporučuju u terapiji infekcija uzrokovanih vrstom *A. phagocytophilum*. Za štenad mlađu od 12 mjeseci se umjesto tetraciklina može koristiti kloramfenikol, a kako bi se izbjeglo žutilo zubi (tablica 5.). Antibakterijski je lijek izbora za liječenje granulocitotropične anaplazmoze doksiciklin, a znakovi poboljšanja se javljaju već unutar 24 do 48 sati od početka terapije. Kao što je već prije navedeno, psi oboljeli od granulocitotropične anaplazmoze mogu biti istovremeno inficirani i vrstom *B. burgdorferi* sensu lato, pa se zbog toga trenutno preporučuje trajanje terapije doksiciklinom od najmanje 28 dana (POITUOUT i sur., 2002; CARRADE i sur., 2009; DINIZ i sur., 2012).

Tablica 5. Antibakterijski lijekovi za terapiju granulocitotropične anaplazmoze pasa (prema DINIZ i sur., 2012).

LIJEK	DOZA (MG/KG)	NAČIN PRIMJENE (ALTERNATIVA)	INTERVAL (SATI)	TRAJANJE (DANI)
Doksiciklin	5-10	po. (iv.)	12-24	10-21 (28)
Minociklin	10	po. (iv.)	12	10
Tetraciklin	22	po.	8	14-21
Kloramfenikol	25-50	po. (iv., sk.)	8	14-21

2.3.3.7. PROFILAKSA

Trenutno još uvijek ne postoji cjepivo kojim bi se sprječila infekcija vrstom *A. phagocytophilum*, pa se profilaksa temelji na redovitoj primjeni pripravaka protiv krpelja (repelenata i akaracida) tijekom cijele godine (CARRADE i sur., 2009; LITTLE, 2010). Prije posjećivanja endemičnih područja može se profilaktički primjeniti tetraciklin ili doksiciklin po. (DINIZ i sur., 2012).

2.3.4. LAJMSKA BORELIOZA

Boreliozama označavamo skupinu bakterijskih bolesti od kojih oboljevaju sisavci i ptice, a koje su uzrokovane bakterijama roda *Borrelia*. Unutar roda *Borrelia* nalazi se najmanje 31 vrsta, koje svrstavamo u dvije osnovne skupine: (1) borelije koje uzrokuju lajmsku boreliozu i (2) borelije koje uzrokuju povratnu groznicu. U obje se skupine nalaze patogene vrste, kao i ostale vrste koje su izdvojene isključivo iz krpelja ili asimptomatskih životinja (GREENE i sur., 2012). Lajmska borelioza predstavlja najčešće dijagnosticiranu bakterijsku bolest prenosivu vektorima u ljudi, a njezina je pojava zabilježena na sjevernoameričkom i euroazijskom kontinentu, ali su zabilježeni i, zasad nepotvrđeni, slučajevi pojave u Australiji, Južnoj Americi i Africi (FIVAZ i PETNEY, 1998; JENSENIUS i sur., 2006).

Kao i većina spiroheta, borelije su tanke i dugačke spiralne bakterije (0.2 x 30 μm), građene od protoplazmatskog cilindra zavijenog oko aksijalnog filamenta, građenog od velikog broja periplazmatskih endoflagela. Borelije su savitljive i kreću se fleksijom i rotacijom oko uzdužne osi; najčešće se prikazuju mikroskopiranjem u tamnom polju (BEDENIĆ, 2009; BIESIADA i sur., 2012). Borelije koje pripadaju skupini *B. burgdorferi* sensu lato obuhvaćaju najmanje 13 genskih vrsta, od kojih su najvažnije navedene u tablici 6. U Sjevernoj Americi najznačajnija je vrsta *B. burgdorferi* sensu stricto, koja u ljudi uzrokuje kružne kožne lezije, poliartritis, meningitis i karditis. U Sjedinjenim Američkim Državama izdvojene su još, iz krpelja, vrste *B. andersonii* i *B. bissettii*, no njihov je patogeni značaj još nepoznat (LITTLE i sur., 2010; RUDENKO i sur., 2011). Na euroazijskom kontinentu tri su glavne vrste borelija: *B. garinii*, *B. afzelii* i *B. burgdorferi* sensu stricto, koje i dijele rezervoare (glodavci i ptice). Infekcija vrstom *B. garinii* se prvenstveno očituje meningopolineuritisom ili Bannwarthovim sindromom, dok je infekcija vrstom *B. afzelii* povezana sa pojavom kroničnog artritisa i akutnih te kroničnih dermatitisa (eritema migrans i kronični atrofični akrodermatitis) (MÜLLEGGER i GLATZ, 2008; HALPERIN, 2009). Vrsta *B. lusitaniae* izdvojena je iz

čovjeka sa eritemom migrans u Portugalu (DE FRANCA i sur., 2005), te je u eksperimentalnim uvjetima uzrokovala infekciju u miša (ZEIDNER i sur., 2001), dok je DNA vrste *B. valaisiana* otkriven u čovjeka koji je bolovao od meningoencefalitisa (SAITO i sur., 2007). Vrsta *B. afzelii* izdvojena je u prirodno inficiranog psa, a opisane su i mješovite infekcije različitim vrstama mikroorganizama u Europi (ZYGNER i sur., 2008; ADASZEK i sur., 2009).

Tablica 6. Borelije skupine lajmskih borelija (prema GREENE i sur., 2012).

VRSTA	BOLEST	RASPRO-STRANJENOST	VEKTOR	REZERVOAR (DIVLJA ŽIVOTINJA)	NOSITELJ
***BORRELIA BURGDORFERI* SENSU LATO – LAJMSKE BORELIJE**					
B. burgodrferi sensu stricto	Lajmska borelioza, eritema migrans, poliartitis, menigitis, karditis	Sjeverna Amerika	*I. scapularis*, *I. pacificus*, *I. neotomae*	Ličinke i nimfe: glodavci, mali sisavci, ptice Adulti: jelen, veći sisavci, ptice (na europskom kontinentu prevladavaju ptice)	Čovjek, pas, mačka
	Lajmska borelioza	Europa	*I. ricinus*		Čovjek, pas
B. garinii	Eritema migrans, meningopolineuritis, artitis	Europa, Azija	*I. ricinus*, *I. persulcatus*	Ptice, mali sisavci	Čovjek, pas (?), mačka (?)

B. afzelii	Eritema migrans, meningopolineuritis, artritis, kronični atrofični akrodermatitis	Europa, Azija	*I. ricinus, I. persulcatus*	Mali sisavci	Čovjek, pas (?), mačka (?)
B. japonica	Nepoznata	Japan	*I. ovatus*, *I. persulcatus*	Glodavci, ptice	Nepoznat
B. bissettii	Eritema migrans, limfocitom Nepoznata	Slovenija Sjeverna Amerika	*I. ricinus* *I. neotomae*, *I. scapularis*	Glodavci, ptice Glodavci, ptice (?)	Čovjek Glodavci (u eksprimentalnoj infekciji)
B. valaisiana	Meningoencefalitis	Europa, Azija	*I. ricinus*	Ptice	Čovjek
B. spielmanii	Meningoencefalitis	Njemačka, Slovenija	*I. ricinus*	Ptice (?)	Čovjek
B. lusitaniae	Eritema migrans	Europa, sjeverna Afrika	*I. ricinus*	Gušteri, glodavci	Čovjek, glodavci (u eksperimentalnoj infekciji)

2.3.4.1. PRIJENOS

Velik broj vrsta divljih sisavaca i ptica predstavljaju rezervoare za vrstu *Borrelia burgdorferi* (HOVIUS, 2005). Za razliku od leptospira, borelije ne preživljavaju u okolišu, već su vezane uz nositelja i vektora, odnosno prenose se između kralježnjaka i hematofagnih člankonožaca (GREENE i sur., 2012). Infekcije uzrokovane *B. burgdorferi* sensu lato geografski su raspršene diljem sjeverne hemisfere; općenito govoreći, globalna rasprostranjenost lajmske borelioze vezana je za endemska područja krpelja: klimatske zone umjerene vlažnosti i temperature i mješovite vegetacije, dakle optimalne uvjete za preživljavanje i prijenos glavnog vektora – člankonošca, krpelja roda *Ixodes*. U sjevernoj Americi glavni su prijenosnici krpelji vrsta *I. scapularis s. dammini*, *I. pacificus* i *I. neotomae*, a u Europi *I. ricinus* i *I. persulcatus* (KRUPKA i STRAUBINGER, 2010). Posljedično različitim vegetacijskim i klimatskim uvjetima, postotak infekcije među krpeljima roda *Ixodes* se razlikuje, pa za *I. scapularis* dosiže 50% odraslih krpelja, dok za *I. ricinus* dosiže i 75% (RAUTER i HARTUNG, 2005; GREENE i sur., 2012).

U Europi je većina slučajeva borelioze uzrokovana vrstama *B. garinii*, *B. afzelii* i *B. burgdorferi* sensu stricto, sa najvećom pojavnošću u skandinavskim zemljama i zemljama središnje Europe (pr. Austrija, Belgija, Češka, dijelovi Francuske, Hrvatska, Mađarska, Nizozemska, Njemačka, Portugal, Slovenija, Švicarska itd.) (RAUTER i

HARTUNG, 2005; GREENE i sur., 2012). Kao što je već navedeno, glavni je prijenosnik uzročnika na europskom kontinentu *I. ricinus*, a na (euro)azijskom kontinentu *I. persulcatus*. *I. ricinus* prenosi većinom vrste *B. garinii*, *B. afzelii*, *B. burgdorferi* sensu stricto, *B. bissettii*, *B. valaisiana* i *B. lusitaniae*, dok *I. persulcatus* prenosi *B. garinii* i *B. afzelii* (HOVIUS i sur., 1999; SPECK i sur., 2001; GREENE i sur., 2012). Rezervoari vrsta *B. burgdorferi* sensu stricto *B. afzelii* su prvenstveno glodavci, a *B. garinii* i *B. valaisiana* ptice (GREENE i sur., 2012).

Krpelji se inficiraju parazitiranjem na rezervoarima, tijekom svojeg životnog vijeka od dvije do tri godine. Ličinke krpelja hrane se na manjim sisavcima, poput glodavaca, krtica, vjeverica, ptica, pa čak i guštera, tijekom prve godine života. Nakon zimovanja, ličinke se presvlače u nimfe, koje se hrane na većim sisavcima, poput jelena, pasa, mačaka, čovjeka i konja. U stadiju nimfe, krpelji su veličine dva do tri milimetra u promjeru, te ih se vrlo lako previdi, pa zbog toga i predstavljaju najvažniji i najopasniji izvor infekcije. Tijekom jeseni iste godine nimfe se presvlače u odrasle jedinke, kada se ženka nakon posljednjeg krvnog obroka otpušta na tlo i polaže oko 3000 jajašaca (OGDEN i sur., 1997). Transovarijski prijenos, za razliku od transstadijskog je izrazito rijedak (NEFEDOVA i sur., 2004), što podržava teoriju da su divlje životinje kao rezervoari glavni izvor infekcije (KRUPKA i STRAUBINGER, 2010). Gotovo je jedini način prirodnog prijenosa na nositelja kralježnjaka prihvaćanje zaraženog krpelja, iako je u eksperimentalnim uvjetima dokazano prisutstvo DNA i protutijela u štenadi koje je rodila kuja inokulirana i inficirana borelijama prije trudnoće. Štenad nije sisala, što dodatno ukazuje na mogućnost transplacentalnog prijenosa infekcija. Ipak, vertikalni i horizontalni prijenos borelija nije dokazan u pasa inficiranih nakon prihvaćanja krpelja (APPEL i sur., 1993; GUSTAFSON i sur., 1993;.STRAUBINGER i sur., 2000).

2.3.4.2. PATOGENEZA

Različiti mehanizmi bivaju iskorišteni od strane borelija, a kako bi izbjegle uništenje od strane imunosnog sustava nositelja, što u konačnici rezultira perzistiranjem infekcije i, možda, razvijanjem kronične infekcije (HOVIUS, 2005).

Tijekom prvih 12 do 24 sata nakon prihvaćanja krpelja, borelije koje se nalaze u srednjem crijevu krpelja ne bivaju prenesene na konačnog noistelja. Tijekom navedenog vremena, borelije prolaze kroz složeni proces remodeliranja vanjske membrane, kako bi kasnije mogle preživjeti u imunokompetentnom nositelju (ptici ili

sisavcu). Jedan je od aktivatora navedenog procesa najvjerojatnije porast temperature krpelja tijekom sisanja krvi, a zbog bliskog kontakta sa nositeljevom kožom. Virulencija borelija je dijelom ovisna o promjeni građe površinskih lipoproteina vanjske membrane (engl. *outer surface proteins*, Osp), i to iz OspA u OspC (SCHWAN i sur., 1995). Kod svih borelija koje se nalaze u krpelju ne dolazi do navedene promjene, a one borelije koje pri prodoru u nositelja na svojoj površini još uvijek izražavaju OspA bivaju uništene od strane imunosnog sustava (WILSKE i sur., 1996; OHNISHI i sur., 2001), dok je OspC ključan za migraciju borelija iz crijeva krpelja u slinske žlijezde, te konačno u nositelja (GRIMM et al, 2004; TEMPLETON, 2004). Borelije dodatno od uništenja štiti i krpeljni slinski protein 15 (Salp15) koji se veže za OspC borelije i štiti ih tijekom 24 do 48 sati po ugrizu (OHNISHI i sur., 2001; SCHUIJT i sur., 2008).

Kako se borelije šire u organizmu nositelja, do danas nije u potpunosti razjašnjenj i predmet je brojnim raspravama. Jedan je od hipoteza da se borelije šire krvotokom, te da napuštajući krvotok dopiru u različita (udaljena) tkiva. Nasuprot navedenoj hipotezi je slijedeća: borelije zbog nepovoljnih uvjeta (stanične i topive imunosne komponente) u krvotoku bivaju prisiljene napustiti ga sa posljedičnom migracijom kroz tkiva i zaostajanjem u tkivima bogatim kolagenom (pr. kapsula zgloba, koža, perineurij) u kojem proliferiraju i preživljavaju godinama (KRUPKA i STRAUBINGER, 2010). U prilog navedenoj hipotezi ide nalaz borelija u izvanstaničnom prostoru inficiranih pasa, a dodatno je poznato da su borelije metabolički ovisne o N-acetilglukozaminu, preteči kolagena (STRAUBINGER i sur., 1998). Navedenom činjenicom objašnjava se i tropizam borelija prema koži, odnosno pojava lezija u tkivima bogatim kolagenom (HOVIUS i sur., 1999). Borelije ne pripadaju skupini gram-negativnih bakterija, one ne proizvode niti su građene od tipičnih lipopolisaharida koje nalazimo u gram-negativnih bakterija. Ipak, one izražavaju brojne proteine i lipoproteine na površini svoje vanjske membrane, poput Osp. Kako bi učinkovito izbjegle nositeljevom imunosnom sustavu, borelije su sposobne izmijeniti svoju vanjsku proteinsku ovojnicu, pomoću lipoproteina zvanog VlsE (engl. *variable major protein-like sequence*) (EMBERS i sur., 2007), čime nastaju antigeno nove varijante (BEDENIĆ, 2009). Dodatan je način izbjegavanja uništenja od strane nositeljevog imunosnog sustava i potpunom izmjenom svojeg oblika. Naime, u nepovoljnim uvjetima spiralne se i pokretne borelije unutar nekoliko minuta mogu izmijeniti u sferičan i nepokretan oblik, u kojem mogu preživjeti tijekom nekoliko dana bez hranjivih tvari. Proces povrata u spiralan, pokretan i metabolički aktivan oblik također se dogodi unutar par minuta (GRUNTAR i sur., 2001; GREENE i

sur., 2012). Klinički manifestna bolest posljedica je nositeljevog vlastitog imunosnog odgovora. Tako su primjerice, oštećenja u živčanom sustavu vezana uz imunosni odgovor prema specifičnim borelijskim antigenima, poput flagelina, prema kojem nositelj tvori protutijela koja se vežu za neuroaksonalne proteine. Ko-infekcija vrstom *A. phagocytophilum* može poboljšati proliferaciju borelija, kao i njihovo prodiranje kroz endotel krvnih žila i hematoencefalnu barijeru (NYARKO i sur., 2006; NIETO i FOLEY, 2009).

Citokini sudjeluju u regulaciji upalnog odgovora, a sa ciljem smanjenja broja borelija u organizmu, no istovremeno oštećuju i okolno tkivo. U zglobovima je uočena pojačana aktivnost IL-8 koji, između ostalog, privlači neutrofile, te predstavlja jedan od važnijih mehanizama nastanka gnojnog poliartritisa (STRAUBINGER i sur., 1997). Osim IL-8, brojni drugi interleukini (poput IL-10 i IL-4) imaju ulogu u patogenezi lajmske borelioze, a borelije mogu i suprimirati izlučivanje nekin citokina te modulirati upalni odgovor, najčešće u proupalnom smjeru sa pojačanim stvaranjem protutijela (KRUPKA i STRAUBINGER, 2010). Slijedom navedenog, oštećenja nastala tijekom lajmske borelioze nisu posljedica oštećenja tkiva uzrokovanog izravnim djelovanjem borelija, već neprimjerenog upalnog odgovora organizma nositelja (GREENE i sur., 2012).

2.3.4.3. KLINIČKA SLIKA

Za razliku od lajmske borelioze u ljudi, klinički se u pasa infekcija ne može jasno razdijeliti u tri stadija (KRUPKA i STRAUBINGER, 2010). U većini slučajeva je točno vrijeme infekcije nepoznato, jer krpelji koji se hrane (odrasle jedinke ili nimfe) uglavnom bivaju neprimjećeni od strane vlasnika. Nadalje, prihvaćena je činjenica da svi inficirani psi ne razvijaju klinički manifestnu bolest, pa tako u eksperimentalno izazvanim infekcijama do 75% inficiranih pasa razviju klinički manifestnu bolest (APPEL i sur., 1993). Trenutno još uvijek ne postoje epidemiološki podaci o tijeku klinički manifestne bolesti u prirodno inficiranih pasa, te suprotno uobičajenom mišljenju prisutstvo serumskih protutijela ne korelira sa kliničkim znakovima (GREENE i sur., 2012).

Prvi su klinički znakovi bolesti uglavnom nespecifični i ne moraju se ispoljiti u svih pasa; znakovi su akutne bolesti najčešće povišena tjelesna temperatura, opća slabost, šepavost i povećanje lokalnih limfnih čvorova (STRAUBINGER i sur., 1997). Početni stadij bolesti uglavnom ostane neotkriven, vlasnici ga uglavnom previde, jer znakovi uglavnom i nestanu nakon par dana. Eritema migrans, koji se javlja u većine slučajeva

lajmske borelioze kod ljudi, nije opisan kod pasa, no često se na mjestu prihvaćanja krpelja može uočiti crvenkasta lezija promjera oko 1 cm, koja nakon uklanjanja krpelja nestaje unutar par dana (KRUPKA i STRAUBINGER, 2010). Sa diseminacijom borelija, one dospijevaju u kožu, zglobove i vezivno tkivo, a zbog razvoja lokalnih upalnih reakcija mogu se javiti bol, otečenje i šepanje. STRAUBINGER i sur. (1997) navodi da se šepavost kod eksperimentalno izazvanih infekcija javlja 2 do 6 mjeseci po inokulaciji uzročnika. Nadalje, isti autori navode da je teška šepavost trajala dva do pet dana, očitovala se kao mono- ili oligoartritis, te se u početku pojavila na mjestu ugriza krpelja. U prirodno inficiranih pasa, pojava šepavosti povezana je sa pojavom znakova zamora, umjerenim porastom tjelesne temperature i bolovima pri hodanju uz ili niz stepenice (KRUPKA i STRAUBINGER, 2010). Jedna od važnijih, ako ne i najvažnija diferencijalna dijagnoza u slučajevima lajmskog artritisa je ruptura križnih ligamenata (MUIR i sur., 2007). U nekih je prirodno inficiranih pasmina pasa opisana pojava glomerulonefritisa sa proteinurijom (GRAUER i sur., 1988). Teški oblici bubrežne bolesti očituju se znakovima poput perifernih edema, azotemije, uremije, proteinurije, povraćanja, tromboembolije i izljeva u tjelesne šupljine (DAMBACH i sur., 1997). Lajmska borelioza kod ljudi se rijetko može očitovati i pojavom neuroloških znakova, odnosno pojavom Bannwarthovog sindroma (PACHNER i STEINER, 2007). Pojava neuroloških znakova najčešće prati boreliozu uzrokovanu vrstom *B. garinii*, a u pasa do danas nije zabilježena pojava navedenog sindroma (STRAUBINGER i sur., 1998). U eksperimentalno inficiranih pasa opisana je pojava asimptomatskog encefalitisa, blagog perineuritisa ili samo meningitisa (HALPERIN, 2008). Od ostalih su znakova, ili bolje rečeno očitovanja, opisani pojava reumatoidnog artritisa i aritmije povezane sa miokarditisom. U oba je slučaja dijagnoza postavljena na temelju prisutstva protutijela i mikroskopskog nalaza, bez dokaza uzročnika, tako da je povezanost navedenih znakova i infekcije borelijama upitna (LEVY i DURAY, 1988; ROUSH i sur., 1989).

2.3.4.4. DIJAGNOSTIKA

Postupak postavljanja konačne dijagnoze lajmske borelioze još je uvijek zahtijevan, mukotrpan i, često, dugotrajan, kako u humanoj tako i u veterinarskoj medicini, jer ne postoji specifična i sveobuhvatna metoda pretrage. Kako bi potkrijepili dijagnozu lajmske borelioze potrebno je provjeriti slijedeća četiri mjerila – jesu li klinički znakovi

u pacijenta povezani sa (ili tipični za) lajmsku boreliozu, jesu li prisutna specifična protutijela (uzeti u obzir cijepljenje), je li nastupilo značajno poboljšanje nakon uvođenja specifičnog antimikrobnog liječenja i živi li pacijent u području koje je endemično za lajsmku boreliozu te postoji li realan rizik izloženosti krpeljima roda *Ixodes* (KRUPKA i STRAUBINGER, 2010).

Lajmsku boreliozu ne prate specifične (patognomonične) promjene u krvnoj slici ili biokemijskim pokazateljima (GREENE i sur., 2012). U uzorcima cerebrospinalnog likvora i punktata sinovije najčešće se nalazi povećan broj stanica sa jezgrom; u cerebrospinalnom likvoru limfocitna pleocitoza, a u sinoviji neutrofilija sa 5000 do 100,000 stanica/μL. U slučajevima bubrežnog oblika biokemijski nalazi, kao i nalaz pretrage mokraće ukazuje na uremiju, odnosno zatajivanje bubrega (KRUPKA i STRAUBINGER, 2010).

Dijagnoza lajmske borelioze postala je „serološka dijagnoza“, prvenstveno jer uzgoj, mikroskopski ili genski nalaz uzročnika u uzorcima tkiva ili tjelesnih tekućina ne predstavljaju uobičajene dijagnostičke postupke (GREENE i sur., 2012). Serološke pretrage potrebno je tumačiti u smislu „seroreaktivnosti“ spram *B. burgdorferi*, a ne kao konačni dokaz spirohetalne infekcije (STEERE i sur., 2008). Jedna od prvih seroloških metoda dijagnostike lajmske borelioze bila je IFAT, no kako je specifičnost pretrage bila vrlo niska i ukrižena reaktivnost je dovodila do pojave lažno-pozitivnog nalaza, navedena se metoda više ne preporučuje za dijagnostiku lajmske borelioze (BRUCKBAUER i sur., 1992; STEERE i sur., 2008). Proteklih godina je razvijen dvodijelni dijagnostički sustav, kojeg čine visoko osjetljiva ELISA, kojom se izdvajaju negativni uzroci, i WB, pomoću kojeg se među pozitivnim uzorcima razlikuju inficirane od cijepljenih životinja (STEERE i sur., 2008). Općenito govoreći, pri izvođenju navedenih seroloških metoda mogu se koristiti antigeni cijelih borelija, pročišćeni borelijski antigeni ili rekombinantni antigeni (KRUPKA i STRAUBINGER, 2010). Serološke pretrage temeljene na ELISA metodi omogućavaju otkrivanje protutijela razreda imunoglobulin M (IgM) i/ili G (IgG). Protutijela razreda IgG su se u eksperimentalnom modelu javila četiri do šest tjedana po infekciji, te su perzistirala godinama, čak i nakon uspješne antimikrobne terapije (APPEL i sur., 1993). Imunobloting je vremenski zahtijevniji i teži za interpretirati, te se zbog toga i ne koristi samostalno, a koristi se za razlikovanje protutijela specifičnih za infekciju od protutijela specifičnih za cijepljenje. Tako se u cijepljenih pasa pojavljuje signal na 31 kDa, koji

odgovara OspA, odnosno protutijelima koja su stvorena posljedično cijepljenju (GREENE i sur., 1988).

Prema trenutnim spoznajama VlsE se isključivo izražava u konačnom nositelju (sisavcu). Nepromijenjiva regija 6 (IR_6), kao i mnogo kraći peptidni niz IR_6 nazvan C_6 pokazali su se kao specifične antigene komponente u serološkim pretragama, što je i dokazano u inficiranih ljudi, pasa, majmuna i miševa (LIANG i PHILIPP, 1999). VlsE i IR_6 su dobro očuvani među genovrstama *B. burgdorferi* sensu lato, a na temelju aminokiselinskog slijeda IR_6 razvijen je sintetski analog C_6 peptida koji je uspješno iskorišten za novu ELISA metodu. Protutijela na C_6 peptid moguće je otkriti već u ranoj infekciji, a dodatno je utvrđeno da ne postoji ukrižena reaktivnost sa protutijelima na OspA (LIANG i sur., 2000; LEVY, 2002). Nadalje, pokazalo se da se razina protutijela na C_6 peptid smanjuje po uspješnoj antimikrobnoj terapiji (PHILIPP i sur., 2001). Unatoč visokoj specifičnosti metode, protutijela na C6 peptid ne moraju uvijek korelirati sa kliničkim znakovima i mogući su lažno pozitivni nalazi, osobito kada postoje maternalna protutijela u štenadi rođene od inficiranih kuja (ESCHNER, 2008).

Borelije se mogu uzgojiti iz uzoraka tkiva, krvi ili sinovije, u složenim tekućim podlogama koje sadržavaju serum i koje su obogaćene N-acetilglukozaminom i dugolančanim masnim kiselinama (pr. Babour-Stoenner-Kelly podloga). Borelije se sporo umnožavaju na umjetnim podlogama, te je potrebno inkubirati klinički materijal tijekom šest do osam tjedana (BEDENIĆ, 2009; KRUPKA i STRAUBINGER, 2010).

Pomoću PCR moguće je dokazati molekulu DNA *B. burgdorferi* sensu lato u različitim uzrocima, najbolje biopsatima kože i aspiratima sinovije. Metoda je osjetljiva, visoko specifična i brzo daje rezultate, već unutar par sati. Ipak je najvažniji nedostatak navedene metode nemogućnost razlikovanja žive borelije, kod aktivne infekcije, od mrtve borelije koju nalazimo kod inaparentnih infekcija ili nakon uspješne terapije (STRAUBINGER, 2000; STEERE, 2001; BEDENIĆ, 2009).

2.3.4.5. TERAPIJA

Za razliku od lajmske borelioze u ljudi, točan trenutak infekcije u većine životinja ne može biti određen, pa je u trenutku započinjanja antimikrobne terapije najvjerojatnije došlo do širenja borelija po organizmu. Prema tome, antimikrobna terapija je u većini slučajeva empirijska (GREENE i sur., 2012). Klinički, kod pasa sa lajmskim artritisom, do poboljšanja dolazi unutar 24 do 48 sati po započinjanju antimikrobne terapije

(STRAUBINGER i sur., 2000), odnosno najbolji se rezultati postižu terapijom započetom u ranoj fazi bolesti (LITTMAN, 2003). Pitanje treba li liječiti pse sa dokazanim specifičnim protutijelima, a u odsutnosti kliničkih znakova, još je uvijek izvor kontroverzi (LITTMAN, 2003; LITTMAN i sur., 2006; GREENE i sur., 2012). KRUPKA i STRAUBINGER (2010) preporučuju terapiranje životinja sa klinički manifestnim oblikom bolesti, a terapija mora trajati najmanje 30 dana, u određenim slučajevima i duže (vidjeti tablicu 7.). GREENE i sur. (2012) navodi slijedeće razloge protiv terapiranja klinički zdravih, ali seropozitivnih pasa: većina nositelja posjeduje prirodnu, intrinzičnu imunost koja sprječava pojavu bolesti; primjenom antimikrobnih lijekova, posebice u endemičnim područjima, dolazi do razvoja rezistentnih sojeva borelija, ali i drugih bakterija; česta je pojava nuspojava. Nasuprot navedenom razlozi za terapiranje su slijedeći: inkubacijsko razdoblje može biti dugo sa razvojem imunopatoloških posljedica infekcije, a terapija može sprječiti pojavu i progresiju imunosno-posredovanih oštećenja; klinički zdravi psi mogu imati subklinička očitovanja infekcije, poput proteinurije i imunosno-posredovanog oštećenja bubrega. Veterinari koji zagovaraju liječenje asimptomatskih životinja istovremeno i zagovaraju cijepljenje takvih životinja, a kako bi se sprječila reinfekcija. Ipak, asimptomatske pse koji su proteinurični ne bi se smjelo cijepiti sve dok se ne završi terapija, praćeno sniženjem titra C_6 protutijela.

Borelije su osjetljive na ceftriakson, eritromicin, azitromicin, amoksicilin, cefuroksim, doksiciklin, cefuroksim, doksiciklin, tetraciklin i penicilin G (STEERE, 2003; GREENE i sur., 2012). U liječenju lajmske borelioze najčešće se koristi doksiciklin, prvenstveno jer se može primjenjivati po. i cijena mu je niska. Dodatno, na doksiciklin su osjetljive bartonele, anaplazme, erlihije i druge rikecije tako da se može primjenjivati i u slučajevima u kojima se sumnja na ko-infekciju navedenim mikroorganizmima (LITTMAN i sur., 2006). Noviji makrolidi, poput azitromicina, i cefalosporini treće generacije, poput ceftriaksona, prvenstveno su indicirani za liječenje refrakternih slučajeva i u slučajevima kroničnih infekcija (GREENE i sur., 2012).

Davanje antimikrobnih lijekova u svrhu prevencije se vrlo rijetko provodi i ne preporučuje se (KRUPKA i STRAUBINGER, 2010).

Tablica 7. Antibakterijski lijekovi za terapiju lajmske borelioze (prema KRUPKA i STRAUBINGER, 2010 i GREENE i sur., 2012).

LIJEK	DOZA (MG/KG)	NAČIN PRIMJENE	INTERVAL (SATI)	TRAJANJE (DANI)	POŽELJNA INDIKACIJA
Doksiciklin	10	po.	12-24	30-42	Rani stadij, artritis, neuroborelioza
Amoksicilin	20	po.	8	30	Rani stadij, artritis, neuroborelioza, mlade životinje
Azitromicin	25	po.	24	10-20	Rani stadij
Penicilin G	22.000 i.j./kg	iv.	8	14-30	Perzistirajući artritis, neuroborelioza, karditis
Ceftriakson	25	iv., sk.	24	14-30	Kasna neuroborelioza ili karditis, perzistirajući artritis
Cefotaksim	50	iv.	12	14-30	Neuroborelioza
Kloramfenikol	25-50	po., sk., im.	8	14-30	Neuroborelioza

U svrhu suzbijanja boli mogu se u slučajevima lajmskog artritisa davati životinjama i nesteroidni protuupalni lijekovi, kao i glukokortikoidi, ali u niskim protuupalnim dozama, nikako imunosupresivnim (KRUPKA i STRAUBINGER, 2010; GREENE i sur., 2012).

2.3.4.6. PROFILAKSA

Na svjetskoj su razini dostupna različita cjepiva protiv lajmske borelioze pasa. Način prevencije je jedinstven, jer protutijela inducirana cijepljenjem ne djeluju na borelije u nositelju, već u krpelju. Cjepivom inducirana protutijela specifična za OspA nalaze se u krvotoku psa, te ih krpelj pri sisanju unosi u sebe. Na taj se način protutijela u krpelju vežu na borelije koje izražavaju OspA i sprječavaju njihovu migraciju u slinske žlijezde, te usporavaju rast borelija u krpelju (DE SILVA i sur., 1997). Ukoliko se borelije već nalaze u nositelju, protutijela na njih ne djeluju, jer one izražavaju OspC/VlsE. Cijepljenje mora inducirati stvaranje visokog broja protutijela kako bi pas bio zaštićen, a prije prihvaćanja krpelja (DE SILVA i sur., 1996), tako da je životinje potrebno redovito docijepljivati. Kalendar cijepljenja razlikuje se, ovisno o proizvođaču cjepiva. U početku se životinju cijepi dva puta, u razmaku od tri do četiri tjedna, a docjepljuje se nakon šest mjeseci. Nakon toga je dovoljno docjepljivati svakih godinu dana (TOEPFER i STRAUBINGER, 2007).
Općenito govoreći, profilaksa isključivo cijepljenjem se ne preporučuje. U profilaksi lajmske borelioze važnu ulogu ima kontrola populacije krpelja, osobito u endemičnim područjima, kao i lokalna primjena različitih repelenata i akaracida (KRUPKA i STRAUBINGER, 2010).

2.3.5. LIŠMANIOZA

Lišmanioze predstavljaju skupinu bolesti od kojih mogu oboljeti ljudi i životinje, a koje su uzrokovane protozooama koje pripadaju rodu *Leishmania*, redu *Kinetoplastida*, porodici *Trypanosomatidae*. Bolest koju lišmanije uzrokuju u životinja nazivamo lišmanioza, a prenose ju papatači rodova *Phlebotomus* i *Lutzomyia* (BANETH i SOLANO-GALLEGO, 2012). Bolest je proširena globalno, od intertropske klimatske zone središnje Amerike i Afrike do umjerene klimatske zone Južne Amerike, Europe i Azije. Visceralna lišmanioza uzrokovana je vrstama *Leishmania donovani* (*L. donovani*) i *L. infantum* (sinonim: *L. chagasi*), i predstavlja najteži oblik bolesti, koji

ukoliko se ne liječi, dovodi do uginuća. Osim visceralne lišmanioze, različite vrste lišmanija uzrokuju kutanu i mukokutanu lišmaniozu, bolesti koje nisu fatalne, ali su odgovorne za visok stupanj pobolijevanja u endemičnim područjima (GRAMICCIA, 2011). Svjetska zdravstvena organizacija opisuje humanu lišmaniozu kao jednu od najzapostavljenijih tropskih bolesti kojoj se pojavnost tijekom zadnjih deset godina povećala (DESJEUX, 1996, 2004). Neosporno je da je lišmanioza geografski rasprostranjenija nego što se to prije pretpostavljalo (GRAMICCIA, 2011), pa su tako opisani autohtoni slučajevi lišmanioze u Sjedinjenim Američkim Državama, Kanadi, sjevernoj Italiji i Njemačkoj (DUPREY i sur., 2006; MAROLI i sur., 2008; NAUCKE i sur., 2008). Globalno je prihvaćena činjenica da je lišmanioza dinamička bolest, te da se uvjeti prijenosa konstantno i kontinuirano mijenjaju, prvenstveno ovisno o promjenama u okolišnim, demografskim i socijalnim uvjetima (GRAMICCIA, 2011).

Psi predstavljaju najvažniji rezervoar vrste *L. infantum* za druge pse i čovjeka, pa kao takvi služe kao izvor infekcije za papatače koji se na njima hrane; kroz duža vremenska razdoblja psi su subklinički nositelji lišmanija (BANETH i SOLANO-GALLEGO, 2012). Lišmanije su dikseni paraziti koji svoj razvojni ciklus dovršavaju u dva različita nositelja, u papataču i sisavcu. Papatači prenose izvanstanično smještenog promastigota, dok se u sisavcima nalazi unutarstanično smješten amastigot. Konačan oblik, koji se prenosi na novog nositelja je metaciklički promastigot. Kada se papatač hrani na kralježnjaku, istovremeno i inokulira promastigote. Ovisno o mjestu razvoja unutar crijeva papatača, rod *Leishmania* se dijeli na podrodove *Viannia* (ciklus vezan uz stražnje crijevo) i *Leishmania* (ciklus vezan uz srednje crijevo). Kao što je već prije navedeno, hematofagne su isključivo ženke paptača (KILLICK-KENDRICK, 1999). Papatači se uglavnom hrane na onim područjima na psu gdje je dlaka oskudnija, poput primjerice glave, nosnog planuma, vrhova uški, inguinalnog i perinealnog područja. Nakon što lišmanija dospije u dermis nositelja, biva fagocitirana od strane makrofaga, koji ga okružuju i pokušavaju ukloniti unutar fagosoma izlaganjem kaskadi kisikovih metabolita (pr. dušikov oksid) i lizosomalnim hidrolazama. Lišmanije su otporne prema navedenim, nespecifičnim, obrambenim sustavima, te preživljavaju unutar makrofaga, u kojima se i počinju umnožavati (SOLANO-GALLEGO i sur., 2009). Napredovanje same invazije ovisi o nositeljevom imunosnom sustavu (ALVAR i sur., 2004). Lišmanije koje se nalaze u nositelju mogu u sebe unijeti drugi papatači prilikom hranjenja, u kojima se amastigoti oslobađaju i u crijevu pretvaraju u promastigote (u crijevu papatača) (BATES, 2007). Iako do prijenosa lišmanija u prirodnim uvjetima dolazi

isključivo po ubodu papatača, opisan je i transplacentalni prijenos *L. infantum* (ROSYPAL i sur., 2005), kao i prijenos putem transfuzije zaražene pune krvi (BANETH i sur., 2005). Nadalje, veneralni prijenos lišmanija sa zaraženog mužjaka na zdravu ženku je također opisan (SILVA i sur., 2009). U područjima u kojima je bolest prisutna, ali ne postoje kompetentni vektori, pretpostavlja se da dolazi do izravnog širenja kontaktom među psima (PETERSEN, 2009).

2.3.5.1. PATOGENEZA

Nakon uboda papatača, promastigoti lišmanija dospijevaju, pomiješani sa slinom, u kožu nositelja. Po ulasku u kožu, promastigoti bivaju fagocitirani od strane makrofaga, u kojima se umnažaju kao amastigoti, unutar fagolizosoma, koji ih istovremeno štiti od djelovanja nositeljeva imunosnog sustava. Sa rupturom stanice makrofaga, oslobođeni amastigoti ulaze u druge stanice te se šire sa mjesta uboda i dospijevaju prvenstveno u hemolimfatičke organe, poput limfnih čvorova, slezene, koštane srži i jetre (BANETH i SOLANO-GALLEGO, 2012).

Tradicijski gledano se smatralo da svi psi invadirani vrstom *L. infantum* sa vremenom, nakon različito dugog inkubacijskog razdoblja, razvijaju klinički manifestan oblik lišmanioze (FERRER i sur., 1988). No tome nije tako. Naime lišmanioza pasa je bolest kod koje invazija ne znači klinički manifestnu bolest, prvenstveno zbog visoke prevalencije subkliničke infekcije (SOLANO-GALLEGO i sur., 2001; BANETH i sur., 2008). SOLANO-GALLEGO i sur. (2009) smatraju da psi boluju od klinički manifestne lišmanioze kada očituju kliničke znakove i/ili promjene u laboratorijskim pokazateljima, uz objektivno potvrđenu invaziju vrstom *L. infantum*. Psi koji boluju od subkliničkog oblika bolesti su klinički zdravi psi, dakle ne očituju nikakvih kliničkih znakova niti promjena u laboratorijskim pokazateljima, ali objektivno im je dokazana invazija vrstom *L. infantum*.

Lišmaniozu pasa prati širok raspon imunosnih odgovora i kliničkih znakova, a bolest se javlja u subkliničkom, samoograničavajućem obliku (BOTTERO i sur., 2006) i klinički manifestnom, često teškom, obliku. U pasa su navedena dva oblika karakterizirana: (1) zaštitnom imunošću veznom uz CD4+ limfocite i posredovanu

otpuštanjem IFNγ, IL-2 i TNFα, koji potiču anti-lišmanijsku aktivnost makrofaga i (2) sklonošću bolesti, karakteriziranom nespecifičnim humoralnim imunosnim odgovorom, smanjenim uklanjanjem inficiranih makrofaga od strane citotoksičnih CD8+ i CD4+ T-limfocita i smanjenom proizvodnjom IFNγ (ALVAR i sur., 2004; BANETH i sur., 2008). Limfocitna populacija, kao i populacija ostalih leukocita podliježe promjenama tijekom bolesti. Protočna citometrija mononuklearnih stanica periferne krvi i splenocita je pokazala da teške oblika bolesti i naglašeni parazitizam prati smanjenje broja CD5+, CD4+ i CD8+ T-limfocita, te CD21+ B-limfocita i monocita (BANETH i SOLANO-GALLEGO, 2012). Osjetljivost i otpornost prema lišmaniozi u pasa vjerojatno ima i genetsku podlogu. Istraživanje polimorfizma porodice topivih gena, točnije Slc11c1 (engl. *solute carrier family 11 member a1*) gena pokazala su da su kod osjetljivih pasa prisutani polimorfizam i mutacije navedenog gena (SANCHEZ-ROBERT i sur., 2008). Određene pasmine pasa su osjetljivije na bolest, pa tako klinički manifestnu bolest češće razvijaju njemački bokseri, koker španijeli, rotvajleri i njemački ovčari, a ibiski hrtovi rijetko (SOLANO-GALLEGO i sur., 2011). Dob pasa je važan čimbenik, a bolest ima bimodalnu distribuciju, sa najvećom prevalencijom u pasa mlađih od tri i starijih od osam godina (ABRANCHES i sur., 1991; CARDOSO i sur., 2004).

Lišmanioza pasa je kronična bolest, a klinički se znakovi mogu pojaviti tri mjeseca, pa sve do sedam godina po infekciji. Tijekom bolesti dolazi do deplecije T-limfocitnih područja u limfatičnim organima te proliferacije B-limfocitnih područja sa posljedičnom naglašenom tvorbom protutijela. Proliferacija B-limfocita, plazma stanica, histiocita i makrofaga rezultira pojavom generalizirane limfadenomegalije, splenomegalije i hiperglobulinemije. Tijekom bolesti se stvaraju i auto-protutijela, koja su odgovorna za nastanak imunosno-posredovanih oštećenja tkiva i organa (pr. trombocitopenija, glomerulonefritis, uveitis, sistemski vaskulitis itd.) (Baneth i SOLANO-GALLEGO, 2012).

2.3.5.2. KLINIČKA SLIKA

Lišmanioza pasa je sistemska bolest koja potencijalno može zahvatiti bilo koji organski sustav, tkivo ili tjelesnu tekućinu i očituje se nespecifičnim kliničkim znakovima. Najčešći su klinički znakovi lišmanioze prikazani u tablici 8. Ipak se lišmanioza najčešće očituje promjenama na koži, lokaliziranom ili generaliziranom limfadenomegalijom, gubitkom na tjelesnoj masi, nepodnošenju napora, smanjenim

apetitom, letargijom, splenomegalijom, poliurijom i polidipsijom, promjenama na očima, krvarenjem iz nosa, onihogrifozom, šepavošću, povraćanjem i proljevom (BANETH i SOLANO-GALLEGO, 2012).

Tablica 8. Klinički znakovi i promjene u laboratorijskim pokazateljima kod lišmanioze pasa uzrokovane vrstom L. infantum (prema SOLANO-GALLEGO i sur., 2011).

KLINIČKI ZNAKOVI	PROMJENE U LAB. POKAZATELJIMA
Sistemski Generalizirana limfadenomegalija Gubitak na tjelesnoj masi Smanjen ili pojačan apetit Letargija Bljedilo vidljivih sluznica Splenomegalija Poliurija i polidipsija Povišena tjelesna temperatura Povraćanje Proljev (uključujući i kronični kolitis)	Serumski proteini i elektroforetogram Hiperglobulinemija (poliklonska beta i/ili gamaglobulinemija) Hipoalbuminemija Snižen omjer albumina prema globulinima
Kožni Nepruritičan eksfolijativni dermatitis Alopecija Nodularni dermatitis Papularni dermatitis Pustularni dermatitis Onihogrifoza	Hemogram/hemostaza Blaga do umjerena neregenerativna anemija Leukocitoza ili leukopenija Trombocitopatija Trombocitopenija Poremećaj sekundarne hemostaze i fibrinolize
Očni Blefaritis i konjunktivitis Keratokonjunktivitis Anteriorni uveitis/endoftalmitis	Biokemijski pokazatelji/pretraga mokraće Blaga do teška proteinurija Bubrežna azotemija Povišena aktivnost jetrenih enzima
Ostali Mukokutane i mukozne ulcerativne ili nodularne lezije (oralne, genitalne i	Ostale promjene Limfocitna pleocitoza u cerebrospinalnom likvoru

nazalne) Krvarenje iz nosa Šepavost, vaskulitis, miozitis	Prisutstvo antinuklearnih protutijela Smanjenje kvalitete sperme

Rijetko se lišmanioza može očitovati srčanom tamponadom, miozitisom žvačnog mišićja, pankreatitisom, meningitisom, kroničnim kolitisom, pemfigusom i poliartritisom. Posljedično glomerulonefritisu i razvoju nefrotičnog sindroma može se javiti i tromboza, a od koagluopatija je opisana i pojava diseminirane intravaskularne koagulacije (SOLANO-GALLEGO i sur., 2009).

2.3.5.3. DIJAGNOSTIKA

Dijagnostički se postupak provodi kako bi se postavila konačna dijagnoza bolesti ili u svrhu istraživanja prisutstva i proširenosti bolesti na određenom području, u klinički zdravih pasa koji žive u endemskom području, u svrhu sprječavanja prijenosa bolesti sa subkliničkih nositelja koji su donori krvi za transfuziju ili da bi se izbjegao transport invadiranih pasa u područja (ili zemlje) u kojima lišmanioze nema, te kao način praćenja terapijskog odgovora (MIRÓ i sur., 2008). Dijagnostički je postupak složen i sastoji se od nalaza kompatibilnih kliničkih znakova i promjena u laboratorijskim pokazateljima, do primjene specifičnih metoda, koje uključuju mikroskopski dokaz parazita u citološkim ili histopatološkim uzorcima, uzgojem parazita na odgovarajućim podlogama i dokaz parazitske DNA pomoću PCR (SOLANO-GALLEGO i sur., 2009). Promjene u laboratorijskim pokazateljima koje mogu pratiti lišmaniozu uzrokovanu vrstom *L. infantum* navedene su u tablici 8.

Brojne su serološke metode dostupne za otkrivanje serumskih protutijela na lišmanije. Tako se mogu koristiti IFAT, ELISA, imunokromatografija, izravna aglutinacija i WB. Općenito govoreći, većina je navedenih metoda dobre osjetljivosti i specifičnosti. Pritom je važno napomenuti da osjetljivost i specifičnost svake od metoda ovisna o antigenu koji se primjenjuje. Visoka razina protutijela vezana je uz lišmaniozu sa velikim brojem parazita u tkivima i klinički manifestnom bolešću. U slučajevima niskog titra protutijela, ali odgovarajućim kliničkim znakovima, potrebno je pribjeći dodatnim dijagnostičkim metodama, kako bi se bolest potvrdila (BANETH i SOLANO-GALLEGO, 2012). Ukrižena reaktivnost je moguća, osobito sa drugim vrstama roda *Leishmania*,

ali i parazitima roda *Trypanosoma*. Ukrižena se reaktivnost rijetko javlja u slučajevima vrsta *B. canis* i *E. canis* (POROZZI i sur., 2007; SOLANO-GALLEGO i sur., 2009).
Nadalje, dijagnozu lišmanioze možemo postaviti i dokazom amastigota unutar makrofaga ili slobodnih u tkivima. Amastigote lišmanija najčešće nalazimo u limfnim čvorovima, aspiratima slezene, otiscima kože, koštanoj srži, ali i ostalim tkivima i u tjelesnim tekućinama. Otkrivanje amastigota lišmanija u parafinskim blokovima uzoraka kože ili organa može se dodatno olakšati korištenjem imunohistokemijskih bojanja. Osim izravnog mikroskopskog nalaza, lišmanije se mogu uzgojiti na posebnim hranjivim podlogama, najčešće Novy-MacNeal-Nicoll podlozi, Schneiderovoj *Drosophila* podlozi ili inokulacijom hrčaka (BANETH i SOLANO-GALLEGO, 2012).
PCR omogućava dokaz DNA lišmanija u tkivima i tjelesnim tekućinama, te je vrlo osjetljiva i specifična dijagnostička metoda. PCR se može provoditi na uzorcima tkiva, krvi i tjelesnih tekućina, te čak uzoraka pripremljenih za histopatološki dijagostiku. Najosjetljivija je metoda kojom se dokazuje kinetoplastna DNA (kDNA) (MAIA i CAMPINO, 2008). Važno je pritom naglasiti da se nalaz PCR uvijek mora tumačiti u svjetlu kliničkih znakova i laboratorijskih promjena (SOLANO-GALLEGO i sur., 2011).

2.3.5.4. TERAPIJA

Lišmanioza pasa, u usporedbi sa istom bolešću u ljudi, je otpornija prema terapiji i vrlo rijetko terapija rezultira potpunom eliminacijom lišmanija iz organizma (BANETH i SOLANO-GALLEGO, 2012). Različiti se terapijski protokoli mogu primjenjivati, ovisno o stadiju bolesti (vidjeti tablicu 9.). U terapiji lišmanioze pasa najćešće se koriste megluminov antimonat, alopurinol i miltefozin (vidjeti tablicu 10.). Terapijski odgovor ovisi o stadiju bolesti, pa tako može biti vrlo slab do dobar (SOLANO-GALLEGO i sur., 2011). Terapija antilišmanijskim lijekovima dovodi do kliničkog izliječenja, no psi i dalje u sebi nose parazita i mogu predstavljati izvor infekcije, ali u manjem obimu nego što je to prije započinjanja liječenja (IKEDA-GARCIA i sur., 2007; MANNA i sur., 2008). U većine pasa terapija unutar prvog mjeseca donosi poboljšanja, no do znatnijeg poboljšanja dolazi tek nakon nekoliko mjeseci terapije (Manna i sur., 2008; SOLANO-GALLEGO i sur., 2009). Životinje pod terapijom treba redovito nadzirati, i to klinički, laboratorijski i serološki.
Trajanje terapije alopurinolom ovisi o težini bolesti, kliničkom i parazitološkom odgovoru i individualnoj podnošljivosti lijeka (SOLANO-GALLEGO i sur., 2009).

Alopurinol se prestaje primjenjivati ukoliko su zadovoljeni slijedeći uvjeti: (1) potpuni klinički oporavak životinje i (2) značajan pad titra protutijela (u slučajevima kvantitativne serološke metode negativan ili graničan titar). Dodatno se alopurinol prestaje primjenjivati ukoliko ne uspijeva kontrolirati stupanj ksanturije ili u slučajevima ksantinske kristalurije (TORRES i sur., 2011). Pse koji su asimptomatski, a kod kojih je dokazana lišmanioza je vrlo važno nadzirati, najbolje u razmacima od tri do šest mjeseci. Trenutna je preporuka da ih se ne terapira, već štiti topikalnim repelentim i insekticidnim pripravcima (SOLANO-GALLEGO i sur., 2011).

Tablica 9. Klinički stadiji lišmanioze pasa (prema SOLANO-GALLEGO i sur., 2011).

STADIJ (TITAR PROTUTIJELA)	**KLINIČKI ZNAKOVI**	**LABORATORIJSKE PROMJENE**	**LIJEČENJE I PROGNOZA**
Stadij I: blaga bolest (negativan do nisko pozitivan)	Blagi znakovi: periferna limfadenomegalija ili papularni dermatitis	Uglavnom bez promjena	Nije potrebna. Dobra prognoza.
Stadij II: umjerena bolest (nisko pozitivan do visoko pozitivan)	Znakovi stadija I, difuzne ili simetrične kožne promjene, onikogrifoza, anoreksija, epistaksa, gubitak na tjelesnoj masi, povišena tjelesna temperatura	Blaga neregenerativna anemija, hipergamaglobulinemija, hipoalbuminemija, hiperviskozni sindrom Podstadiji: a. bez promjena u bubrežnim pokazateljima b. kreatinin <124 µmol/L, UPCR 0.5-1	Alopurinol+megluminov antimonat ili miltefozin. Dobra do oprezna prognoza.
Stadij III: teška bolest (umjereno do visoko pozitivan)	Znakovi stadija I i II, imunosno-posredovana oštećenja (vaskulitis, artritis, uveitis, glomerulonefritis)	Promjene stadija II IRIS stadij I (UPCR >1) ili II (kreatinin 124 do 180 µmol/L)	Alopurinol+megluminov antimonat ili miltefozin. Terapija zatajivanja bubrega prema smjernicama IRIS. Oprezna do loša prognoza.
Stadij IV: vrlo teška bolest (umjeren do visoko pozitivan)	Znakovi stadija III, plućna tromboembolija, nefrotski sindrom	Promjene stadija II IRIS stadij III (kreatinin 180 do 440 µmol/L) ili IV (kreatinin >440 µmol/L)	Samo alopurinol. Terapija prema smjernicama IRIS. Loša prognoza.

Tablica 10. Antimikrobni lijekovi za terapiju lišmanioze pasa (prema BANETH i SOLANO-GALLEGO, 2012).

LIJEK	DOZA (MG/KG)	NAČIN PRIMJENE	INTERVAL (SATI)	TRAJANJE (TJEDNI)
Megluminov antimonat	75-100	sk.	24	4-8
Alopurinol	10	po.	12	6-12 mjeseci (u nekih pasa doživotno)
Miltefozin	2	po.	24	4

Već desetljećima su pentavalentni pripravci antimona lijek izbora u terapiji lišmanioze pasa i čovjeka. Mehanizam njihovog djelovanja temelji se na inhibiciji glikolitičkih enzima i beta-oksidacije masnih kiselina. Od pentavalentnih pripravaka antimona se u terapiji lišmanioze najčešće primjenjuje megluminov antimonat; primjenjuje se subkutano i potencijalno je nefrotoksičan, a opisana je i njegova primjena u trudnih kuja. U Francuskoj, Italiji i Španjolskoj su otkriveni rezistentni sojevi lišmanija (FARAUT-GAMBARELLI i sur., 1997; BANETH i SOLANO-GALLEGO, 2012).

Alopurinol je inhibitor ksantin-oksidaze koji u lišmanijama biva metaboliziran u analog inozina; analog inozina biva ugrađen u lišmanijsku ribonukleinsku kiselinu (RNA), što dovodi do pogrešne translacije u sintezi proteina i inhibicije rasta i umnožavanja parazita. Primjenjuje se peroralno, u većini je zemalja dostupan i pri njegovoj se primjeni uglavnom nuspojave rijetko javljaju. Primjena alopurinola dovodi do hiperksanturije, koja može rijetko biti uzrokom urolitijaze. Kombinacija alopurinola i megluminovog antimonata se smatra najučinkovitijim terapijskim protokolom u liječenju lišmanioze pasa (SOLANO-GALLEGO i sur., 2009, 2011; BANETH i SOLANO-GALLEGO, 2012).

Miltefozin je alkilni fosfolipid koji očituje izravan toksični učinak prema lišmanijama i pokazao se učinkovitim u liječenju visceralne lišmanioze u ljudi. Primjenjuje se peroralno i alternativni je lijek megluminovom antimonatu (SUNDAR i OLLIARO, 2007; BANETH i SOLANO-GALLEGO, 2012).

2.3.5.5. PROFILAKSA

Trenutno se profilaksa lišmanioze temelji na primjeni pripravaka koji sadržavaju sintetske piretroide, permetrin ili deltametrin, a koji posjeduju repelentan učinak prema papatačima i čiji je repelentan učinak potvrđen u eksperimentalnim i terenskim istraživanjima (SOLANO-GALLEGO i sur., 2011). Od ostalih se mjera u endemskih područjima preporučuje: držanje pasa u zatvorenim prostorima od sumraka do zore, uništavanje mikrostaništa papatača u blizini nastambe uz korištenje insekticidnih pripravaka (SOLANO-GALLEGO i sur., 2009).

Pročišćena cjepiva protiv lišmanioze pokazala su se obećavajućim u profilaksi lišmanioze. Dostupno je cjepivo temeljeno na fukozno-manoznom ligandu (tzv. FML cjepivo) i cjepivo temeljeno na antigenu dobivenom iz supernatanta kulture *L. infantum* promastigota (tzv. LiESAp cjepivo) (SARAIVA i sur., 2006; SOLANO-GALLEGO i sur., 2011).

Budućnost je kontrole lišmanioze pasa kombinirana profilaksa primjenom cjepiva i učinkovitog, dugodjelujućeg insekticidnog preparata (BANETH i SOLANO-GALLEGO, 2012).

2.3.6. DIROFILARIOZA

Filarioze su skupina bolesti uzrokovane parazitima koji pripadaju koljenu *Nematoda*, redu *Spirurida*, nadporodici *Filaroidea*, a koji se kolokvijalno nazivaju filarijama. Poznato je oko 200 vrsta filarija, a neke od njih su uzročnici bolesti u ljudi i životinja. Filarijama je potreban vektor-člankonožac, najčešće hematofagni insekt kako bi okončale svoje razvojni ciklus. Prvi stadij ličinaka (L1), koje nazivamo mikrofilarijama, nalazi se u krvotoku i potkožju nositelja, te njih najčešće vektor prilikom hranjenja unosi u sebe. Odrasle filarije nalazimo u različitim organima, ovisno o vrsti filarije i nositelju. Tako, prema lokalizaciji adulta, razlikujemo limfatičku, subkutano, kardiopulmonalnu, arterijsku i ektopičnu filariozu, te filariozu seroznih tjelesnih šupljina (FERASIN i KNIGHT, 2005).

Najvažnija je i geografski najrasprostranjenija filarioza pasa i mačaka kardiopulmonalna filarioza ili dirofilarioza koja je uzrokovana vrstom *Dirofilaria immitis*.

Uz dirofilariozu uzrokovanu *D. immitis*, u smislu zoonotskog potencijala, važnija je subkutana filarioza uzrokovana vrstom *D. repens* (ANDERSON, 2000).

Kod kardiopulmonalne dirofilarioze, poznate i kao bolest srčanog crva (prema engl. *heartworm disease*), dirofilarije su smještene u plućnoj arteriji i desnom srcu pasa, te rjeđe mačaka i tvorova. Invazija je opisana i u drugih životinja, poput divljih kanida, kalifornijskog morskog lava, lučkih tuljanja, divljih mačaka i ljudi, no navedene vrste smatraju se abernatnim nositeljima u kojima paraziti vrlo rijetko završno sazrijevaju i završavaju svoj biološki ciklus. Također je invazija *D. immitis* opisana u konja, dabrova, medvjeda, rakuna, gorskih kuna, bizamskog štakora i crvenih panda (ABRAHAM, 1988; MCCALL i sur., 2007).

2.3.6.1. RAZVOJNI CIKLUS

Pripadnike roda *Dirofilaria* najčešće prenose komarci i za razliku od uzročnika malarije, kojeg prenose isključivo komarci roda *Anopheles*, vrstu *D. immitis* prenose komarci iz nekoliko različitih rodova, odnosno više od 70 vrsta komaraca (LOK, 1988).

Ženke vrste *D. immitis* su viviparne i polažu nezrele ličinke (mikrofilarije, ličinke prvog stupnja, L1) koje dospijevaju u krvotok. Mikrofilarije, prilikom krvnog obroka, komarci unose u sebe; oni nisu samo vektori već i obligatni međunositelji u kojima ličinke u Malpighijevim cjevčicama sazrijevaju u ličinke trećeg stupnja (L3). Trajanje sazrijevanja je promjenjivo i ovisno je o temperaturi okoliša. Tako je temperaturni prag ispod kojeg se sazrijevanje ne odvija 14°C. Kada je prosjek dnevnih temperatura oko 30°C ličinke sazrijevaju kroz osam dana, a pri temperaturi od 18°C mjesec dana. Posljedično navedenom, prijenos invazivnih ličinaka moguće je samo u toplijim mjesecima godine, što naravno ovisi o zemljopisnom položaju (KOTANI i POWERS, 1982; LICHTENFELS i sur., 1985).

Invazivne L3 ličinke migriraju iz Malphigijevih cjevčica prema komračevoj usnoj šupljini, te tijekom hranjenja prodiru kroz ubodnu ranu u lokalno vezivno tkivo. Nakon otprilike jednog tjedna ličinke se presvlače u ličinke četvrtog stupnja (L4), te nakon migracije (prema grudnoj šupljini) od dva do tri mjeseca u potkožnom tkivu i mišićju se presvlače u juvenilne dirofilarije, koji prodiru kroz mišićje i dospijevaju u krvotok. Putem venskog sustava juvenilne dirofilarije dospijevaju do desnog srca i plućnog arterijskog sustava, u kojem nakon otprilike tri do šest mjeseci, sazrijevaju i pare se, te otpuštaju mikrofilarije u krvotok te perpetuiraju razvojni ciklus (KOTANI i POWERS, 1982;

HAYASAKI, 1996). Životni ciklus vrste *D. immitis* u pasa otprilike iznosi od pet do sedam godina (FERASIN i KNIGHT, 2005).

Dirofilarioza je bolest globalne proširenosti, sa slučajevima opisanim diljem Sjeverne Amerike, ali i južne Europe, Afrike, Azije i Australije (MORCHÓN i sur., 2012). Trenutno, iako su vektori bolesti brojni i rasprostranjeni, širenje bolesti je ograničeno zbog niskih temperatura okoliša pri kojima ne dolazi do sazrijevanja ličinaka u komarcu. Klimatske promjene mogu biti uzrokom prodora bolesti u ne-endemska područja (FERASIN i KNIGHT, 2005).

2.3.6.2. PATOGENEZA

Dirofilarioza je prvenstveno kardiopulmonalna bolest, jer prisutstvo odraslih nematoda u plućnoj arterijskoj cirkulaciji dovodi do proliferacije intime krvnih žila sa posljedičnim suženjem i opstrukcijom krvnih žila (SCHAUB i sur., 1981; RAWLINGS i sur., 1990). Težina i proširenost oštećenja ovisi o broju i lokalizaciji nematoda, pa su tako kaudalne lobarne arterije najčešće najviše zahvaćene. Uz izravan učinak parazita, pretpostavlja se da u patogenezi bolesti ima ulogu i rikecija *Wolbachia pipientis* koja je endosimbiont i koja otpušta IL-8 (MCHAFFIE, 2012). Kod teških oblika bolesti propustljivost stijenke krvnih žila može biti povećana, sa posljedičnim periarterijskim edemom te intersticijskim i alveolarnim staničnim infiltratom, koji vode ka plućnoj fibrozi. Uz navedeno, može se razviti i plućna tromboembolija (PTE) (KITTLESON, 1999). PTE je posljedica nakupljanja trombocita zbog izlaganja kolagenu posljedično oštećenju endotela uzrokovanog parazitom. Nakupljanje trombocita najvjerojatnije je odgovorno i za otpuštanje čimbenika rasta iz trombocita (engl. *platelet-derived growth factor*, PDGF) koji potiče proliferaciju stanica glatkog mišićja medije krvnih žila i fibroblasta (HOCH i STRICKLAND, 2008). PTE se također može javiti i posljedično uginuću odraslih dirofilarija, spontano ili nakon primjene adulticidnih lijekova (RAWLINGS i sur., 1993). KITOH i sur. (2001) su aplikacijom ekstrakta *D. immitis* u eksperimentalnim uvjetima izazvali šok u pasa uzrokovan degranulacijom mastocita i masivnim otpuštanjem histamina. U slučajevima teških invazija, posebice kada velik broj parazita sazrijeva istovremeno, može doći do retrogradne migracije iz plućne arterije u desni ventrikul, atrij te u šuplje vene. Posljedično retrogradnoj migraciji dolazi do razvoja insuficijencije trikuspidalnog zalistka što, u kombinaciji sa plućnom hipertenzijom, dovodi do nastanaka zatajivanja desnog srca, sa pojavom proširenja vratnih vena,

ascitesa i hepatomegalije (stazna jetra) (THOMAS NELSON, 2012). Dodatno, kod teških invazija dolazi i do oštećenja membrana eritrocita koji prolaze kroz masu intravaskularnih parazita, sa posljedičnom hemolizom i hemoglobinemijom. Prisutstvo trikuspidalne insuficijencije, zatajivanja desnog srca sa hepatomegalijom, pada minutnog volumena i intravaskularne hemolize sa hemoglobinurijom nazivamo kavalnim sindromom (FERASIN i KNIGHT, 2005). U pasa koji boluju od dirofilarioze opisana je i pojava imunosno-posredovanog glomerulonefritisa, karakteriziranog nefropatijom sa gubitkom proteina (PLN), hipoalbuminemijom i bubrežnim gubitkom antitrombina III (ATIII) koji doprinosi razvoju PTE (AIKAWA i sur., 1981).
Katkada, odrasle dirofilarije ne migriraju prema srcu i plućnom arterijskom sustavu, već u oko, središnji živčani sustav (cerebralne arterije, lateralni mozgovni ventrikuli), sistemske arterije i subkutano tkivo, uzrokujući ektopičnu dirofilariozu (HOCH i STRICKLAND, 2008).

2.3.6.3. KLINIČKA SLIKA

U većine pasa oboljelih od dirofilarioze ne nalazimo kliničkih znakova bolesti, te se radi o slučajnom nalazu invazije tijekom rutinskog pregleda na zdravlje. Samo u pasa invadiranih velikim brojem parazita ili kod kojih su se pojavile komplikacije dirofilarioze nalazimo znakove bolesti, koji su zapravo posljedica invazije plućnog arterijskog sustava, desne strane srca i šupljih vena. Tako kod dirofilarioze pasa nalazimo znakove pneumonitisa, plućnog endarteritisa, plućne hipertenzije, PTE i plućnog srca (HOCH i STRICKLAND, 2008). Bolest se u većini slučajeva razvija sporo i postupno, vrlo rijetko akutno. Nadalje, do pojave kliničkih znakova može doći nakon izlaganja naporu. U pasa je najčešći klinički znak kašalj, a zatim tahipneja, respiratorni distres, nepodnošenje tjelesnog napora, gubitak na tjelesnoj masi i sinkopa (KITTLESON, 1999). U teškim oblicima bolesti može se javiti i hemoptiza, najčešće kao posljedica rupture krvne žile u plućnom arterijskom sustavu. Uz navedno mogu se javiti i znakovi zatajivanja desnog srca, sa auskultacijskim nalazom srčanog šuma desno, nad srčanim apeksom. U pasa sa ektopičnom dirofilariozom opisana je pojava slabosti stražnjih ekstremiteta i paralize (FERASIN i KNIGHT, 2005). Kavalni sindrom se očituje anoreksijom, gubitkom na tjelesnoj masi, respiratornim distresom, intravaskularnom hemolizom sa posljedičnom hemoglobinurijom, znakovima zatajivanja desnog srca i DIK-om (STRICKLAND, 1998).

2.3.6.4. DIJAGNOSTIKA

Na dirofilariozu se može posumnjati tijekom rutinskog kliničkog pregleda prije pojave kliničkih znakova mikroskopskim pregledom razmaska periferne krvi na mikrofilarije, odnosno dijagnosticirati se može i serološki, dokazom cirkulirajućeg antigena u punoj krvi, serumu ili plazmi (HOCH i STRICKLAND, 2008). Cirkulirajuće antigene najbolje je dokazati ELISA metodom, prvenstveno jer je visoke osjetljivosti i specifičnosti, a i lako je provediva. Ipak je važno imati na umu da navedena metoda tijekom prvih pet do osam mjeseci od invazije može biti i lažno-negativnog nalaza, osobito u životinja invadiranih samo mužjacima ili malim brojem ženki dirofilarija. Sa nekim od, na tržištu dostupnih, testova temeljenih na ELISA metodi može se kvantificirati težina invazije temeljem koncentracije antigena, iako i kod navedenih testova nalaz može biti netočan (CHANDRASHEKAR i sur., 2010). Moguća je pojava ukrižene reaktivnosti sa *Angiostrongylus vasorum* (SCHNYDER i DEPLAZES, 2012). Za interpretaciju nalaza važno je poznavati i prevalenciju bolesti (HOCH i STRICKLAND, 2008).

Mikroskopskim pregledom razmaska periferne krvi mogu se u većini slučajeva otkriti mikrofilarije. Iznimka su invazije malim brojem parazita ili okultne invazije (amikrofilaremija) kod kojih nije moguće uočiti mikrofilarije u razmasku. Osjetljivija od navedene metode je modificirana Knottova metoda, koja omogućava i detaljniji (morfološki) pregled mikrofilarija, te razlikovanje *D. immitis* od *Acanthocheilonema reconditum* i *D. repens* (FERASIN i KNIGHT, 2005).

Na temelju rutinske laboratorijske obrade u većini slučajeva se ne može postaviti etiološka dijagnoza. U krvnoj slici često nalazimo u ranim stadijima invazije eozinofiliju i bazofiliju, a u biokemijskim pokazateljima pojačanu aktivnost jetrenih enzima, porast koncentracije ureje i kreatinina i sl. (KITTLESON, 1999).

Rentgenološki kod pasa oboljelih od dirofilarioze na standardnim prikazima grudne šupljine mogu se uočiti gotovo karakteristične promjene: izbočenje plućnog arterijskog segmenta, proširene i tortuotične plućne arterije, te intersticijski i/ili alveolarni plućni uzorak (osobito u kaudalnim dijelovima pluća). U slučajevima kavalnog sindroma vidljivo je povećanje desnog atrija i ventrikula, te proširenje kaudalne šuplje vene. Ehokardiografskom pretragom mogu se u šupljinama desnog atrija i ventrikula, kao i u razini plućne arterije vizualizirati odrasle dirofilarije, najčešće kao dvostruke hiperehoične izdužene strukture. U težim oblicima dirofilarioze ehokardiografski

nalazimo dilataciju i hipertrofiju desnog ventrikula, te doplerske znakove insuficijencije trikuspidalnog zalistka i plućne hipertenzije. Ultrazvučna dijagnostika je od koristi i u slučajevima ektopične dirofilarioze (BOWMAN i ATKINS, 2009).
Molekularna dijagnostika, prvenstveno PCR, predstavlja najosjetljiviju i najspecifičniju metodu, kojom je moguće otkriti nezrele i zrele oblike dirofilarija, te razlikovati i vrstu koja je uzrokom bolesti (LATROFA i sur., 2012).

2.3.6.5. TERAPIJA

Za uspješnu terapiju dirofilarioze važno je dobro poznavati razvojni ciklus *D. immitis*, odnos nositelj-parazit i osjetljivost različitih razvojnih stadija prema mikrofilaricidnim i adulticidnim lijekovima. Ciljevi su terapije dirofilarioze poboljšati kliničko stanje životinje i uklanjanje svih razvojnih stadija dirofilarija, sa minimaliziranjem postterapijskih komplikacija. Kako pas koji boluje od dirofilarioze u sebi može nositi L3 i L4 ličinke, juvenilne i odrasle dirofilarije, terapija mora biti strateški osmišljena, a mora joj prethoditi detaljan klinički pregled sa laboratorijskom dijagnostikom. U slučaju postojanja komplikacija dirofilarioze, prije započinjanja adulticidne terapije životinju se mora stabilizirati (pr. stabilizacija u slučaju zatajivanja srca ili teškog pneumonitisa). Kavalni sindrom je po život opasna komplikacija dirofilarioze povezana sa teškim invazijama i velikim brojem dirofilarija, a kod kojeg je indicirana kirurško odstranjivanje dirofilarija venotomijom desne vratne vene (THOMPSON NELSON, 2012). Lijekovi koje se koriste u terapiji dirofilarioze navedeni su u tablici 11.
Melarsomin je organski aresnov spoj adulticidnog učinka. Primjenjuje se duboko intramuskularno u epaksijalno lumbalno mišićje i pokazao se učinkovitim prema filarijama mlađim od četiri mjeseca. Trostrukom aplikacijom melarsomina, u razmacima od četiri i osam tjedana ukloni se 98% adultnih dirofilarija (FERASIN i KNIGHT, 2005; THOMPSON NELSON, 2012).
Makrociklički laktoni koji se primjenjuju u terapiji kardiopulmonalne dirofilarioze su ivermektin, milbemicin, moksidektin i selamektin. Kao što je već prije navedeno kod oboljelih pasa moguće je naći dirofilarije različite starosti (od mjesec dana, pa sve do sedam godina), a melarsomin nije učinkovit prema dirofilarijama mlađim od četiri mjeseca. Kako bi se pokrio takav procijep, prije primjene melarsomina se preventivno aplicira makrociklički lakton tijekom dva mjeseca. Na taj se način uklanjaju razvojni oblici starosti do dva mjeseca, a koji se nalaze u tkivima. Također, na taj način

sazrijevaju dirofilarije starosti od dva do četiri mjeseca, a kako bi ih se kasnije uklonilo melarsominom. Po aplikaciji makrocikličkih laktona može doći do naglog ugibanja većeg broja mikrofilarija praćenog razvojem anafilaktičke reakcije, a koja se može ublažiti primjenom antihistaminika i glukokortikoida (HOCH i STRICKLAND, 2008a; BOWMAN i ATKINS, 2009).

Tablica 11. Lijekovi za liječenje kardiopulmonalne dirofilarioze (prema THOMPSON NELSON, 2012).

LIJEK	**DOZA (MG/KG)**	**NAČIN PRIMJENE**	**INTERVAL**	**TRAJANJE (DANI)**
Melarsomin	2,5	duboko im.	4-8 tjedana	3 doze
Makrociklički laktoni*	ovisno o individualnom lijeku	po.	30 dana	Neodređeno
Doksiciklin	10	po.	12 sati	28
Prednizolon	0,5	po.	12 sati	7-21

* ivermektin, milbemicin, moksidektin, selamektin

Kao što je prije navedeno, *D. immitis* nosi unutarstanično smještenog simbionta, rikeciju *W. pipientis*, koja svojim metabolitima doprinosi bolesti. Trenutno se doksiciklin standardno koristi u liječenju filarioza u ljudi, a istraživanje MCCALL i sur. (2011) je pokazalo da su psi liječeni ivermektinom i doksiciklinom u odnosnu na pse liječene samo ivermektinom imali manje vidljivih plućnih promjena vezanih uz uginuće dirofilarija.

Kako je ugibanje dirofilarija povezano sa tromboembolijom i perivaskularnom upalom, primjenom prednizolona se smanjuje upalni odgovor. Prednizolon smanjuje oštećenja parenhima i stijenke arterija, sa ublažavanjem stupnja fibroziranja pluća (THOMPSON NELSON, 2012).

Sve se više primjenjuje multimodalni pristup terapiji kardiopulmonalne dirofilarioze: primjena makrocikličkog laktona i doksiciklina uklanja rikecije te zaustavlja embriogenezu, pa odrasle dirofilarije slabije rastu i manje su. U slijedećem koraku se sa trostrukom primjenom melarsomina uklanja 99% odraslih dirofilarija. Navednim se

pristupom smanjuje postotak posterapijskih komplikacija (HOCH i STRICKLAND, 2008a; BOWMAN i ATKINS, 2009; THOMPSON NELSON, 2012).

2.3.6.6. PROFILAKSA

Kemoprofilaksa se preporučuje za sve pse koji žive u endemskih područjima dirofilarioze i to tijekom razdoblja aktivnosti komaraca. Makrociklički laktoni su učinkoviti profilaktički lijekovi, pa se zato i najčešće koriste. Trenutno su za profilaksu kardiopulmonalne dirofilarioze odobrena četiri makrociklička laktona, i to ivermektin, milbemicin oksim, moksidektin i selamektin. Profilaktički učinak makrocikličkih laktona temelji se na njihovom učinku na L4 ličinke koje migriraju kroz tkiva, sve do šestog tjedna invazije. Makrociklički laktoni pružaju visok stupanj zaštite ukoliko se primjenjuju redovito. Tako se pripravci za peroralnu i lokalnu (topikalnu) primjenu primjenjuju jednom mjesečno, dok se injekcijski pripravci primjenjuju jednom u šest mjeseci ili dvanaest mjeseci (moksidektin) (FERASIN i KNIGHT, 2005).

3. OBRAZLOŽENJE TEME

Kako do sada, prema autorovim spoznajama, nije provedeno sustavno istraživanje u kojem bi se utvrdila prevalencija koinfekcije uzročnika bolesti prenosivih člankonošcima u pasa oboljelih od babezioze, niti utjecaj iste na klinički tijek, pojavnost komplikacija i u konačnici ishod babezioze, hipoteze istraživanja su slijedeće: da se kod pasa oboljelih od babezioze javljaju koinfekcije, da koinfekcije utječu na klinički tijek i oblik babezioze, da su koinfekcije češće u kompliciranim oblicima babezioze, te da bi istovremeno liječenje koinfekcija i babezioze smanjilo rizik od pojave komplikacija i smanjilo mortalitet kod babezioze.

Ciljevi predloženog istraživanja su slijedeći: pridonijeti boljem poznavanju patogeneze bolesti, utvrditi prevalenciju koinfekcije u pasa oboljelih od babezioze, utvrditi prevalenciju koinfekcije u pasa oboljelih od kompliciranog oblika babezioze, utvrditi postoji li korelacija između koinfekcije i kliničkog tijeka, oblika i ishoda babezioze i utvrditi razlike u kliničkoj slici i laboratorijskim pokazateljima u pasa oboljelih od nekompliciranog i kompliciranog oblika babezioze ovisno o prisutstvu/odsutstvu koinfekcije.

4. MATERIJALI I METODE

4.1. ŽIVOTINJE

Istraživanje se provodilo na psima koji su zbog narušenog zdravstvenog stanja zaprimljeni na Kliniku za unutarnje bolesti Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i uvedeni u ambulanti protokol (Inc. Veterina), a s ciljem provođenja dijagnostičkog i terapijskog postupka.

Istraživanjem je obuhvaćeno ukupno 127 pasa, kojima je potvrđena dijagnoza babezioze, i to pronalaskom protozoa *B. canis* u razmasku periferne krvi, te im je neposredno nakon postavljanja dijagnoze jednokratno apliciran imidokarb dipropionat (Imizol® 12%, MSD Animal Health) u dozi od 6,6 mg/kg tjelesne mase sk.

Istraživana skupina pasa je promatrana kao cjelovita skupina (psi oboljeli od babezioze), te je dodatno podijeljena na dvije podskupine: skupinu serološki pozitivnih (seropozitivnih) i serološki negativnih (seronegativnih) pasa. Dodatno su psi oboljeli od babezioze promatrani i obzirom na pojavu komplikacija, te je osnovna bolest promatrana kao nekomplicirana ili komplicirana. Kompliciranom babeziozom smatrana je babezioza koju je pratila pojava zatajivanja jednog ili više organa, naime, poremećajem funkcije središnjeg živčanog sustava (cerebralna babezioza), pojavom DIK-a, hemokoncentracije, IMHA-e, ARDS-a, AKI-a, akutne hepatopatije, oštećenja srca, acido-baznih poremećaja i akutnog pankreatitisa.

4.2. KLINIČKA OBRADA PASA

Svi su psi temeljito klinički pregledani te su im uzeti uzorci krvi za laboratorijske pretrage. Psima iz istraživane skupine apliciran je jednokratno imidokarb dipropionat, kako je prije opisano.

Klinički se pregled sastojao od:

1. mjerenja tjelesne temperature
2. određivanja frekvencije bila
3. određivanja frekvencije disanja
4. pretrage vidljivih sluznica
5. određivanja vremena ponovnog punjenja kapilara (CRT)
6. palpacije potkožnih limfnih čvorova

7. auskultacije pluća i srca
8. palpacije abdomena
9. rendgenografske pretrage grudne i trbušne šupljine.

Nakon učinjenog kliničkog pregleda i uzrokovanja krvi učinjenja je prosudba pokazatelja (tablica 12. i 13.) prema kojima ja svaka životinja kategorizirana obzirom na pokazatelje za SIRS (Okano i sur., 2002) i MODS (Matijatko i sur., 2009).

Tablica 12. Pokazatelji za procjenu sindroma sustavnog upalnog odgovora (da bi se govorilo o SIRS-pozitivnom pacijentu dva ili više pokazatelja moraju biti zadovoljena) (OKANO et al, 2002).

POKAZATELJ	**VRIJEDNOSTI**
Tjelesna temperatura	≤37,8°C ili ≥39,7°C
Frekvencija bila	>160 otkucaja u minuti
Frekvencija disanja	>40 udisaja u minuti
Ukupan broj leukocita	≤4x109 ili ≥12x109 ili najmanje 10% nesegmentiranih neutrofila

Tablica 13. Pokazatelji za procjenu sindroma višestrukog zatajivanja organa (MATIJATKO i sur., 2009).

ORGAN	UVJETI KOJI MORAJU BITI ZADOVOLJENI KAKO BI SE SMATRALO DA JE PRISUTNO ZATAJIVANJE FUNKCIJE ORGANA
Bubrezi	povećanje serumske koncentracije kreatinina za više od 20% u odnosu na gornju referentnu vrijednost, odnosno koncentracija kreatinina >155 µmol/l uz korekciju dehidracije znak je poremećaja funkcije bubrega
Jetra	povećanje aktivnosti ALT i ALP dvostruko u odnosu na gornju referentnu vrijednost, odnosno ALT >176 U/L i ALP >312 U/L; koncentracija ukupnog bilirubina >100 µmol/L
Mišići	povećanje aktivnosti CPK peterostruko u odnosu na gornju referentnu vrijednost, odnosno CPK >800 U/L
Pluća	klinički vidljiv respiratorni distres, auskultacijski pooštren dišni šum, (pjenušav) iscjedak iz nosa; rentgenološki znakovi edema pluća; promjena vrijednosti parcijalnih tlakova kisika i ugljičnog dioksida u arterijskoj krvi
SŽS	prema Glasgowskoj koma ljestvici, prilagođenoj za korištenje u veterinarskoj medicini, bodovi ispod 9 znak su cerebralnog oblika babezioze

4.3. UZIMANJE I PRIPREMA UZORAKA

Istraživanoj skupini pasa uzorci su uzeti neposredno prije aplikacije imidokarb dipropionata i to iz cefalične vene (*vena cephalica antebrachii*) u dvije epruvete. Prva je epruveta sadržavala antikogulans (dikalijeva sol etilen-diamino-tetraoctene kiseline, K-EDTA), dok druga epruveta nije sadržavala antikoagulans. Dio krvi iz prve epruvete iskorišten je odmah po uzrokovanju za dobivanje kompletne krvne slike i krvnog razmaza, dok je preostali dio pohranjen na -20°C te iskorišten za određivanje vrste babezije pomoću PCR. Krv iz preostale epruvete je, nakon grušanja, centrifugirana na 1.200xg čime je dobiven serum. Dio seruma je odmah iskorišten za određivanje

biokemijskih pokazatelja, dok je preostali dio seruma alikvotiran u najmanje četiri epruvete po Eppendorfu i pohranjen na -70°C.

4.4. OBRADA UZORAKA

4.4.1. DIJAGNOSTIKA BABEZIOZE

Babezioza je u svake pojedine istraživane životinje dokazana nalazom babezija u razmazima periferne krvi obojenih prema Pappenheimu. Razmazi su fiksirani i prethodno obojeni May-Grünwaldovom otopinom (boja kiseli eozin-metilensko modrilo u količini od 0.25 g otopljenih u 100 ml metilnog alkohola zagrijanog na 50°C). Nakon 180 sekundi na razmaze je dolivena dvostruka količina puferirane vode (fosfatni pufer, pH=6.8), te je takav razmaz ostavljen 60 sekundi, nakon čega je ispran puferiranom vodom. Po ispiranju je na razmaz nalivena Giemsina otopina (otopina eozina i proizvoda metilenskog modrila, azur I i azur II metilena), svježe razrijeđena u omjeru 1:20 te ostavljena na razmazu tijekom 25 minuta. Završno je razmaz ispran puferiranom vodom i osušen na sobnoj temperaturi.

4.4.2. DIJAGNOSTIKA ANAPLAZMOZE, BORELIOZE, ERLIHIOZE, DIROFILARIOZE I LIŠMANIOZE

Uzorci seruma svih pasa oboljelih od babezioze testirani su testovima Canine SNAP® 4Dx® i Canine SNAP® Leishmania testovima, proizvođača Idexx Laboratories Inc.
Canine SNAP® 4Dx® standardna je metoda otkrivanja protutijela na uzročnike anaplazmoze, borelioze i erlihioze, te antigena *D. immitis*. Radi se o visokoosjetljivoj *in vitro* dijagostičkoj metodi kojom se u uzorcima plazme, seruma i nekoagulirane pune krvi (K-EDTA ili heparinski antikoagulans) otkrivaju protutijela na *A. phagocytophilum*, *B. burgdorferi* i *E. canis* te *D. immitis* antigen. Pretraga se provodila prema uputama proizvođača.
Canine SNAP® Leishmania jedan je od dostupnih brzih seroloških testova koji se temelji na imunokromatografskoj metodi. Radi se o *in vitro* dijagnostičkoj metodi kojom se na uzorcima plazme, seruma i nekoagulirane pune krvi (K-EDTA ili heparinski antikoagulans) otkrivaju protutijela na *L. infantum*. Pretraga se provodila prema uputama proizvođača.

U slučajevima u kojima je korišten zamrznuti uzorak seruma, isti je prije upotrebe bio odmrznut te recentrifugiran.

4.4.3. ODREĐIVANJE VRSTE BABEZIJA LANČANOM REAKCIJOM POLIMERAZOM

Izdvajanje DNA iz 200 µl pune krvi učinjeno je pomoću komercijalnog seta DNeasy® Blood and Tissue Kit, proizvođača Qiagen (Venlo, Nizozemska), prema uputama proizvođača i uz upotrebu automatskog sustava za izdvajanje DNA, QIACube® (Qiagen, Venlo, Nizozemska). Set omogućava kvalitetno izdvajanje DNA iz krvi, te ujedno i iz mikroorganizama koji mogu biti prisutni u uzorku. Tako izvojen DNA najpogodniji je za daljnje postupke pretraga.

Lančana reakcija polimerazom korištena je kako bi se umnožio ciljani odsječak 18s ribosomske RNA (rRNA) gena od 560 parova baza (engl. *base pairs*, bp). Ciljani odsječak DNA umnožen je upotrebom dvaju parova početnica prema Herwaldtu i sur. (2003), ugniježđenim PCR protokolom. Za umnažanje većeg odsječka od 1715 bp u prvoj PCR reakciji upotrijebljene su prednja početnica CRYPTO F 5'-AACCTGGTTGATCCTGCCAGTAGTCAT-3' i stražnja početnica CRYPTO R 5'-GAATGATCCTTCCGCAGGTTCACCTAC-3'.

Kao predložak za drugu PCR reakciju upotrijebljen je proizvod prve reakcije upotrebom prednje početnice BAB F 5'-CCCTTCATCGGTGGTAACTT-3' i stražnje početnice BAB R 5'-GTGGCCACCACTCCCGTGCC-3' (Beck i sur., 2009). U prvoj je reakciji korišteno 2 µl izdvojene DNA, a u drugoj reakciji 5 µl PCR proizvoda prve reakcije. Očekivana veličina umnoženog proizvoda iznosi oko 560 parova baza, ovisno o rodu parazita.

Reakcija se sastojala od inicijalne denaturacije u trajanju od pet minuta, nakon čega je uslijedilo 35 ciklusa, kako slijedi:

1. denaturacija pri temperaturi od 94°C tijekom 45 s,
2. prihvaćanje početnica pri temperaturi od 65°C tijekom 60 s,
3. produljenje pri temperaturi od 72°C tijekom 90 s.

Nakon posljednjeg ciklusa, produljenje je provedeno pri temperaturi od 72°C tijekom sedam minuta. Reakcija je automatski zaustavljena pri temperaturi od 4°C.

Za drugu, ugniježđenu reakciju korišteno je 45 µl mješavine i 5 µl PCR proizvoda iz prve reakcije, koji je služio kao predložak za drugu PCR reakciju. Mješavina je

pripremljena na isti način kao i u prvoj reakciji, samo su upotrijebljene početnice BAB F i BAB R (tablica 14.) i manja količina vode (tablica 15.).

Tablica 14. Početnice korištene u prvoj PCR reakciji te ugniježđenoj PCR reakciji.

IME POČETNICE	SMJER VEZANJA POČETNICE	REDOSLIJED NUKLEOTIDA U POČETNICI	MJESTO VEZANJA POČETNICE	VELIČINA ODSJEČKA
CRYPTO F	prednja	AACCTGGTTGATCCTGCCAGTAGTCAT	1-27	1728
CRYPTO R	stražnja	GAATGATCCTTCCGCAGGTTCACCTAC	1728-1701	
BAB F	prednja	CCCTTCATCGGTGGTAACTT	558-577	559
BABR	stražnja	GTGGCCACCACTCCCGTGCC	1068-1087	

Zbog sigurnosti i za kontrolu moguće kontaminacije upotijebljene su dvije negativne i jedna pozitivna kontrola. Prva negativna kontrola bila je 5 µl predloška negativne kontrole iz prve reakcije, a drugu negativnu kontrolu 5 µl vode. Za pozitivnu kontrolu korišteno je 5 µl pozitivne kontrole iz prve reakcije. Reakcija se sastojala od inicijalne denaturacije tijekom dvije minute, nakon čega je uslijedilo 35 ciklusa, kako slijedi:

1. denaturacija pri 94°C tijekom 30 s,
2. prihvaćanje početnica pri temperaturi od 50°C tijekom 45 s,
3. produljenje reakcije pri temperaturi od 72°C tijekom 60°C.

Nakon posljednjeg ciklusa, produljenje je provedeno pri 72°C tijekom sedam minuta, a reakcija je automatski zaustavljena pri temperaturi od 4°C.

Tablica 15. Količine korištenih reagensa proizvođača Promega Corp., Wisconsin, Madison, Sjedinjene Američke Države.

REAGENS	KOLIČINA ZA 1. REAKCIJU (µL)	KOLIČINA ZA 2. REAKCIJU (µL)
Voda slobodna od nukleaza	29,5	26,5
GoTaq® Green Flexi redukcijski pufer	10	10
25 mM magnezijev(II)-klorid	4	4
dNTP Mix (10 pmol)	1	1
Prednje specifične početnice (10 pmol)	1	1
Stražnje specifične početnice (10 pmol)	1	1
GoTaq® Flexi Hot Start DNA Polymerase (5 U/µl)	0,25	0,25
DNA predložak	2	5

PCR metodom iz izdvojenog DNA umnožen je odsječak 18S rRNA gena koji je korišten za određivanje nukleotidnog slijeda. Uspješnost umnožavanja provjerena je kapilarnom elektroforezom QIAExcel (Qiagen, Venlo, Nizozemska). Uspješno umnoženi uzorci pročišćeni su pomoću ExoSAP-IT® (USB® Products Affymetrix Inc., Ohio, Sjedinjene Američke Države), prema uputama proizvođača.

Nukleotidni slijedovi DNA određivani su sa svrhom genskog razlikovanja babezija. Određivivanje nukleotidnog slijeda obavljeno je pomoću ABI PRISM® BigDye™ i GeneAmp® PCR 2400 sustava prekidanja, proizvođača Applied Biosystems (Foster City, Kalifornija, Sjedinjene Američke Države) i setom početnica. Korištene su prednja početnica BAB F 5'-CCCTTCATCGGTGGTAACTT-3' i stražnja početnica BAB R 5'-GTGGCCACCACTCCCGTGCC-3' u koncentraciji od 10 µl/ml. Uzorci su sekvencionirani u tvrtki Macrogen Inc. u oba smjera.

Rezultati određivanja nukleotidnih slijedova obrađeni su pomoću računalnog programa Lasergene® (DNASTAR Inc., Madison, Winsconsin, Sjedinjene Američke Države) s pripadajućim potprogramima SeqMan™ i EditSeq™. Dobiveni nukleotidni slijedovi

poravnani su računalnim potprogramom SeqMan™ i uspoređeni s poznatim slijedovima u banci gena (*Basic Local Aligment Search Tool*, BLAST®).

4.4.4. KOMPLETNA KRVNA SLIKA

Kompletna krvna slik dobivena je uporabom automatskog hematološkog brojača ABX Micros® 60, proizvođača Horiba Diagnostics, Montpellier, Francuska. Korišteni su originalni reagensi proizvođača. Diferencijalna krvna slika dobivena je brojenjem udjela segmentiranih i nesegmentiranih granulocita, eozinofilnih i bazofilnih granulocita, monocita i limfocita na 100 leukocita u preparatima krvnog razmaza. Dijagnoza anemije je postavljena ukoliko je vrijednost hematokrita (HCT) bila manja od 37%. Nadalje, anemični psi su, obzirom na vrijednost hematokrita podijeljeni na blago anemične pse (HCT 30-37%), umjereno anemične pse (HCT 20-29%), jako anemične pse (HCT 13-19%) i izrazito anemične pse (HCT <13%) (Weiss i Twedten, 2004). Trombocitopenija je definirana ukupnim brojem trombocita manjim od $200x10^9$/l, a psi su prema stupnju trombocitopenije podijeljeni na blago ($100\text{-}142x10^9$/l), umjereno ($50\text{-}99x10^9$/l), jako ($25\text{-}49x10^9$/l) i izrazito trombocitopenične pse ($<25x10^9$/l) (Furlanello i sur., 2005).

4.4.5. BIOKEMIJSKI POKAZATELJI

Biokemijski pokazatelji određeni su standardnim metodama na biokemijskom analizatoru Olympus AU600, proizvođača Olympus Diagnostica GmbH, Hamburg, Njemačka. Korišteni su originalni reagensi proizvođača. U svakom uzorku seruma određeni su slijedeći pokazatelji: urea, kreatinin, albumini, ukupni proteini, glukoza, ukupni bilirubin, ALT, AST, ALP, CPK, amilaza, lipaza, kolesterol i trigliceridi. Rasponi referentnih vrijednosti za pojedine pokazatelje navedeni su u tablici 16.

Tablica 16. Raspon referentnih vrijednosti istraživanih laboratorijskih pokazatelja Laboratorija Klinike za unutarnje bolesti Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

POKAZATELJ	MJERNA JEDINICA	REFERENTNI RASPON

Eritrociti	$x10^{12}$/l	5,5-8,5
HCT	%	37-55
Leukociti	$x10^{9}$/l	6-17
Nesegmentirani leukociti	%	0-1
Segmentirani leukociti	%	60-77
Limfociti	%	12-33
Monociti	%	3-10
Trombociti	$x10^{9}$/l	200-700
Urea	mmol/l	3,3-8,3
Kreatinin	µmol/l	40-140
Albumini	g/l	26-33
Ukupni proteini	g/l	55-75
Ukupni bilirubin	µmol/l	-8,6
Glukoza	mmol/l	3,6-5,5
AST	U/L	-82
ALT	U/L	-88
ALP	U/L	20-156
CPK	U/L	-160
Amilaza	U/L	-1600
Lipaza	U/L	13-200
Kolesterol	mmol/l	3,5-7,1
Trigliceridi	mmol/L	0,2-1,3

4.4.6. POTVRĐIVANJE DIJAGNOZE AKUTNOG PANKREATITISA

Uzroci seruma pasa sa povišenim vrijednostima pankreasnih enzima dodatno su testirani Canine SNAP® cPL™ testom (IDEXX Laboratories Inc.) kojim se ELISA metodom dokazuje povišena koncentracija pseće pankreasne lipaze u uzrocima seruma. Test je proveden koristeći se originalnim reagensima i prema uputama proizvođača. Zamrznuti uzorci seruma su prije provođenja pretrage odmrznuti i recentrifugirani.

4.5. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA

Statistička obrada obavljena je programom Stata® 10 (Stat Corp., SAD). Povezanost pojave serpozitivnosti prema anaplazmama s individualnim čimbenicima (spol, pasmina) te s pojavom komplikacija babezioze provjerena je hi-kvadrat i Fisherovim egzaktnim testom. Utjecaj individualnih čimbenika na pojavu komplikacija utvrđen je logističkom regresijom. Vrijednosti individualnih čimbenika, krvne slike i biokemijskih pokazatelja u životinja uspoređene su međusobno između seropozitivnih životinja i seronegativnih životinja. Za usporedbu su korišteni t test i neparametrijski Mann Whitneyev U test, ovisno o razdiobi vrijednosti pojedine varijable. Razliku između uočenih učestalosti po pasminama pasa i skupinama pasmina pasa (velike i male pasmine) testirali smo hi-kvadrat testom. Statistički značajnim smatrane su vrijednosti $p<0,05$.

5. REZULTATI

5.1. OSNOVNI PRIKAZ CJELOVITE SKUPINE ISTRAŽIVANIH PASA

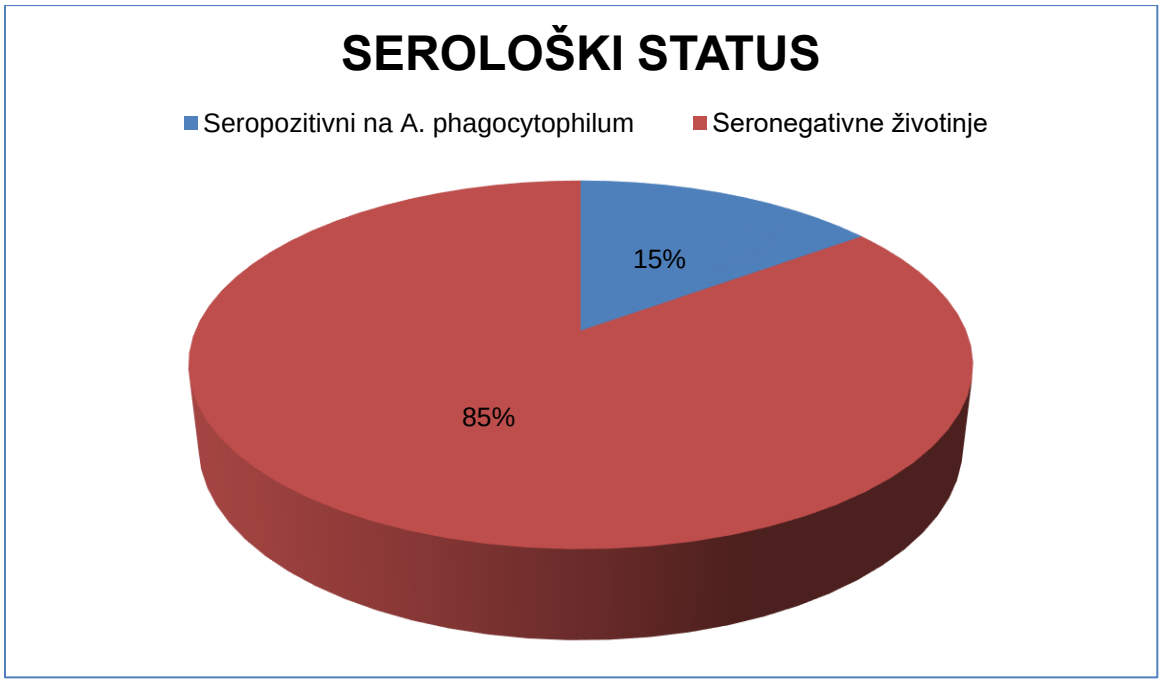
Poštujući kriterije navedene u materijalima i metodama, u istraživanje je bilo uključeno ukupno 127 pasa oboljelih od babezioze.

Svi su istraživani psi zaprimljeni na Kliniku za unutarnje bolesti Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu u razdoblju od 01. 01. 2009. do 31. 12. 2012. godine s različitim kliničkim znakovima (slika 3.). Svim istraživanim psima u razmazu periferne krvi pronađena je protozoa *B. canis*. Nadalje, u svim je pretraženim uzorcima krvi pasa dokazan je specifičan odsječak veličine 560 parova baza. Usporedbom dobivenih sekvenci sa dostupnim sekvencijama u bazi gena (GenBank®) u svim umnoženim uzorcima potvrđena je vrsta *B. canis*. U 50% pasa oboljelih od babezioze pronađen je krpelj (prilikom kliničkog pregleda ili od strane vlasnika).

Od 127 pasa uključenih u istraživanje, 19 pasa (15%) bilo je seropozitivno na vrstu *A. phagocytophilum* (slika 1.), dok ih je 108 (85%) bilo seronegativno. Niti jedan pas nije bio seropozitivan na vrste *E. canis*, *B. burgdorferi*, *L. infantum*, te u niti jednog psa nije dokazan antigen vrste *D. immitis*. Kod niti jednog psa seropozitivnog na vrstu *A. phagocytophilum* PCR metodom nije dokazana DNA specifična za rod *Anaplasma*, kao niti za vrstu *A. phagocytophilum*.

Zastupljenost pojedinih pasmina pasa prikazana je u tablici 18.

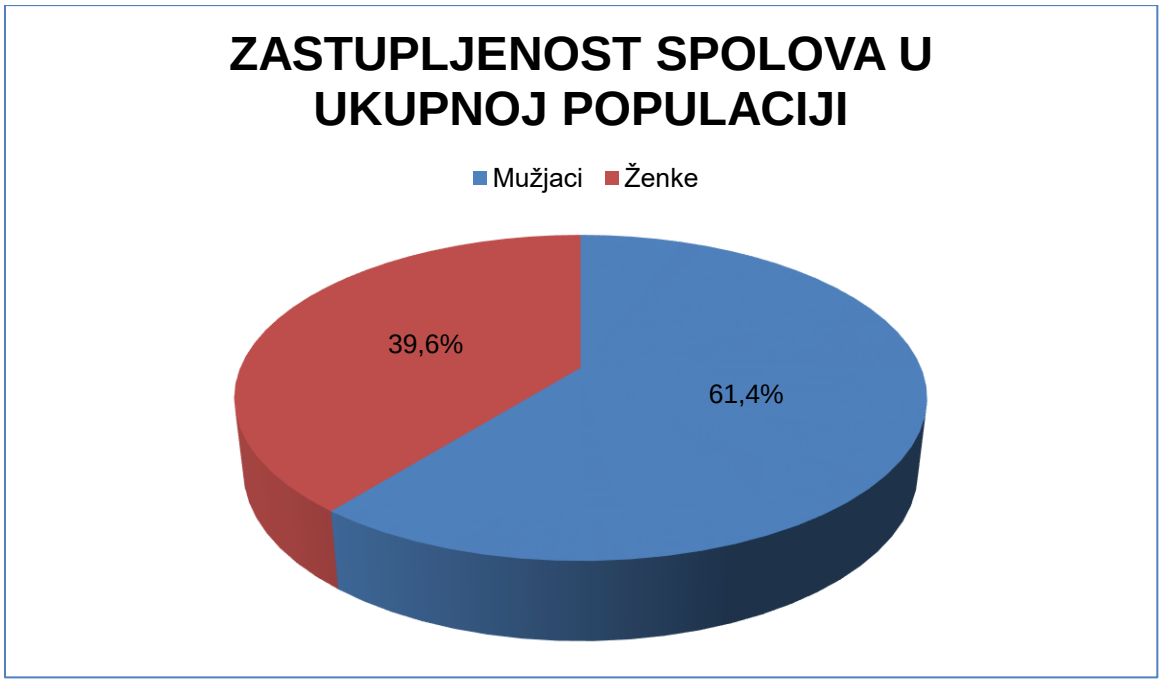
Slika 1. Serološki status istraživane skupine pasa.



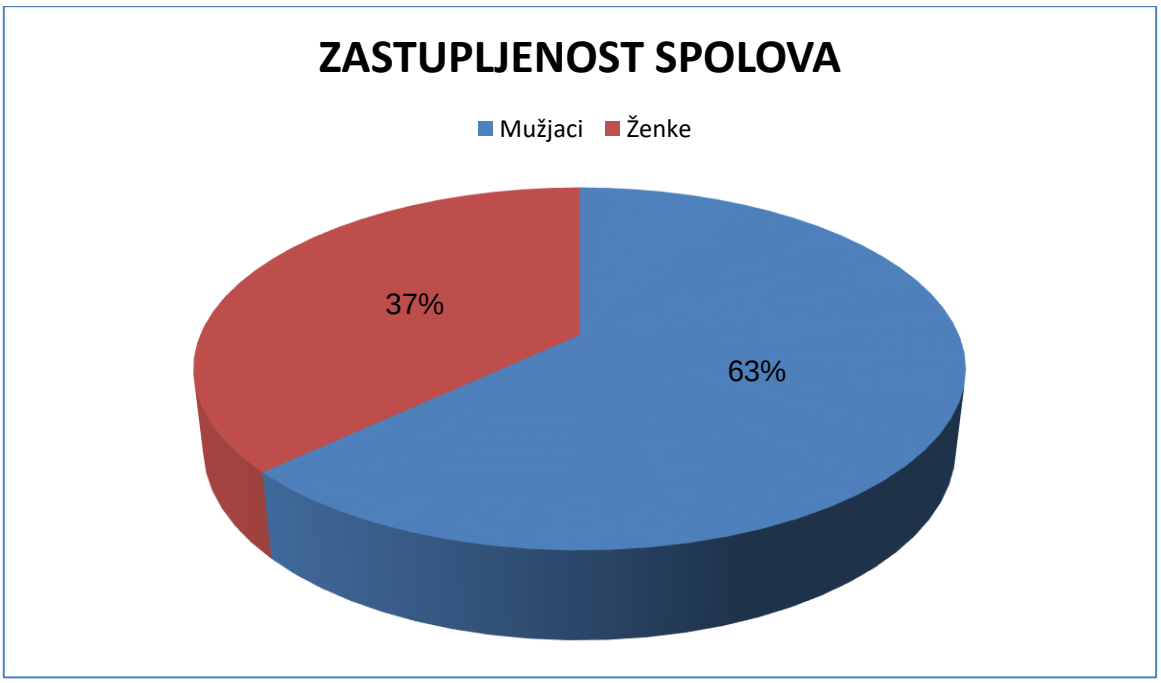
5.2. ZASTUPLJENOST SPOLOVA U SKUPINI ISTRAŽIVANIH PASA

U istraživanoj populaciji pasa dominirali su mužjaci (63%:37%). Rezultati su prikazani na slici 1. U skupini seropozitivnih te seronegativnih pasa također su dominirali mužjaci (slika 2. i slika 3.)

Slika 2. Zastupljenost spolova u ukupnoj populaciji pasa zaprimljenih na Kliniku za unutarnje bolesti u razdoblju od 01. 01. 2009. do 31. 12. 2012. godine.



Slika 3. Zastupljenost spolova u skupini istraživanih pasa.



Slika 4. Zastupljenost spolova u skupini istraživanih, seronegativnih, pasa.



Slika 5. Zastupljenost spolova u skupini istraživanih, seropozitivnih, pasa.



Tablica 17. Odnos između seroloških statusa i spola u istraživanoj skupini pasa temeljem hi-kvadrat testa (statistički značajnim se smatra p<0,05). N = serološki negativni psi; P = serološki pozitivni psi.

		SEROLOŠKI STATUS		**HI-KVADRAT TEST**
		N	P	
SPOL	Mužjaci	62,9%	63,1%	p=0,99
	Ženke	36,1%	36,9%	

Tablica 18. Zastupljenost pasmina u skupini istraživanih pasa.

PASMINA	BROJA PACIJENATA	POSTOTAK (%)	POSTOTAK (%) U UKUPNOJ POPULACIJI PASA PRIMLJENIH U RAZDOBLJU OD 2009. DO 2012.
Križani psi	47	36,5	26
Njemački ovčar	18	14,2	4,6
Zlatni retriver	8	6,3	3,7
Labrador retriver	7	5,5	5,8
Rotvajler	6	4,7	2,2
Sibirski haski	3	2,4	0,8
Škotski ovčar dugodlaki	3	2,4	0,5
Aljaški malamut	3	2,4	0,7
Hrvatski ovčar	2	1,6	0,6
Pekinški psić	2	1,6	4,1
Malteški psić	2	1,6	4,9
Mops	2	1,6	1,7
Brijarski ovčarski pas	2	1,6	0,08
Irski crveni seter	2	1,6	0,6
Njemački ptičar	2	1,6	0,6
Brak jazavčar	2	1,6	0,02
Epanjel breton	1	0,8	0,2
Američki stafordski terijer	1	0,8	1,6
Šarplaninac	1	0,8	0,3
Bordoška doga	1	0,8	0,02
Pudl	1	0,8	3,8
Flandrijski govedarski pas	1	0,8	0,08
Samojed	1	0,8	0,7
Američki koker španijel	1	0,8	0,1
Engleski koker španijel	1	0,8	2
Belgijski ovčar	1	0,8	1,3
Gubičar patuljasti	1	0,8	0,7
Gubičar srednji	1	0,8	0,2
Rodezijski gonič	1	0,8	0,4
Njemački lovni terijer	1	0,8	0,3
Doberman	1	0,8	0,8
Dalmatinski pas	1	0,8	0,6

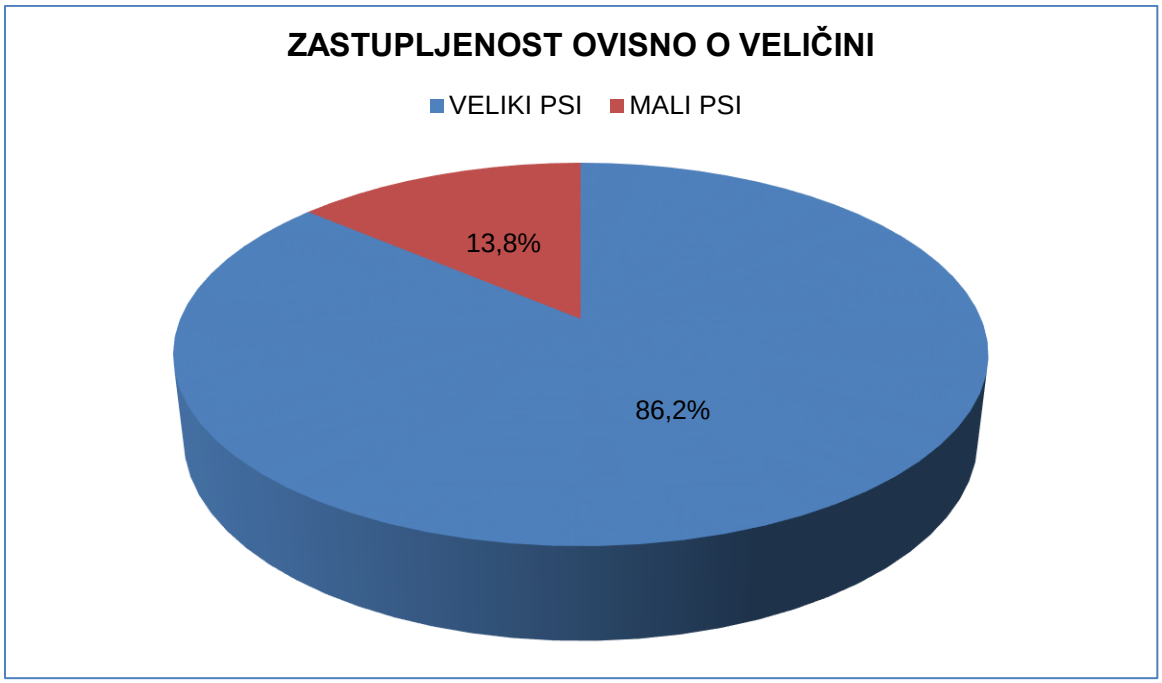
Tablica 19. Zastupljenost pasmina u ukupnoj populaciji pasa (deset najzastupljenijih pasmina).

PASMINA	POSTOTAK (%)
Labrador retriver	5,8
Malteški psić	4,9
Njemački ovčar	4,6
Pekinški psić	4,1
Pudl	3,8
Zlatni retriver	3,7
Zapadnoškotski bijeli terijer	2,6
Rotvajler	2,2
Mops	1,7
Američki stafordski terijer	1,6
Križani psi	26

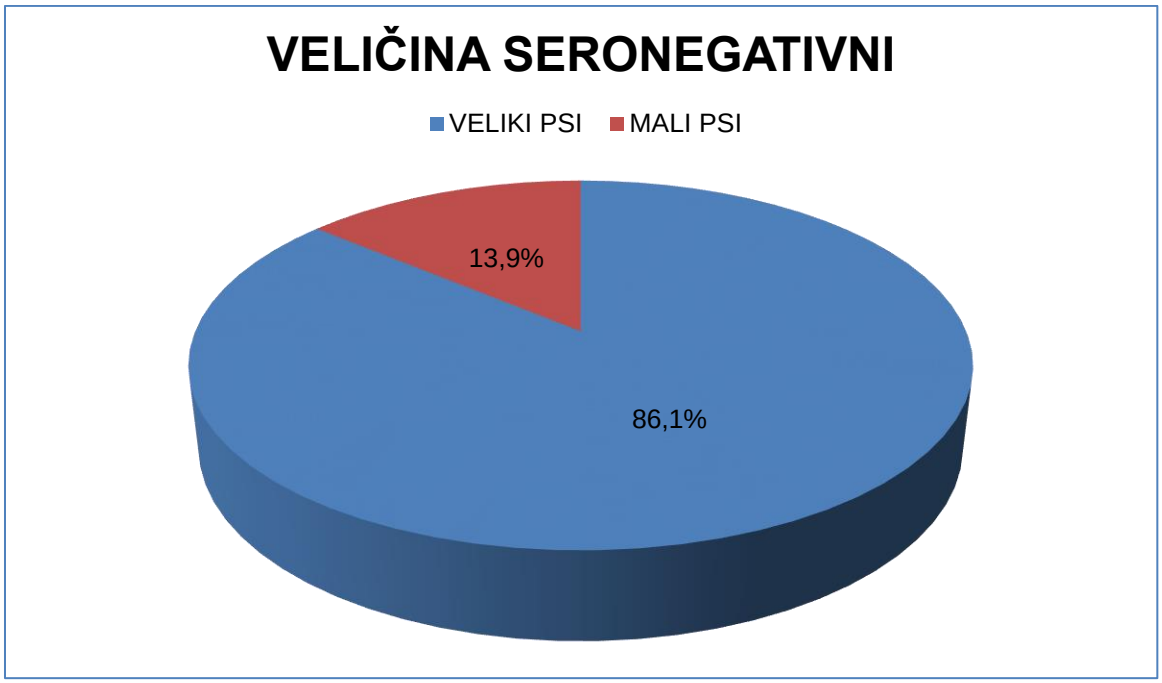
Tablica 20. Zastupljenost pasmina u populaciji seropozitivnih pasa.

PASMINA	POSTOTAK (%)
Njemački ovčar	26,3
Američki stafordski terijer	5,3
Hrvatski ovčar	5,3
Pekinški psić	5,3
Šarplaninac	5,3
Zlatni retriver	5,3
Labrador retriver	5,3
Rodezijski gonič	5,3
Njemački ptičar bodljikave dlake	5,3
Njemački lovni terijer	5,3
Aljaški malamut	5,3
Križani psi	21

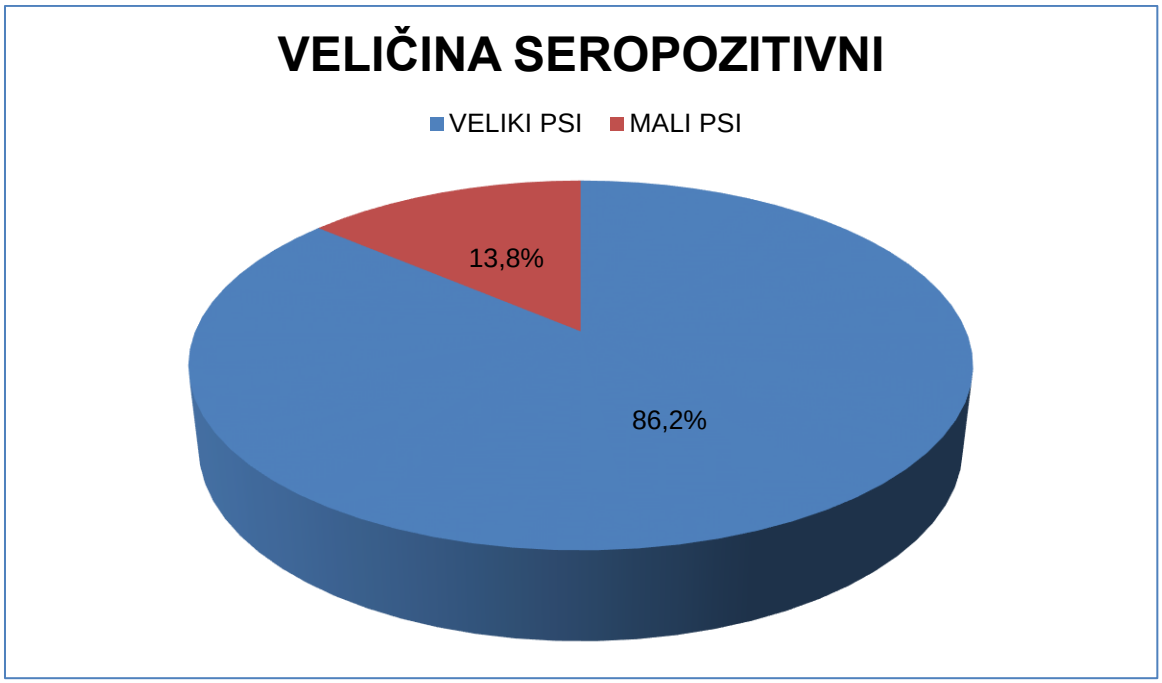
Slika 6. Zastupljenost pasa obzirom na veličinu.



Slika 7. Zastupljenost pasa obzirom na veličinu u skupini seronegativnih pasa



Slika 8. Zastupljenost pasa obzirom na veličinu skupini seropozitivnih pasa.

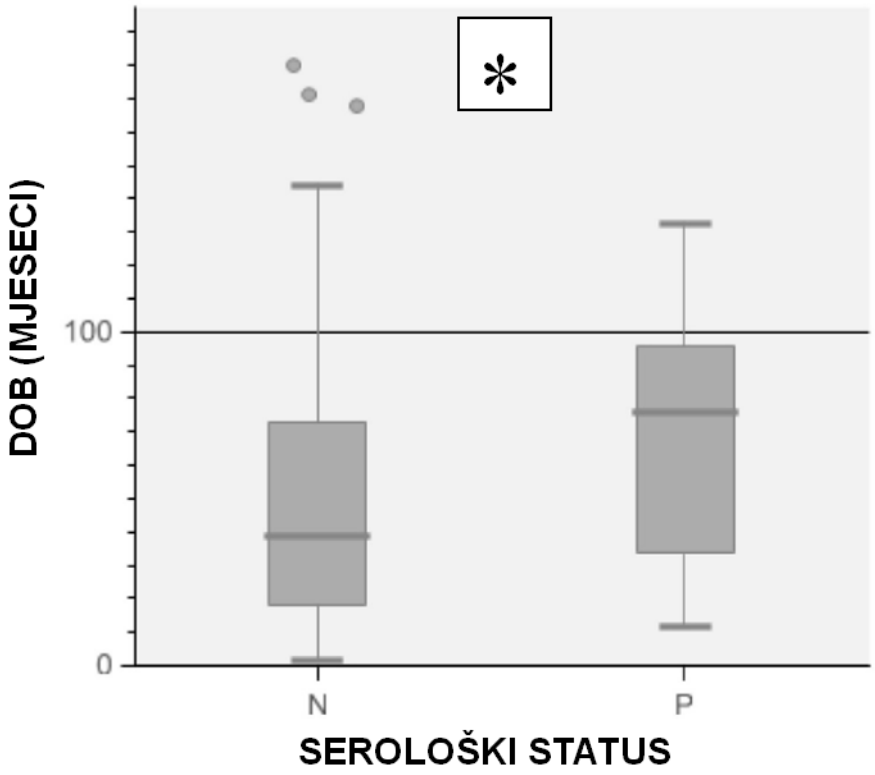


U populaciji pasa oboljelih od babezioze prisutna je pretjerana zastupljenost velikih pasmina i premala zastupljenost malih pasmina pasa u odnosu na njihove udjele u cjelokupnoj istraživanoj populaciji ($p<0,05$). Nema statistički značajne razlike u zastupljenosti pasmina obzirom na veličinu u odnosu na serološki status ($p>0,05$).

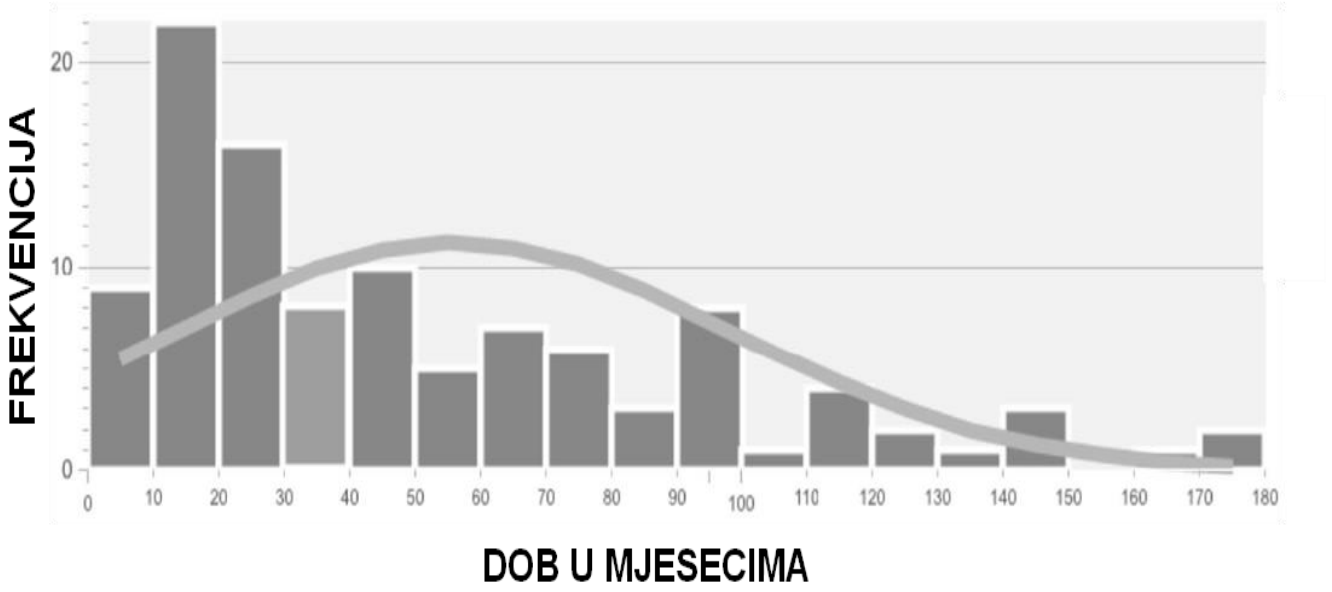
5.3. DOBNA STRUKTURA SKUPINE ISTRAŽIVANIH PASA

U skupini istraživanih pasa najzastupljenija je bila kategorija pasa starosti od jedne do pet godina (50.4%). Druga po zastupljenosti bila je kategorija starosti od pet do deset godina (30,7%), zatim kategorija starosti do jedne godine starosti (10,2%) i kategorija starosti više od deset godina (8,7%). U skupini seronegativnih pasa najzastupljenija je bila kategorija pasa starosti od jedne do pet godina (50,4%), dok je u skupini seropozitivnih pasa bila najzastupljenija kategorija pasa starosti od pet do deset godina (47,7%).

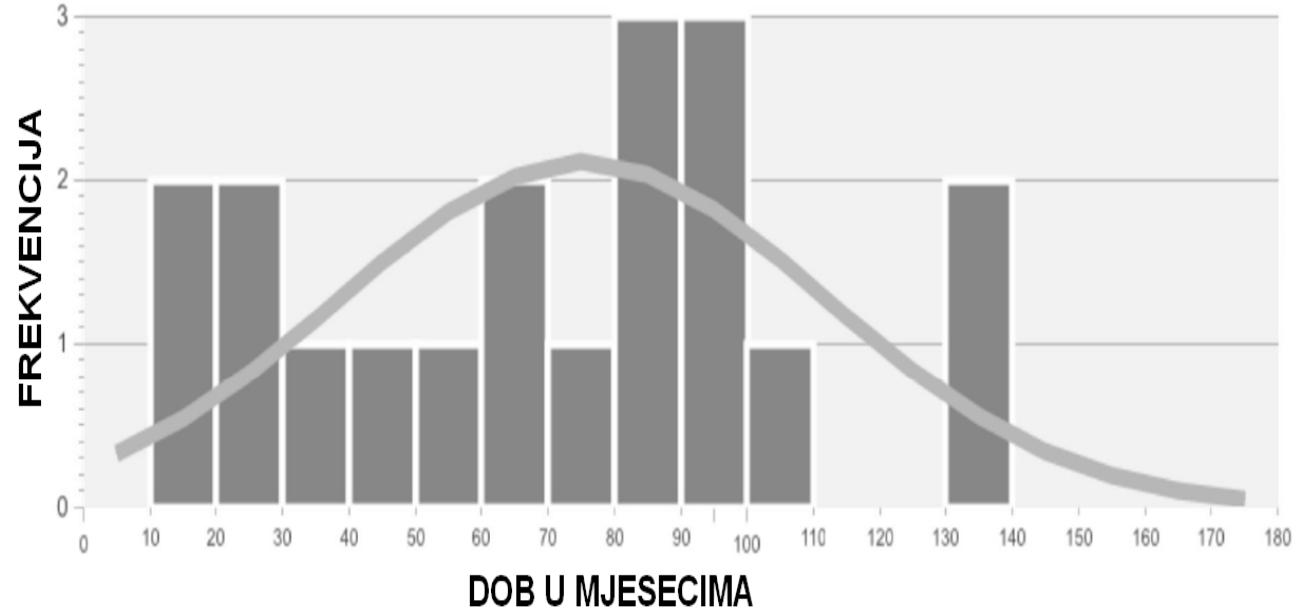
Slika 9. Dob obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. * označava statistički značajnu razliku ($p<0.05$) između serološki pozitivnih i serološki negativnih pasa temeljem Mann-Whitney U testa. Kutijasti dijagram prikazuje: pravokutnik – 25% i 75% kvartil; crta po pravokutniku – medijan; horizontalne linije – minimalna i maksimalna vrijednost; točke – vrijednosti koje odstupaju od ostalih. N = serološki negativni psi; P = serološki pozitivni psi.



Slika 10. Histogram frekvencije dobi u serološki negativnih pasa oboljelih od babezioze (dob je izražena u mjesecima).



Slika 11. Histogram frekvencije dobi u serološki pozitivnih pasa oboljelih od babezioze (dob je izražena u mjesecima).

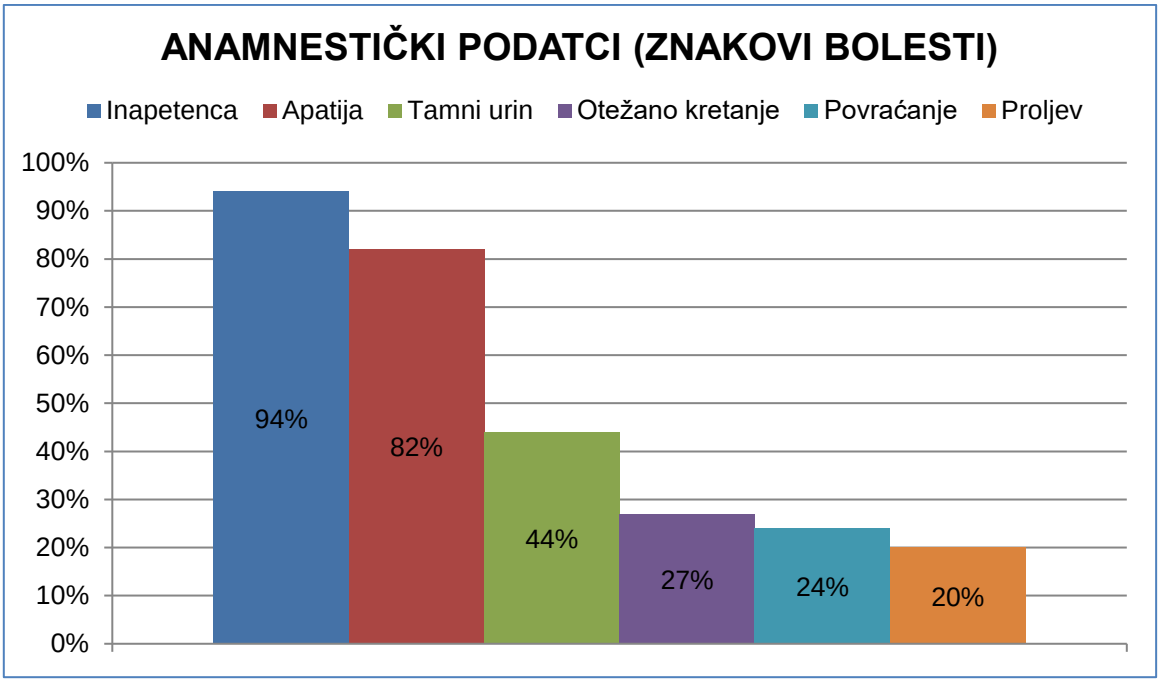


5.4. ANAMNESTIČKI PODATCI, KLINIČKI ZNAKOVI, LABORATORIJSKI POKAZATELJI I OBLIK BABEZIOZE

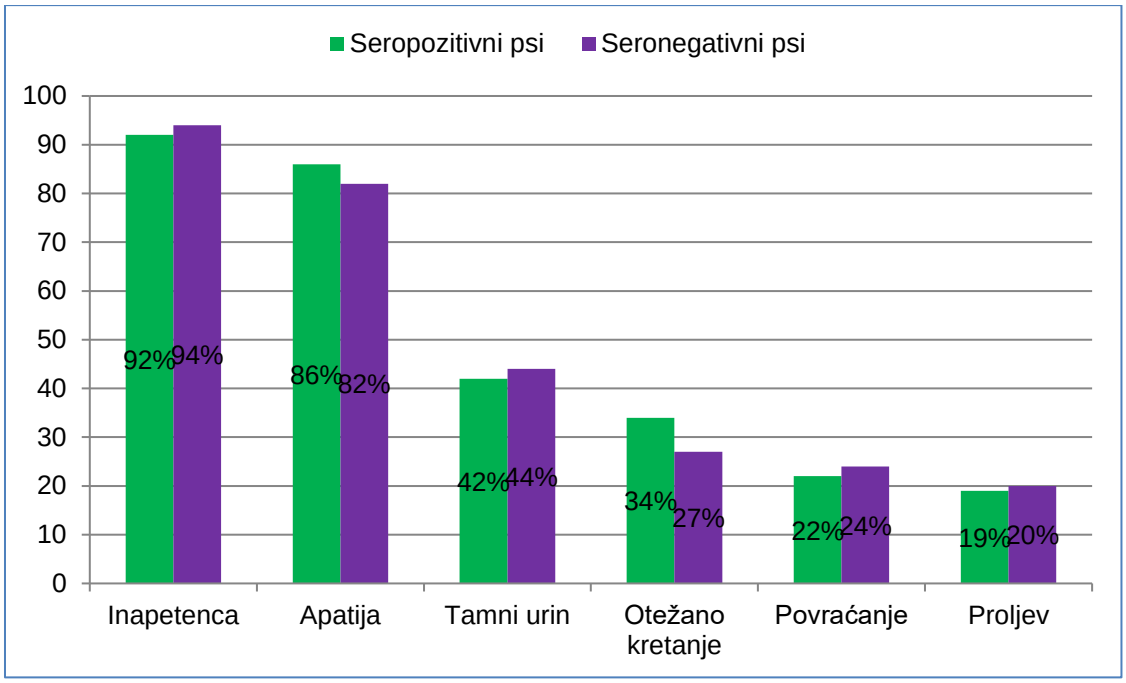
Najčešće su anamnestičke pritužbe vlasnika u pasa oboljelih od babezioze bile odbijanje hrane (inapetencija) i apatija (nujnost). Navednim su pritužbama slijedile: tamna boja mokraće, otežano kretanje, povraćanje i proljev (slika 12.). Promjene u trijasu (tjelesna temperatura, frekvencija disanja i bilâ) prikazane su na slikama 14. do 19. Podjela skupine istraživanih pasa obzirom na oblik prikazana je na slikama 20 do 22.

5.4.1. ANAMNESTIČKI PODATCI, KLINIČKI ZNAKOVI I OBLIK BABEZIOZE

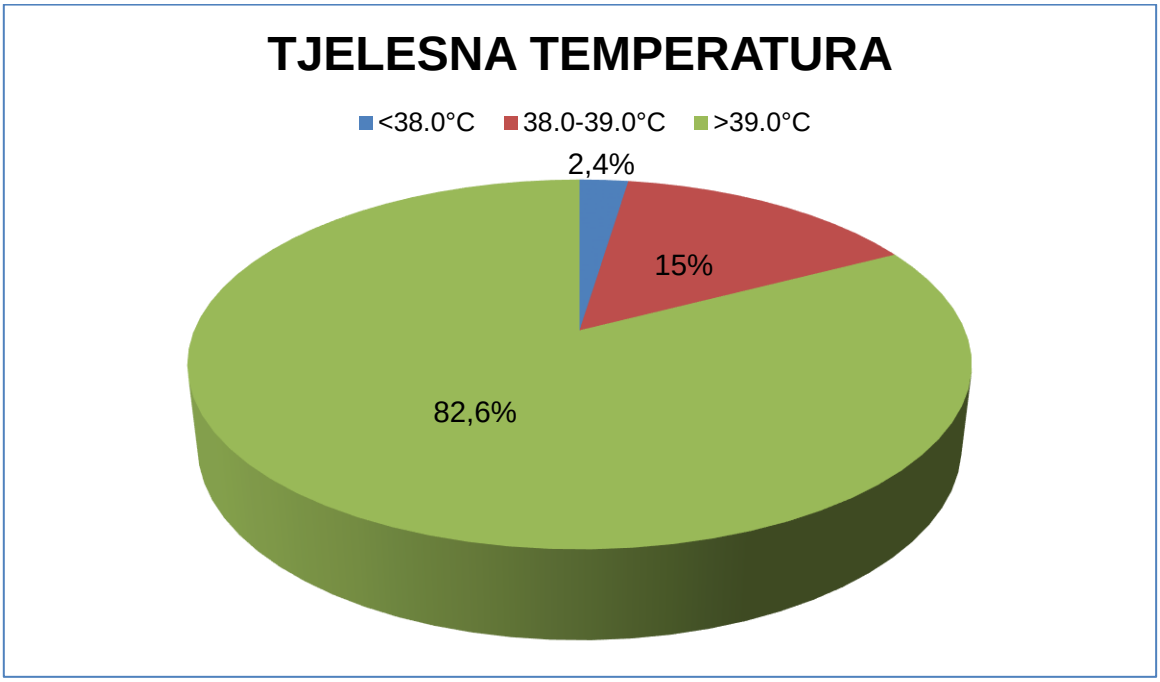
Slika 12. Učestalost anamnestičkih pritužbi (znakova bolesti) u skupine istraživanih pasa.



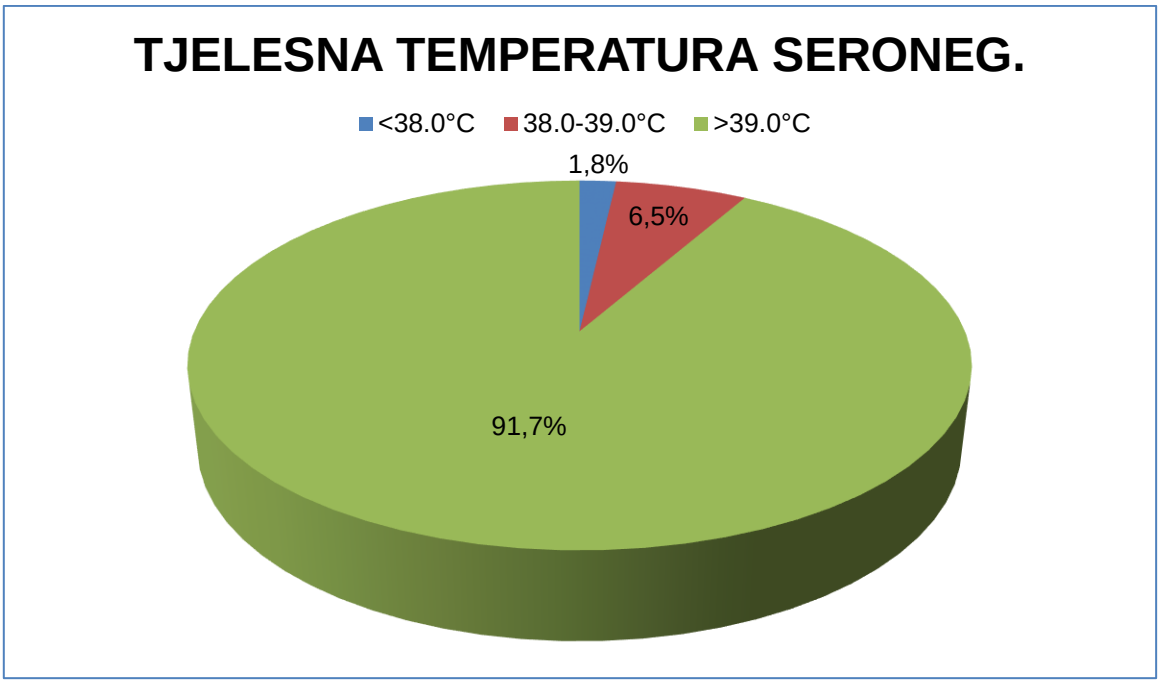
Slika 13. Učestalost anamnestičkih pritužbi (znakova bolesti) ovisno o serološkom statusu istraživanih pasa.



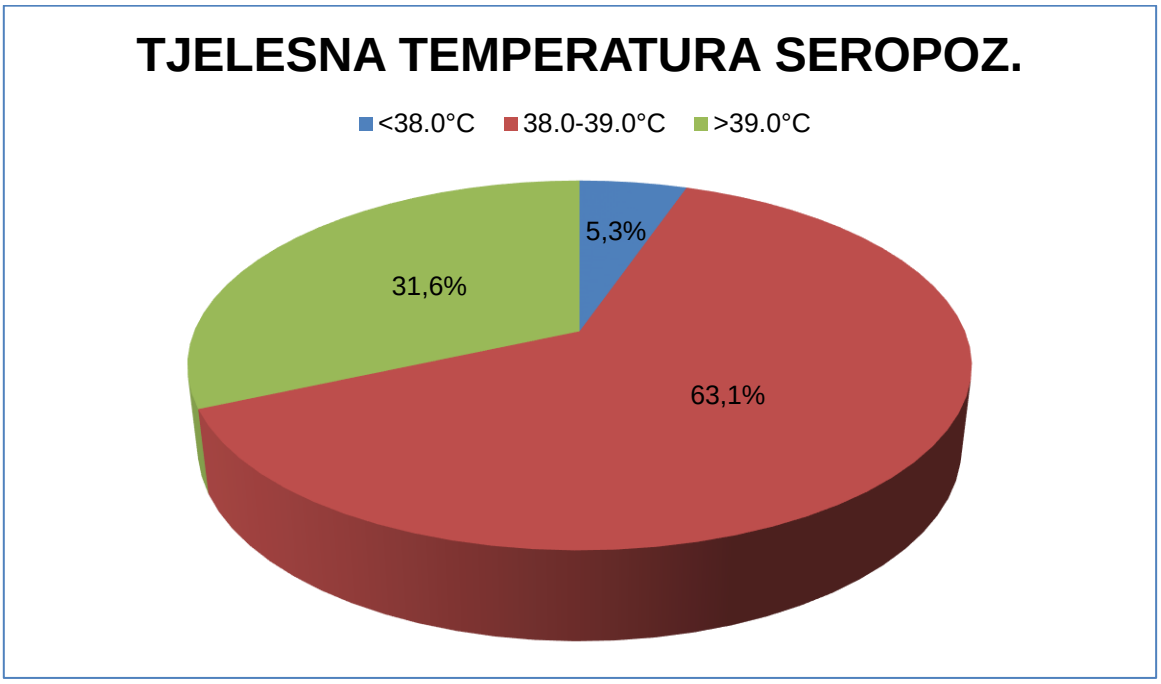
Slika 14. Vrijednosti tjelesne temperature u skupini istraživanih pasa.



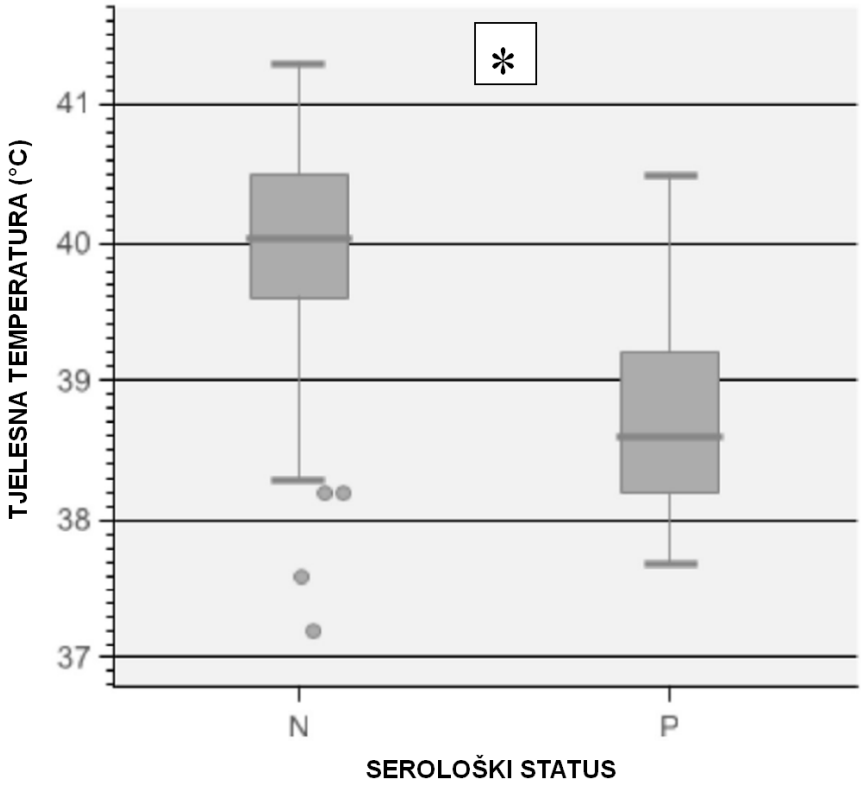
Slika 15. Vrijednosti tjelesne temperature u skupini istraživanih, seronegativnih, pasa.



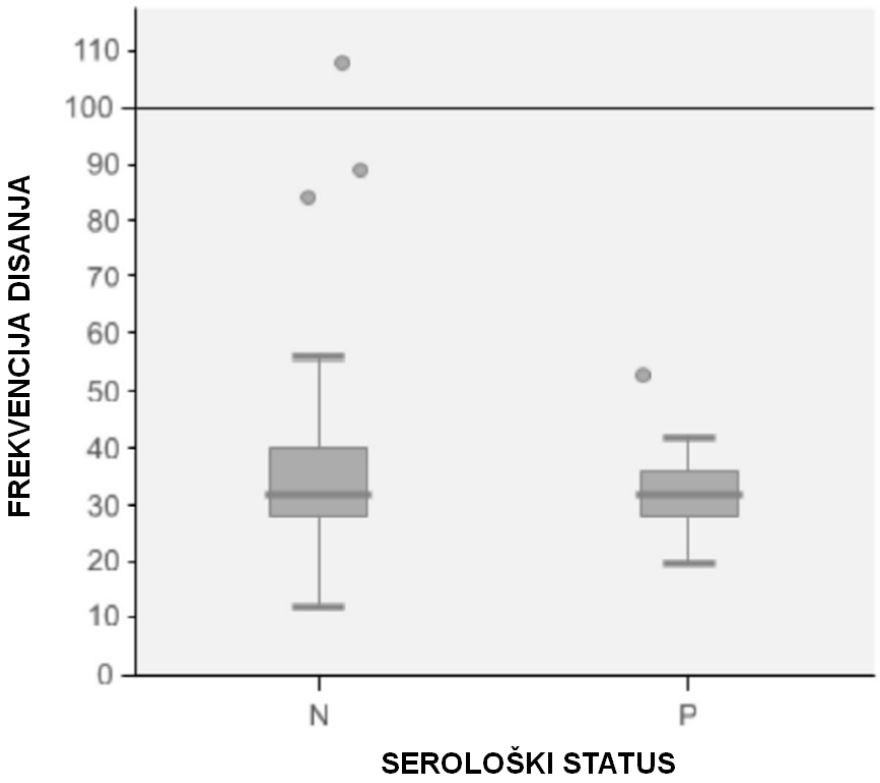
Slika 16. Vrijednosti tjelesne temperature u skupini istraživanih, seropozitivnih, pasa.



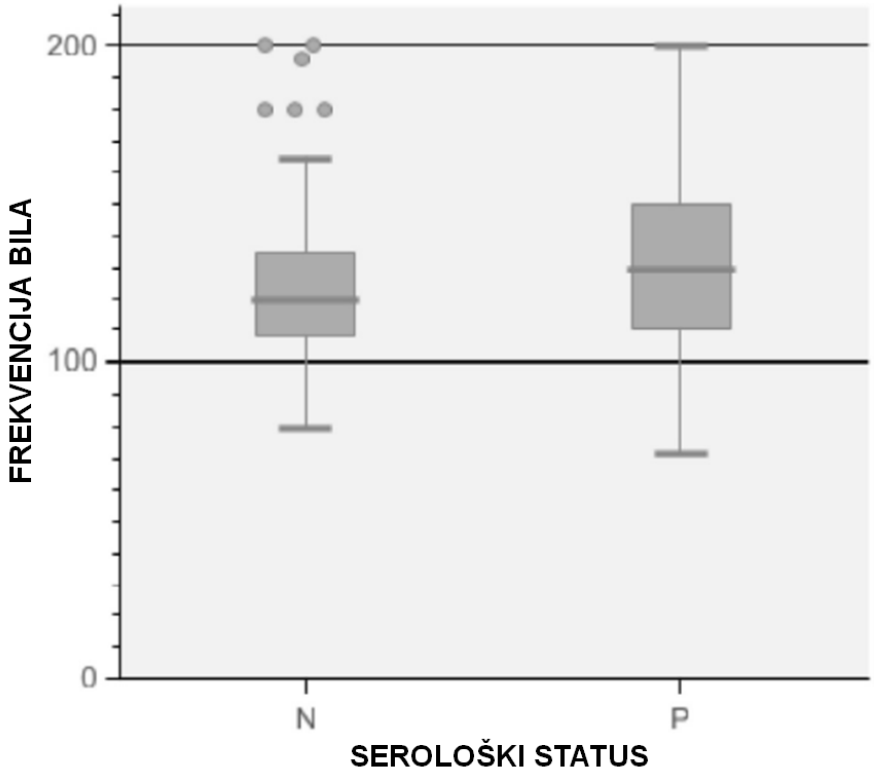
Slika 17. Tjelesna temperatura obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. * označava statistički značajnu razliku ($p<0.05$) između serološki pozitivnih i serološki negativnih pasa temeljem Mann-Whitney U testa. Kutijasti dijagram prikazuje: pravokutnik – 25% i 75% kvartil; crta po pravokutniku – medijan; horizontalne linije – minimalna i maksimalna vrijednost; točke – vrijednosti koje odstupaju od ostalih. N = serološki negativni psi; P = serološki pozitivni psi.



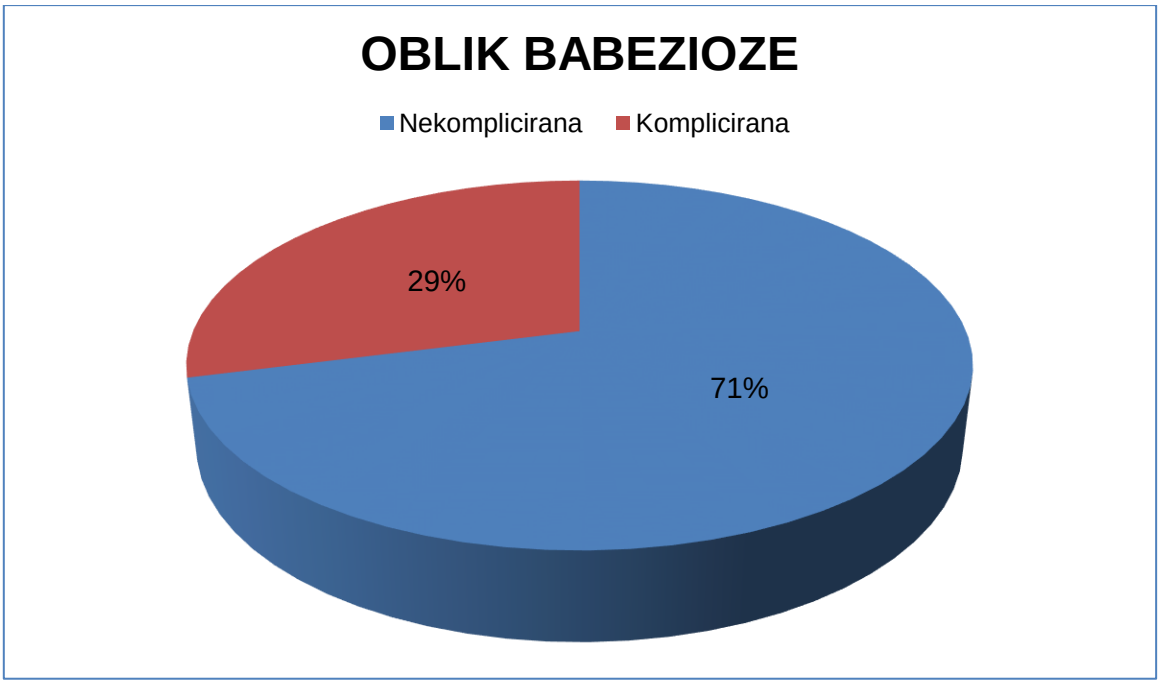
Slika 18. Frekvencija disanja obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. * označava statistički značajnu razliku ($p<0.05$) između serološki pozitivnih i serološki negativnih pasa temeljem Mann-Whitney U testa. Kutijasti dijagram prikazuje: pravokutnik – 25% i 75% kvartil; crta po pravokutniku – medijan; horizontalne linije – minimalna i maksimalna vrijednost; točke – vrijednosti koje odstupaju od ostalih. N = serološki negativni psi; P = serološki pozitivni psi.



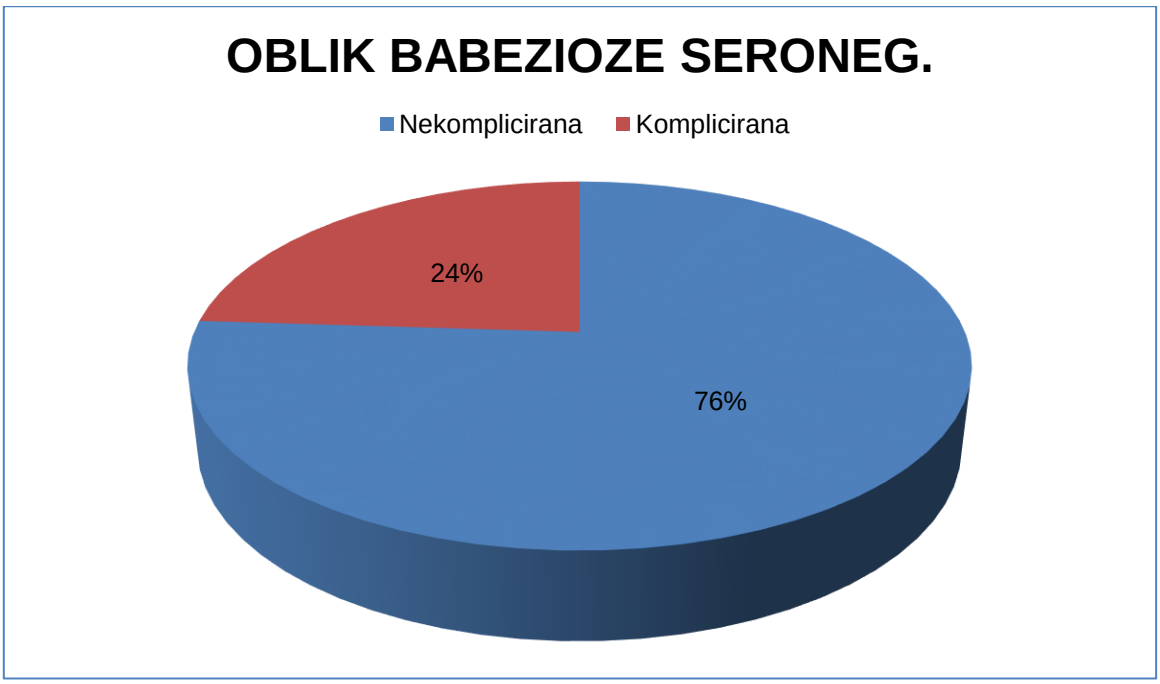
Slika 19. Frekvencija bila obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. * označava statistički značajnu razliku ($p<0.05$) između serološki pozitivnih i serološki negativnih pasa temeljem Mann-Whitney U testa. Kutijasti dijagram prikazuje: pravokutnik – 25% i 75% kvartil; crta po pravokutniku – medijan; horizontalne linije – minimalna i maksimalna vrijednost; točke – vrijednosti koje odstupaju od ostalih. N = serološki negativni psi; P = serološki pozitivni psi.



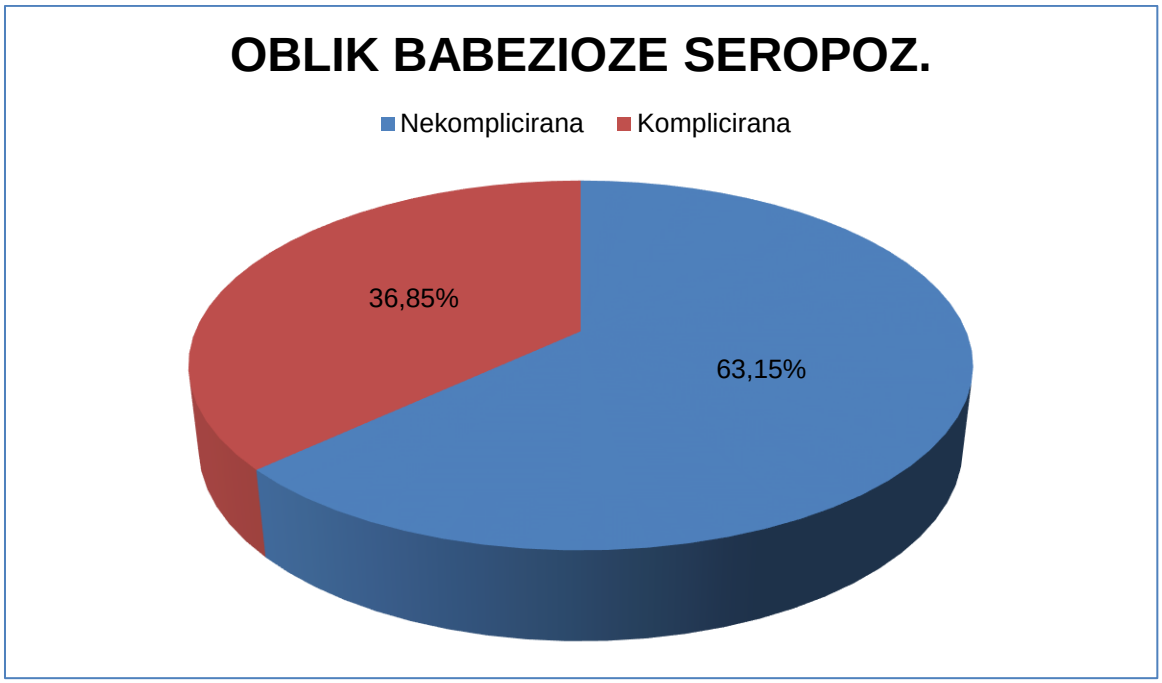
Slika 20. Podjela skupine istraživanih pasa obzirom na oblik babezioze.



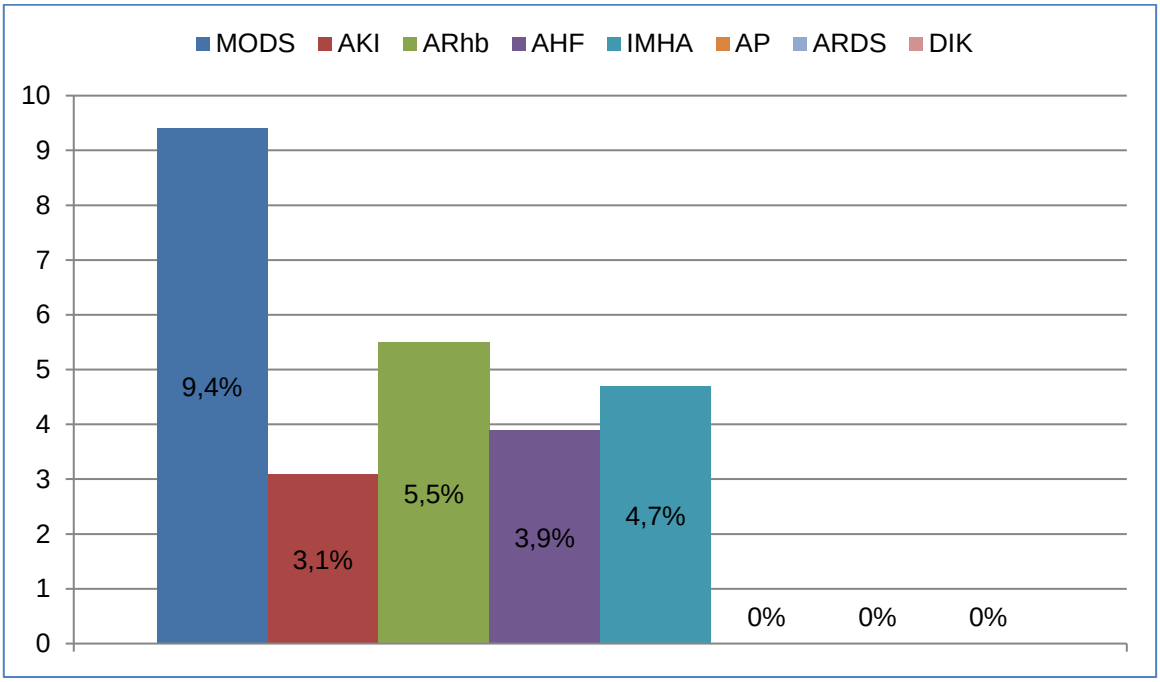
Slika 21. Oblik babezioze u serološki negativnih pasa.



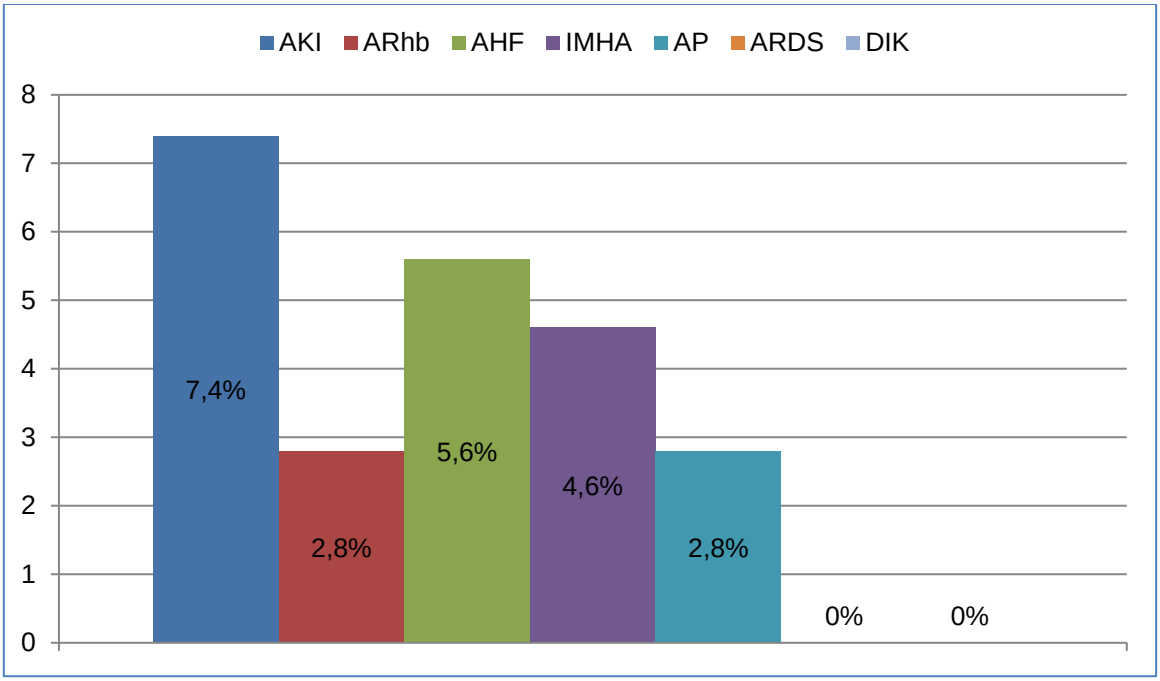
Slika 22. Oblik babezioze u serološki pozitivnih pasa.



Slika 23. Udio komplikacija u istraživanoj skupini pasa oboljelih od babezioze (MODS=sindrom višestrukog zatajivanja organa; AKI=akutna ozljeda bubrega; ARhb=akutna rabdomioliza; AHF=akutno zatajivanje jetre; IMHA=imunosno-posredovana hemolitička anemija; AP=akutni pankreatitis; ARDS=akutni respiratorni distresni sindrom; DIK=diseminirana intravaskularna koagulacija).

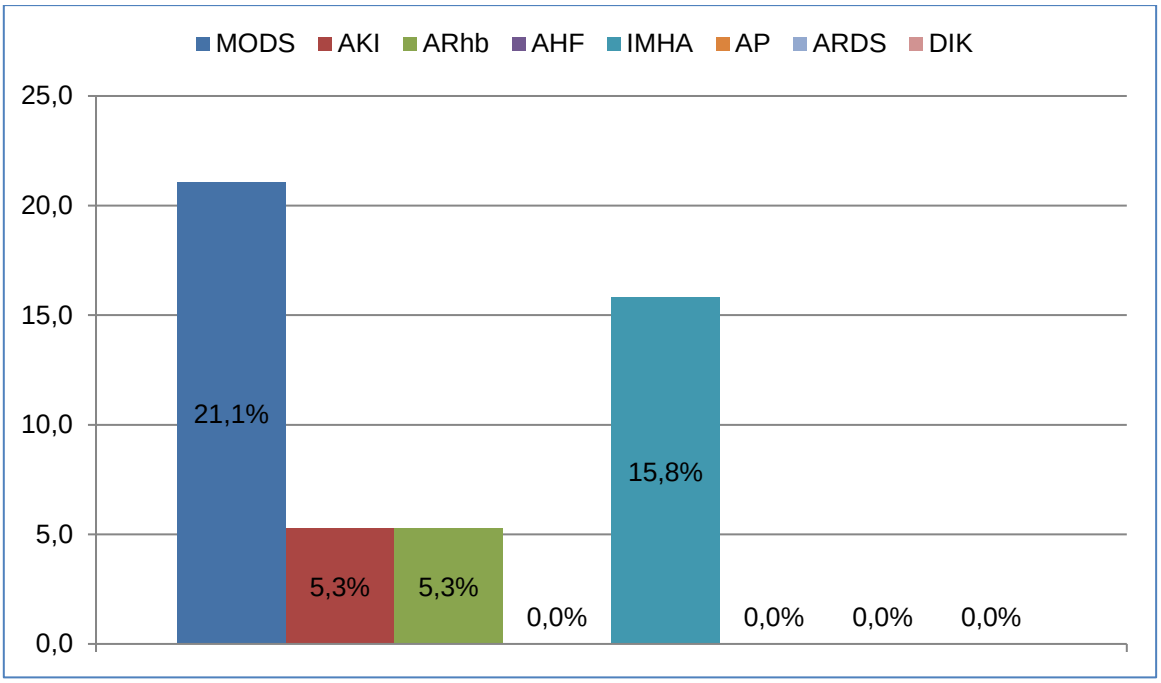


Slika 24. Udio komplikacija u istraživanoj skupini pasa oboljelih od babezioze koji su seronegativni (MODS=sindrom višestrukog zatajivanja organa; AKI=akutna ozljeda bubrega; ARhb=akutna rabdomioliza; AHF=akutno zatajivanje jetre; IMHA=imunosno-posredovana hemolitička anemija; AP=akutni pankreatitis; ARDS=akutni respiratorni distresni sindrom; DIK=diseminirana intravaskularna koagulacija).



Slika 25. Udio komplikacija u istraživanoj skupini pasa oboljelih od babezioze koji su seropozitivni (AKI=akutna ozljeda bubrega; ARhb=akutna rabdomioliza; AHF=akutno zatajivanje jetre; IMHA=imunosno-posredovana hemolitička anemija; AP=akutni

pankreatitis; ARDS=akutni respiratorni distresni sindrom; DIK=diseminirana intravaskularna koagulacija).



Tablica 21. Odnos između serološkog statusa i oblika babezioze u istraživanoj skupini pasa temeljem hi-kvadrat testa (statistički značajnim se smatra p<0,05). N = serološki negativni psi; P = serološki pozitivni psi.

	SEROLOŠKI STATUS		**HI-KVADRAT TEST**
	N	P	
Nekomplicirana	76,9%	27,9%	**p<0,05**
Komplicirana	23,1%	63,1%	

Tablica 22. Odnos između serološkog statusa i pojavnosti komplikacija u istraživanoj skupini pasa temeljem hi-kvadrat testa (statistički značajnim se smatra p<0,05). (AKI=akutna ozljeda bubrega; ARhb=akutna rabdomioliza; AHF=akutno zatajivanje

jetre; IMHA=imunosno-posredovana hemolitička anemija; AP=akutni pankreatitis; ARDS=akutni respiratorni distresni sindrom; DIK=diseminirana intravaskularna koagulacija) N = serološki negativni psi; P = serološki pozitivni psi.

		SEROLOŠKI STATUS		HI-KVADRAT TEST
		N	P	
AKI	Da	9,2%	21%	**p<0,05**
	Ne	90,8%	79%	
ARhb	Da	9,2%	35,7%	**p<0,05**
	Ne	90,8%	64,3%	
AHF	Da	6,5%	15,8%	p=0,16
	Ne	93,5%	84,2%	
IMHA	Da	4,6%	21%	**p<0,05**
	Ne	95,4%	79%	
ARDS	Da	0,9%	0%	p=0,67
	Ne	99,1%	100%	
DIK	Da	0%	5,3%	**p<0,05**
	Ne	100%	94,7%	
AP	Da	3,7%	0%	p=0,39
	Ne	96,3%	100%	

Tablica 23. Odnos između serološkog statusa i pojavnosti MODS-a u istraživanoj skupini pasa temeljem hi-kvadrat testa (statistički značajnim se smatra p<0,05). N = serološki negativni psi; P = serološki pozitivni psi.

	SEROLOŠKI STATUS	HI-KVADRAT TEST

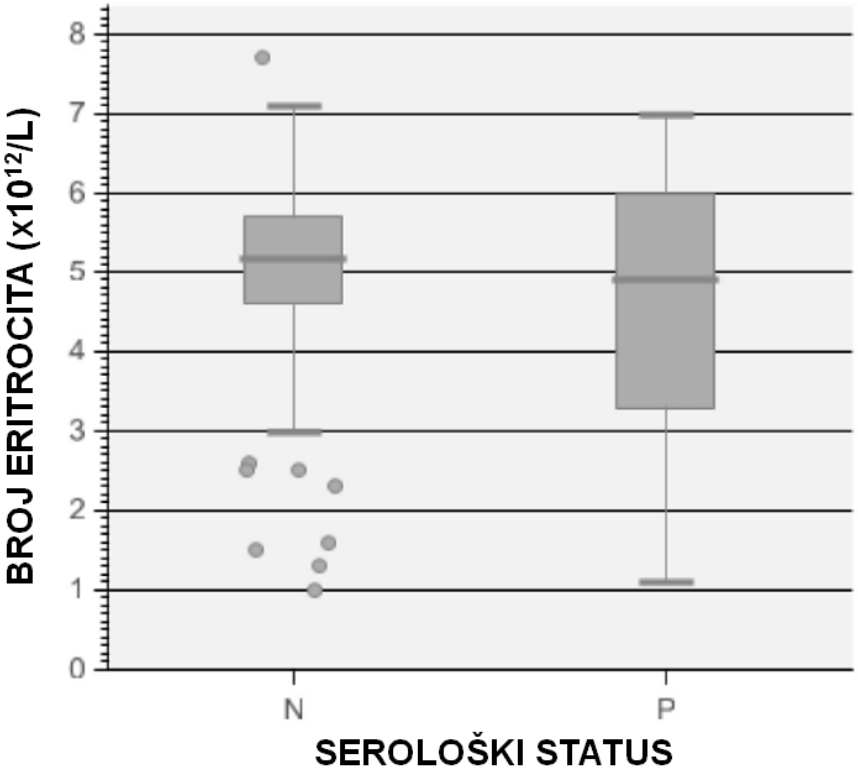
	N	P	
MODS pozitivni	7,4%	21%	**p<0,05**
MODS negativni	92,6%	79%	

Tablica 24. Utjecaj individualnih čimbenika na pojavu komplikacija utvrđen logističkom regresijom (statistički značajnim se smatra p<0,05). SE = standardna pogreška; 95% CI = 95% interval pouzdanosti.

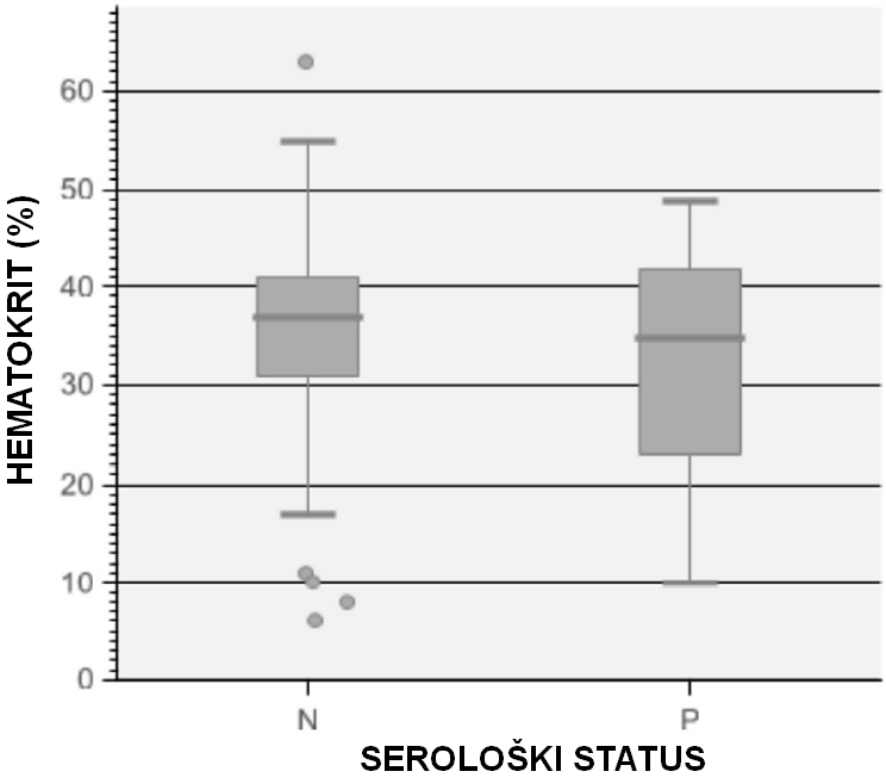
Čimbenik	**Odnos vjerojatnosti**	**SE**	**p**	**95% CI**
Spol	1.32	0.578	0.529	0.56 - 3.11
Dob	1.01	0.00	**<0,05**	1.00 - 1.02
Pasmina	0.75	0.34	0.530	0.31 - 1.83
Seropozitivnost	4.81	2.62	**<0,05**	1.66 - 13.97

5.4.2. ISTRAŽIVANI POKAZATELJI OBZIROM NA SEROLOŠKI STATUS PASA

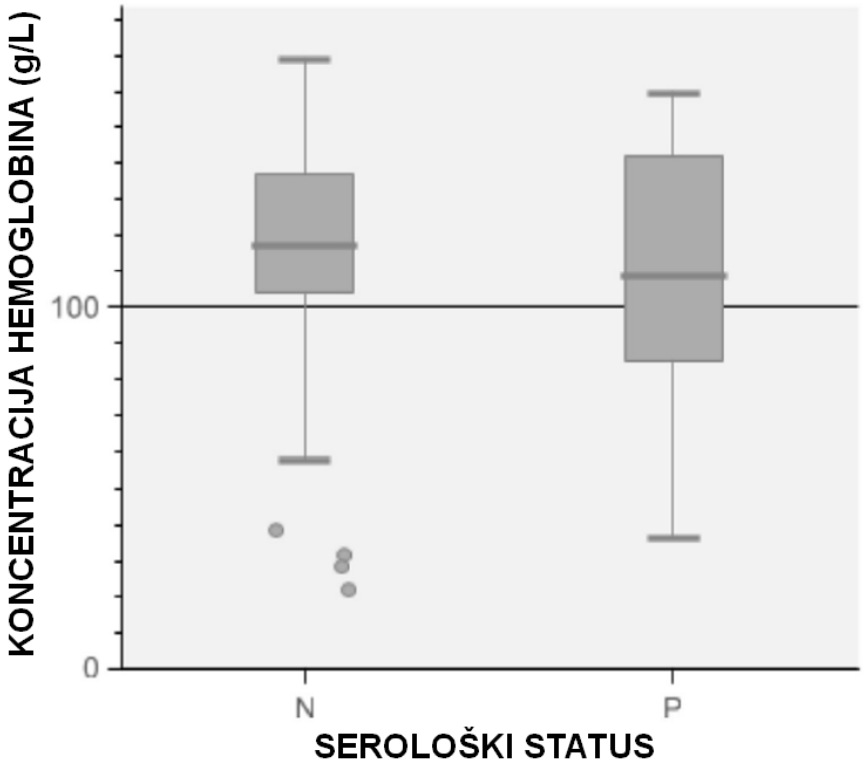
Slika 26. Broj eritrocita obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. * označava statistički značajnu razliku ($p<0.05$) između serološki pozitivnih i serološki negativnih pasa temeljem Mann-Whitney U testa. Kutijasti dijagram prikazuje: pravokutnik – 25% i 75% kvartil; crta po pravokutniku – medijan; horizontalne linije – minimalna i maksimalna vrijednost; točke – vrijednosti koje odstupaju od ostalih. N = serološki negativni psi; P = serološki pozitivni psi.



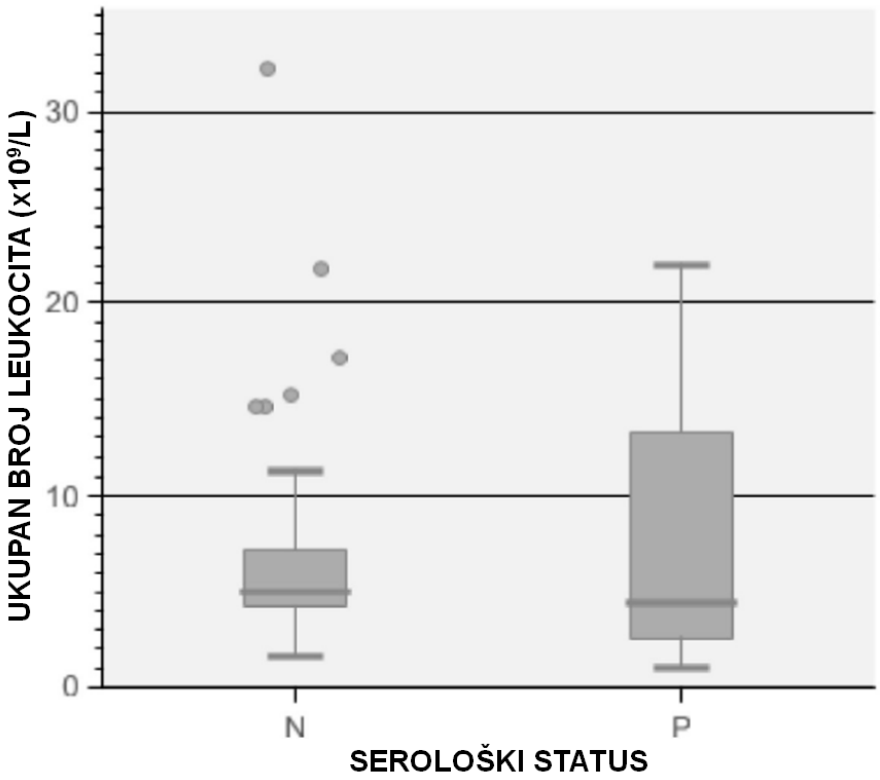
Slika 27. Vrijednost hematokrita obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. * označava statistički značajnu razliku ($p<0.05$) između serološki pozitivnih i serološki negativnih pasa temeljem Mann-Whitney U testa. Kutijasti dijagram prikazuje: pravokutnik – 25% i 75% kvartil; crta po pravokutniku – medijan; horizontalne linije – minimalna i maksimalna vrijednost; točke – vrijednosti koje odstupaju od ostalih. N = serološki negativni psi; P = serološki pozitivni psi.



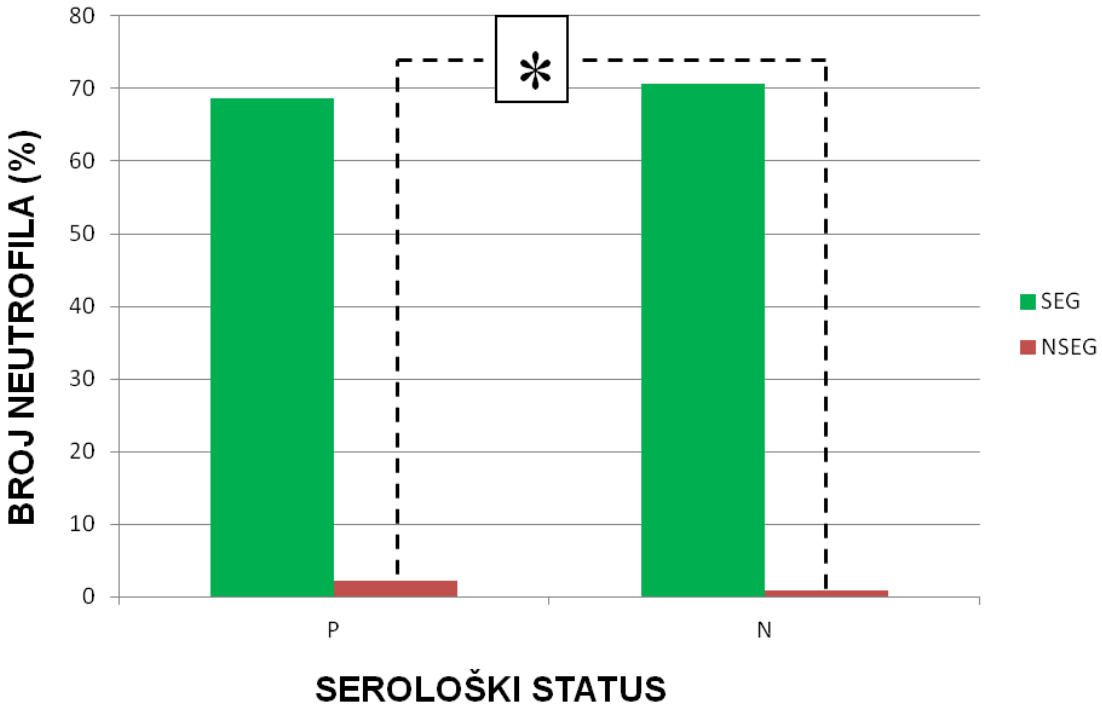
Slika 28.Koncentracija hemoglobina obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. * označava statistički značajnu razliku ($p<0.05$) između serološki pozitivnih i serološki negativnih pasa temeljem Mann-Whitney U testa. Kutijasti dijagram prikazuje: pravokutnik – 25% i 75% kvartil; crta po pravokutniku – medijan; horizontalne linije – minimalna i maksimalna vrijednost; točke – vrijednosti koje odstupaju od ostalih. N = serološki negativni psi; P = serološki pozitivni psi.



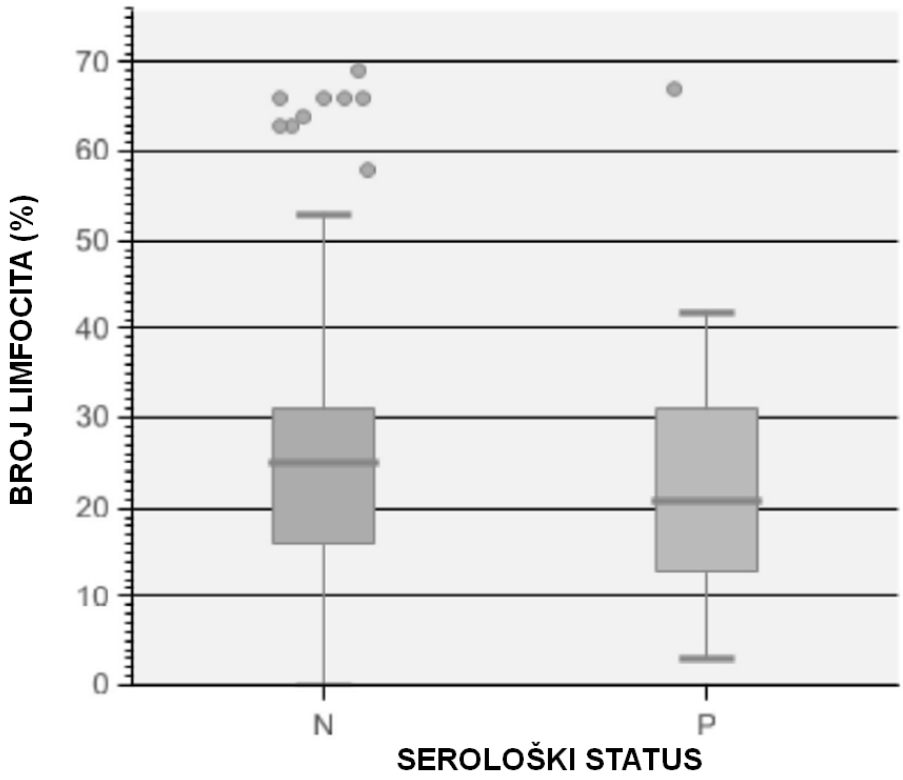
Slika 29. Broj leukocita obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. * označava statistički značajnu razliku ($p<0.05$) između serološki pozitivnih i serološki negativnih pasa temeljem Mann-Whitney U testa. Kutijasti dijagram prikazuje: pravokutnik – 25% i 75% kvartil; crta po pravokutniku – medijan; horizontalne linije – minimalna i maksimalna vrijednost; točke – vrijednosti koje odstupaju od ostalih. N = serološki negativni psi; P = serološki pozitivni psi.



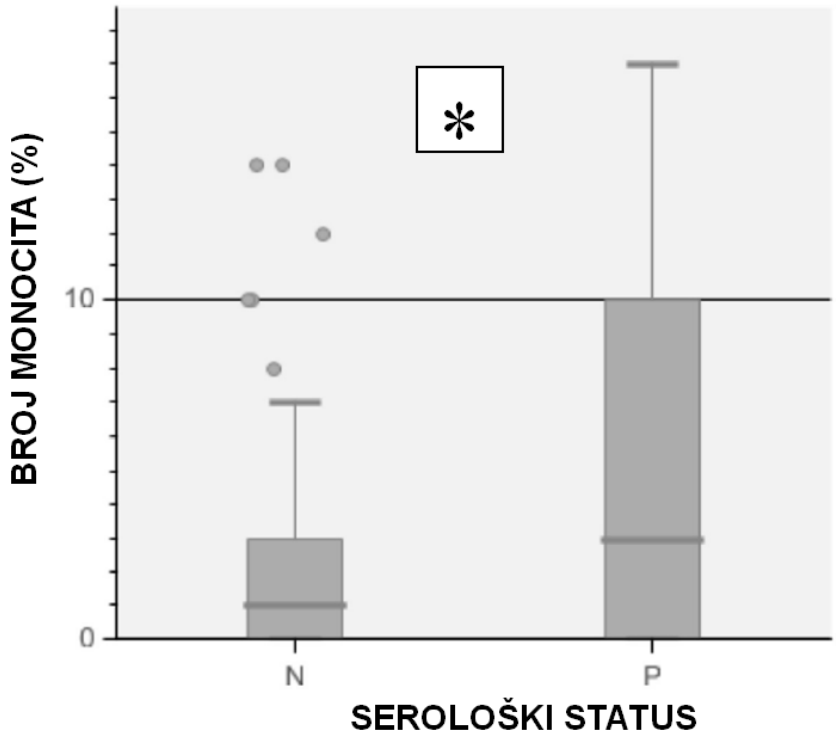
Slika 30. Relativni broj segmentiranih i nesegmentiranih neutrofilnih leukocita obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. * označava statistički značajnu razliku ($p<0.05$) između serološki pozitivnih i serološki negativnih pasa temeljem Mann-Whitney U testa. Stupići prikazuju aritmetičke sredine. N = serološki negativni psi; P = serološki pozitivni psi; SEG = segmentirani neutrofilni leukociti; NSEG * nesegmentirani neutrofilni leukociti.



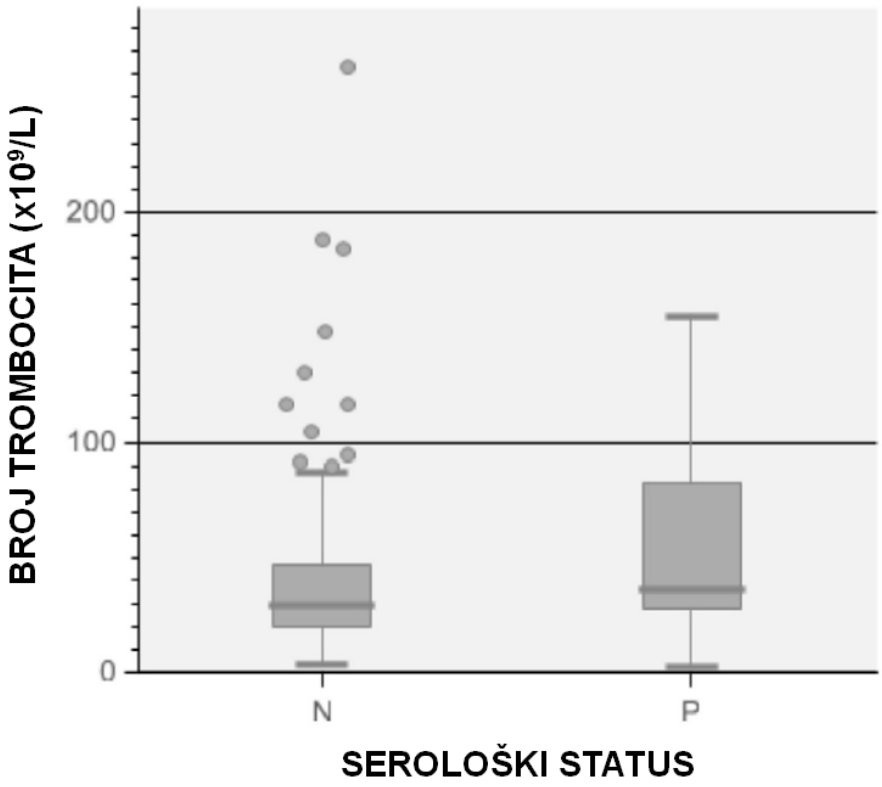
Slika 31. Relativni broj limfocita obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. * označava statistički značajnu razliku ($p<0.05$) između serološki pozitivnih i serološki negativnih pasa temeljem Mann-Whitney U testa. Kutijasti dijagram prikazuje: pravokutnik – 25% i 75% kvartil; crta po pravokutniku – medijan; horizontalne linije – minimalna i maksimalna vrijednost; točke – vrijednosti koje odstupaju od ostalih. N = serološki negativni psi; P = serološki pozitivni psi.



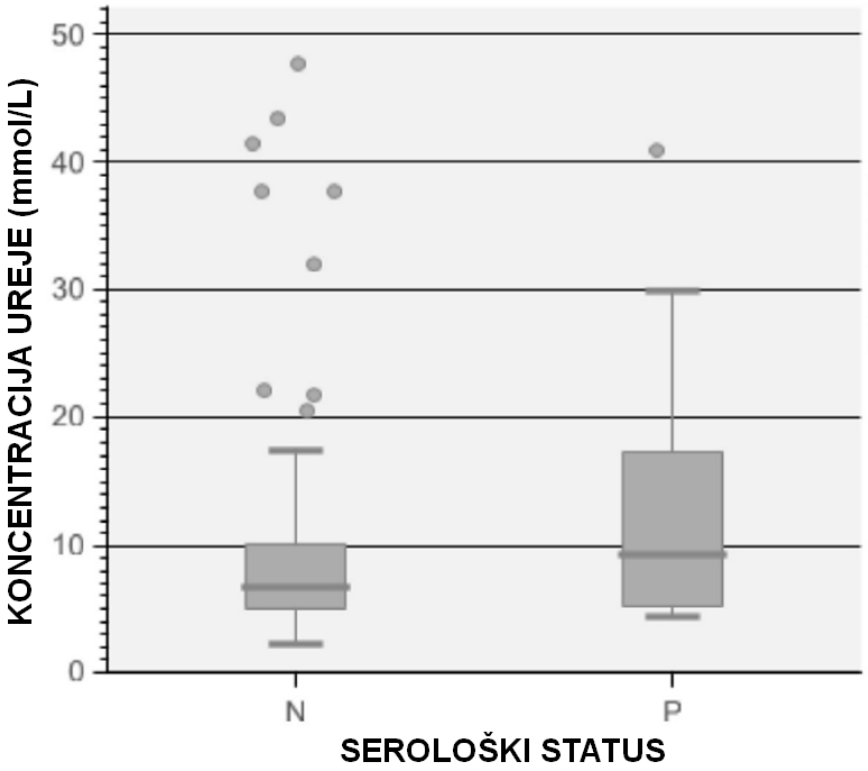
Slika 32. Relativni broj monocita obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. * označava statistički značajnu razliku ($p<0.05$) između serološki pozitivnih i serološki negativnih pasa temeljem Mann-Whitney U testa. Kutijasti dijagram prikazuje: pravokutnik – 25% i 75% kvartil; crta po pravokutniku – medijan; horizontalne linije – minimalna i maksimalna vrijednost; točke – vrijednosti koje odstupaju od ostalih. N = serološki negativni psi; P = serološki pozitivni psi.



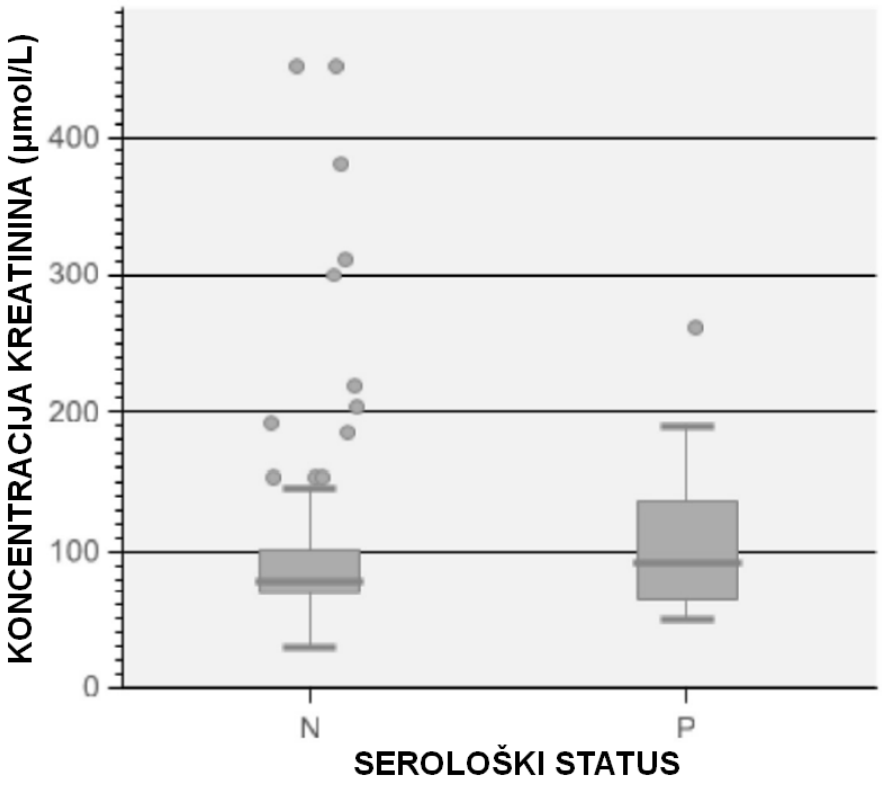
Slika 33. Broj trombocita obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. * označava statistički značajnu razliku ($p<0.05$) između serološki pozitivnih i serološki negativnih pasa temeljem Mann-Whitney U testa. Kutijasti dijagram prikazuje: pravokutnik – 25% i 75% kvartil; crta po pravokutniku – medijan; horizontalne linije – minimalna i maksimalna vrijednost; točke – vrijednosti koje odstupaju od ostalih. N = serološki negativni psi; P = serološki pozitivni psi.



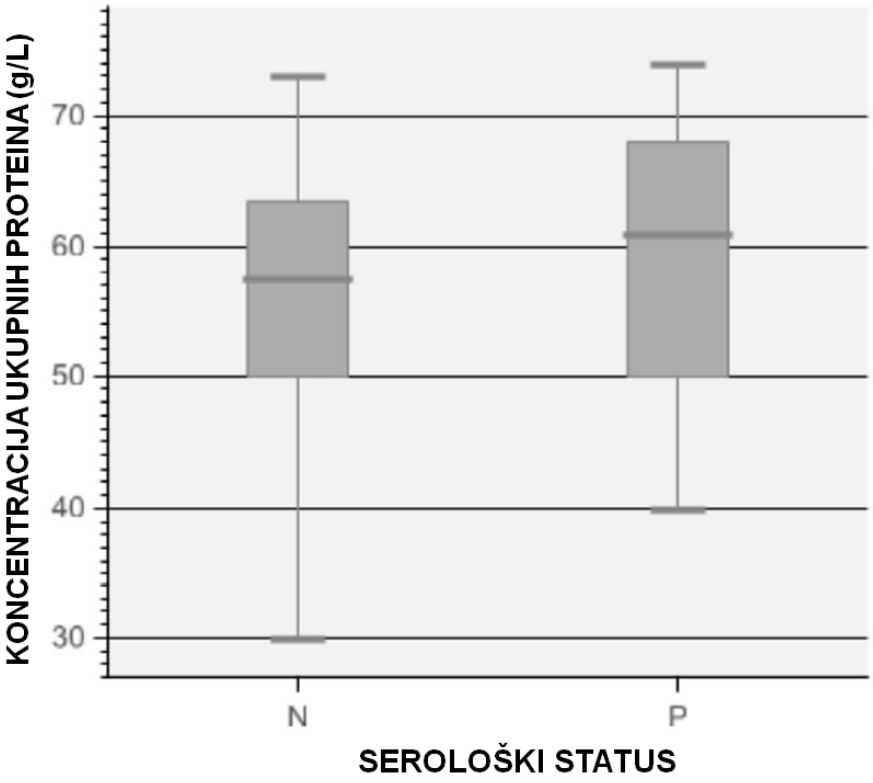
Slika 34. Koncentracija ureje obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. * označava statistički značajnu razliku ($p<0.05$) između serološki pozitivnih i serološki negativnih pasa temeljem Mann-Whitney U testa. Kutijasti dijagram prikazuje: pravokutnik – 25% i 75% kvartil; crta po pravokutniku – medijan; horizontalne linije – minimalna i maksimalna vrijednost; točke – vrijednosti koje odstupaju od ostalih. N = serološki negativni psi; P = serološki pozitivni psi.



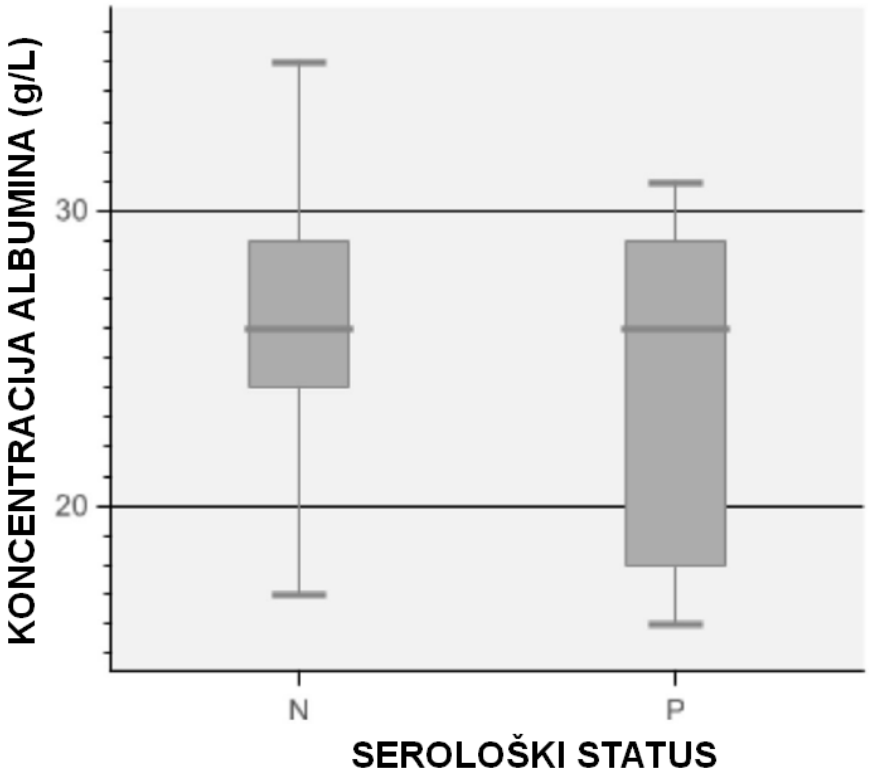
Slika 35. Koncentracija kreatinina obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. * označava statistički značajnu razliku ($p<0.05$) između serološki pozitivnih i serološki negativnih pasa temeljem Mann-Whitney U testa. Kutijasti dijagram prikazuje: pravokutnik – 25% i 75% kvartil; crta po pravokutniku – medijan; horizontalne linije – minimalna i maksimalna vrijednost; točke – vrijednosti koje odstupaju od ostalih. N = serološki negativni psi; P = serološki pozitivni psi.



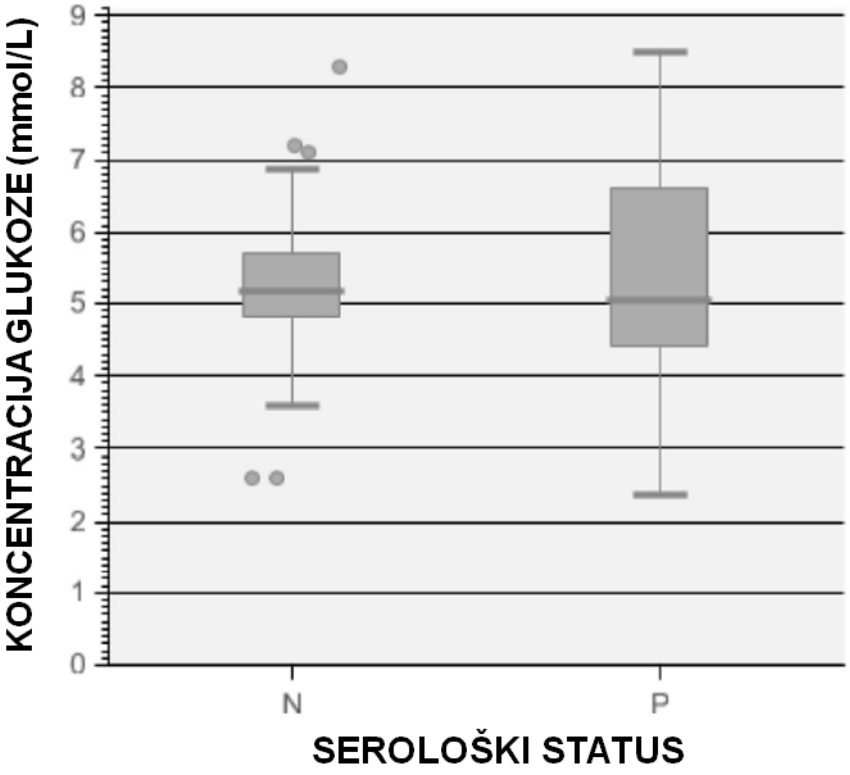
Slika 36. Koncentracija ukupnih proteina obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. * označava statistički značajnu razliku ($p<0.05$) između serološki pozitivnih i serološki negativnih pasa temeljem Mann-Whitney U testa. Kutijasti dijagram prikazuje: pravokutnik – 25% i 75% kvartil; crta po pravokutniku – medijan; horizontalne linije – minimalna i maksimalna vrijednost; točke – vrijednosti koje odstupaju od ostalih. N = serološki negativni psi; P = serološki pozitivni psi.



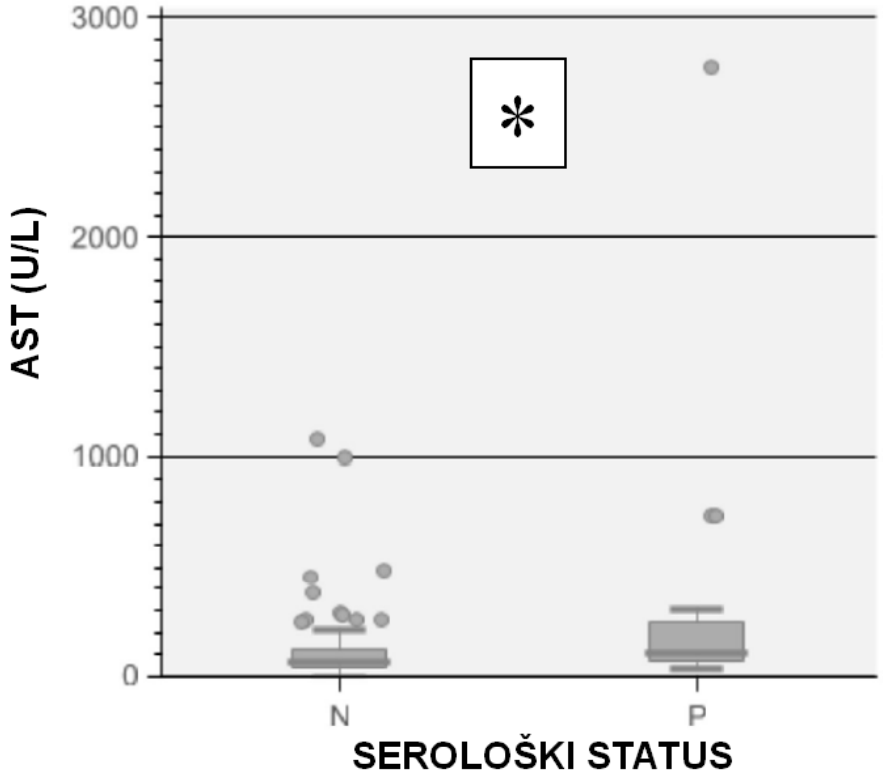
Slika 37. Koncentracija albumina obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. * označava statistički značajnu razliku ($p<0.05$) između serološki pozitivnih i serološki negativnih pasa temeljem Mann-Whitney U testa. Kutijasti dijagram prikazuje: pravokutnik – 25% i 75% kvartil; crta po pravokutniku – medijan; horizontalne linije – minimalna i maksimalna vrijednost; točke – vrijednosti koje odstupaju od ostalih. N = serološki negativni psi; P = serološki pozitivni psi.



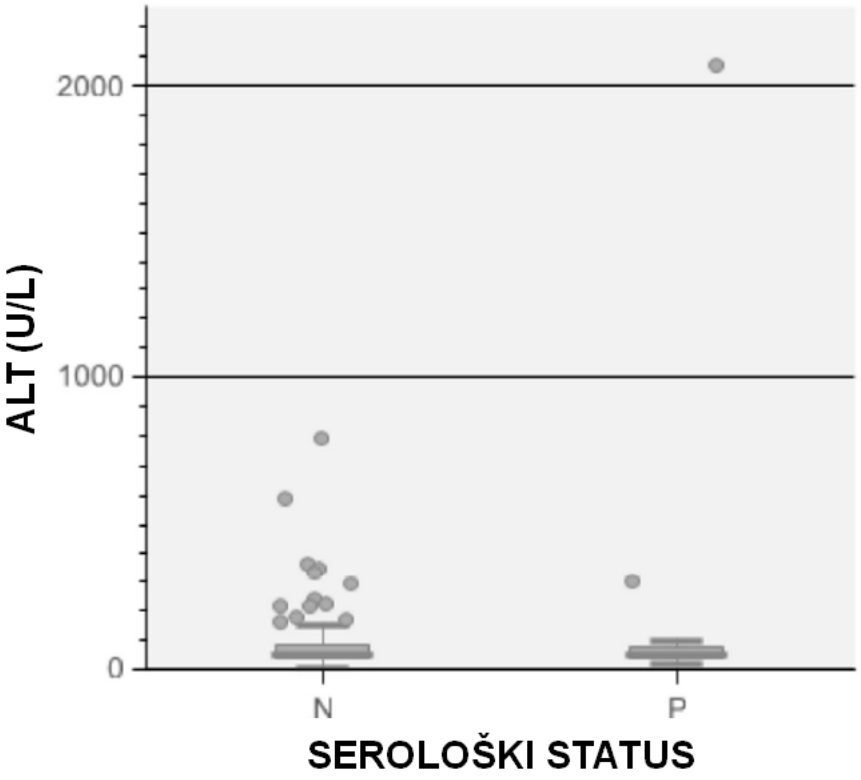
Slika 38. Koncentracija glukoze obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. * označava statistički značajnu razliku ($p<0.05$) između serološki pozitivnih i serološki negativnih pasa temeljem Mann-Whitney U testa. Kutijasti dijagram prikazuje: pravokutnik – 25% i 75% kvartil; crta po pravokutniku – medijan; horizontalne linije – minimalna i maksimalna vrijednost; točke – vrijednosti koje odstupaju od ostalih. N = serološki negativni psi; P = serološki pozitivni psi.



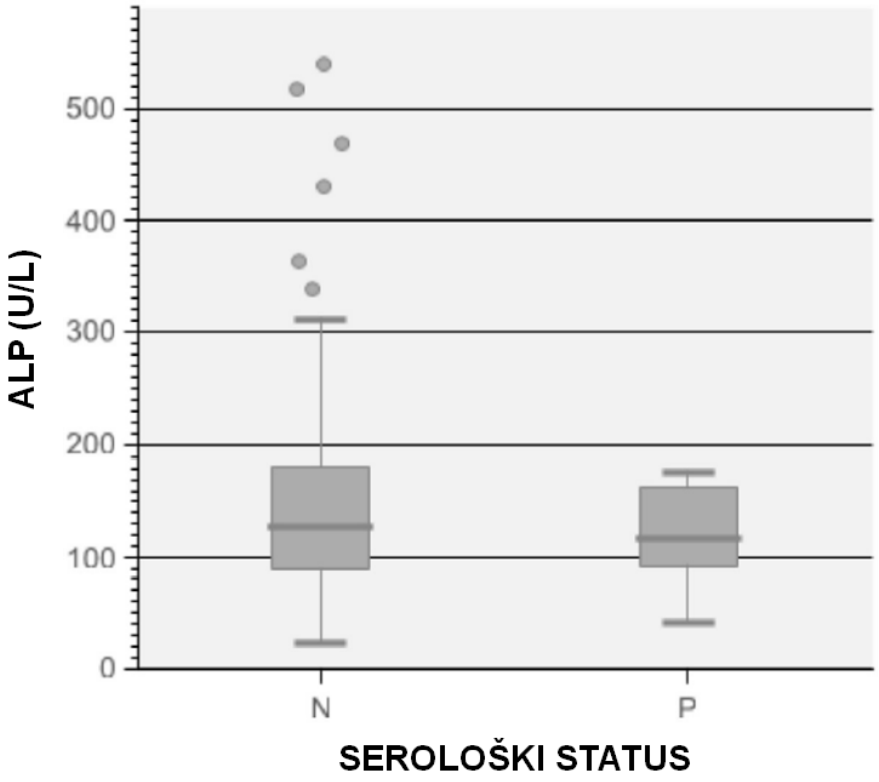
Slika 39. Aktivnost AST obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. * označava statistički značajnu razliku ($p<0.05$) između serološki pozitivnih i serološki negativnih pasa temeljem Mann-Whitney U testa. Kutijasti dijagram prikazuje: pravokutnik – 25% i 75% kvartil; crta po pravokutniku – medijan; horizontalne linije – minimalna i maksimalna vrijednost; točke – vrijednosti koje odstupaju od ostalih. N = serološki negativni psi; P = serološki pozitivni psi.



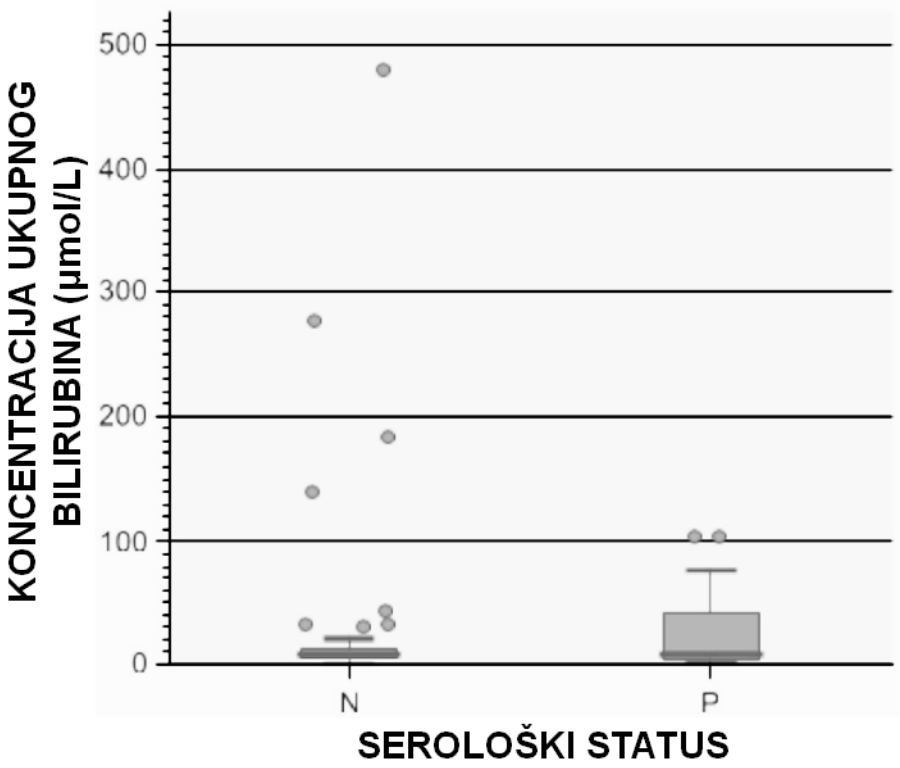
Slika 40. Aktivnost ALT obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. * označava statistički značajnu razliku ($p<0.05$) između serološki pozitivnih i serološki negativnih pasa temeljem Mann-Whitney U testa. Kutijasti dijagram prikazuje: pravokutnik – 25% i 75% kvartil; crta po pravokutniku – medijan; horizontalne linije – minimalna i maksimalna vrijednost; točke – vrijednosti koje odstupaju od ostalih. N = serološki negativni psi; P = serološki pozitivni psi.



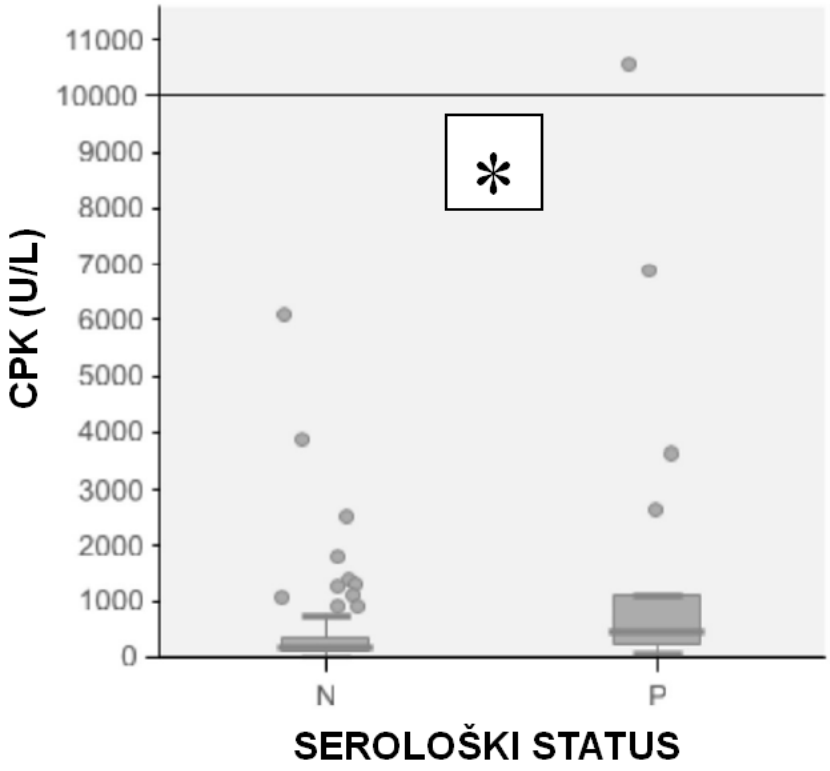
Slika 41. Aktivnost ALP obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. * označava statistički značajnu razliku ($p<0.05$) između serološki pozitivnih i serološki negativnih pasa temeljem Mann-Whitney U testa. Kutijasti dijagram prikazuje: pravokutnik – 25% i 75% kvartil; crta po pravokutniku – medijan; horizontalne linije – minimalna i maksimalna vrijednost; točke – vrijednosti koje odstupaju od ostalih. N = serološki negativni psi; P = serološki pozitivni psi.



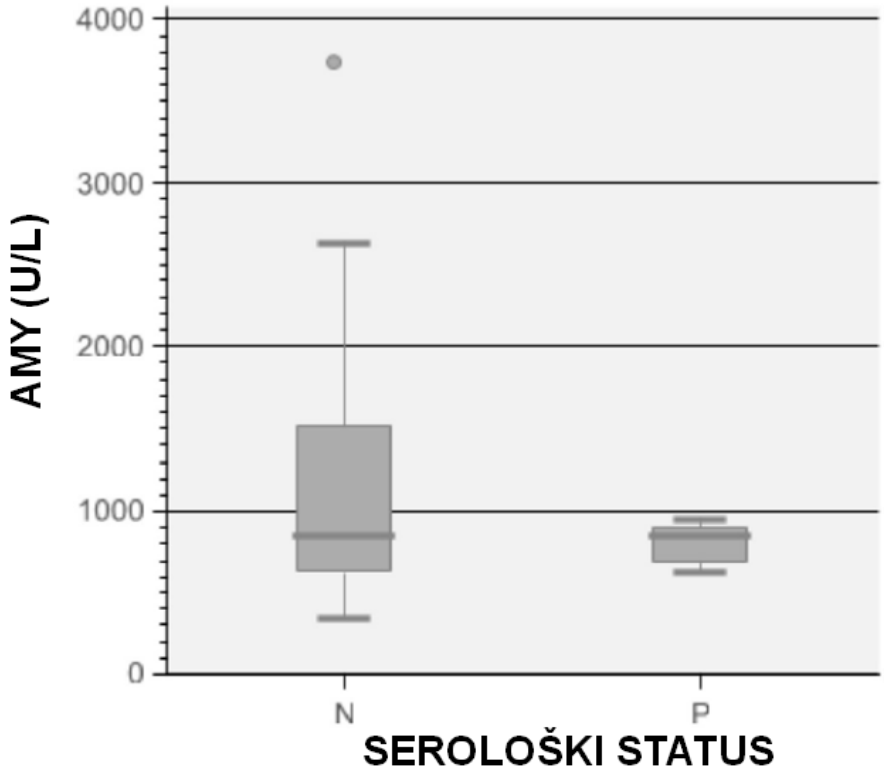
Slika 42. Koncentracija ukupnog bilirubina obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. * označava statistički značajnu razliku ($p<0.05$) između serološki pozitivnih i serološki negativnih pasa temeljem Mann-Whitney U testa. Kutijasti dijagram prikazuje: pravokutnik – 25% i 75% kvartil; crta po pravokutniku – medijan; horizontalne linije – minimalna i maksimalna vrijednost; točke – vrijednosti koje odstupaju od ostalih. N = serološki negativni psi; P = serološki pozitivni psi.



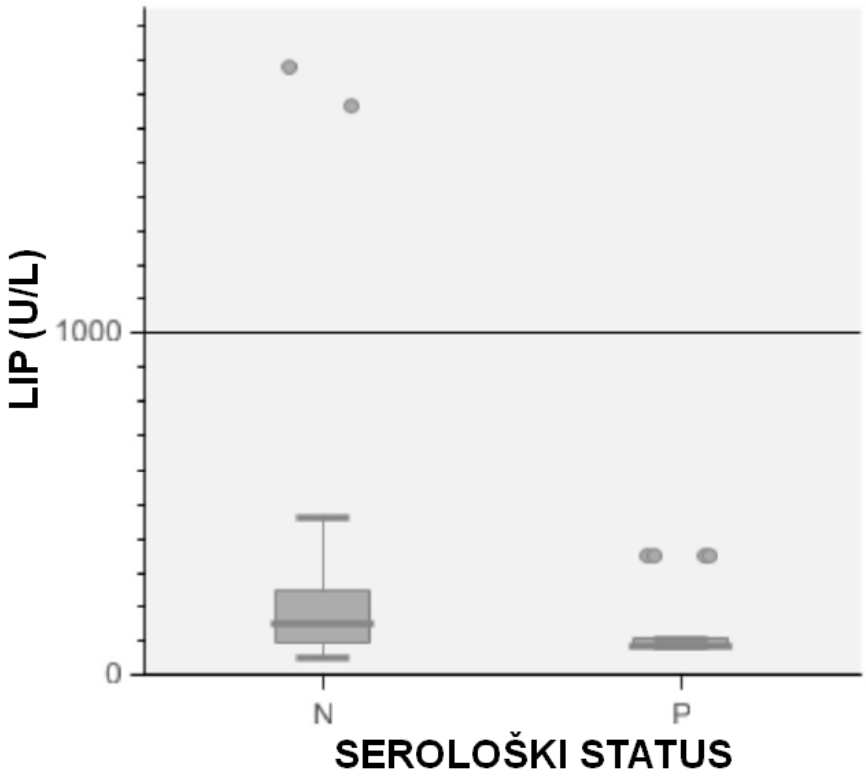
Slika 43. Aktivnost CPK obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. * označava statistički značajnu razliku ($p<0.05$) između serološki pozitivnih i serološki negativnih pasa temeljem Mann-Whitney U testa. Kutijasti dijagram prikazuje: pravokutnik – 25% i 75% kvartil; crta po pravokutniku – medijan; horizontalne linije – minimalna i maksimalna vrijednost; točke – vrijednosti koje odstupaju od ostalih. N = serološki negativni psi; P = serološki pozitivni psi.



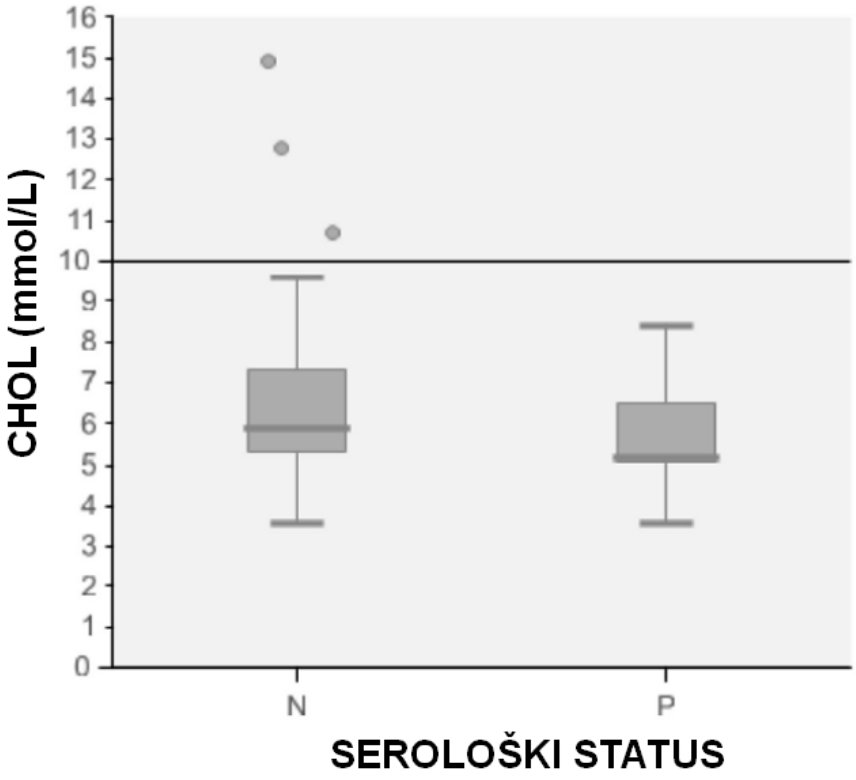
Slika 44. Aktivnost amilaze (AMY) obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. * označava statistički značajnu razliku ($p<0.05$) između serološki pozitivnih i serološki negativnih pasa temeljem Mann-Whitney U testa. Kutijasti dijagram prikazuje: pravokutnik – 25% i 75% kvartil; crta po pravokutniku – medijan; horizontalne linije – minimalna i maksimalna vrijednost; točke – vrijednosti koje odstupaju od ostalih. N = serološki negativni psi; P = serološki pozitivni psi.



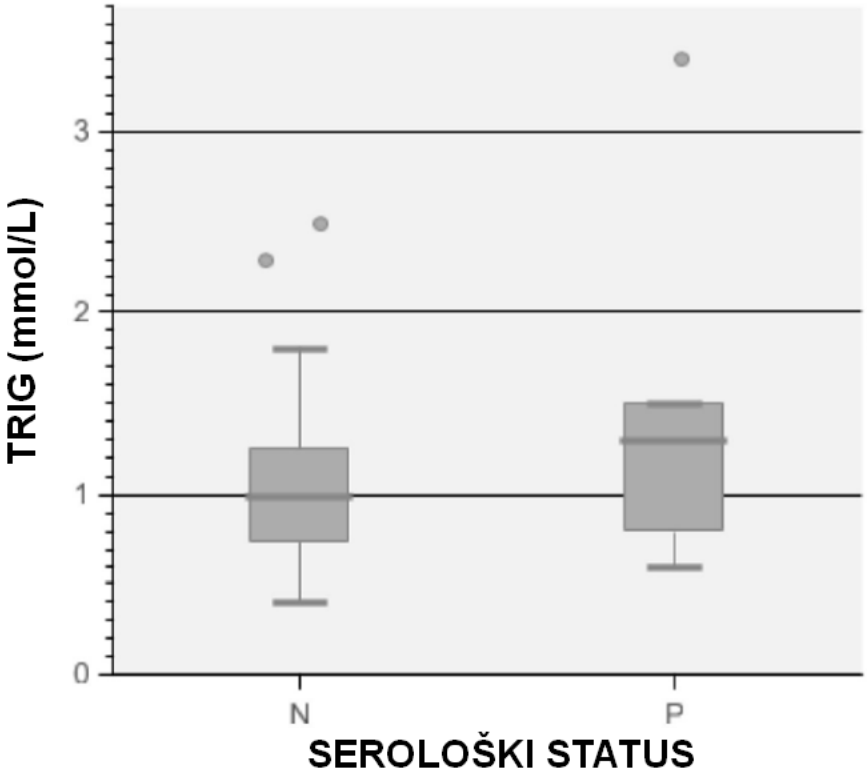
Slika 45. Aktivnost lipaze (LIP) obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. * označava statistički značajnu razliku ($p<0.05$) između serološki pozitivnih i serološki negativnih pasa temeljem Mann-Whitney U testa. Kutijasti dijagram prikazuje: pravokutnik – 25% i 75% kvartil; crta po pravokutniku – medijan; horizontalne linije – minimalna i maksimalna vrijednost; točke – vrijednosti koje odstupaju od ostalih. N = serološki negativni psi; P = serološki pozitivni psi.



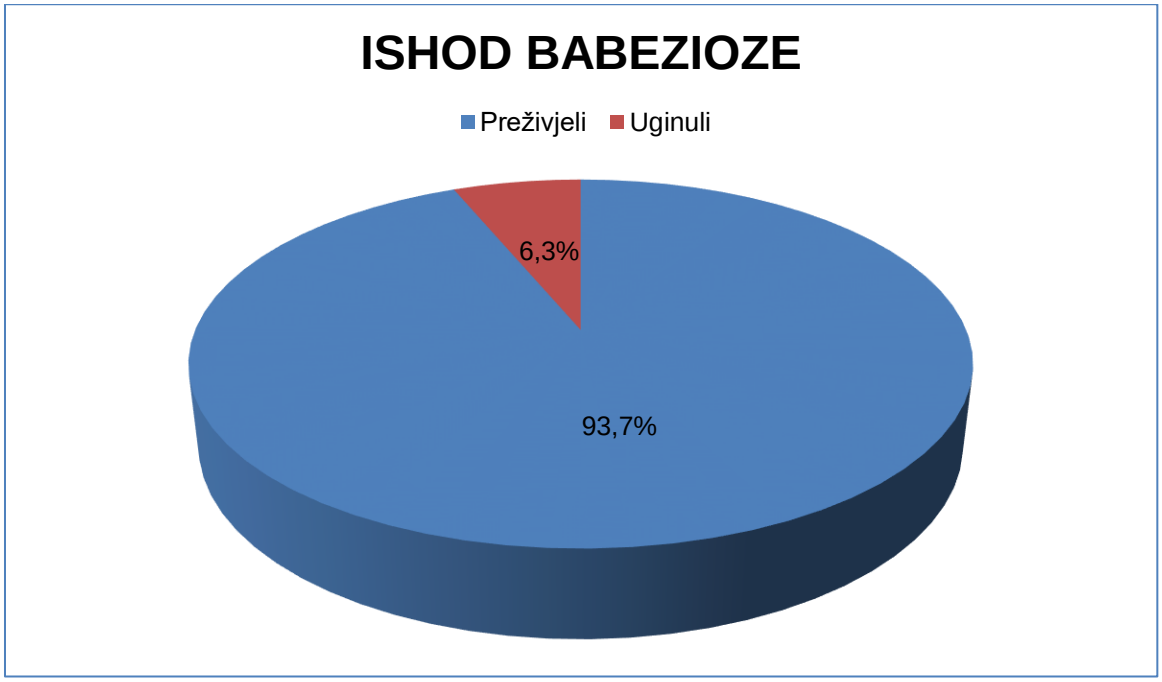
Slika 46. Koncentracija kolesterola (CHOL) obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. * označava statistički značajnu razliku ($p<0.05$) između serološki pozitivnih i serološki negativnih pasa temeljem Mann-Whitney U testa. Kutijasti dijagram prikazuje: pravokutnik – 25% i 75% kvartil; crta po pravokutniku – medijan; horizontalne linije – minimalna i maksimalna vrijednost; točke – vrijednosti koje odstupaju od ostalih. N = serološki negativni psi; P = serološki pozitivni psi.



Slika 47. Koncentracija triglicerida (TRIG) obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. * označava statistički značajnu razliku ($p<0.05$) između serološki pozitivnih i serološki negativnih pasa temeljem Mann-Whitney U testa. Kutijasti dijagram prikazuje: pravokutnik – 25% i 75% kvartil; crta po pravokutniku – medijan; horizontalne linije – minimalna i maksimalna vrijednost; točke – vrijednosti koje odstupaju od ostalih. N = serološki negativni psi; P = serološki pozitivni psi.



Slika 48. Ishod u pasa oboljelih od babezioze.



Tablica 25. Odnos između oblika babezioze i ishoda babezioze u istraživanoj skupini pasa temeljem hi-kvadrat testa (statistički značajnim se smatra p<0,05). N = nekomplicirana babezioza; K = komplicirana babezioza.

	OBLIK BABEZIOZE		**HI-KVADRAT TEST**
	NK	K	
Preživjeli	100%	79,4%	**p<0,05**
Uginuli	0%	21,6%	

Tablica 26. Odnos između razvoja MODS-a i ishoda babezioze u istraživanoj skupini pasa temeljem hi-kvadrat testa (statistički značajnim se smatra p<0,05).

	MODS		**HI-KVADRAT TEST**
	MODS +	MODS -	
Preživjeli	50%	98,3%	**p<0,05**
Uginuli	50%	1,7%	

Tablica 27. Odnos između serološkog statusa i ishoda babezioze u istraživanoj skupini pasa temeljem hi-kvadrat testa (statistički značajnim se smatra p<0,05). N = serološki negativni psi; P = serološki pozitivni psi.

	SEROLOŠKI STATUS		**HI-KVADRAT TEST**
	N	P	
Preživjeli	94,5%	89,5%	p=0,4
Uginuli	5,5%	10,5%	

6. RASPRAVA

6.1. EPIZOOTIOLOŠKI PODATCI

U ovo istraživanje uključeno je 127 pasa oboljelih od babezioze. Skupinu pasa oboljelih od babezioze činilo je 63% mužjaka i 37% ženki. Vrlo slične rezultate u kojima u pasa oboljelih od babezioze prevladavaju mužjaci zabilježili su MÁTHÉ i sur. (2006) u Mađarskoj. Navedena struktura spola istraživane populacije (dominacija mužjaka) slična je strukturi spola u ukupnoj populaciji pasa primljenih na Kliniku za unutarnje bolesti u istraživanom razdoblju (61,4% mužjaka). To je najvjerojatnije zbog sklonosti vlasnika nabavi mužjaka. Neki autori pretpostavljali su da je izloženost krpeljima kao i bolestima koje prenose bila veća u mužjaka jer su oni skloniji lutanju, pa time i provode više vremena u prirodi (BRKLJAČIĆ, 2012). Međutim, gotovo jednaka struktura spola u ukupnoj populaciji i populaciji pasa oboljelih od babezioze u istom razdoblju (slike 2. i 3.) govori u prilog prije navedenom. Obzirom da nikakva razlika nije zabilježena u strukturi spola ovisno o serološkom statusu istraživanih pasa (slike 4. i 5, tablica 17.) te da je struktura spola slična strukturi spola ukupne populacije, također se može zaključiti da to preslikava strukturu spola ukupne populacije pasa u Hrvatskoj.

Gledajući pasminsku zastupljenost u istraživanoj skupini pasa oboljelih od babezioze (tablica 18.), najveći udio pasa pripadao je križanim psima (36,5%), dok su čistokrvne pasmine zajedno činile 63,5% pasa. Od čistokrvnih pasmina pasa najzastupljenije su pasmine bile: njemački ovčar (14,2%), zlatni retriver (6,3%), labrador retriver (5,5%) i rotvajler (4,7%).

Nadalje, pasminska struktura istraživane skupine pasa, odnosno zastupljenost pojedinih pasmina donekle je posljedica popularnosti pojedinih pasmina među vlasnicima, što se vidi po tome da prve četiri čistokrvne pasmine pasa u istraživanoj populaciji pasa pripadaju među deset najzastupljenijih pasmina pasa zaprimljenih na Kliniku za unutarnje bolesti u istraživanom razdoblju (tablice 18. i 19.). Međutim prisutna je statistički značajna manja pojavnost malteških i pekinških psića u skupini pasa oboljelih od babezioze u usporedbi sa ukupnom populacijom te značajno veća pojavnost pasmina njemački ovčar, zlatni retriver, rotvajler, sibirski haski, škotski

ovčar, aljaški malamut, epanjel breton, brak jazavčar, njemački ptičar i irski seter u skupini pasa oboljelih od babezioze (tablica 18.). Analizom navedenih podataka uočava se da je prisutna pretjerana zastupljenost pasa velikih pasmina koji provode više vremena u prirodi i značajno manja zastupljenost malih pasmina pasa u skupini pasa oboljelih od babezioze (primjerice, malteški i pekinški psić). Zapravo su velike pasmine pasa činile 86,2% ukupne populacije u istraživanoj skupini (slika 6.). Slični podatci već su zabilježeni i u drugim istraživanjima gdje su također velike pasmine pasa činile 86,9% čistokrvne populacije pasa oboljelih od babezioze (BRKLJAČIĆ, 2012). To se može objasniti stilom života, odnosno načinom držanja velikih pasmina pasa, budući da veće pasmine pasa borave više vani i provode dulje vrijeme u aktivnostima u prirodi, čime su i više izloženi krpeljima i bolestima koje oni prenose. Na sličan način može se objasniti i statistički značajna manja pojavnost bolesti prenosivih člankonošcima u malih pasmina pasa, koji znatno manje vremena provode u prirodi. Slična se distribucija u kojoj prevladavaju velike pasmine pasa uočava i u seropozitivnih pasa (slika 8.). Kao što je već napomenuto prisutna je značajno veća pojavnost njemačkih ovčara u skupini pasa oboljelih od babezioze. Pretjerana zastupljenost njemačkih ovčara (26,3%) još je izrazitija u skupini seropozitivnih pasa (tablica 20.). Slični podatci zabilježeni su u drugim istraživanjima erlihioze/anaplazmoze u pasa (HARRUS i sur., 1997; BIRKENHEUER, 2009). To se pripisuje pasminskim razlikama u jačini staničnog i/ili humoralnog imunosnog odgovora (NYINDO i sur., 1980).

Što se tiče dobne strukture istraživane skupine pasa vidljiva je statistički značajna razlika s obzirom na serološki status (slika 9.). Iz histograma je vidljivo da je veća frekvencija pojave babezioze u pasa u mlađoj životnoj dobi sa najvećom frekvencijom u dobi od 10 do 20 mjeseci starosti, dok je veća frekvencija pojave seropozitivnosti na *A. phagocytophilum* u srednjoj do starijoj dobi, sa najvećom frekvencijom od 80 do 100 mjeseci starosti (slike 10. i 11.). Slični rezultati su zabilježeni u gotovo svim istraživanjima seroprevalencije *A. phagocytophilum* (EGENWALL i sur., 2000; KOHN i sur., 2011). Samo u istraživanju JENSEN i sur. (2007) nije zabilježen porast seropozitivnosti s porastom dobi pasa. Porast seropozitivnosti s porastom dobi je očekivana pojava obzirom da se broj kontakata sa člankonošcima povećava s dobi, pa je i vjerojatnost kontakta sa zaraženim krpeljom veća kroz duže vremensko razdoblje. Kako je granulocitotropična anaplazmoza pasa samoograničavajuća bolest, većina

infekcija prolazi nezapaženo i ne dijagnosticira se u tijeku aktivne bolesti te je zbog toga veći postotak seropozitivnosti u starijih životinja očekivan nalaz.

6.2. ANAMNESTIČKI PODATCI I KLINIČKI ZNAKOVI BABEZIOZE

U anamnestičkim podatcima i kliničkim znakovima nije bilo gotovo nikakve razlike između seropozitivnih i seronegativnih pasa oboljelih od babezioze. Najčešći anamnestički podatci i klinički znakovi slični su rezultatima svih dosad objavljenih istraživanja babezioze pasa, te uključuju inapetencu, apatiju, tamni urin, otežano kretanje, povraćanje i proljev (slike 12. i 13.) (MATIJATKO i sur., 2007; BRKLJAČIĆ i sur., 2010; CRNOGAJ i sur., 2010; MATIJATKO i sur., 2010). Kako psi u istraživanoj populaciji nisu bolovali od granulocitotropične anaplazmoze, razumljivo je da su dominirali klinički znakovi babezioze. Babezioza je klinički znatno ozbiljnija bolest od granulocitotropične anaplazmoze koja je uglavnom asimptomatskog tijeka i samoograničavajuća, a kako se klinički znakovi babezioze naglo pojavljuju i vrlo su izraženi, očekivano je da se oni ne razlikuju obzirom na serološki status pasa.

Tjelesna temperatura je bila praćena u većini kliničkih istraživanja babezioze u pasa. Smatra se da je povišena tjelesna temperatura jedan od kardinalnih simptoma babezioze u pasa (ABDULLAHI i sur., 1990; JACOBSON i CLARK, 1994; LOBETTI, 1998; JACOBSON i sur., 2000). Rjeđe se, međutim, u istraživanjima babezioze spominje subnormalna tjelesna temperatura (BUTTON, 1979; JACOBSON i CLARK, 1994). Snižavanje tjelesne temperature je rezultat prejake aktivacije medijatora upale i predstavlja rezultat popuštanja kompenzatornih mehanizama, a korekcija hipovolemije i hipotenzije kod hipotermičnih pacijenata sa SIRS-om rezultira vrućicom (NYSTRÖM, 1998). Upravo zato je prognoza kod hipotermičnih pacijenata nepovoljnija, jer je znak dekompenzirane faze SIRS-a. Istraživanjima MATIJATKO (2003), MATIJATKO i sur. (2009) i MATIJATKO i sur. (2010) utvrđeno je da niža tjelesna temperatura korelira sa nepovoljnim ishodom babezioze u pasa. U ovom istraživanju utvrđeno je da je u skupini seronegativnih pasa 1,8% bilo hipotermično, dok je u skupini seropozitivnih pasa 5,3% bilo hipotermično (slike 15. i 16.). Također, u skupini serpozitivnih pasa čak je 63,1% pasa imalo normalnu tjelesnu temperaturu (u odnosu na 6,5% pasa u skupini seronegativnih pasa). Povišenu tjelesnu

temperaturu tipičnu za babeziozu imalo je 91,7% seronegativnih i samo 31,6% seropozitivnih pasa. Uzevši u obzir ove činjenice jasno je da je utvrđena statistički značajno niža temperatura u seropozitivnih pasa (slika 17.). Kao što je već na više mjesta napomenuto povišena tjelesna temperatura (vrućica) je sastavni dio SIRS-a, No, pod utjecajem suviška citokina endotel krvnih žila postaje propustan i omogućava prijelaz elemenata krvi u tkiva, što može rezultirati hipovolemijom i hipotenzijom koje mogu dovesti do hipotermije (BAUMAN i GAULDIE, 1994; NYSTRÖM, 1998). Kod pasa seropozitivnih na vrstu *A. phagocytophilum* oboljelih od babezioze utvrđena je značajno viša serumska koncentracija čimbenika sličnog keratinocit kemoatraktantu (engl. *keratinocyte chemoattractant like factor,* KC-like) i IL-8. Povišena koncentracija IL-8 pronađena je i u serumu konja eksperimenalno inficiranih vrstom *A. phagocytophilum* (KIM i sur., 2001). AKKOYUNLU i sur. (2001) smatraju da IL-8 ima ključnu ulogu u patogenezi humane granulocitotropične anaplazmoze. IL-8 pripada kemokinima, izlučuju ga monociti, a njegovo lučenje potiče IFNγ. Njegovu sintezu inhibiraju glukokortikoidi. KC-like pripada kemokinima, a proizvode ga keratinociti, monociti i makrofagi potaknuti djelovanjem TNFα te endotelne stanice potaknute djelovanjem trombina (FRINK i sur., 2007). Oba citokina su sastavni dio upalnog odgovora. Za razriješavanje upale važan je pravodoban, uravnotežen i odgovarajući upalni odgovor koji je rezultat istodobnog razvoja SIRS-a i sindroma kompenzacijskog protuupalnog odgovora (CARS). Tjelesna temperatura je sastavni dio SIRS-a i njena uloga je u osnovi obrambena. Preslab razvoj SIRS-a (s normalnom tjelesnom temperaturom), kao i prejak razvoj SIRS-a (sa subnormalnom tjelesnom temperaturom) ne rezultiraju kontrolom bolesti već se nastavlja perpetuiranje upalnog odgovora dok on ne prijeđe u MODS i uzrokuje trajno oštećenje organa (MATIJATKO i sur., 2012). Povišena koncentracija citokina utvrđena u pasa oboljelih od babezioze koji su seropozitivni na vrstu *A. phagocytophilum* (MAYER, 2012) te njihova niža tjelesna temperatura utvrđena u ovom istraživanju ukazuju nam upravo na moguć razvoj neprimjerenog upalnog odgovora.

Povećane frekvencije bila i disanja su česti pratitelji babezioze pasa. One su sastavni dio SIRS-a i uvrštene su u pokazatelje za utvrđivanje prisutstva SIRS-a. Na njihovo povišenje također utječe i anemija koja je također česta pojava u babeziozi pasa. U ovom istraživanju nije utvrđena statistički značajna razlika u frekvenciji bila i disanja ovisno o serološkom statusu istraživane skupine pasa (slike 18. i 19.). Navedeni podatci su očekivani, obzirom da su psi bolovali od babezioze, odnosno da su bili

seropozitivni na *A. phagocytophilum* i nisu bolovali od granulocitotropične anaplazmoze.

6.3. OBLIK I KOMPLIKACIJE BABEZIOZE

Od komplikacija babezioze najčešće su bile prisutne: sindrom višestrukog zatajivanja organa, akutna ozljeda bubrega, akutna rabdomioliza i imunosno-posredovana hemolitička anemija što je sukladno rezultatima i drugih istraživanja babezioze u Hrvatskoj (MATIJATKO i sur., 2003; KIŠ, 2007; MATIJATKO i sur., 2010; BRKLJAČIĆ, 2012) i svijetu (WELZL i sur., 2001; MÁTHÉ i sur., 2006) (slika 23.). Kompliciran oblik babezioze pojavio se u ukupno 29% pasa u istraživanoj populaciji (slika 20.), odnosno u 23,1% seronegativnih i 63,1% seropozitivnih pasa. Utvrđena je statistički značajna razlika u pojavnosti kompliciranog oblika babezioze u seropozitivnih u odnosu na seronegativne pse (tablica 21.). Isto tako utvrđena je statistički značajna veća pojavnost sindroma višestrukog zatajivanja organa, akutne ozljede bubrega, akutne rabdomiolize, imunosno-posredovane hemolitičke anemije i diseminirane intravaskularne koagulacije u seropozitivnih pasa (tablica 22.). Već je utvrđeno da seropozitivni psi razvijaju jači upalni odgovor sa češćom pojavnošću kompliciranog oblika babezioze. Kod seropozitivnih pasa značajno je viša serumska koncentracija KC-like i IL-8 (MAYER, 2012). IL-8 se smatra glavnim medijatorom odgovornim za rano reperfuzijsko oštećenje tkiva (SEKIDO i sur., 1993), na koje je osobito osjetljivo tkivo bubrega (BONE i sur., 1992; BAGSHAW i BELLOMO, 2006; ALDRICH, 2007). U stanju sepse visoke koncentracije IL-8 koreliraju sa stupnjem laktacidemije, razvojem diseminirane intravaskularne koagulacije, hipoksije i mortaliteta (DAMAS i sur., 1997). KC-like potiče migraciju i aktivaciju neutrofila, ima značajnu ulogu u poticanju razvoja SIRS-a (FRINK i sur., 2007) i njegova povišena koncentracija je rani pokazatelj ishemijskog oštećenja bubrega (MOLLS i sur., 2006). Njegova povišena koncentracija je utvrđena u urinu pasa sa akutnom ozljedom bubrega izazvanom primjenom cisplatine (MCDUFFIE i sur., 2010). Dakle, češća pojava akutne ozljede bubrega u seropozitivnih pasa mogla bi biti posljedica povišene koncentracije KC-like. Međutim, prisutna je i statistička značajna veća pojavnost akutne rabdomiolize u seropozitivnih pasa. Opisana je pojava zatajivanja bubrega posljedično rabdomiolizi u pasa oboljelih

od babezioze, ljudi oboljelih od malarije i konja od anaplazmoze (JACOBSON i LOBETTI, 1996; HILTON i sur., 2008). I u ovom istraživanju većina pasa koja je imala rabdomiolizu imala je istovremeno i akutnu ozljedu bubrega. Patogeneza zatajivanja bubrega posljedično rabdomiolizi je još uvijek nerazjašnjena, no smatra se da proupalni citokini kao i dušikov oksid imaju važnu ulogu u nastaku zatajivanja bubrega (JACOBSON i LOBETTI, 1996). Kao što je već i prije navedeno, pojava rabdomiolize opisana je i u babeziozi i granulocitotropičnoj anaplazmozi. Pojavnost akutne rabdomiolize je statistički značajno veća u seropozitivnih pasa. Iako nastanak same rabdomiolize u jedinki oboljelih od granulocitotropične anaplazmoze nije objašnjen, te neki autori pretpostavljaju da povišenje koncentracije citokina koji sudjeluju u staničnom imunosnom odgovoru i aktivacija makrofaga dovode do razvoja iste, a povećane koncentracije citokina (uključujući IFNγ i IL-8) su opisane u infekciji uzrokovanoj vrstom *A. phagocytophilum* (KIM i sur., 2001; DUMLER i sur., 2007; RIKIHISA, 2010; RIKIHISA, 2011). Također se neadekvatnim upalnim odgovorom sa povišenom koncentracijom citokina, posebice IL-8, može objasniti i statistički značajna veća pojavnost diseminirane intravaskularne koagulacije u seropozitvnih pasa, jer u stanju sepse visoke koncentracije IL-8 koreliraju s razvojem diseminirane intravaskularne koagulacije (DAMAS i sur., 1997). Imunosno-posredovana hemolitička anemija dobro je poznata komplikacija babezioze u pasa (LOBETTI, 1998; MATIJATKO i sur., 1998; MATIJATKO, 2003). Isto tako, njezin je razvoj utvrđen i u pasa seropozitivnih na vrstu *A. phagocytophilum* (u 12% pasa) (MAZEPA i sur., 2010). Radi se o sekundarnoj imunosno-posredovanoj hemolitičkoj anemiji kod koje se stvaraju antitijela specifična za strani antigen (pr. uzročnika infekcije ili lijek) koji se nalazi na površini eritrocita (MATIJATKO i sur., 1998). Protutijela IgG razreda opsoniziraju dio membrane eritrocita koji je antigenski promijenjen, zbog čega se stvaraju sferociti koji su kuglastog oblika (umjesto normalnog bikonkavnog oblika) i kao takvi ne mogu proći kroz sinusoide slezene, gdje bivaju i uništeni (FRANK i sur., 1977). U goveda inficiranih vrstom *A. marginale* dokazana je tvorba autohemaglutinina i opsonina koji su usmjereni protiv antigena smještenih unutar membrane eritrocita (RISTIC i sur., 1972). Kako je osnova razvoja imunosno-posredovane hemolitičke anemije kontakt sa antigenom sa posljedičnom promjenom antigenog sastava membrane eritrocita, za očekivati je da kontakt sa dva različita antigena za koje je dokazano da uzrokuju promjenu u membrani eritrocita sa sobom nosi i veću vjerojatnost razvoja imunosno-posredovane hemolitičke anemije. Stoga je nalaz

statistički značajno veće pojavnosti imunosno-posredovane hemolitičke anemije u pasa seropozitivnih na vrstu *A. phagocytophilum* razumljiv.

Razvoj MODS-a je statistički značajno češći u seropozitivnih nego u seronegativnih životinja (tablica 23.). Utvrđena je povezanost povišene koncentracije IL-8 sa razvojem MODS-a, pa se njegova povišena koncentracija može smatrati prognostičkim pokazateljem nepovoljnog ishoda (HAMANO i sur., 1998). U ovom istraživanju je utvrđeno da je vjerojatnost pojave komplikacija 4,81 puta veća u seropozitivnih nego u seronegativnih životinja. Također vjerojatnost pojave komplikacija povećava se i sa porastom dobi (tablica 24.). Važno je napomenuti da je SIRS iznimno kompleksna pojava i da u njegovom razvoju sudjeluje mnoštvo upalnih i protuupalnih medijatora koji su svi u složenom međuodnosu, a da je njihova međusobna ravnoteža od iznimne važnosti za ishod upale te da poremećaj te ravnoteže dovodi do pojave višestrukih komplikacija tako da je komplikacije nemoguće promatrati kao pojedinačne događaje i pronaći samo jedan jedinstveni uzrok za njih. Dakle, razvoj komplikacija je potaknut mnoštvom čimbenika i nije još uvijek u potpunosti razjašnjen, te ako dođe do pojave komplikacije najvjerojatnije će se razviti nekoliko njih, što se potvrdilo i u ovom istraživanju gdje je MODS najčešća komplikacija.

6.4. LABORATORIJSKI POKAZATELJI

U ovom istraživanju zabilježena su odstupanja od referentnih vrijednosti u brojnim hematološkim i biokemijskim pokazateljima.

Od hematoloških pokazatelja zabilježeni su pacijenti sa anemijom, sniženim hematokritom i hemoglobinom što je zabilježeno i u brojnim drugim istraživanjima babezioze u pasa (JACOBSON i CLARK, 1994; LOBETTI, 1998; REYERS i sur., 1998; NEL i sur., 2004; MATIJATKO i sur., 2007; CRNOGAJ i sur., 2010). Očekivano, nije zabilježena statistički značajna razlika u navedenim pokazateljima između seropozitivnih i seronegativnih pasa (slike 26., 27. i 28.) . Također je u jednog dijela pasa zabilježena leukopenija što je isto tako već dobro poznata odlika babezioze u pasa (BUCKNER i EWING, 1984; MATIJATKO i sur., 2007; BRKLJAČIĆ, 2012), bez statistički značajne razlike između seropozitivnih i seronegativnih pasa oboljelih od

babezioze (slika 29.). U diferencijalnoj krvnoj slici zabilježen je statistički značajno veći udio nesegmentiranih neutrofilnih leukocita i monocita u seropozitivnih pasa oboljelih od babezioze (slike 30. i 32.). Poznato je da porast broja leukocita u tkivima često ne prati porast ukupnog broja leukocita u perifernoj krvi. Naime, imunokompetentni leukociti često migriraju u tkiva, a gube se i ekstravazacijom i posljedičnom hipovolemijom, što rezultira leukopenijom (NYSTRÖM, 1998.). Zbog toga je često upravo porast nezrelih oblika neutrofilnih leukocita u perifernoj cirkulaciji (skretanje u lijevo) jedini znak aktivacije leukocita. Monociti su prve i ključne stanice koje započinju aktivaciju upalnog odgovora stanične imunosti. Njihovom aktivacijom nastaju makrofagi i tkivni histiociti koji započinju lučiti upalne medijatore (primjerice, IFNγ, IL-1, IL-8, TNFα) (NYSTRÖM, 1998). Već je više puta spomenuta povišena koncentracija IL-8 u pasa oboljelih od babezioze koji su istovremeno bili seropozitivni na vrstu *A. phagocytophilum*, što se izravno može povezati sa povećanim brojem monocita u seropozitivnih pasa. Trombocitopenija je najučestaliji laboratorijski pokazatelj koji prati babeziozu u pasa (KETTNER i sur., 2003; MATIJATKO i sur., 2007) , što se i potvrdilo i u ovom istraživanju. Statistički značajne razlike u broju trombocita između seropozitivnih i seronegativnih pasa nije bilo (slika 33.). Trombocitopenija je čest nalaz kod pasa oboljelih od granulocitotropične anaplazmoze (KOHN i sur., 2008), kao i kod pasa seropozitivnih na vrstu *A. phagpcytophilum* (JENSEN i sur., 2007; KOHN i sur., 2011). Međutim, babezioza dovodi do trombocitopenije u gotovo svih životinja, pr. 100% pasa (MATIJATKO i sur., 2007), 98% pasa (KIŠ, 2007), 99% (KETTNER i sur., 2003) i 99% u ovom istraživanju, dok je kod pasa seropozitivnih na vrstu *A. phagocytophilum* trombocitopenija ustanovljena u 13% pasa (KOHN i sur., 2011). Već je iz navedenog jasno da je trombocitopenija jedan od kardinalnih znakova babezioze koji se javlja kod gotovo svih pasa oboljelih od babezioze. Ukoliko navedenom pridodamo činjenicu da je srednja vrijednost, odnosno medijan broja trombocita znatno niži kod babezioze, primjerice 19, odnosno 31 (KIŠ, 2007); 30 kod seronegativnih, odnosno 35 kod seropozitivnih u ovom istraživanju, u usporedbi sa medijanom trombocita kod pasa seropozitivnih na vrstu *A. phagocytophilum* koji ne boluju od babezioze (193) (KOHN i sur., 2011) jasno je da babezioza izaziva značajniju trombocitopeniju. S obzirom da su u ovom istraživanju svi psi oboljeli od babezioze i da je kod babezioze izraženija trombocitopenija, manje izražena trombocitopenija kod seropozitivnih pasa prolazi nezamjećeno, pa i nema statistički značajne razlike između seronegativnih i seropozitivnih pasa.

Kod dijela pasa u istraživanoj skupini zabilježena su odstupanja od referentnih vrijednosti za sve istraživane biokemijske pokazatelje (slike 34. do 47.) što je u skladu sa dosada provedenim istraživanjima babezioze u pasa (LOBETTI, 1998; JACOBSON, 2004; MÁTHÉ i sur., 2006; MATIJATKO i sur., 2009). Naime, akutna ozljeda bubrega, akutna rabdomioliza, akutni pankreatitis, akutno zatajenje jetre prate i odgovarajuće promjene u biokemijskim pokazateljima. Statistički značajno viša aktivnost CPK i AST zabilježena je u pasa seropozitivnih na *A. phagocytophilum*. Aktivnost CPK je izravni pokazatelj oštećenja skeletnog mišićja i prati razvoj akutne rabdomiolize. Kako je rabdomioliza statistički značajno češća u seropozitivnih pasa u odnosu na seronegativne pse, porast aktivnosti CPK je logičan. AST je prisutan u različitim tkivima, no njegova je koncentracija visoka u stanicama skeletnog i srčanog mišićja, te jetre. Njegova aktivnost se uvijek tumači promatrajući istovremeno i aktivnosti ALT i CPK. U slučajevima kada porast AST prati i porast ALT (enzima specifičnog za jetru), radi se prvenstveno o oštećenju jetre. Međutim, ukoliko porast AST prati i porast aktivnosti CPK, tada se porast aktivnost AST može pripisati oštećenju skeletnog ili srčanog mišćja (STOCKHAM i SCOTT, 2008). Obzirom da u ovom istraživanju nije zabilježena razlika u aktivnosti ALT između seropozitivnih i seronegativnih životinja oboljelih od babezioze, a zabilježen je statistički značajan usporedni porast aktivnosti CPK kao i statistički značajna veća pojavnost akutne rabdomiolize u seropozitivnih životinja, može se zaključiti da se porast aktivnosti AST u seropozitivnih pasa može pripisati oštećenju mišićja zbog razvoja akutne rabdomiolize.

6.5. ISHOD BABEZIOZE

U ovom istraživanju zabilježen je mortalitet od 6,3% (slika 48.). To je slično rezultatu koji je u istraživanju babezioze u pasa u Hrvatskoj polučila BRKLJAČIĆ (2012) (5,5%), ali je znatno niži od ostalih istraživanja babezioze u Hrvatskoj (11-29%) (KIŠ, 2007.; MATIJATKO i sur., 2009.; CRNOGAJ i sur., 2010.; MATIJATKO i sur., 2010.; CRNOGAJ, 2012.; MAYER, 2012.). Mortalitet u navedenim istraživanjima je znatno sličniji mortalitetu zabilježenom kod babezioze uzrokovane vrstom *B. rossi*, koji se javlja u južnoj Africi i iznosi 10 do 15% (VAN ZYL, 1995.; COLLET, 2000.; NEL i sur., 2004). Analizom istraživanja provedenih na području Europe vidi se da je raspon smrtnosti vrlo širok i varira od 1,5% do 20%, odnosno 29% u Mađarskoj i Hrvatskoj

(MARTINOD i sur., 1986; MÁTHÉ i sur., 2006; MATIJATKO i sur., 2012.; MAYER, 2012). Upravo je zato objavljeno da se na području Europe pojavljuju najmanje dva klinički različita oblika bolesti: prvi, blagi koji nije praćen višestrukim zatajivanjem organa i drugi, težeg oblika kod kojeg je upravno najučestalija komplikacija pojava sindroma višestrukog zatajivanja organa, kojeg najčešće prati nepovoljni ishod (MATIJATKO i sur., 2012).

Ishod babezioze statistički je značajno nepovoljniji kod pasa koji su razvili kompliciranі oblik babezioze (tablica 25.) što je samo po sebi razumljivo. Ipak, ishod babezioze nije statistički značajno različiti kod seropozitivnih u odnosu na seronegativne pse (tablica 27.). Međutim, kako je razvoj kompliciranog oblika babezioze (4.81 puta veća vjerojatnost za razvoj komplikacija) i MODS-a statistički znatno vjerojatniji u seropozitivnih pasa (tablice 23. i 24.), a razvoj kompliciranog oblika babezioze i MODS-a ima statistički znatno nepovoljniju prognozu, sama seropozitivnost na *A. phagocytophilum* predstavlja čimbenik rizika koji bi trebalo imati na umu kod pasa oboljelih od babezioze.

6.6. SEROPOZITIVNOST U PASA OBOLJELIH OD BABEZIOZE

U pasa se u Europi seroprevalencija na vrstu *A. phagocytophilum* kreće od 7,5 do 56,5%. Tako se u Njemačkoj seroprevalencija kreće od 6,3% do 50,1%, u Italiji od 8,8% do 33%, Švedskoj od 17,7% do 20,7% i Španjolskoj 11,5% do 15,6%. U Poljskoj seroprevalencija iznosi 1%, Portugalu 55%, Austriji 56,5% i Ujedinjenom kraljevstvu 0,8% (KOHN i sur., 2011). Međutim, seropozitivnost ne znači da se radi o životinjama oboljelim od granulocitotropične anaplazmoze. Primjerice, u istraživanjima provedenim u Njemačkoj utvrđeno je da od 43,2% seropozitivnih pasa, 6,3% pasa je bolovalo od granulocitotropične anaplazmoze (infekcija je potvrđena PCR dijagnostikom) (JENSEN i sur., 2007), odnosno od 43,3% seropozitivnih pasa 5,7% je bolovalo od granulocitotropične anaplazmoze (KOHN i sur, 2011).

Već je u nekim istraživanjima babezioze u Hrvatskoj ispitivana seroprevalencija na vrstu *A. phagocytophilum* (BRKLJAČIĆ, 2012; MAYER, 2012), ali do sada nije istraživan njezin utjecaj na kliničku sliku, oblik, tijek i ishod babezioze u pasa. Valja još istaknuti da su u navedenim istraživanjima korištene manje skupine životinja, pa su i

rezultati u potpunoj suprotnosti. Naime, u istraživanju BRKLJAČIĆ (2012) utvrđena je seroprevalencija od 0%, dok je u istraživanju MAYER (2012) iznosila 16%. Međutim, u istraživanju MAYER (2012) nije proveden PCR, pa nije poznato koliko se pasa u trenutku uzorkovanja nalazilo u aktivnoj infekciji. Zato je teško tumačiti statistički značajno niži hematokrit, broj eritrocita i relativan broj limfocita u seropozitivnih pasa koji je u istraživanju utvrđen. Treba istaknuti da su svi seropozitivni psi u navednom istraživanju pripadali skupini pasa oboljelih od kompliciranog oblika babezioze.

U ovom istraživanju utvrđeno je 15% pasa seropozitivnih na *A. phagocytophilum*, dok niti jedan pas nije bio seropozitivan na *E. canis*, *B. burgdorferi*, *L. infantum*, niti na antigen vrste *D. immitis*. Kako je PCR metodom dijagnostike utvrđeno da niti jedan pas nije bolovao od granulocitotropične anaplazmoze, preporučljivo je nalaz seropozitivnost upotpuniti PCR pretragom, kako bi se utvrdilo prisutstvo bolesti. U Hrvatskoj je do sada potvrđeno prisutstvo vrsta *L. infantum* (ŽIVIČNJAK i sur., 2005), *D. immitis* (HOLLER i sur., 2010) i *B. burgdorferi* (TURK i sur., 2000). Izostanak seropozitivnosti na vrste *L. infantum* i *D. immitis* vrlo se lako može objasniti činjenicom da su životinje u ovom istraživanju bile sa područja Zagreba i okolice, a *L. infantum* je dokazana u području srednje i južne Dalmacije (ŽIVIČNJAK i sur., 2005), dok je *D. immitis* prisutna prvenstveno u Istri (HOLLER i sur., 2010). Što se tiče prisutstva *B. burgdorferi* ona je dokazana na području Zagreba, međutim njezina seroprevalencija je bila 5% što je relativno nisko i zbog toga je moguće da u istraživanoj populaciji pasa nismo dokazali niti jedan slučaj seropozitivnosti na *B. burgdorferi*. Seropozitivnost na vrstu *E. canis* je dokazana u Hrvatskoj, no njezina seroprevalencija je vrlo niska i iznosi 0,4% (RELJA BECK, osobna komunikacija).

U nekoliko istraživanja je dokazano da seropozitivnost na *A. phagocytophilum* ne izaziva kliničke znakove niti ima razlike u hematološkim pokazateljima između seropozitivnih i seronegativnih pasa (COUTO i sur., 2010; KOHN i sur., 2011). Niti istovremena seropozitivnost na više prije spomenutih uzročnika (*A. phagocytophilum, E. canis*, *B. burgdorferi*, *L. infantum*) nema kliničkog značaja. Upravo zato je sugerirano da je provođenje serološke pretrage na navedene uzročnike važnije u smislu utvrđivanja epidemiološke situacije, dok kliničarima ne pruža značajnije podatke (COUTO i sur., 2010). Međutim, istovremena seropozitivnost na više uzročnika, od kojih je jedan babezija, a drugi jedan od prije navedenih, pokazuje stvarni klinički značaj. Već su CARDOSO i sur. (2010) primjetili značajno višu stopu mortaliteta u

pasa oboljelih od babezioze koji su bili koinficirani s vrstama *E. canis* uz *L.infantum* i/ili *E. canis* i/ili *H. canis* (22%), u odnosu na pse oboljele samo od babezioze bez koinfekcije (9%). Ipak, treba istaknuti da se ovdje radilo o bolesnim, a ne seropozitivnim psima jer je koinfekcija dokazana PCR metodom dijagnostike.

Upravo je glavni cilj ovog istraživanja bio ispitati seropozitivnost na druge člankonošcima prenosive uzročnike u pasa oboljelih od babezioze, odnos seropozitivnosti i aktivne bolesti, te njihov utjecaj na kliničku sliku, oblik, tijek i ishod babezioze.

Utvrdili smo da postoje značajne razlike između seropozitivnih i seronegativnih pasa kako slijedi:

- statistički značajno veću vjerojatnost seropozitivnosti na vrstu *A. phagocytophilum* u velikih pasmina pasa, posebice njemačkih ovčara
- statistički značajno nižu tjelesnu temperaturu u pasa seropozitivnih na vrstu *A. phagocytophilum*
- statistički značajno višu dob u pasa seropozitivnih na vrstu *A. phagocytophilum*
- statistički značajno viši udio monocita i nesegmentiranih neutrofilnih leukocita u pasa seropozitivnih na vrstu *A. phagocytophilum*
- statistički značajno višu aktivnost AST i CPK u pasa seropozitivnih na vrstu *A. phagocytophilum*
- statistički značajno veću vjerojatnost razvoja komplikacija, posebice sindroma višestrukog zatajivanja organa, akutne ozljede bubrega, akutne rabdomiolize, imunosno-posredovane hemolitičke anemije i diseminirane intravaskularne koagulacije

Iz svega navedenog je vidljivo da seropozitivnost na vrstu *A. phagocytophilum* značajno utječe na oblik babezioze. Imunopatologija granulocitotropične anaplazmoze je još uvijek u velikoj mjeri nepoznata. Ipak, dokazano je da u njoj značajno sudjeluju neutrofilni leukociti i monociti te njihovi medijatori upalnog odgovora. Upravo zato nas ne iznenađuje statistički značajna razlika u udjelu monocita i nesegmentiranih neutrofilnih leukocita. Dokazano je da dolazi do statistički značajnog povećanja ekspresije mRNA IFNγ i serumskih IFNγ proteina kod infekcije *A. phagocytophilum* u miševa. Međutim, *A. phagocytophilum* spriječava pravilno signaliziranje IFNγ koje je ključno za obranu od infekcije. Vrsta *A. phagocytophilum* potiče sekreciju IL-8 u

neutrofilima dodatno stimuliranim od strane preteča mononuklearnih stanica (limfocita i monocita) (RIKIHISA, 2010). Upravo je povećana koncentracija IL-8 utvrđena u pasa seropozitivnih na vrstu *A. phagocytophilum* oboljelih od babezioze u odnosu na seronegativne pse oboljele od babezioze (MAYER, 2012). Iz dosada navedenog može se sa priličnom sigurnošću zaključiti da monociti i IL-8 igraju važnu ulogu u razvoju težeg oblika babezioze u pasa seropozitivnih na vrstu *A. phagocytophilum*.

Veća vjerojatnost razvoja komplikacija (4,81x), osobito statistički značajno veća vjerojatnost razvoja sindroma višestrukog zatajivanja organa u pasa seropozitivnih na vrstu *A. phagocytophilum* koja sa sobom nosi i vrlo visoku stopu mortaliteta u pasa oboljelih od babezioze (KIŠ, 2007; MATIJATKO i sur., 2009; MATIJATKO i sur., 2010) trebala bi biti poticaj kliničarima da pse oboljele od babezioze rutinski pretraže i na ostale bolesti prenosive člankonošcima, jer bi na taj način u slučajevima pozitivnog nalaza mogli odmah započeti intenzivniju terapiju i upozoriti vlasnika na nepovoljniju prognozu ishoda babezioze. Osobito važno je pretražiti pse velikih pasmina, sa naglaskom na njemačke ovčare, koji su se u ovom i drugim istraživanjima pokazali osobito prijemčljivima na vrstu *A. phagocytophilum*. Iz drugih je istraživanja vidljivo da i ostali uzročnici prenosivi člankonošcima nepovoljno utječu na ishod babezioze, ali kako su u ovom istraživanju svi psi bili negativni na vrste *E. canis*, *B. burgdorferi*, *L. infantum* i *D. immitis*, ne možemo navedene rezultate potvrditi ovim istraživanjem.

7. ZAKLJUČCI

1. Babezioza pasa je multisistemska bolest karakterizirana sustavnim upalnim odgovorom organizma.
2. Uzročnik babezioze u svih pasa bila je vrsta *Babesia canis*.
3. Vrsta *Anaplasma phagocytophilum* je prisutna u Hrvatskoj.
4. Nalaz seropozitivnosti na vrstu *Anaplasma phagocytophilum* ne znači da životinja boluje od granulocitotropične anaplazmoze.
5. Dijagnoza granulocitotropične anaplazmoze se potvrđuje lančanom reakcijom polimerazom.
6. Izostanak pozitivnog nalaza serološke pretrage na vrste *Ehrlichia canis*, *Borrelia burgdorferi*, *Leishmania infantum* i *Dirofilaria immitis* ne isključuje prisutstvo navednih uzročnika na području Zagreba i okolice, ali su oni rjeđi od vrste *Anaplasma phagocytophilum*.
7. Seropozitivnost na vrstu *Anaplasma phagocytophilum* javlja se u 15% pasa oboljelih od babezioze.
8. Postoji statistički značajno veća pojavnost seropozitivnosti na vrstu *Anaplasma phagocytophilum* u velikih pasmina pasa oboljelih od babezioze.
9. Statistički je značajno veća zastupljenost njemačkih ovčara među psima oboljelim od babezioze i ujedno seropozitivnim na vrstu *Anaplasma phagocytophilum*.
10. Najveća frekvencija seropozitivnih pasa oboljelih od babezioze je u dobi od 80 do 100 mjeseci starosti.
11. Psi oboljeli od babezioze statistički su značajno mlađi od pasa oboljelih od babezioze koji su istovremeno seropozitivni na vrstu *Anaplasma phagocytophilum*.
12. Nije utvrđena spolna predispozicija za seropozitivnost na vrstu *Anaplasma phagocytophilum*.
13. Babezioza pasa se javlja u jednostavnom i kompliciranom obliku.
14. Seropozitivnost na vrstu *Anaplasma phagocytophilum* utječe na oblik babezioze.

15. Nema razlike u anamnestičkim podatcima i većine kardinalnih kliničkih znakova babezioze (frekvencija bila, frekvencija disanja, tamni urin, inapetenca, apatija, otežano kretanje) između seropozitivnih i seronegativnih pasa.
16. Statistički je značajno niža tjelesna temperatura u pasa koji su seropozitivni na vrstu *Anaplasma phagocytophilum*.
17. Postoji statistički značajno veći udio nesegmentiranih neutrofilnih leukocita i monocita, te značajno viša aktivnost kreatin kinaze i aspartat aminotransferaze u pasa oboljelih od babezioze koji su seropozitivni na vrstu *Anaplasma phagocytophilum*.
18. Povišena aktivnost aspartat aminotransferaze paralelno sa povišenom aktivnošću kreatin kinaze ukazuje da je povišena aktivnost aspartat aminotransferaze vezana uz oštećenje skeletnog mišića.
19. Postoji statistički značajna (4,81 puta) veća vjerojatnost za razvoj komplikacija babezioze u pasa koji su seropozitivni na vrstu *Anaplasma phagocytophilum*.
20. Statistički je značajno veća pojavnost akutne ozljede bubrega u pasa koji su seropozitivni na vrstu *Anaplasma phagocytophilum*.
21. Statistički je značajno veća pojavnost akutne rabdomiolize u pasa koji su seropozitivni na vrstu *Anaplasma phagocytophilum*.
22. Statistički je značajno veća pojavnost imunosno-posredovane hemolitičke anemije u pasa koji su seropozitivni na vrstu *Anaplasma phagocytophilum*.
23. Statistički je značajno veća pojavnost diseminirane intravaskularne koagulacije u pasa koji su seropozitivni na vrstu *Anaplasma phagocytophilum*.
24. Statistički je značajno veća pojavnost sindroma višestrukog zatajivanja organa u pasa koji su seropozitivni na vrstu *Anaplasma phagocytophilum*.
25. Nema statistički značajne razlike u ishodu babezioze u pasa koji su seropozitivni na vrstu *Anaplasma phagocytophilum*.
26. Na ishod statistički značajno utječe razvoj kompliciranog oblika babezioze.
27. Na ishod statistički značajno utječe prisutstvo sindroma višestrukog zatajivanja organa.
28. Kako je razvoj kompliciranog oblika babezioze i razvoj višestrukog zatajivanja organa statistički značajno vjerojatniji u u pasa koji su seropozitivni na vrstu *Anaplasma phagocytophilum*, a kako oni utječu na ishod, trebalo bi pse oboljele od babezioze rutinski pretraživati i na ostale bolesti prenosive člankonošcima,

jer bi na taj način u slučajevima pozitivnog nalaza mogli postaviti oprezniju prognozu.

29. Pse velikih pasmina koji boluju od babezioze, posebice njemačke ovčare, zbog njihove veće pojavnosti u skupini seropozitivnih pasa, iznimno je važno pretražiti i na bolesti prenosive člankonošcima.

8. LITERATURA

1. ABDULLAHI, S. U., A. A. MOHAMMED, A. R. TRIMNELL, A. SANNUSI, R. ALAFITAYO (1990): Clinical and haematological findings in 70 naturally occuring cases of canine babesiosis. J. Small Anim. Pract. 31, 145-147.
2. ABOGE, G. O., H. JIA, M. A. TERKAWI, Y. GOO, K. KURIKI, Y. NISHIKAWA, I. IGARASHI, H. SUZUKI, X. XUAN (2007): A novel 57-kDa merozoite protein of *Babesia gibsoni* is a prospective antigen for diagnosis and serosurvey of canine babesiosis by enzyme-linked immunosorbent assay. Vet. Parasitol. 149, 85-94.
3. ABRAHAM, D. (1988): Biology of *Dirofilaria immitis*. U: Dirofilariasis (Boreham, P. F. L., R. B. Atwell ur.), CRC Press, London. pp. 29-46.
4. ABRANCHES, P., M. C. SILVA-PEREIRA, F. M. CONCEICAO-SILVA, G. M. SANTOS-GOMES, J. G. JANZ (1991): Canine leishmaniosis: pathological and ecological factors influencing transmission of infection. J. Parasitol. 77, 557-561.
5. ADASZEK, L., S. WINIARCZYK, A. PUCHALSKI, M. GARBAL, M. GÓRNA (2009): The diagnose of *Borrelia afzelii* infections in dogs. Annales UMCS, Medicina Veterinaria, 64, 15-21.
6. AGUERO-ROSENFELD, M. E. (2002): Diagnosis of human granulocytic ehrlichiosis: State of the art. Vector Borne Zoonotic Dis. 2, 233-239.
7. AIKAWA, M., C. ABRAMOWSKY, K. G. POWERS, R. FURROW (1981): Dirofilariasis. IV. Glomerulonephropahty induced by *Dirofilaria immitis* infection. Am. J. Trop. Med. Hyg. 30, 84-91.
8. AKKOYUNLU, M., E. FIKRIG (2000): Gamma interferon dominates the murine cytokine response to the agent of human granulocytic ehrlichiosis and helps to control the degree od early rickettsemia. Infect. Immun. 68, 1827-1833.
9. AKKOYUNLU, M., S. E. MALAWISTA, J. ANGUITA, E. FIKRIG (2001): Exploitation of interleukin-8-induced neutrophil chemotaxis by the agent of human granulocytic ehrlichiosis. Infect. Immun. 69, 5577–5588.
10. ALDRICH, J. (2007): Assesment and diagnosis of shock. U: BSAVA Manual of Canine and Feline Emergency and Critical Care Medicine (King, L. D. i A. Boag, ur.), 2. izdanje, BSAVA, Gloucester. pp. 17-29

11. ALEKSEEV, A. N., H. V. DUBININA (2008): Enhancement of risk of tick-borne infection: enviromental and parasitological aspects of the problem. J. Med. Entomol. 45, 812-815.
12. ALJAMALI, M., A. S. BOWMAN, J. W. DILLWITH, J. S. TUCKER, G. W. YATES, R. C. ESSENBERG, J. R. SAUER (2002): Identity and synthesis of prostaglandins in the lone star tick, *Ambylomma americanum* (L.), as assesed by radio-immunoassay and gas chromatography/mass spectrometry. Insect. Biochem. Mol. Biol. 32, 331-341.
13. ALVAR, J., C. CANAVATE, R. MOLINA, J. MORENO, J. NIETO (2004): Canine leishmaniasis. Adv. Parasitol. 57, 1-88.
14. ALVAR, J., P. APARICIO, A. ASEFFA, M. DE BOER, C. CANAVATE, J. P. DEDET, L. GARDONI, R. TER HORST, R. LOPEZ-VELEZ, J. MORENO (2008): The relationship between leishmaniasis and AIDS: the second 10 years. Clin. Microbiol. Rev. 21, 334-359.
15. ANDERSON, R. C. (2000): Nematode parasites of vertebrates. Their development and transmission, 2. izdanje, CABI Publishing, Wallingford, Oxon. p. 650.
16. ANDRADE, B. B., C. R. TEIXEIRA, A. BARRAL, M. BARRAL-NETTO (2005): Hematophagous arthropod saliva and host defense system: a tale of tear and blood. An. Acad. Bras. Ciêc. 77, 665-693.
17. APPEL, M. J., S. ALLEN, R. H. JACOBSON, T. L. LAUDERDALE, Y- F-CHANG, S. J. SHIN, J. W. THOMFORD, R. J. TODHUNTER, B. A. SUMMERS (1993): Experimental Lyme disease in dogs produces arthritis and persistent infection. J. Infect. Dis. 167, 651-664.
18. BABES, V. (1888): Sur l'hemoglobinurie abacterienne du boef. Compt. Rend. Acad. Sci. Ser. III Sci. Vie. 107, 692-694.
19. BAGSHAW, S. M., R. BELLOMO (2006): Fluid resuscitation and the septic kidney. Curr. Opin. Crit. Care 12, 527-530.
20. BAKKEN, J. S., S. DUMLER (2008): Human granulocytic anaplasmosis. Infect. Dis. Clin. North Am. 22, 443-448.
21. BALL, A., E. M. CAMPBELL, J. JACOB, S. HOPPLER, A. S. BOWMAN (2009): Identification, functional characterization and expression patterns of a water-specific aquaporin in the brown dog tick, Rhipicephalus sanguineus. Insect. Biochem. Mol. Biol. 39, 105-112.

22. BANETH, G., L. SOLANO-GALLEGO (2012): Leishmaniases. U: Infectious Diseases of the Dog and Cat (Greene, C. E. ur.), 4. izdanje, Elsevier Saunders, St. Louis, Missouri. pp. 734-745.
23. BANETH, G., M. DAY, X. ROURA, S. SHAW (2005): Leishmaniosis. U. Arthropod-borne Infectious Diseases of the Dog and Cat (Shaw, S. E., M. J. Day ur.). Manson Publishing/The Veterinary Press, London. pp. 89-99.
24. BANETH, G., A. F. KOUTINAS, L. SOLANO-GALLEGO, P. BORDEAU, L. FERRER (2008): Canine leishmaniosis – new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. Trends Parasitol. 24, 324-330.
25. BATES, P. A. (2007): Transmission of *Leishmania* metacyclic promastigotes by phlebotomine sand flies. Int. J. Parasitol. 37, 1097-1106.
26. BAUMANN, H., J. GAULDIE (1994): The acute phase response. Immunol. Today 15, 74-80.
27. BEAUFILS, J. P., H. INOKUMA, J. MARTIN-GRANEL, PH. JUMELLE, M. BARBAULT-JUMELLE, P. BROUQUI (2002): *Anaplasma platys* (*Ehrlichia platys*) infection in a dog in France: description of the case, and characterization of the agent. Revue Méd. Vét. 153, 85-90.
28. BECK, R., L. VOJTA, S. CURKOVIĆ, V. MRLJAK, J. MARGALETIĆ, B. HABRUN (2011): Molecular survey of Babesia microti in wild rodents in central Croatia. Vector Borne Zoonotic Dis. 11, 81-83.
29. BECK, R., L. VOJTA, V. MRLJAK, A. MARINCULIĆ, A. BECK, T. ŽIVIČNJAK, S. M. CACCIÒ (2009): Diversity of Babesia and Theileria species in symptomatic and asymptomatic dogs in Croatia. Int. J. Par. 39, 843–848.
30. BEDENIĆ, B. (2009): Spirohete. U: Medicinska mikrobiologija (Uzunović-Kamberović, S. ur.), Štamparija Fojnica d.o.o., Zenica. pp. 492-495.
31. BEHL, R., M. B. KLEIN, L. DANDELET, R. R. BACH, J. L. GOODMAN, N. S. KEY (2000): Induction of tissue factor procoagulant acitiviry in myelomonocytic cells inoculated by the agent of human granulocytic ehrlichiosis. Thromb. Haemost. 83, 114-118.
32. BEUGNET, F., J.-L. MARIÉ (2009): Emerging arthropod-borne diseases of companion animals in Europe. Vet. Parasitol. 163, 298-305.
33. BIESIADA, G., J. CZEPIEL, M. R. LEŚNIAK, A. GARLICKI, T. MACH (2012): Lyme disease: review. Arch. Med. Sci. 8, 978-982.

34. BIRKENHEUER, A. J. (2012): Babesiosis. U: Infectious Diseases of the Dog and Cat (Green, C. E. ur.), 4. izdanje, Elsevier Saunders, St. Louis, Missouri. pp. 771-784.
35. BIRKENHEUER, J. (2009): Erlichia-Anaplasma. U Blackwell's Five Minute Veterinary Consult: Laboratory Test and Diagnostic Canine and Feline Procedures (Vaden, L. S., J. S. Knoll, F. W. K. Smith Jr., L. P. Tilley, ur.), Blackwell Publishing, Iowa. pp. 238-240.
36. BIRKENHEUER, A. J., M. G. LEVY, E. B. BREITSCHEWRDT (2003): Developement and evaluation of a semi-nested PCR for detection and differentiation of Babesia gibsoni (Asian genotype) and Babesia canis DNA in canine blood samples. J. Clin. Microbiol. 41, 4172-4177.
37. BIRKENHEUER, A. J., M. T. CORREA, M. G. LEVY, E. B. BREITSCHWERDT (2005): Geographic distribution of babesiosis among dogs in the United States and association with dog bites: 105 cases (2000-2003). J. Am. Vet. Med. Assoc. 227, 942-947.
38. BIRKNER, K., B. STEINER, C. RINKLER, Y. KERN, P. AICHELE, C. BOGDAN, F. D. VON LOEWENICH (2008): The elimination of *Anaplasma phagocytophilum* requires CD4+ T cells, but independent of Th1 cytokines and a wide spectrum of effector mechanisms. Eur. J. Immunol. 38, 3395-3410.
39. BISHOP, R., B. LAMBSON, C. WELLS, P. PANDIT, J. OSASO, C. NKONGE, S. MORZARIA, A. MUSOKE, V. NENE (2002): A cement protein of the tick Rhipicephalus appendiculatus, located in the secretory e cell granules of the type III salivary gland acini, induces strong antibody responses in cattle. Int. J. Parasitol. 31, 833-842.
40. BJÖRSDORFF, A. (2005): Part 2: Granulocytic ehrlichiosis: *Anaplasma phagocytophilum* comb. nov. (*E. phagocytophila* genogroup) infection. U: Arthropod-borne Infectious Diseases of the Dog and Cat (Shaw, S. E., M. J. Day ur.). Manson Publishing/The Veterinary Press, London. pp. 127-132.
41. BÖHM, M., A. L. LEISEWITZ, P. N. THOMPSON, J. P. SCHOEMAN (2006): Capillary and venous *Babesia canis rossi* parasitaemias and theri association with outcome of infection and circulatory compromise. Vet. Parasitol. 141, 18-29.
42. BONE, R. C., C. J. GROZDIN, R. A. BALK (1992): Sepsis-a new hypothesis for pathogenesis of the disease process. Chest 112, 235-243.

43. BOSNIĆ, S., L. GRADONI, C. KHOURY, M. MAROLI (2006): A review of leishmaniasis in Dalmatia (Croatia) and results from recent surveys on phlebotomine sandflies in three southern counties. Acta Trop. 99, 42-49.
44. BOWMAN, A. S., J. R. SAUER (2004): Tick salivary glands: function, physiology and future. Parasitology 129, S67-S81.
45. BOWMAN, A. S., J. W. DILLWITH, J. R. SAUER (1996): Tick salivary prostaglandins: Presence, origin and significance. Parasitol. Today 12, 388-396.
46. BOWMAN, D. D. (2011): Introduction to the alpha-proteobacteria: Wolbahia and Bartonella, Ricketssia, Brucella, Ehrlichia, and Anaplasma. Top. Companion Anim. Med. 26, 173-177.
47. BOWMAN, D. D., C. E. ATKINS (2009): Heartworm Biology, Treatment, and Control. Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract. 39, 1127-1158.
48. BOWMAN, D., S. E. LITTLE, L. LORENTZEN, J. SHIELDS, M. P. SULLIVAN, E. P. CARLIN (2009): Prevalence and geographic distribution of Dirofilaria immitis, Borellia burgdorferi, Ehrlichia canis, and Anaplasma phagocytophilum in dogs in United States: Results of a national clinic-based serologic survey. Vet. Parasitol. 160, 138-148.
49. BOOZER, A. L., D. K. MACINTIRE (2003): Canine babesiosis. Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract. 31, 885-904.
50. BOTTERO, E., M. POGGI, M. VIGLIONE (2006): Lesioni papulari indotte da *Leishmania* spp. in 8 cani giovani. Veterinaria. 1, 33-36.
51. BREITSCHWERDT, E. B., B. C. HEGARTY, S. I. HANCOCK (1998): Doxycycline hyclate treatment of experimental canine ehrlichiosis followed by challenge inoculation with two Ehrlichia canis strains. Antimicrob. Agents Chemother. 42, 362-368.
52. BRKLJAČIĆ, M. (2012): Upalni odgovor u pasa prirodno invadiranih protozoonom *Babesia canis canis*. Doktorska disertacija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Zagreb, Republika Hrvatska.
53. BRODIE, T. M., M. C. SMITH, R. V. MORRIS, R. G. TITUS (2007): Immunomodulatory effects of the Lutzomyia longipalpis salivary gland protein maxadilan on macrophages. Infect. Immun. 75, 2359-2365.

54. BROWN, W. C. (2012): Adaptive immunity to Anaplasma pathogens and immune dysregulation: implications for bacterial persistence. Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. 35, 241-252.
55. BRUCKBAUER, H. R., V. PREAC-MURSIC, R. FUCHS, B. WILSKE (1992): Cross-reactive proteins of *Borrelia burgdorferi*. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 11, 224-232.
56. BUCKNER, R. G., S. A. EWING (1984): Canine babesiosis. U: Kirk's Current Veterinary Therapy V (Kirk, R. W., ur.), W. B. Saunders, Philadelphia. pp. 984-985.
57. BULLA, C., R. KIOMI TAKAHIRA, J. ARAŰJO PESSOA JR., L. APARECIDA TRINCA, R. SOUZA LOPES, C. E. WIEDMEYER (2004): The relationship between the degree of thrombocytopenia and infection with Ehrlichia canis in an endemic area. Vet. Res. 35, 141-146.
58. BÜSCHER, G. (1988): The infection of various tick species with Babesia bigemina, its transmission and identification. Parasitol. Res. 74, 324-330.
59. BUTTON, C. (1979): Metabolic and electrolyte disturbances in acute canine babesiosis. J. S. Afr. Vet. Assoc. 175, 475-479.
60. CAMPBELL, E. M., M. BURDIN, S. HOPPLER, A. S. BOWMAN (2010): Role of an aquaporin in the sheep tick Ixodes ricinus: assessment as a potential target control. Int. J. Parasitol. 40, 15-23.
61. CARCY, B., E. PRECIGOUT, T. SCHETTERS, A. GORENFLOT (2006): Genetic basis for GPI-anchor merozoite surface antigen polymorphism of *Babesia* and resulting antigenic diversity. Vet. Parasitol. 138, 33-49.
62. CARDOSO, L., M. RODRIGUES, H. SANTOS, G. J. SCHOONE, P. CARRETA, E. VAREJAO, B. VAN BENTHEM, M. O. ALFONSO, c. ALVES-PIRES, S. J. SEMIAO-SANTOS, J. RODRIGUES, H. D. SCHALLIG (2004): Sero-epidemiological study of canine *Leishmania* spp. infection in the municipality of Alijo (Alto Douro, Portugal). Vet. Parasitol. 121, 21-32.
63. CARDOSO, L., YISASCHAR-MEKUZAS, Y., F. T. RODRIGUES, A. COSTA, J. MACHADO, D. DIZ-LOPES, G. BANETH (2010): Canine babesiosis in northern Portugal and molecular characterization of vector-borne co-infections. Parasites&Vectors 3, 27.
64. CARLYON, J. A., E. FIKRIG (2003): Invasion and survival strategies of *Anaplasma phagocytophilum*. Cell Microbiol. 5, 743-754.

65. CARRADE, D. D., J. E. FOLEY, D. L. BORJESSON, J. E. SYKES (2009): Canine Granulocytic Anaplasmosis: A Review. J. Vet. Inter. Med. 23, 1129-1141.
66. CARRET, C., F. WALAS, B. CAREY, N. GRANDE, E. PRECIGOUT, K. MOUBRI, T. P. SCHETTERS, A. GORENFLOT (1999): Babesia canis canis, Babesia canis vogeli, Babesia canis rossi: differentiation of three subspecies by a restriction fragment lenght polymorphism analysis on amplified small ribosomal RNA genes. J. Eukaryot. Microbiol. 46, 298-303.
67. CHANDRASHEKAR, R., C. A. MAINVILLE, M. J. BEALL, T. O'CONNOR, M. D. EBERTS, A. R. ALLEMAN, S. D. GAUNT, E. B. BREITSCHWERDT (2010): Performance of a commercially available in-clinic ELISA for detection of antibodies against *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia canis*, and *Borellia burgdorferi* and *Dirofilaria immitis* antigen in dogs. Am. J. Vet. Res. 71, 1443-1450.
68. CHAUVIN, A., E. MOREAU, S. BONNET, O. PLANTARD, L. MALANDRIN (2009): Babesia and its hosts: adaptation to long-lasting interactions as a way to achieve efficient transmission. Vet. Res. 40, 30.
69. CHELBI, I., D. P. BRADY, J. G. HAMILTON (2012): Courtship behaviour of Phlebotomus papatasi the sand fly vector of cutaneus leishmaniasis. Parasit. Vectors 5, 179.
70. CHRISTOVA, I., T. GLADNISHKA (2005): Prevalence of infection with *Francisella tularensis*, *Borellia burgdorferi* sensu lato and *Anaplasma phagocytophilum* in rodents from an endemic focus of tularemia in Bulgaria. Ann. Agric. Environ. Med. 12, 149-152.
71. CODNER, E. C., L. C. FARRIS-SMITH (1986): Characterization of the subclinical phase of ehrlichiosis in dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc. 189, 47-50.
72. COLLET, M. G. (2000): Survey of canine babesiosis in South Africa. J. S. Afr. Vet. Assoc. 71, 180-186.
73. COLWELL, D. D., F. DANTAS-TORRES, D. OTRANTO (2011): Vector-borne parasitic zoonoses: Emerging scenarios and new perspectives. Vet. Parasitol. 182, 14-21.
74. COURA, J. R., J. BORGES-PEREIRA (2012): Chagas disease. What is known and what should be improved: a systematic review. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 45, 286-296.

75. COUTO, C. G., L. LORENTZEN, M. J. BEALL, J. SHIELDS, N. BERTOLONE, J. I. COUTO, K. M. COUTO, S. NASH, J. SLACK, H. KVITKO, N. WESTENDORF,L. MARIN, M. C. IAZBIK, F. C. VICARIO, P. SANZ, R. RUAN (2010): Serological Study of Selected Vector-Borne Diseases in Shelter Dogs in Central Spain Using Point-of-Care Assays. Vector Borne Zoonotic Dis. 10, 885-888.
76. CRIADO-FORNELIO, A., A. MARTINEZ-MARCOS, A. BULING-SARAÑA, J. C. BARBA-CARRETERO (2003): Molecular studies on *Babesia*, *Theileria* and *Hepatozoon* in souther Europe. Part I: Epizootiological aspects. Vet. Parasitol. 113, 189-201.
77. CRNOGAJ, M. (2012): Oksidacijski stres i antioksidacijski status u pasa invadiranih protozoonom *Babesia canis canis*. Disertacija. Veterinarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu. Zagreb, Hrvatska.
78. CRNOGAJ, M., R. PETLEVSKI, V. MRLJAK, I. KIŠ, M. TORTI, N. KUČER, V. MATIJATKO, I. SAĆER, I. ŠTOKOVIĆ (2010): Malondialdehyde levels in serum of dogs infected with *Babesia canis*. Vet. Med.-Czech 4, 163-171.
79. CVETNIĆ, Ž. (2013): Bakterijske i gljivične zoonoze. Medicinska naklada, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb.
80. DAI, J., S. NARASIMHAN, L. ZHANG, L. LIU, P. WANG, E. FIKRIG (2010): Tick histamine release factor is critical for Ixodes scapularis engorgement and transmission of Lyme disease agent. PloS Pathog. doi: 10.1371/journal.ppat.1001205.
81. DAMAS, P., J. L. CANIVET, D. DE GROOTE, Y. VRINDTS, A. ALBERT, P. FRANCHIMONT, M. LAMY M (1997): Sepsis and serum cytokine concentrations. Crit Care Med. 25, 405-412.
82. DAMBACH, D. M., C. A. SMITH, R. M. LEWIS, T. J. VAN WINKLE (1997): Morphologic, immunohistochemical, and ultrastructural characterization of renal lesion in dogs putatively associated with *Borrelia burgdorferi* infection (1987-1992). Vet. Pathol. 34, 85-96.
83. DANTAS-TORRES, F. (2008): The brown dog tick, Rhipicephalus sanguineus (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): from taxonomy to control. Vet. Parasitol. 152. 173-185.
84. DAUGSCHIES, A., A. JOACHIM (2000): Eicosanoids in parasites and parasitic infections. Adv. Parasitol. 46, 181-240.

85. DAVOUST, B., A. KEUNDJIAN, V. ROUS, L. MAURIZI, D. PARZY (2005): Validation of chemoprevention of canine monocytic ehrlichiosis with doxycycline. Vet. Microbiol. 107, 279-283.
86. DAY, M. (2005): Interaction of the host immune system with arthropods and arthropod-brone infectious agents. U: Arthropod-borne Infectious Diseases of the Dog and Cat (Shaw, S. E., M. J. Day ur.). Manson Publishing/The Veterinary Press, London. pp. 30-40.
87. DAY, M. J. (2011): The immunopathology of canine vector-borne diseases. Parasit. Vectors 4:48.
88. DE FRANCA, I., L. SANTOS, T. MESQUITA, M. COLLARES-PEREIRA, S. BAPTISA, L. VIEIRA, I. VIANA, E. VALE, C. PRATES (2005): Lyme borreliosis in Portugal caused by *Borrelia lusitaniae*? Clinical report on the first patient with a positive skin isolate. Wien Klin. Wochenschr. 117, 429-432.
89. DE LA FUENTE, J., J. C. GARCIA-GARCIA, A. F. BARBET, E. F. BLOUIN, K. M. KOCAN (2004): Adhesion of outer membrane proteins containing tandem repeats of Anaplasma and Ehrlichia species (Rickettsiales: Anaplasmataceae) to tick cells. Vet. Microbiol. 98, 313-322.
90. DE OLIVEIRA, E. F., E. A. SILVA, A. E. CASARIL, C. E. FERNANDES, A. C. PARANHOS FILHO, R. M. GAMARRA, A. A. RIBEIRO, R. P. BRAZIL, A. G. OLIVEIRA (2013): Behavioural aspects of Lurzomya longipalpis (Diptera: Psychodidae) in urban area endemic for visceral leishmaniasis. J. Med. Entomol. 50, 277-284.
91. DEPAQUIT, J., M. GRANDADAM, F. FOUQUE, P. E. ANDRY, C. PEYREFITTE (2010): Arthropod-borne viruses transmitted by Phlebotomine sandlies in Europe: a review. Euro Surveill. 15, 19507.
92. DÉRUAZ, M., A. FRAUENSCHUH, A. L. ALESSANDRI, J. M. DIAS, F. M. COELHO, R. C. RUSSO, B. R. FERREIRA, G. J. GRAHAM, J. P. SHAW, T. N. WELLS, M. M. TEIXEIRA, C. A. POWER, A. E. PROUDFOOT (2008): Ticks produce highly selective chemokine binding proteins with antiinflammatory activity. J. Exp. Med. 205, 2019-2031.
93. DE SILVA, A. M., D. FISH, T. R. BURKOT, Y. ZHANG, E. FIKRIG (1997): OspA antibodies inhibit the acquisition of *Borrelia burgdorferi* by Ixodes ticks. Infect. Immun. 65, 3146-3150.

94. DE SILVA, A. M., S. R. TELFORD 3RD, L. R. BRUNET, S. W. BARTHOLD, E. FIKRIG (1996): *Borrelia burgdorferi* OspA is an arthropod-specific transmission-blocking Lyme disease vaccine. J. Exp. Med. 183, 271-275.
95. DESJEUX, P. (1996): Leishmaniasis. Publich health aspects and control. Clin. Dermatol. 14, 417-423.
96. DESJEUX, P. (2004): Leishmaniasis: current situation and new perspectives. Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. 27, 305-318.
97. DINIZ, P. P., E. B. BREITSCHWERDT (2012): *Anaplasma phagocytophilum* infection (Canine Granulocytotropic Anaplasmosis): U: Infectious Diseases of the Dog and Cat (Greene, C. E. ur.), 4. izdanje, Elsevier Saunders, St. Louis, Missouri. pp. 244-254.
98. DINIZ, P. P., H. S. DE MORAIS, E. B. BREITSCHWERDT, D. S. SCHWARTZ (2008): Serum cardiac troponin I concentration in dogs with ehrlichiosis. J. Vet. Intern. Med. 22, 1136-1143.
99. DOBEC, M., D. GOLUBIĆ, V. PUNDA-POLIĆ, F. KAEPPELI, M. SIEVERS (2009): *Rickettsia helvetica* in *Dermacentor reticulatus* ticks. Emerg. Infect. Dis. 15, 98-100.
100. DOMINGOS, M. C., M. TROTTA, A. BRIEND-MARCHAL, C. MEDAILLE (2011): Anaplasmosis in two dogs in France and molecular and phylogenetic characterization of *Anaplasma phagocytophilum*. Vet. Clin. Pathol. 40, 215-221.
101. DONATIEN, A., F. LESTOQUARD (1937): State of the present knowledge concerning rickettsiosis of animals. Arch. Inst. Pasteur Alger. 15, 142-187.
102. DOSTÁLOVÁ, A., P. VOLF (2012): Leishmania development in sand flies: parasite-vector interactions overview. Parasit. Vectors 5, 276.
103. DRYDEN, M. W., P. A PAYNE (2004): Biology and control of ticks infesting dogs and cats in North America. Vet. Ther. 5, 139-154.
104. DUMLER, J. S., N. C. BARAT, C. E. BARAT, J. S. BAKKEN (2007): Human granulocytic anaplasmosis and macrophage activation. Clin. Infect. Dis. 45, 199-204.
105. DUMLER, J. S., A. F. BARBET, C. P. BEKKER, G. A. DASCH, G. H. PALMER, S. C. RAY, Y. RIKIHISA, F. R. RURANGIRWA (2001): Reorganization of genera in the families *Rickettsiaceae* and *Anaplasmataceae* in the order *Rickettsiales*: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*,

Cowdria with *Ehrlicia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, description of six new species combination and designation of *Ehrlichia equi* and „HGE agent“ as synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 51, 2145-2165.

106. DUPREY, Z. H., F. J. STEURER, L. V. KIRCHHOFF, J. E. JACKSON, E. D. ROWTON, P. M. SCHANTZ (2006): Canine visceral leishmaniasis, United States and Canada, 2000-2003. Emerg. Infect. Dis. 12, 440-446.
107. DYACHENKO, V., N. PANTCHEV, H. J. BALZER, A. MEYERSEN, R. K. STRAUBINGER (2012): First case of Anaplasma platys infection in a dog from Croatia. Parasit. Vectors. 5, 49.
108. EGENVALL, A., A. BJÖERSDORFF, I. LILLIEHÖÖK, E. OLSSON ENGVALL, E. KARLSTAM, K. ARTURSSON, A. HEDHAMMAR, A. GUNNARSSON (1998): Early manifestations of granulocytic ehrlichiosis in dogs inoculated experimentally with a Swedish Ehrlichia species isolate. Vet. Rec. 143, 412-417.
109. EGENVALL, A. E., A. A. HEDHAMMAR, A. I. BJÖERSDORFF (1997): Clinical features and serology of 14 dogs affected by granulocytic ehrlichiosis in Sweden. Vet. Rec. 140, 222-226.
110. EGENVALL, A., I. LILLIEHÖÖK, A. BJÖERSDORFF, E. O. ENGVALL, E. KARLSTAM, K. ARTUSSON, M. HELDTANDER, A. GUNNARSSON (2000): Detection of granulocytic Ehrlichia species DNA by PCR in persistently infected dogs. Vet. Rec. 146, 186-190.
111. EMBERS, M. E., F. T. LIANF, J. K. HOWELL, M. B. JACOBS, J. E. PURCELL, S. J. NORRIS, B. J. JOHNSON, M. T. PHILIPP (2007): Antigenicity and recombination of VlsE, the antigenic variation protein of *Borrelia burgdorferi*, in rabbits, a host putatively resistan to long-term infection with this spirochete. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 50, 421-429.
112. ESCH, K. J., C. A. PETERSEN (2013): Transmission and Epidemiology of Zoonotic Protozoal Diseases of Companion Animals. Clin. Microbiol. Rev. 26, 58-85.
113. ESCHNER, A. K. (2008): Effect of passive immunoglobulin transfer on results of diagnostic tests for antibodies against *Borrelia burgdorferi* in pups born to a seropositive dam. Vet. Ther. 9, 184-191.

114. ESTRADA-PEÑA, A., V. NARANJO, K. ACEVEDO-WHITEHOUSE, A. J. MANGOLD, K. M. KOCAN, J. DE LA FUENTE (2009): Phylogeographic analysis reveals asociation of tick-borne pathogen, Anaplasma marginale, MSP1a sequences with ecological traits affecting tick vector performance. BMC Biol. 7,57.
115. EZEOKOLI, C. D. (1978): Some clinical and clinico-pathological findings in canine ehrlichiosis. Bull. Anim. Health Prod. Afr. 26, 23-27.
116. FAIMAN, R., O. KIRSTEIN, A. MONCAZ, H. GUETTA, A. WARBURG (2011): Studies on the flight patterns of foraging sand flies. Acta Trop. 120, 110-114.
117. FARAUT-GAMBARELLI, F., R. PIARROUX, M. DENIAU, B. GIUSIANO, P. MARTY, G. MICHEL, B. FAUGÈRE, H. DUMON (1997): *In vitro* and *in vivo* resistance of *Leishmania infantum* to meglumine antimoniate: a study of 37 strains collected from patients wth visceral leishmaniasis. Antimicrob. Agents Chemother. 41, 827-830.
118. FARIA, J. L., A. S. DAGNONE, T. D. MUNHOZ, C. F. JOÃO, W. A. PEREIRA, R. Z. MACHADO, M. TINUCCI-COSTA (2010): Ehrlichia canis morulae and DNA detection in whole blood and spleen aspiration samples. Rev. Bras. Parasitol. Vet. 19, 98-102.
119. FERASIN, L., D. KNIGHT (2005): Filarial infections. U: Arthropod-borne Infectious Diseases of the Dog and Cat (Shaw, S. E., M. J. Day ur.). Manson Publishing/The Veterinary Press, London. pp. 51-61.
120. FERREIRA, B. R., J. S. SILVA (1999): Successive tick infestation selectively promote a T-helper 2 cytokine profile in mice. Immunology 96, 434-439.
121. FERREIRA, B. R., M. J. SZABÓ, K. A. CAVASSANI, G. H. BECHARA, J. S. SILVA (2003): Antigens from *Rhipicephalus sanguineus* ticks elicits potent cell-mediated immune responses in resistant but not in susceptible animals. Vet. Parasitol. 115, 35-48.
122. FERRER, L., R. RABANAL, D. FONDEVILA, J. A. RAMOS, M. DOMINGO (1988): Skin lesions in canine leishmaniasis. J. Small Anim. Pract. 29, 381-388.
123. FIVAZ, B. H., T. N. PETNEY (1989): Lyme disease – a new disease in southern Africa? J. S. Afr. Vet. Assoc. 60, 155-158.
124. FOGGIE, A. (1951): Studies on the infectious agent of tick-borne fever in sheep. J. Pathol. Bacteriol. 63, 1-15.

125. FOLEY, J., N. DRAZENOVICH, C. M. LEUTENEGGER, B. B. CHOMEL (2007): Association between polyarthritis and thrombocytopenia and increased prevalence of vectorborne pathogens in Californian dogs. Vet. Rec. 160, 159-162.
126. FRANCETIĆ, I., B. BARŠIĆ, J. BEGOVAC, I. MARGAN (2003): Lijekovi za liječenje sustavnih infekcija. U: Farmakoterapijski priručnik (Vrhovac, B. ur.), 4. izdanje, Medicinska naklada, Zagreb. pp. 297-298.
127. FRANCETIĆ, I., I. MERĆEP (2003): Antimikrobni lijekovi. U: Interna medicina (Vrhovac, B., I. Francetić, B. Jakšić, B. Labar, B. Vucelić ur.), 3. izdanje, Naklada Ljevak, Zagreb. pp. 296-297.
128. FRANK, M. M., A. D. SCHREIBER, J. P. ATKINSON, C. J. JAFFE (1977): Pathopysiology of Immune Hemolytic Anemia. Ann. Intern. Med. 87, 210-222.
129. FRINK M., Y.C. HSIEH, C. HSIEH, H. PAPE, M. CHOUDHRY, M. SCHWACHA, I. H. CHAUDRY (2007): Keratinocyte-derived chemokine plays a critical role in the induction of systemic inflammation and tissue damage after trauma-hemorrhage. Shock 28, 576-581.
130. FRITZ, C. L. (2009): Emerging Tick-borne Diseases. Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract. 39, 265-278.
131. FUKUMOTO, S., H. SUZUKI, I. IGARASHI, X. XUAN (2005): Fatal experimental transplacental *Babesia gibsoni* infection in dogs. Int. J. Parasitol. 35, 1031-1035.
132. GRAMICCIA, M. (2011): Recent advances in leishmaniosis in pet animals: Epidemiology, diagnostics and anti-vectorial prophylaxis. Vet. Parasitol. 181, 23-30.
133. GRANICK, J. L., D. V. RENEER, J. A. CARLYON, D. L. BORJESSON (2008): *Anaplasma phagocytophilum* infects cells of the megakaryocytic lineage through sialylated ligands but fails to alter platelet production. J. Med. Microbiol. 57, 416-423.
134. GRAUER, G. F., E. C. BURGESS, A. J. COOLEY, J. H. HAGEE (1988): Renal lesions associated with *Borrelia burgdorferi* infection in a dog. J. Am. Vet. Med. Assoc. 193, 237-239.
135. GREENE, C. E., R. K. STRAUBINGER, S. A. LEVY (2012): Borreliosis. U: Infectious Diseases of the Dog and Cat (Greene, C. E. ur.), 4. izdanje, Elsevier Saunders, St. Louis, Missouri. pp. 447-465.

136. GREENE, R. T., R. L. WALKER, W. L. NICHOLSON, H. W. HEIDNER, J. F. LEVINE, E. C. BURGESS, M. WYAND, E. B. BREITSCHWERDT, H. A. BERKHOFF (1988): Imunoblot analysis of immunoglobulin G response to the Lyme disease agent (*Borrelia burgdorferi*) in experimentally and naturally exposed dogs. J. Clin. Microbiol. 26, 648-653.
137. GREIG, B., K. M. ASANOVICH, P. J. ARMSTRONG (1996): Geographic, clinical, serologic, and molecular evidence of granulocytic ehrlichiosis, a likely zoonotic diseases, in Minnesota and Winsconsin dogs. J. Clin. Microbiol. 34, 44-48.
138. GRIDEM, C. B., E. B. BREITSCHWERDT, P. C. PERKINS, L. D. CULLINS, T. J. THOMAS, B. C. HEGARTY (1999): Platelet-associated immunoglobulin (antiplatelet antibody) in canine Rocky Mountain spotted fever and ehrlichiosis. J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 35, 56-61.
139. GRIMM, D., K. TILLY, R. BYRAM, J. G. KRUM, D. M. BUESCHEL, T. G. SCHWAN, P. F. POLICASTRO, A. F. ELIAS, P. A. ROSA (2004): Outer-surface protein C of the Lyme disease spirochete: a protein induced in ticks for infection of mammals. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 101, 3124-3127.
140. GROVES, M. G., G. L. DENNIS, H. L. AMYX, D. L. HUXSOLL (1975): Transmission of Ehrlichia canis to dogs by ticks (Rhipicephalus sanguineus). Am. J. Vet. Res. 36, 937-940.
141. GRUNTAR, I., T. MALOVRH, R. MURGIA, M. CINCO (2001): Conversion of *Borrelia garinii* cystic forms to motile spirochetes in vivo. APMIS. 109, 383-388.
142. GUILLÉN LLERA, J. L., M. L. LÓPEZ GARCÍA, E. MARTÍN REINOSO, R. VIVAR GONZÁLEZ (2002): Differential serological testing by simultaneous indirect immunofluorescence antibody test in canine leishmaniosis and ehrlichiosis. Vet. Parasitol. 109, 185-190.
143. GUILPIN, V. O., C. SWARDSON-OLVER, L. NOSBISCH, R. G. TITUS (2002): Maxadilan, the vasodilator/immunomodulator from Lutzomyia longipalpis sand fly saliva, stimulates haematopoiesis in mice. Parasite Immunol. 24, 437-446.
144. GUSTAFSON, J. M., E. C. BURGESS, M. D. WACHAL, H. STEINBERG (1993): Intrauterine transmission of *Borrelia burgdorferi* in dogs. Am. J. Vet. Res. 54, 882-890.

145. HALL, L. R., R. G. TITUS (1995): Sand fly vector saliva selectively modulates macrophage functions that inhibit killing of *Leishmania major* and nitric oxid production. J. Immunol. 155, 3501-3506.
146. HALPERIN, J. J. (2009): Nervous system Lyme disease: diagnosis and treatment. Rev. Neurol. Dis. 6, 4-12.
147. HAMANO, K., H. GOHRA, H. NODA, T. KATOH, Y. FUJIMURA, N. ZEMPO, K. ESATO (1998): Increased serum interleukin-8: correlation with poor prognosis in patients with postoperative multiple organ failure. World J. Surg. 22, 1077-1081.
148. HARRUS, S., P. H. KASS, E. KLEMENT, T. WANER (1997): Canine monocytic ehrlichiosis: a retrospective study of 100 cases, and an epidemiological investigation of prognostic indicators for the diseases. Vet. Rec. 141, 360-363.
149. HARRUS, S., T. WANER (2011): Diagnosis of canine monocytotropic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): An overview. Vet. J. 187, 292-296.
150. HARRUS, S. T. WANER, Y. AVIDAR, E. BOGIN, H. PEH, H. BARK (1997): Serum protein alterations in canine ehrlichiosis. Vet. Parasitol. 66, 241-249.
151. HARRUS, S., T. WANER, A. KEYSARY, I. AROCH, H. VOET, H. BARK (1998): Investigation of splenic functions in canine monocytic ehrlichiosis. Vet. Immunol. Immunopathol. 62, 15-27.
152. HARRUS, S., T. WANER, I. AIZENBERG, H. BARK (1998): Therapeutic effect of doxycycline in experimental subclinical canine monocytic ehrlichiosis: evaluation of a 6-week course. J. Clin. Microbiol. 36, 2140-2142.
153. HARRUS, S., T. WANER, T. MARK NEER (2012): *Ehrlichia canis* infection. U: Infectious Diseases of the Dog and Cat (Greene, C. E. ur.), 4. izdanje, Elsevier Saunders, St. Louis, Missouri. pp. 227-238.
154. HÄSELBARTH, K., A. M. TENTER, V. BRADE, G. KRIEGER, K. P. HUNFELD (2007): First case of human babesiosis in Germany – Clinical presentation and molecular characterisation of the pathogen. Int. J. Med. Microbiol. 297, 297-204.
155. HAYASAKI, M. (1996): Re-migration of fifth-stage juvenile *Dirofilaria immitis* into pulmonary arteries after subcutaneous transplantation in dogs, cats, adn rabbits. J. Parasitol. 82, 835-837.

156. HEEB, H. L., M. J. WILKERSON, R. CHUN, R. R. GANTA (2003): Large granular lymphocytosis, lymphocyte subset inversion, thrombocytopenia, dysproteinemia and positive Ehrlichia serology in a dog. J. Am. Anim. Hosp. Assoc.39, 379-384.
157. HENDRICKX, G., R. LANCELOT (2010): A perspective on emerging mosquito and phlebotomine-borne diseases in Europe. Euro Surveill. 15, 19503.
158. HERWALDT, B. L., S. CACCIO, F. GHERLINZONI, H. ASPOCK, S. B. SLEMENDA, P. PICCALUGA, G. MARTINELLI, R. EDELHOFER, U. HOLLENSTEIN, G. POLETTI, S. PAMPIGLIONE, K. LOSCHENBERGER, S. TURA, N. J. PIENIAZEK (2003): Molecular characterization of a non-*Babesia divergens* organism causing zoonotic babesiosis in Europe. Emerg. Infect. Dis. 9, 942-948.
159. HIGUCHI, S., M. FUJIMORI, F. HOSHI, S. KAWAMURA, Y. YASUDA (1995): Development of *Babesia gibsoni* in the salivary glands of the larval tick *Rhipicephalus sanguineus*. J. Vet. Med. Sci. 57, 117-119.
160. HILTON, H., J. E. MADIGAN, M. ALEMAN (2008): Rhabdomyolysis Associated with *Anaplasma phagocytophilum* Infection in a Horse. J. Vet. Intern. Med. 22, 1061-1064.
161. HOCH, H., K. STRICKLAND (2008): Canine and Feline Dirofilariasis: Life Cycle, Pathophysiology, and Diagnosis. Compend. Contin. Educ. Vet. 30, 133-141.
162. HOCH, H., K. STRICKLAND (2008a): Canine and Feline Dirofilariasis: Prophylaxis, Treatment, and Complications of Treatment. Compend. Contin. Educ. Vet. 30, 146-152.
163. HORNOK, S., G. FÖLDVÁRI, V. ELEK, V. NARANJO, R. FARKAS, J. DE LA FUENTE (2008): Molecular identification of *Anaplasma marginale* and rickettsial endosymbionts in blood-sucking flies (*Diptera*: *Tabanidae*, *Muscidae*) and hard ticks (*Acari*: *Ixodidae*). Vet. Parasitol. 154, 354-359.
164. HOROWITZ, H. W., E. KILCHEVSKY, S. HABER, M. AQUERO-ROSENFELD, R. KRANWINKEL, E. K. JAMES, S. J. WONG, F. CHU, D. LIVERIS, I. SCHWARTZ (1998): Perinatal transmission of the agent of human granulocytic ehrlichiosis. N. Engl. J. Med. 339, 375-378.

165. HOVIUS, K. E. (2005): Borreliosis. U: U: Arthropod-borne Infectious Diseases of the Dog and Cat (Shaw, S. E., M. J. Day ur.). Manson Publishing/The Veterinary Press, London. pp. 100-109.
166. HOVIUS, K. E., L. A. M. STARK, N. M. C. BLEUMINK-PLUYM, I. VAN DER POL, N. VERBEEK-DE KRUIF, S. G. T. RIJPKEMA, L. M. SCHOULS, D. J. HOUWERS (1999): Presence and distribution of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in internal organs and skin of naturally infected symptomatic and asymptomatic dogs, as detected by polymerase chain reaction. Vet. Q. 21, 54-58.
167. HUANG, J., M. LIN, X. WANG, T. KIKUCHI, H. MOTTAZ, A. NORBECK, Y. RIKIHISA (2008): Proteomic analysis of and immune responses to Ehrlichia chafeensis lipoproteins. Infect. Immun. 76, 3405-3414.
168. IMAMURA, S., I. DA SILVA VAZ JUNIOR, M. SUGINO, K. OHASHI, M. ONUMA (2005): A serine protease inhibitor (serpin) from Haemaphysalis longicornis as an anti-tick vaccine. Vaccine 23, 1301-1311.
169. IKEDA-GARCIA, F. A., R. S. LOPES, F. J MARQUES, V. M. DE LIMA, C. K. MORINISHI, F. L. BONELLO, M. F. ZANETTE, S. H. PERRI, M. M. FEITOSA (2007): Clinical and parasitological evaluation of dogs naturally infected by *Leishmania chagasi* submitted to treatment with meglumine antimonate. Vet. Parasitol. 143, 254-259.
170. IRWIN, P. (2005): Babesiosis and cytauxzoonosis. U: Arthropod-borne Infectious Diseases of the Dog and Cat (Shaw, S. E., M. J. Day ur.). Manson Publishing/The Veterinary Press, London. pp. 63-77.
171. IRWIN, P. J. (2010): Canine babesiosis. Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract. 40, 1141-1156.
172. IRWIN, P. J., G. W. HUTCHINSON (1991): Clinical and pathological findings of Babesia infection in dogs. Aust. Vet. J. 68, 204-209.
173. IQBAL, Z., W. CHAICHANASIRIWITHAYA, Y. RIKIHISA (1994): Comparsion of PCR with other tests for early diagnosis of canine ehrlichiosis. J. Clin. Microbiol. 32, 1658-1662.
174. JACOBSON, L. S. (2006): The South African form of severe and complicated canine babesiosis: clinical advances 1994-2004. Vet. Parasitol. 138, 126-139.

175. JACOBSON, L. S., I. A. CLARK (1994): The patophysiology of canine babesiosis: new approaches to an old puzzle. J. S. Afr. Vet. Assoc. 65, 134-145.
176. JACOBSON, L. S., R. G. LOBETTI (1996): Rhabdomyolysis as a complication of canine babesiosis. J. Small Anim. Pract. 37, 286-291.
177. JACOBSON, L. S., R. G. LOBETTI, P. BECKER, F. REYERS, T. VAUGHAN-SCOTT (2002): Nitric oxide metabolites in naturally occuring canine babesiosis. Vet. Parasitol. 104, 27-41.
178. JACOBSON, L. S., R. G. LOBETTI, T. VAUGHAN-SCOTT (2000): Blood pressure changes in dogs with babesiosis. J. S. Afr. Vet. Assoc. 71, 14-20.
179. JAENSON, T. G. T., J. K. JENSEN (2007): Records of ticks (Acari, Ixodidae) from the Faroe islands. Norw. J. Entomol. 54, 11-15.
180. JAVED S., F. KHAN, M. RAMIREZ-FORT, S. K. TYRING (2013): Bites and mites: prevention and protection of vector-borne diseases. Curr. Opin. Pediatr. [Epub ahead of print].
181. JEFFERIES, R., U. RYAN, P. IRWIN (2007): PCR-RFLP for detection and differentiation of the canine piroplasm species and its use with filter paper-based technologies. Vet. Parasitol. 144, 20-27.
182. JENSEN, J., D. SIMON, H. M. ESCOBAR, J. T. SOLLER, J. BULLERDIEK, P. BEELITZ, K. PFISTER, I. NOLTE (2007): *Anaplasma phagocytophilum* in Dogs in Germany. Zoonoses Public Health 54, 94-101.
183. JENSENIUS, M., P. PAROLA, D. RAOULT (2006): Threats to international tavellers posed by tick.borne diseases. Travel Med. Infect. Dis. 4, 4-13.
184. JOHNS, J. L., K. C. MACNAMARA, N. J. WALKER, G. M. WINSLOW, D. L. BORJESSON (2009): Infection with *Anaplasma phagocytophilum* Induces Multilineage Alterations in Hematopoietic Progenitor Cells and Peripheral Blood Cells. Infect. Immun. 77, 4070-4080.
185. JOHNSON, E. M., S. A. EWING, R.W. BARKER, J. C. FOX, D.W. CROW, K. M. KOCAN (1998): Experimental transmission of Ehrlichia canis (Rickettsiales: Ehrlichieae) by Dermacentor variabilis (Acari: Ixodidae). Vet. Parasitol. 74, 277-288.
186. JONES, K. E., N. G. PATEL. M. A. LEVY, A. STOREYGARD, D. BALK, J. L. GITTLEMAN, P. DASZAK (2008): Global trends in emerging infectious diseases. Nature. 451, 990-994.

187. KAKOMA, I., R. D. HANSEN, B. E. ANDERSON, T. A. HANLEY, K. G. SIMS, L. LIU, C. BELLAMY, M. T. LONG, B. K. BAEK (1994): Cultural, molecular, and immunological characterization of the etiologic agent for atypical canine ehrlichiosis. J. Clin. Microbiol. 32, 170-175.
188. KAMHAWI, S. (2000): The biological and immunomodulatory properties of sand fly saliva and its role in the establishment of Leishmania infections. Microbes Infect. 2, 1765-1773.
189. KATAVOLOS, P., P. M. ARMSTRONG, J. E. DAWSON, S. R. TELFORD 3RD (1998): Duration of tick attachment required for transmission of granulocytic ehrlichiosis. J. Infect. Dis. 177, 1422-1455.
190. KATZ, O., J. N. WAITUMBI, R. ZER, A. WARBURG (2000): Adenosine, AMP, and protein phosphatase activity in sandfly saliva. Am. J. Trop. Med. Hyg. 62, 145-150.
191. KAZIMÍROVÁ, M., V. JANCINOVÁ, M. PETRÍKOVÁ, P. TAKÁC, M. LABUDA, R. NOSÁL' (2002): An inhibitor of thrombin-stimulated blood platelet aggregation from the salivary glands of the hard tick Ambylomma variegatum (Acari: Ixodidae). Exp. Appl. Acarol. 28, 97-105.
192. KEESING, F., M. H. HERSH, M. TIBBETTS, D. J. MCHENRY, S. DUERR, J. BRUNNER, M. KILLILEA, K. LOGIUDICE, K. A. SCHMIDT, R. S. OSTFELD (2012): Reservoir competence of vertebrate hosts for *Anaplasma phagocytophilum*. Emerg. Infect. Dis. 18, 2013-2016.
193. KELLER, N., L. S. JACOBSON, M. NEL, M. DE CLERQ, P. N. THOMPSON, J. P. SCHOEMAN (2004): Prevalence and risk factors of hypoglycaemia in virulent canine babesiosis. J. Vet. Intern. Med. 18, 265-270.
194. KEMPERMAN, M., D. NEITZEL, K. JENSEN, J. GORLIN, E. PERRY, T. MYERS, T. MILEY, J. MCQUISTON, M. E. EREMEEVA, W. NICHOLSON, J. SINGELTON, J. ADJEMIAN (2008): *Anaplasma phagocytophilum* Transmitted Through Blood Transfusion – Minnessota, 2007. MMWR Morb. Mortal. Wkly, Rep. 57, 1145-1148.
195. KEMPF, F., T. MEEÛS, C. ARNATHAU, B. DEGEILH, K. D. MCCOY (2009): Assortative pairing in Ixodes ricinus (Acari: Ixodidae), the European vector of Lyme borreliosis. J. Med. Entomol. 46, 471-474.
196. KETTNER, F., F. REYERS, D. MILLER (2003): Thrombocytopaenia in canine babesiosis and its clinical usefulness. J. S. Afr. Vet. Assoc. 74, 63-68.

197. KILLICK-KENDRICK, R. (1999): The biology and control of phlebotomine flies. Clin. Dermatol. 17, 279-289.
198. KIM H.Y., J. MOTT, N. ZHI, T. TAJIMA, Y. RIKIHISA (2002): Cytokine Gene Expression by Peripheral Blood Leukocytes in Horses Experimentally Infected with *Anaplasma phagocytophila*. Clin Diagn Lab Immunol. 9, 1079-1084.
199. KIM, J. Y., S. H. CHO, H. N. JOO, M. TSUJI, S. R. CHO, I. J. PARK, G. T. CHUNG, J. W. JU, H. I. CHEUN, H. W. LEE, Y. H. LEE, T. S. KIM (2007): First case of human babesiosis in Korea: detection and characterization of a novel type of *Babesia* sp. (KO1) similar to ovine *Babesia*. J. Clin. Microbiol. 45, 2084-2087.
200. KIŠ, I. (2007): Primjena kliničkog sustava bodovanja u procjeni prognoze ishoda babezioze u pasa. Disertacija. Veterinarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu. Zagreb, Hrvatska.
201. KITOH, K., H. KATOH, H. KITAGAWA, M. NAGASE, N. SASAKI, Y. SASAKI (2001): Role of histamine in heartworm extract-induced shock in dogs. Am. J. Vet. Res. 62, 770-774.
202. KITTLESON, M. D. (1999): Heartworm infestation and disease (dirofilariasis). U: Small Animal Cardiovascular Medicine (Kittleson, M. D., R. D. Kienle ur.), Mosby, St. Louis. pp. 370-401.
203. KJEMTRUP, A. M., K. WAINWRIGHT, M. MILLER, B. L. PENZHORN, R. A. CARRENO (2006): *Babesia conradae*, sp. nov., a small canine *Babesia* identified in California. Vet. Parasitol. 138, 103-111.
204. KOHN, B., D. GALKE, P. BEELITZ, K. PFISTER (2008): Clinical features of canine granulocytic ehrlichiosis in 18 naturally infected dogs. J. Vet. Intern. Med. 22, 1289-1295.
205. KOHN, B., C. SILAGHI, D. GALKE, G. ARNDT, K. PFISTER (2011): Infections with *Anaplasma phagocytophilum* in dogs in Germany. Res. Vet. Sci. 91, 71-76.
206. KORDICK, S. K., E. B. BREITSCHWERDT, B. C. HEGARTY, K. L. SOUTHWICK, C. M. COLITZ, S. I. HANCOCK, J. M. BRADLEY, R. RUMBOUGH, J. T. MCPHERSON, J. N. MACCORMACK (1999): Coinfection with Multiple Tick-Borne Pathogens in a Walker Hound Kennel in North Carolina. J. Clin. Microbiol. 37, 2631-2638.

207. KOTANI, T., K. G. POWERS (1982): Developmental stages of *Dirofilaria immitis*. Am. J. Vet. Res. 43, 2199-2206.
208. KOTSYFAKIS, M., A. SÁ-NUNES, I. M. FRANCISCHETTI, T. N. MATHER, J. F. ANDERSEN, J. M. RIBEIRO (2006): Antiinflammatory and immunosupressive activity of sialostatin L, a salivary cystatin from the tick Ixodes scapularis. J. Biol. Chem. 281, 26298-26307.
209. KOVÁR, L., J. KOPECKÝ, B. RÍHOVÁ (2002): Salivary gland extract from *Ixodes ricinus* tick modulates the host immune response towards the Th2 cytokine profile. Parasitol. Res. 88, 1066-1072.
210. KRČMAR, S. (2012): Hard ticks (Acari, Ixodidae) of Croatia. ZooKeys 234, 19-57.
211. KRUPKA, I., R. K. STRAUBINGER (2010): Lyme Borreliosis in Dogs and Cats: Background, Diagnosis, Treatment and Prevention of Infections with *Borrelia burgdorferi* sensu stricto. Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract. 40, 1103-1119.
212. KUEHN, N. F., S. D. GAUNT (1985): Clinical and hematologic findings in canine ehrlichiosis. J. Am Vet. Med. Assoc. 186, 355-358.
213. KUMAGAI, Y., H. HUANG, Y. RIKIHISA (2008): Expression and porin activity of P28 and OMP-1F during intracellular Ehrlichia chaffeensis developement. J. Bacteriol. 190, 3597-3605.
214. LAAKSONEN, S., J. PUSENIUS, J. KUMPULA, A. VENÄLÄINEN, R. KORTET, A. OKSANEN, E. HOBERG (2010): Climate change promotes the emergence of serious disease outbreaks of filaroid nematodes. Ecohealth doi: 10.1007/s10393-010-0308-z.
215. LATROFA, M. S., S. WEIGL, F. DANTAS-TORRES, G. ANNOSCIA, D. TRAVERSA, E. BRIANTI, D. OTRANTO (2012): A multiplex PCR for the simultaneous detection of species of filarioids infesting dogs. Acta Trop. 122, 150-154.
216. LEDERBERG, J., R. E. SHOPE, S. C. OAKS JR. (1992): Emerging infections: microbial threats to health in the United States. National Academy Press. Washington DC.
217. LEVY, S. A. (2002): Use of a C6 ELISA test to evaluate theefficacy of a whole-cell bacterin for the prevention of naturally transmitted canine *Borrelia burgdorferi* infection. Vet. Ther. 3, 420-424-

218. LEVY, S. A., P. H. DURAY (1988): Complete heart block in a dog seropositive for *Borrelia burgdorferi*. Similarity to human Lyme carditis. J. Vet. Intern. Med. 2, 138-144.
219. LEWIS JR., G. E., M. RISTIC, R. D. SMITH, T. LINCOLN, E. H. STEPHENSON (1977): The brown dog tick Rhipicephalus sanguineus ant the dog as experimental hosts of Ehrlichia canis. Am. J. Vet. Res. 38, 1953-1955.
220. LEHTINEN, L. E., A. J. BIRKENHEUER, R. E. DROLESKY, P. J. HOLMAN (2008): In vitro cultivation of a newly recognised *Babesia* sp. in dogs in North Carolina. Vet. Parasitol. 151, 150-157.
221. LEIBY, D. A., A. P. CHUNG, R. G. CABLE, J. TROUERN-TREND, J. MCCULLOUGH, M. J. HOMER, L. D. REYNOLDS, R. L. HOUGHTON, M. J. LODES, D. H. PERSING (2002): Relationship between tick bites and the seroprevalence of Babesia microti and Anaplasma phagocytophila (previously Ehrlichia sp.) in blood donors. Transfusion 42, 1585-1591.
222. LIANG, F. T., M. T. PHILIPP (1999): Analysis of antibody response to invariable regions of VlsE, the variable surface antigen of *Borrelia burgdorferi*. Infect. Immun. 67, 6702-6706.
223. LIANG, F. T., R. H. JACOBSON, R. K. STRAUBINGER, A. GROOTERS, M. T. PHILIPP (2000): Characterization of a *Borrelia burgdorferi* VlsE invariable region useful in canine Lyme disease serodiagnosis by enzyme-linked immunosorbent assay. J. Clin. Microbiol. 38, 4160-4166.
224. LICHTENFELS, J. R., P. A. PILITT, T. KOTANI, K. G. POWERS (1985): Morphogenesis of developmental stages of *Dirofilaria immitis* (Nematoda) in the dog. Proc. Helm. Soc. Wash. 52, 98-113.
225. LITTLE, S. E. (2010): Ehrlichiosis and Anaplasmosis in Dogs and Cats. Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract. 40, 1121-1140.
226. LITTLE, S. E., S. R. HEISE, B. L. BLAGBURN, S. M. CALLISTER, P. S. MEAD (2010): Lyme borreliosis in dogs and humans in the USA. Trends Parasitol. 26, 213-218.
227. LITTMAN, M. P. (2003): Canine borreliosis. Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract. 33, 827-862.
228. LITTMAN, M. P., R. E. GOLDSTEIN, M. A. LABATO, M. R. LAPPIN, G. E. MOORE (2006): ACVIM Small Animal Consensus Statement on Lyme

Disease in Dogs: Diagnosis, Treatment, and Prevention. J. Vet. Intern. Med. 20, 422-434.

229. LOBETTI, R. G. (1998): Canine babesiosis. Comp. Cont. Educ. Pract. Vet. 20, 418-431.
230. LOBETTI, R. (2000): Canine babesiosis. U: BSAVA Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine (Day, M. J., A. Mackin, J. Littlewood ur.), British Small Animal Veterinary Association, Gloucester. pp. 85-91.
231. LOK, J. B. (1988): *Dirofilaria* sp.: taxonomy and distribution. U: Dirofilariasis (Boreham, P. F. L., R. B. Atwell ur.), CRC Press, London. pp. 1-28.
232. MADIGAN, J. E., D. GRIBBLE (1987): Equine ehrlichiosis in northern California: 49 cases (1968-1987). J. Am. Vet. Med. Assoc. 190, 445-448.
233. MAIA, C., L. CAMPINO (2008): Methods for diagnosis of canine leishmaniasis and immune response to infection. Vet. Parasitol. 158, 274-287.
234. MANNA, L., S. REALE, F. VITALE, E. PICILLO, L. M. PAVONE, A. E. GRAVINO (2008): Real-time PCR assay in *Leishmania*-infected dogs treated with meglumin antimonate and allopurinol. Vet. J. 177, 279-282.
235. MAZEPA, A. W., L. B. KIDD, K. M. YOUNG, L. A. TREPANIER (2010): Clinical Presentation of 26 *Anaplasma phagocytophilum*-Seropositive Dogs Residing in an Endemic Area. J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 46, 405-412.
236. MARETZKI, C. H., D. J. FISHER, C. E. GREENE (1994): Granulocytic ehrlichiosis and meningitis in a dog. J. Am. Vet. Med. Assoc. 205, 1554-1556.
237. MAROLI, M., L. ROSSI, R. BALDELLI, G. CAPELLI, E. FERROGLIO, C. GENCHI, M. GRAMICCIA, M. MORTARINO, M. PIETROBELLI, L. GRADONI (2008): The nortward spread of leishmaniasis in Italy: evidence from retrospective and ongoing studies on the canine reservoir and phlebotomine vectors. Trop. Med. Int. Health. 13, 256-264.
238. MARTINOD, S., N. LAURENT, Y. MOREAU (1986): Resistance and immunity of dogs against *Babesia canis* in an endemic area. Vet. Parasitol. 19, 245-254.
239. MARTINSEN, E., S. PERKINS, J. SCHALL (2008): A three-genome phylogeny of malaria parasites (*Plasmodium* and closely related genera): Evolution of life-history traits and host switches. Mol. Phylogenet. Evol. 47, 261-273.

240. MÁTHÉ, A., K. VÖRÖS, L. PAPP, J. REICZIGEL (2006): Clinical manifestations of canine babesiosis in Hungary (63 cases). Acta Vet. Hung. 54, 367-385,
241. MATIJATKO, V. (2003): Reaktanti akutne faze u pasa invadiranih protozoonom *Babesia canis* liječenih imidokarb dipropionatom. Disertacija. Veterinarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu. Zagreb. Hrvatska.
242. MATIJATKO, V., D. ŽUBČIĆ, Z. ŠIMEC (1998): Autoimunosna hemolitička anemija pasa. Vet. stanica 29, 259-267.
243. MATIJATKO, V., I. KIŠ, M. TORTI, M. BRKLJAČIĆ, N. KUČER, R. BARIĆ RAFAJ, D. GRDEN, T. ŽIVIČNJAK, V. MRLJAK (2009): Septic shock in canine babesiosis. Vet. Parasitol. 162, 263-270.
244. MATIJATKO, V., I. KIŠ, M. TORTI, M. BRKLJAČIĆ, R. BARIĆ RAFAJ, Z. ŽVORC, V. MRLJAK (2010): Systemic inflammatory response syndrome and multiple organ dysfunction syndrome in canine babesiosis. Vet. Arhiv 80, 611-626.
245. MATIJATKO, V., M. TORTI, T. P. SCHETTERS (2012): Canine babesiosis in Europe: how many diseases? Trens Parasitol. 28, 99-105.
246. MATIJATKO, V., V. MRLJAK, I. KIŠ, N. KUČER, J. FORŠEK, T. ŽIVIČNJAK, Ž. ROMIĆ, Z. ŠIMEC, J. J. CERON (2007): Evidence of an acute phase response in dogs naturally infected with Babesia canis. Vet. Parasitol. 144, 242-250.
247. MATJILA, P. T., A. M. NIJHOF, A. TAOUFIK, D. HOUWERS, E. TESKE, B. L. PENZHORN, T. DE LANGE, F. JONGEJAN (2005): Autochtonous canine babesiosis in The Netherlands. Vet. Parasitol. 131, 23-29.
248. MATSUMOTO, K., H. INOKUMA, K. OHNO, T. ONISHI (2001): Effects of salivary gland extract from *Rhipicephalus sanguineus* on immunoglobulin class productivity of canine peripheral blood lymphocytes. J. Vet. Med. Sci. 63, 325-328.
249. MATSUMOTO, K., H. INOKUMA, M. OKUDA, T. ONISHI (2003): Effects of salivary gland extract from *Rhipicephalus sanguineus* on IgG subclass production and cytokin mRNA expression in mononuclear cells of canine peripheral blood. J. Vet. Med. Sci. 65, 137-140.
250. MAVROMATIS, K., C. K. DOYLE, A. LYKIDIS, N. IVANOVA, M. P. FRANCINO, P. CHAIN, M. SHIN, S. MALFATTI, F. LARIMER, A. COPELAND,

J. C. DETTER, M. LAND, P. M. RICHARDSON, X. Y. JU, D. H. WALKER, J. W. MCBRIDE, N. C. KYRPIDES (2006): The genome of the obligately intracellular bacterium Ehrlichia canis reveals themes of complex membrane structure and immune evasion strategies. J. Bacteriol. 188, 4015-4023.

251. MAYER, I. (2012): Citokini u serumu pasa prirodno invadiranih protozoonom *Babesia canis canis*. Disertacija. Veterinarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu. Zagreb, Hrvatska.
252. MAYER-SCHOLL, A., P. AVERHOFF, A. ZYCHLINSKY (2004): How do neutrophils and pathogens interact?. Curr. Opin. Microbiol. 7, 62-66.
253. MBOW, M. L., J. A. BLEYENBERG, L. R. HALL, R. G. TITUS (1998): Phlebotomus papatasi sand fly salivary gland lysate down-regulates Th1, but up-regulates Th2, response in mice infected with Leishmania major. J. Immunol. 161, 5571-5577.
254. MCCALL, J. W., C. GENCHI, L. H. KRAMER, J. GUERRERO, L. VENCO (2008): Heartworm disease in animals and humans. Adv. Parasitol. 66, 193-285.
255. MCCLURE, J. C., M. L. CROTHERS, J. J. SCHAEFER, P. D. STANLEY, G. R. NEEDHAM, S. A. EWING, R. W. STICH (2010): Efficacy of a doxycycline treatment regimen initiated during three different phases of experimental ehrlichiosis. Antimicrob. Agents Chemother. 54, 5012-5020.
256. MCDUFFIE, J. E., M. SABLAD, J. MA, S. SNOOKS (2010): Urinary parameters predictive of cisplatin-induced acute renal injury in dogs. Cytokine. 52(3), 156-162.
257. MCHAFFIE, J. (2012): *Dirofilaria immitis* and *Wolbachia pipientis*: a thorough investigation of the symbiosis responsible for canine heartworm disease. Parasitol. Res. 110, 499-502.
258. MCKECHNIE, D. B., K. S. SLATER, J. E. CHILDS, R. F. MASSUNG, C. D. PADDOCK (2000): Survival od Ehrlichia chaffeensis in refrigerated, ADSOL-treated RBCs. Transfusion 40, 1041-1047.
259. MEDLOCK, J. M., K. M. HANSFORD, F. SCHAFFNER, V. VERSTEIRT, G. HENDRICKX, H. ZELLER, W. VAN BORTEL (2012): A Review of the Invasive Mosquitoes in Europe: Ecology, Public Health Risks, and Control Options. Vector Borne Zoonotic Dis. 12, 435-447.

260. MEJRI, N., B. RUTTI, M. BROSSARD (2002): Immunosupressive effects of Ixodes ricinus tick saliva or salivary gland extracts on innate and acquired immune response of BALB/c mice. Parasitol. Res. 88, 192-197.
261. MEJRI, N., N. FRANSCINI, B. RUTTI, M. BROSSARD (2001): Th2 polarization of the immune response of BALB/c mice to *Ixodes ricinus* instars, importance of several antigens in activation of specific Th2 subpopulations. Parasite. Immunol. 23, 61-69.
262. MIRÓ, G., L. CARDOSO, M. G. PENNISI, G. OLIVA, G. BANETH (2008): Canine leishmaniosis – new concepts and insights on an expanding zoonosis: part two. Trends Parasitol. 24, 371-377.
263. MIŠČEVIĆ, Z., M. MILUTINOVIĆ, V. IVOVIĆ (1998): Fauna and distribution of sandflies (Diptera, Phlebotomidae) in Yugoslavia, Croatia, Macedonia and their role in the transmission of parasitis and viral diseases. Acta Vet. (Beograd) 48, 163-172.
264. MOLLS, R. R., V. SAVRANSKY, M. LIU, S. BEVANS, T. MEHTA, R. M. TUDER, L. S. KING, H. RABB (2006): Keratinocyte-derived chemokine is an early biomarker of ischemic acute kidney injury. Am. J. Physiol. Renal Physiol. 290, 1187-1193.
265. MONTEIRO, R. Q., A. R. REZAIE, J. S. BAE, E. CALVO, J. F. ANDERSEN, I. M. FRANCISCHETTI (2008): Ixolaris binding to factor X reveals a precursor state of factor Xa heparin-binding exosite. Protein Sci. 17, 146-153.
266. MORCHÓN, R., E. CARRETÓN, J. GONZÁLEZ-MIGUEL, I. MELLADO-HERNÁNDEZ (2012): Heartworm Disease (*Dirofilaria immitis*) and Their Vectors in Europe – New Distribution Trends. Front Physiol. 3, 196.
267. MOREAU, Y., S. MARTINOD, G. FAYET (1988): Epidemiologic and immunoprophylactic aspects of canine babesiosis in France. U: Babesiosis in Domestic Animals and Man (Ristic, M. ur.), Boca Raton, Florida. pp. 191-196.
268. MUIR, P., W. E. OLDENHOFF, A. P. HUDSON, P. A. MANLEY, S. L. SCHAEFER, M. D. MARKEL, Z. HAO (2007): Detection of DNA from a range of bacterial species in the knee joints of dogs with inflammatory knee arthritis and associated degenerative anterior cruciate ligament rupture. Microb. Pathogen. 42, 47-55.
269. MULENGA, A., C. SUGIMOTO, Y. SAKO, K. OHASHI, A. MUSOKE, M. SHUBASH, M. ONUMA (1999): Molecular characterization of a

Haemaphysalis longicornis tick salivary gland-associated 29-kilodalton protein and its effect as vaccine against tick infestation in rabbits. Infect. Immun. 67, 1652-1658.

270. MÜLLEGGER, R. R., M. GLATZ (2008): Skin manifestations of lyme borreliosis: diagnosis and management. Am. J. Clin. Dermatol. 9, 355-368.
271. MÜLLER-DOBLIES, U. U., S. S. MAXWELL, V. D. BOPPANA, M. A. MIHALYO, S. J. MCSORLEY, A. T. VELLA, A. J. ADLER, S. K. WIKEL (2007): Feeding by the tick, Ixodes scapularis, causes CD4(+) T cells responding to cognate antigen to develop the capacity to express IL-4. Parasite Immunol. 29, 485-499.
272. MYLONAKIS, M. E., A. F. KOUTINAS, E. B. BREITSCHWERDT, B. C. HEGARTY, C. D. BILLINIS, L. S. LEONTIDES, V. S. KONTOS (2004): Chronic canine ehrlichiosis (Ehrlichia canis): a retrospective study of 19 cases. J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 40, 174-184.
273. NAFE, L. A. (1988): Selected neurotoxins. Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract. 18, 593-604.
274. NARASIMHAN, S., R. A. KOSKI, B. BEAULIEU, J. F. ANDERSON, N. RAMAMOORTHI, F. KANTOR, M. CAPPELLO, E. FIKRIG (2002): A novel family of anticoagulants from the saliva of Ixodes scapularis. Insect. Mol. Biol. 11, 641-650.
275. NAUCKE, T. J., B. MENN, D. MASSBERG, S. LORENTZ (2008): Sandflies and leishmaniasis in Germany. Parasitol. Res. 103, S65-S68.
276. NAUMOV, R. L. (1999): The exploratory activity of the Borrelia-infected taiga tick Ixodes persulcatus (članak na ruskom jeziku). Parazitologija 33, 251-256.
277. NEEDHAM, G. R., P. D. TEAL (1991): Off-host physiological ecology of ixodid ticks. Annu. Rev. Entomol. 36, 659-681.
278. NEER, T. M., E. B. BREITSCHWERDT, R. T. GREENE, M. R. LAPPIN (2002): Consensus statement on ehrlichial diseases of small animals from the infectious diseases study group of the ACVIM. American College of Veterinary Internal Medicine. J. Vet. Intern. Med. 16, 309-315.
279. NEFEDOVA, V. V., E. I. KORENBERG, N. B. GORELOVA, Y. V. KOVALEVSKII (2004): Studies on the transovarial transmission of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in the taiga tick *Ixodes persulcatus*. Folia Parasitol. (Praha) 51, 67-71.

280. NEL, M., R. G. LOBETTI, N. KELLER, P. N. THOMPSON (2004): Prognostic value of blood lactate, blood glucose, and hematocrit in canine babesiosis. J. Vet. Intern. Med. 18, 471-476.
281. NIETO, N. C., J. FOLEY (2008): Evaluation of squirrels (Rodentia: Sciuridae) as ecologically significant hosts for *Anaplasma phagocytophilum* in California. J. Med. Entomol. 45, 763-769.
282. NIETO, N. C., J. FOLEY (2009): Meta-analysis of coinfection with *Borellia burgdorferi* and *Anaplasma phagocytophilum* in humans, domestic animals, wildlife, and *Ixodes ricinus*-complex ticks. Vector Borne Zoonotic Dis. 9, 93-102.
283. NYARKO, E., D. J. GRAB, J. S. DUMLER (2006): *Anaplasma phagocytophilum*-infected neutrophils enhance transmigration of *Borellia burgdorferi* across the human blood brain barrier in vitro. Int. J. Parasitol. 36, 601-605.
284. NYINDO, M., D. L. HUXSOLL, M. RISTIC, I. KAKOMA, J. L. BROWN, C. A. CARSON, E. H. STEPHENSON (1980): Cell-mediated and humoral immune responses of German Shepherd Dogs and Beagles to experimental infection with *Ehrlichia canis*. Am. J. Vet. Res. 41, 250-254.
285. NYSTRŐM, P. O. (1998): The systemic inflammatory response syndrome: definitions and aetiology. J. Antimicrob. Chemother. 41, S1-S7.
286. O'CONNOR, T. P., J. L. HANSCOM, B. C. HEGARTY, R. G. GROAT, E. B. BREITSCHWERDT (2006): Comparison of an indirect immunofluorescence assay, western blot analysis, and a commercially availabe ELISA for detection of Ehrlichia canis antibodies in canine sera. Am. J. Vet. Res. 67, 206-210.
287. OGDEN, N. H., P. A. NUTTALL, S. E. RANDOLPH (1997): Natural Lyme disease cycles maintained *via* sheep by co-feeding ticks. Parasitology 11, 5591-5599.
288. OHNISHI, J., J. OIESMAN, A. M. DE SILVA (2001): Antigenic and genetic heterogeneity of *Borrelia burgdorferi* populations transmitted by ticks. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 98, 670-675.
289. ØINES, Ø., K. STORLI, H. BRUN-HANSEN (2010): First case of babesiosis caused by *Babesia canis canis* in a dog from Norway. Vet. Parasitol. 171, 350-353.

290. OKANO, S., M. YOSHIDA, U. FUKUSHIMA, S. HIGUCHI, K. TALASE, M. HAGIO (2002): Usefulness of systemic inflammatory response syndrome criteria as an index for prognosis judgement. Vet. Rec. 150, 245-246.
291. OKEWOLE, E. A., J. O. ADEJINMI (2009): Comparison of two clinic-based imunoassays with the immunofluorescence antibody test for the field diagnosis of canine monocytic ehrlichiosis. Acta Microbiol. Immunol. Hung. 56, 145-155.
292. OLIVEIRA, T. M., P. I. FURUTA, D. DE CARVALHO, R. Z. MACHADO (2008): A study of cross-reactivity in serum samples from dogs positive for Leishmania sp., Babesia canis and Ehrlichia canis in enzyme-linked immunosorbent assay and indirect fluorescent antibody test. Rev. Bras. Parasitol. Vet. 17, 7-11.
293. ORMEROD, E. J., A. T. EDNEY, S. J. FOSTER, M. C. WHYHAM (2005): Therapeutic applications of the human-companion animal bond. Vet. Rec. 157, 689-691.
294. OTRANTO, D., F. DANTAS-TORRES, E. B. BREITSCHWERDT (2009): Managing canine vector-brone diseases of zoonotic concern: part one. Trends Parasitol. 25, 157-163.
295. OTRANTO, D., F. DANTAS-TORRES, V. D. TARALLO, R. A. RAMOS, D. STANNECK, G. BANETH, D. DE CAPRARIIS (2012): Apparent tick paralysis by Rhipicephalus sanguineus (Acari: Ixodidae) in dogs. Vet. Parasitol. 188, 325-329.
296. OTRANTO, D., M. EBERHARD (2011): Zoonotic helminths affecting the human eye. Parasites Vectors. 4, 41.
297. OVERZIER, E., K. PFISTER, I. HERB, M. MAHLING, G. BÖCK JR., C. SILAGHI (2013): Detection of tock-borne pathogens in roe deer (*Capreolus capreolus*), in questing ticks (*Ixodes ricinus*), and in ticks infesting roe deer in southern Germany. Ticks Tick. Borne Dis. 4, 320-328.
298. PACHNER, A. R., I. STEINER (2007): Lyme neuroborreliosis: infection, immunity, and inflammation. Lancet Neurol. 6, 544-552.
299. PALOMAR, A. M., P. SANTIBÁÑEZ, D. MAZUELAS, L. RONCERO, S. SANTIBÁÑEZ, A. PORTILLO, J. A. OTEO (2012): Role of birds in dispersal of etiologic agents of tick-borne zoonoses, Spain, 2009. Emerg. Infect. Dis. 18, 1188-1191.
300. PAROLA, P., B. DAVOUST, D. RAOULT (2005): Tick- and flea-borne rickettsial emerging zoonoses. Vet. Res. 36, 469-492.

301. PAROLA, P., C. SOCOLOVSCHI, L. JEANJEAN, I. BITAM, P. E. FOURNIER, A. SOTTO, P. LABUAGE, D. RAOULT (2008): Warmer weather linked to tick attack and emergence of severe rickettsioses. PloS Negl. Trop. Dis. 2, e338.
302. PASSOS, L. M. F, S. M. GEIGER, M. F. B. RIBEIRO, K. PFISTER, M. ZAHLER-RINDER (2005): First molecular detection of Babesia vogeli in dogs from Brasil. Vet. Parasitol. 127, 81-85.
303. PAZ, G. F., M .F. RIBEIRO, E. M. MICHALSKY, A. C. DA ROCHA LIMA, J. C. FRANÇA-SILVA, R. A. BARATA, C. L. FORTES-DIAS, E. S. DIAS (2010): Evaluation of the vectorial capacity of *Rhipicephalus sanguineus* (*Acari*: *Ixodidae*) in the transmission of canine visceral leishmaniasis. Parasitol. Res. 106, 523-528.
304. PETERSEN, C. A. (2009): New Means of Canine Leishmaniasis Transmission in North America: The Possibility of Transmission to Humans Still Unknown. Interdiscip. Perspect. Infect. Dis. doi: 10.1155/2009/802712.
305. PHILIPP, M. T., L. C. BOWERS, P. T. FAWCETT, M. B. JACOBS, F. T. LIANG, A. R. MARQUES, P. D. MITCHELL, J. E. PURCELL, M. S. RATTERREE, R. K. STRAUBINGER (2001): Antibody response to IR6, a conserved immunodominant region of the VlsE lipoprotein, wanes rapidly after antibiotic treatment of Borrelia burgdorferi infection in experimental animals and in humans. J. Infect. Dis. 184, 870-878.
306. PINTO, M. C., D. P. BRAY, A. E. EIRAS, H. P. CARVALHEIRA, C. P. PUERTAS (2012): Attraction of the cutaneus leishmaniasis vector Nyssomyia neivai (Diptera: Psychodidae) to host odour components in a wind tunnel. Parasit. Cectors 5, 210.
307. PLIER, M. R., E. B. BREITSCHWERDT, B. C. HEGARTY, L. B. KIDD (2009): Lack of evidence for perinatal transmission of canine granulocytic anaplasmosis from a bitch to her offspring. J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 45, 232-238.
308. POITOUT, F. M., J. K. SHINOZAKI, P. J. STOCKWELL, C. J. HOLLAND, S. K. SHUKLA (2005): Genetic variants of Anaplasma phagocytophilum infecting dogs in western Washington State. J. Clin. Microbiol. 43, 796-801.
309. POLIN, H., P. HUFNAGL, R. HAUNSCHMID, F. GRUBER, G. LADURNER (2004): Molecular evidence of *Anaplasma phagocytophilum* in *Ixodes ricinus* ticks and wild mammals in Austria. J. Clin. Microbiol. 42, 2285-2286.

310. PORROZI, R., M. V. SANTOS DA COSTA, A. TEVA, A. FLQUETO, A. Č. FERREIRA, C. D. DOS SANTOS, A. P. FERNANDES, R. T. GAZZINELLI, A. CAMPOS-NETO, G. GRIMALDI JR. (2008): Comparative evaluation of enzyme-linked immunosorbent assays based on crude and recombinant leishmanial antigens for serodiagnosis of symptomatic and asymptomatic *Leishmania infantum* visceral infections in dogs. Clin. Vaccine Immunol. 14, 544-548.
311. PRATES, D. B., L. D. SANTOS, J. C. MIRANDA, A. P. SOUZA, M. S. PALMA, M. BARRAL-NETTO, A. BARRAL (2009): Changes in amounts of total salivary gland proteins od Lutzomyia longipalpis (Diptera: Psychodidae) according to age and diet. J. Med. Entomol. 45, 409-413.
312. PROCAJŁO, A., E. M. SKUPIEŃ, M. BLADOWSKI, S. LEW (2011): Monocytic ehrlichiosis in dogs. Pol. J. Vet. Sci. 14, 515-520.
313. QUINNELL, R. J., O. COURTENAY (2009): Transmission, reservoir hosts and control of zoonotic visceral leishmaniasis. Parasitology 136, 1915-1934.
314. RANDOLPH, S. E. (2004): Evidence that climate change has caused 'emergence' of tick-borne diseases in Europe? Int. J. Med. Microbiol. 293, S5-S15.
315. RAUTER, C., T. HARTUNG (2005): Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato genospecies in *Ixodes ricinus* ticks in Europe: a metaanalysis. Appl. Environ. Microbiol. 77, 7203-7216.
316. RAWLINGS, C. A., R. L. FARRELL, R. M. MAHOOD (1990): Morphologic changes in the lungs of cats experimentally infected with *Dirofilaria immitis*: response to aspirin. J. Vet. Intern. Med. 4, 292-300.
317. RAWLINGS, C. A., J. P. RAYNAUD, R. E. LEWIS, J. R. DUNCAN (1993): Pulmonary thromboembolism and hypertension after thiacetarsamid vs. melarsomine dihydrochloride treatment of *Dirofilaria immitis* infection in dogs. Am. J. Vet. Res. 54, 920-925.
318. READY, P. D. (2013): Biology of phlebotomine sand flies as vectors of disease agents. Annu. Rev. Entomol. 58, 227-250.
319. REINE, N. J. (2004): Infection and blood transfusions: a guide to donor screening. Clin. Tech. Small Anim. Pract. 19, 68-74.
320. REYERS, F., A. L. LEISEWITZ, R. G. LOBETTI, R. J. MILNER, L. S. JACOBSON, M. VAN ZYL (1998): Canine babesiosis in South Africa: more

than one disease. Does it serve as a model for falciparum malaria? Ann. Trop. Med. Parasitol. 92, 503-511.

321. RIBEIRO, J. M., G. T. MAKOUL, J. LEVINE, D. R. ROBINSON, A. SPIELMAN (1985): Antihemostatic, antiinflammatory, and immunosupressive properties of the saliva of a tick, Ixodes dammini. J. Exp. Med. 161, 332-344.
322. RICHTER JR., P. J., R. B. KIMSEY, J. E. MADIGAN, J. R. BARLOUGH, J. S. DUMLER, D. L. BROOKS (1996): *Ixodes pacificus* (*Acari*: *Ixodidae*) as a vector of *Ehrlichia equi* (*Rickettsiales*: *Ehrlichiae*). J. Med. Entomol. 33, 1-5.
323. RIJPKEMA, S., D. GOLUBC, M. MOLKENBOER, N. VERBEEK-DE KRUIF, J. SCHELLEKENS (1996): Identification of four genomic groups of *Borellia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks collecred in a Lyme borreliosis endemic region of northern Croatia. Exp. Appl. Acarol. 20, 23-20.
324. RIKIHISA, Y. (2010): Anaplasma phagocytophilum and Ehrlichia chaffeensis: subversive manipulators of host cells. Nat. Rev. Microbiol. 8, 328-339.
325. RIKIHISA, Y., B. D. PERRY, D. O. CORDES (1985): Ultrastructural study of ehrlichial organisms in the large colons of ponies infected with Potomac horse fever. Infect. Immun. 49, 505-512.
326. RIKIHISA, Y., N. ZHI, G. P. WORMSER, B. WEN, H. W. HOROWITZ, K. E. HECHEMY (1997): Ultrastructural and antigenic characterization of a granulocytic ehrlichiosis agent directly isolated and stably cultivated froma a petient in New York State. J. Infect. Dis. 175, 210-213.
327. RISTIC, M., J. D. LYKINS, H. R. MORRIS (1972): Anaplasmosis: Opsonins and hemagglutinins in etiology of anemia. Exp. Parasitol. 31, 2-12.
328. ROHOUSOVÁ, I., P. VOLF, M. LIPOLDOVÁ (2005): Modulation of murine cellular immune response and cytokine production by salivary gland lysate of three sand fly species. Parasite. Immunol. 27, 469-473.
329. ROMASHCHENKO, A. V., A. S. RATUSHNYAK, T. A. ZAPARA, S. E. RKACHEV, M. P. MOSHKIN (2012): The correlation between tick (Ixodes persulcatus Sch.) questing behaviour and synganglion neuronal responses to odour. J. Insect Physiol. 58, 903-910.
330. ROSYPAL, A. C., G. C. TROY, A. M. ZAJAC, G. FRANK, D. S. LINDSAY (2005): Transplacental transmission of a North American isolate of *Leishmania infantum* in an experimentally infected beagle. J. Parasitol. 91, 970-972.

331. ROUSH, J. K., P. A. MANLEY, R. T. DUELAND (1989): Rheumatoid arthritis subsequent to *Borrelia burgdorferi* infection in two dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc. 195, 951-953.
332. RUDENKO, N., M. GOLOVCHENKO, L. GRUBHOFFER, J. H. OLIVER JR. (2011): Updates on *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex with respect to public health. Trends Parasitol. 2, 123-128.
333. RUDOLER, N., G. BANETH, O. EYAL, M. VAN STRATEN, S. HARRUS (2012): Evaluation of an attenuated strain of Ehrlichia canis as a vacine for canine monocytic ehrlichiosis. Vaccine 17, 226-233.
334. SÁ-NUNES, A., A. BAFICA, D. A. LUCAS, T. P. CONRADS, T. D. VEENSTRA, J. F. ANDERSEN, T. N. MATHER, J. M. RIBEIRO, I. M. FRANCISCHETTI (2007): Prostaglandin E2 is a major inhibitor of dendritic cell maturation and function in Ixodes scapularis saliva. J. Immunol. 179, 1497-1505.
335. SAINZ, A., M. A. TESOURO, I. AMUSTEGUI, F. RODRÍGUEZ, F. MAZZUCCHELLI, M. RODRÍGUEZ (2000): Prospective comparative study of 3 treatment protocols using doxycycline and imidocarb dipropionate in dogs with naturally occuring ehrlichiosis. J. Vet. Intern. Med. 14, 134-139.
336. SAITO, K., T. ITO, N. ASASHIMA, M. OHNO, R. NAGAI, H. FUJITA, N. KOIZUMI, A. TAKANO. H. WATANABE, H. KAWABATA (2007): *Borrelia valaisiana* Infection in a Japanese Man Associated with Traveling to Foreign Countries. Am. J. Trop. Med. Hyg. 77, 1124-1127.
337. SANCHEZ-ROBERT, E., L. ALTET, M. UTZET-SADUMI, U. GIGER, A. ANCHEZ, O. FRANCINO (2008): Slc11a1 (formerly Nramp1) and susceptibility to canine visceral leishmaniasis. Vet. Res. 39, 36.
338. SARAIVA, E. M., A. DE FIGUEIREDO BARBOSA, F. N. SANTOS, G. P. BORJA-CABRERA, D. NICO, L. P. SOUZA, C. DE OLIVEIRA MENDES-AGUIAR, E. P. DE SOUZA, P. FAMPA, L. E. PARRA, I. MENZ, J .G. DIAS JR., S. M. DE OLIVEIRA, C. B. PALATNIK-DE-SOUSA (2006): The FML-vaccine (Leishmune) against canine visceral leishmaniasis: a transmission blocking vaccine. Vaccine. 24, 2423-2431.
339. SAUER, J. R., J. L. MCSWAIN, A. S. BOWMAN, R. C. ESSENBERG (1995): Tick salivary gland physiology. Annu. Rev. Entomol. 40, 245-267.

340. SCHAUB, R. G., C. A. RAWLINGS, J. C. KEITH (1981): Platelet adhesion and myointimal proliferation in canine pulmonary arteries. Am. J. Pathol. 104, 13-22.
341. SCHETTERS, T. P. M., J. A. G. M. KLEUSKENS, N. C. SCHOLTES, A. GORENFLOT, K. MOUBRI, A. N. VERMEULEN (2001): Vaccination of dogs against heterologous *Babesia canis* infection using antigens from culture supernatants. Vet. Parasitol. 100, 75-86.
342. SCHETTERS, T. P., K. MOUBRI, E. PRECIGOUT, J. KLEUSKENS, N. 1C. SCHOLTES, A. GORENFLOT (1997): Different Babesia canis isolates, different diseases. Parasitol. 115, 485-493.
343. SCHNYDER, M., P. DEPLAZES (2012): Cross-reactions of sera from dogs infected with *Angiostrongylus vasorum* in commericially available *Dirofilaria immitis* test kits. Parasit. Vectors. 5, 258.
344. SCHOEMAN, J. P., P. REES, M. E. HERRTAGE (2007): Endocrine predictors of mortality in canine babesiosis caused by Babesia canis rossi. Vet. Parasitol. 148, 75-82.
345. SCHUIJT, T. J., J. W. HOVIUS, N. D. VAN BURGEL, N. RAMAMOORTHI, E. FIKRIG, A. P. VAN DAM (2008): The tick salivary protein Salp15 inhibits killing of serum-sensitive *Borrelia burgdorferi* sensu lato isolates. Infect. Immun. 76, 2888-2894.
346. SCHWAN, T. G., J. PIESMAN, W. T. GOLDE, M. C. DOLAN, P. A. ROSA (1995): Induction of an outer surface protein on *Borrelia burgdorferi* during tick feeding. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92, 2909-2913.
347. SEKIDO, N., N. MUKAIDA, A. HARADA, I. NAKANISHI, Y. WATANABE, K. MATSUSHIMA (1993): Prevention of lung reperfusion injury in rabbits by a monoclonal antibody against interleukin-8. Nature 365, 654-657.
348. SELANEC, J., M. TORTI, I. ŠMIT, I. MAYER, J. KULEŠ, I. JOVIĆ, V. MRLJAK (2012): Novije spoznaje o babeziozi pasa. Vet. Stanica 43, 497-505.
349. SHAW, S. E., M. J. DAY, R. J. BIRTLES, R. J. BREITSCHWERDT (2001): Tick-borne infectious diseases of dogs. Trends Parasitol. 17, 74-80.
350. SILVA, F. L., R. G. OLIVEIRA, T. M. SILVA, M. N. XAVIER, E. F. NASCIMENTO, R. L. SANTOS (2009): Venereal transmission of canine visceral leishmaniasis. Vet. Parasitol. 160, 55-59.

351. SMITH, T., E. L. KILBOURNE (1893): Investigation into the nature, causation, and prevention of Southern Cattle Fever. US Dept. Agr. Bur. Anim. Indust. Bull. 1.
352. SOARES, M. B., R. G. TITUS, C. B. SCHOEMAKER, J. R. DAVID, M. BOZZA (1998): The vasoactive peptide maxadilan from sand fly saliva inhibits TNF-alpha and induces IL-6 by mouse macrophages through interaction with the pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) receptor. J. Immunol. 160, 1811-1816.
353. SOLANO-GALLEGO, L., A. KOUTINAS, G. MIRÓ, L. CARDOSO, M. G. PENNISI, L. FERRER, P. BOURDEAU, G. OLIVA, G. BANETH (2009): Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. Vet. Parasitol. 165, 1-18.
354. SOLANO-GALLEGO, L., G. MIRÓ, A. KOUTINAS, L. CARDOSO, M. G. PENNISI, L. FERRER, P. BOURDEAU, G. OLIVA, G. BANETH (2011): LeishVet guidlines for the practical management of canine leishmaniosis. Parasites & Vectors. 4, 86.
355. SOLANO-GALLEGO, L., P. MORELL, M. ARBOIX, J. ABLEROLA, L. FERRER (2001): Prevalence of *Leishmania infantum* infection in dogs living in an area of canine leishmaniasis endemicity using PCR on several tissues and serology. J. Clin. Microbiol. 39, 560-563.
356. SPECK, S., B. REINER, M. M. WITTENBRINK (2001): Isolation of *Borrelia afzelii* from a dog. Vet. Rec. 149, 19-20.
357. STEEN, N. A., S. C. BARKER, P. F. ALEWOOD (2006): Proteins in the saliva of the Ixodida (ticks): pharmacological features and biological significance. Toxicon. 1, 1-20.
358. STEERE, A. C. (2001): Lyme disease. N. Engl. J. Med. 345, 115-125.
359. STEERE, A. C. (2003): Duration of antibiotic therapy for Lyme disease. Ann. Int. Med., 138, 761-762.
360. STEERE, A. C., G. MCHUGH, N. DAMLE, V. K. SIKAND (2008): Prospective study of serologic tests for lyme disease. Clin. Infect. Dis. 47, 188-195.
361. STEGMAN, J. R., A. J. BIRKENHEUER, J. M. KRUGER, E. B. BREITCHWERDT (2003): Transfusion-associated *Babesia gibsoni* infection in a dog. J. Am. Vet. Med. Assoc. 222, 959-963.

362. STOCKHAM, S. L., M. A. SCOTT (2008): Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology, 2. izdanje, Blackwell Publishing, Ames. pp. 652-658.
363. STRAUBINGER, R. K. (2000): PCR-Based quantification of *Borrelia burgdorferi* organisms in canine tissues over a 500-day postinfection period. J. Clin. Microbiol. 38, 2191-2199.
364. STRAUBINGER, R. K., A. F. STRAUBINGER, B. A. SUMMERS, R. H. JACOBSON, H. N. ERB (1998): Clinical manifestations, pathogenesis, and effect of antibiotic treatment on Lyme borreliosis in dogs. Wien. Klin. Wochenschr. 110, 874-881.
365. STRAUBINGER, R. K., A. F. STRAUBINGER, B. A. SUMMERS, R. H. JACOBSON (2000): Status of *Borrelia burgdorferi* infection after antibiotic treatment and the effects of corticosteroids: an experimental study. J. Infect. Dis. 181, 1069-1081.
366. STRAUBINGER, R. K., A. F. STRAUBINGER, L. HÄRTNER, R. H. JACOBSON, Y. F. CHANG, B. A. SUMMERS, H. N. ERB, M. J. G. APPEL (1997): *Borrelia burgdorferi* migrates into joint capsules and causes an up-regulation of interleukin-8 in synovial membranes of dogs experimentally infected with ticks. Infect. Immun. 65, 1273-1285.
367. STRAUBINGER, R. K., B. A. SUMMERS, Y. F. CHANG, M. J. APPEL (1997): Persistence of Borrelia burgdorferi in experimentally infected dogs after antibiotic treatment. J. Clin. Microbiol. 35, 111-116.
368. STRICKLAND, K. N. (1998): Canine and feline caval syndrome. Clin. Tech. Small Anim. Pract. 13, 88-95.
369. SUNDAR, S., P. L. OLLIARO (2007): Miltefosine in the treatment of leushmaniasis: Clinical evidence for informed clinical risk management. Ther. Clin. Risk. Manag. 3, 733-744.
370. SUTHERST, R. W. (2004): Global change and human vulnerability to vector-brone diseases. Clin. Microbiol. Rev. 17, 136-173.
371. SZABÓ, M. P., G. H. BECHARA (1999): Sequential histopathology at the *Rhipicephalus sanguineus* tick feeding site on dogs and guinea pigs. Exp. Appl. Acarol. 23, 915-928.
372. ŠKRABALO, Z., Z. DEANOVIĆ (1957): Piroplasmosis in man: report on a case. Doc. Med. Georg. Trop. 9, 11-16.

373. TABACHNICK, W. J. (2010): Challenges in predicting climae and enviromental effects on vector-borne disease episystems in a changing world. J. Exp. Biol. 213, 946-954.
374. TAYLOR, M., O. MEDIANNIKOV, D. RAOULT, G. GREUB (2012): Endosymbiotic bacteria associated with nematodes, ticks and amoebae. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 64, 21-31.
375. TELFORD, S. R. 3RD, J. E. DAWSON, P. KATAVOLOS, C. K. WARNER, C. P. KOLBERT, D. H. PERSING (1996): Perpetuation of the agent of human granulocytic ehrlichiosis in a deer tick-rodent cycle. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93, 6209-6214.
376. TEMPELTON, T. J. (2004): *Borrelia* outer membrane surface proteins and transmission through the tick. J. Exp. Med. 199, 603-606.
377. THOMAS NELSON, C. (2012): Heartworm disease. U: Infectious Diseases of the Dog and Cat (Greene, C. E. ur.), 4. izdanje, Elsevier Saunders, St. Louis, Missouri. pp. 865-877.
378. TOEPFER, K. H., R. K. STRAUBINGER (2007): Characterization of the humoral immune response in dogs after vaccination against the Lyme borreliosis agent: A study with five commercial vaccines using two different vaccination schedules. Vaccine. 25, 314-326.
379. TORRES, M., M. BARDAGI, X. ROURA, G. ZANNA, I RAVERA, L. FERRER (2011): Long term follow-up of dogs diagnosed with leishmaniosis (clinical stage II) and treated with meglumin antimonate and allopurinol. Vet. J. 188, 346-351.
380. TROTZ, W. L. A., A. J. TREES (2003): Systematic review of the distribution of the major vector-borne parasitic infections in dogs and cats in Europe. Vet. Rec. 152, 97-105.
381. TURK, N., Z. MILAS, J. MARGALETIC, R. TURK, LJ. BARBIC, D. KONJEVIC, S. PERIC, Z. STRITOF, V. STARESINA (2008): The role of fat dormouse (Glis glis L.) as reservoir host for spirochete *Borrelia burgdorferi* sensu lato in the region of Gorski Kotar, Croatia. Eur. J. Wildl. Res. 54, 117-120.
382. UILENBERG, G. (2006): Babesia – A historical overview. Vet. Parasitol. 138, 3-10.

383. UNVER, A., M. PEREZ, N. ORELLANA, H. HUANG, Y. RIKIHISA (2001): Molecular and antigenic comparison of Ehrlichia canis isolates from dogs, ticks, and a human in Venezuela. J. Clin. Microbiol. 39, 2788-2793.
384. UNVER, A., Y. RIKIHISA, M. KARAMAN, H. OZEN (2009): An acute severe ehrlichiosis in a dog experimentally infected with a new virulent strain of Ehrlichia canis. Clin. Microbiol. Infect. 15, S59-S61.
385. VALENZUELA, J. G. (2004): Exploring tick saliva: from biochemistry to „sialomes“ and functional genomics. Parasitology 129, S83-S94.
386. VALENZUELA, J. G., Y- BELKAID, E. ROWTON, J. M. RIBEIRO (2001): The salivary apyrase of the blood-sukcing sand fly Phlebotomus papatasi belongs to the novel Cimex family of apyrases. J. Exp. Biol. 204, 229-237.
387. VALLE, D., B. ZAITCHIK, B. FEINGOLD, K. SPANGLER, W. PAN (2013): Abundance of water bodies is critical to guide mosquito larval control interventions and predict risk of mosquito-borne diseases. Parasit. Vectors doi: 10.1186/1756-3305-6-179.
388. VAN HEERDEN, J., A. IMMELMAN (1979): The use of doxycyline in the treatment of canine ehrlichiosis. J. S. Afr. Vet. Assoc. 50, 241-242.
389. VAN HEERDEN, J., A. VAN HEERDEN (1981): Attempted treatment of canine ehrlichiosis with imidocarb dipropionate. J. S. Afr. Vet. Assoc. 52, 173-175.
390. VAN ZYL, M. (1995): An epidemiological investigation into hospitalised cases of canine babesiosis. Proceedinings Symposium on Canine Babesiosis. Onderstepoort, South Africa. pp. 42-43.
391. VICKERMAN, K. (1985): Developmental cycles and biology of pathogenic trypanosomes. Br. Med. Bull. 41, 105-114.
392. VILJOEN, G. J., J. D. BEZUIDENHOUT, P. T. OBEREM, N. M. VERMEULEN, L. VISSER, R. GOTHE, A. W. NEITZ (1986): Isolation of a neurotoxin from the salivary glands of female *Rhipicephalus evertsi evertsi*. J. Parasitol. 72, 865-874.
393. VOJTA, L., V. MRLJAK, S. CURKOVIĆ, T. ZIVICNJAK, A. MARINCULIĆ, R. BECK (2009): Molecular epizootiology of canine hepatozoonosis in Croatia. Int. J. Parasitol. 39, 1129-1136.
394. WALL, R., K. PITTS (2005): Arthropod vectors of infectious disease: biology and control. U: Arthropod-borne Infectious Diseases of the Dog and Cat

(Shaw, S. E., M. J. Day ur.). Manson Publishing/The Veterinary Press, London. pp. 11-22.

395. WALLS, J. J., B. GREIG, D. F. NEITZEL, J. S. DUMLER (1997): Natural infection of small mammal species in Minnesota with the agent of human granulocytic ehrlichiosis. J. Clin. Microbiol. 35, 853-855.
396. WANER, T., D. G. OHAD (2008): Apparent atrial parasystole associated with *Ehrlichia canis* infection in a dog. A clinical case report. Israel. J. Vet. Med. 63, 116-121.
397. WANG, X., J. M. RIBEIRO, A. B. BROCE, M. J. WILKERSON, M. R. KANOST (2009): An insight into the transcriptome and proteom of the salivary gland of the stable fly, *Stomoxys calcitrans*. Insect. Biochem. Mol. Biol. 39, 607-614.
398. WANER, T., S. HARRUS, H. BARK, E. BOGIN, Y. AVIDAR, A. KEYSARY (1997): Characterization of the subclinical phase of canine ehrlichiosis in experimentally infected beagle dogs. Vet. Parasitol. 69, 307-317.
399. WELZL, C., A. L. LEISEWITZ, L. S. JACOBSON, T. VAUGHAN-SCOTT, E. MYBURGH (2001): Sysemic inflammatory response syndrome and multiple-organ damage/dysfunction in complicated canine babesiosis. J. S. Afr. Vet. Assoc. 72, 150-162.
400. WILSKE, B., U. BUSCH, V. FINGERLE, S. JAURIS-HEIPKE, V. PREAC MURSIC, D. RÖSSLER, G. WILL (1996): Immunological and molecular variability of OspA and OspC. Implication for *Borrelia* vaccine developement. Infection. 24, 208-212.
401. WONG, S. J., J. A. THOMAS (1998): Cytoplasmic, nuclear, and platelet autoantibodies in human granulocytic ehrlichiosis patients. J. Clin. Microbiol. 36, 195-1963.
402. WORLD HEALTH ORGANISATION REPORT (2004): Changing history. World Health Organisation. Geneva, Switzerland.
403. YABSLEY, M. J., J. MCKIBBEN, C. N. MACPHERSON, P. F. CATTAN, N. A. CHERRY, B. C. HEGARTY, E. B. BREITSCHWERDT, T. O'CONNOR, R. CHANDRASHEKAR, T. PATERSON, M. L. PEREA, G. BALL, S. FRIESEN, J. GOEDDE, B. HENDERSON, W. SYLVESTER (2008): Prevalence of Ehrlichia canis, Anaplasma platys, Babesia canis vogeli, Hepatozoon canis, Bartonella vinsonii berkhoffi and Rickettsia spp. in dogs from Grenada. Vet. Parasitol. 151, 279-285.

404. ZAHARIJA, I., Z. MODRIĆ, M. HERCEG (1973): Prinos poznavanju piroplazmoze psa. Praxis Vet. 21, 139-144.
405. ZAHLER, M., H. RINDER, E. SCHEIN, R. GOTHE (2000): Detection of a new pathogenic *Babesia microti*-like species in dogs. Vet. Parasitol. 89, 241-248.
406. ZEIDNER, N. S., M. S. NÚNCIO, B. S. SCHNEIDER, L. GERN, J. PIESMAN, O. BRANDÃO, A. R. FILIPE (2001): A portugese isolate of *Borrelia lusitaniae* induces diseases in C3H/HeN mice. J. Med. Microbiol. 50, 1055-1060.
407. ZEIDNER, N. S., B. S. SCHNEIDER, J. S. RUTHERFORD, M. C. DOLAN (2008): Suppression of Th2 cytokines reduces tick-transmitted *Borrelia burgdorferi* load in mice. J. Parasitol. 94, 767-769.
408. ZHANG, L., Y. LIU, D. NI, Q. LI, Y. YU, X. J. YU, K. WAN, D. LI, G. LIANG, X. JIANG, H. JING, J. RUN, M. LUAN, X. FU, J. ZANG, W. YANG, J. D. DUMLER, Z. FENG, J. REN, J. XU (2008): Nosocomial transmission of human granulocytic anaplasmosis in China. J. Am. Med. Assoc. 300, 2263-2270.
409. ZHI, N., Y. RIKIHISA, H. Y. KIM, G. P. WORMSER, H. W. HOROWITZ (1997): Comparison of major antigenic proteins of six strains of the human granulocytic ehrlichiosis agent by Western immunoblot analysis. J. Clin. Microbiol. 35, 2606-2611.
410. ZYGNER, W., S. JAROS, H. WEDRYCHOWICZ (2008): Prevalence of *Babesia canis*, *Borrelia afzelii*, and *Anaplasma phagocytophilum* infection in hard ticks removed from dogs in Warsaw (central Poland). Vet. Parasitol. 153, 139-142.
411. ŽIVIČNJAK, T., F. MARTINKOVIĆ, A. MARINCULIĆ, V. MRLJAK, N. KUČER, V. MATIJATKO, Z. MIHALJEVIĆ, R. BARIĆ-RAFAJ (2005): A seroepidemiologic survey of canine visceral leishmaniosis among apparently healthy dogs in Croatia. Vet. Parasitol. 131, 35.43.

9. PRILOZI

9.1. KAZALO SLIKA

Slika 1. Serološki status istraživane skupine pasa. 78
Slika 2. Zastupljenost spolova u ukupnoj populaciji pasa zaprimljenih na Kliniku za unutarnje bolesti u razdoblju od 01. 01. 2009. do 31. 12. 2012. godine. 79
Slika 3. Zastupljenost spolova u skupini istraživanih pasa. 79
Slika 4. Zastupljenost spolova u skupini istraživanih, seronegativnih, pasa. 80
Slika 5. Zastupljenost spolova u skupini istraživanih, seropozitivnih, pasa. 80
Slika 6. Zastupljenost pasa obzirom na veličinu. 84
Slika 7. Zastupljenost pasa obzirom na veličinu u skupini seronegativnih pasa 85
Slika 8. Zastupljenost pasa obzirom na veličinu skupini seropozitivnih pasa. 85
Slika 9. Dob obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. 86
Slika 10. Histogram frekvencije dobi u serološki negativnih pasa oboljelih od babezioze (dob je izražena u mjesecima). 87
Slika 11. Histogram frekvencije dobi u serološki pozitivnih pasa oboljelih od babezioze (dob je izražena u mjesecima). 87
Slika 12. Učestalost anamnestičkih pritužbi (znakova bolesti) u skupine istraživanih pasa. 88
Slika 13. Učestalost anamnestičkih pritužbi (znakova bolesti) ovisno o serološkom statusu istraživanih pasa. 89
Slika 14. Vrijednosti tjelesne temperature u skupini istraživanih pasa. 89
Slika 15. Vrijednosti tjelesne temperature u skupini istraživanih, seronegativnih, pasa. 90
Slika 16. Vrijednosti tjelesne temperature u skupini istraživanih, seropozitivnih, pasa. 90
Slika 17. Tjelesna temperatura obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. 91
Slika 18. Frekvencija disanja obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. 92
Slika 19. Frekvencija bila obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. 93
Slika 20. Podjela skupine istraživanih pasa obzirom na oblik babezioze. 94
Slika 21. Oblik babezioze u serološki negativnih pasa. 94

Slika 22. Oblik babezioze u serološki pozitivnih pasa. 95
Slika 23. Udio komplikacija u istraživanoj skupini pasa oboljelih babezioze. 95
Slika 24. Udio komplikacija u istraživanoj skupini pasa oboljelih od babezioze koji su seronegativni. 96
Slika 25. Udio komplikacija u istraživanoj skupini pasa oboljelih babezioze koji su seropozitivni. 96
Slika 26. Broj eritrocita obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. 100
Slika 27. Vrijednost hematokrita obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. 101
Slika 28.Koncentracija hemoglobina obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. 102
Slika 29. Broj leukocita obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. 103
Slika 30. Relativni broj segmentiranih i nesegmentiranih neutrofilnih leukocita obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. 104
Slika 31. Relativni broj limfocita obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. 105
Slika 32. Relativni broj monocita obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. 106
Slika 33. Broj trombocita obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. 107
Slika 34. Koncentracija ureje obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa 108
Slika 35. Koncentracija kreatinina obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. 109
Slika 36. Koncentracija ukupnih proteina obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. 110
Slika 37. Koncentracija albumina obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. 111
Slika 38. Koncentracija glukoze obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. 112
Slika 39. Aktivnost AST obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. 113
Slika 40. Aktivnost ALT obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. 114
Slika 41. Aktivnost ALP obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. 115
Slika 42. Koncentracija ukupnog bilirubina obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. 116

Slika 43. Aktivnost CPK obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. 117
Slika 44. Aktivnost amilaze (AMY) obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. 118
Slika 45. Aktivnost lipaze (LIP) obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. 119
Slika 46. Koncentracija kolesterola (CHOL) obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. 120
Slika 47. Koncentracija triglicerida (TRIG) obzirom na serološki status u istraživanoj skupini pasa. 121
Slika 48. Ishod u pasa oboljelih od babezioze. 122

9.2. KAZALO TABLICA

Tablica 1. Klinički znakovi babezioze pasa. 19
Tablica 2. Načela liječenja babezioze pasa. 22
Tablica 3. Antibakterijski lijekovi za terapiju monocitotropične erlihioze pasa). 30
Tablica 4. Prikaz geografske rasprostranjenosti, vektora, rezevoara i nositelja *A. phagocytophilum*. 32
Tablica 5. Antibakterijski lijekovi za terapiju granulocitotropične anaplazmoze pasa. 37
Tablica 6. Borelije skupine lajmskih borelija. 39
Tablica 7. Antibakterijski lijekovi za terapiju lajmske borelioze. 48
Tablica 8. Klinički znakovi i promjene u laboratorijskim pokazateljima kod lišmanioze pasa uzrokovane vrstom L. infantum. 53
Tablica 9. Klinički stadiji lišmanioze pasa. 56
Tablica 10. Antimikrobni lijekovi za terapiju lišmanioze pasa. 57
Tablica 11. Lijekovi za liječenje kardiopulmonalne dirofilarioze. 64
Tablica 12. Pokazatelji za procjenu sindroma sustavnog upalnog odgovora. 68
Tablica 13. Pokazatelji za procjenu sindroma višestrukog zatajivanja organa. 69
Tablica 14. Početnice korištene u prvoj PCR reakciji te ugniježđenjoj PCR reakciji. 72
Tablica 15. Količine korištenih reagensa proizvođača Promega Corp., Wisconsin, Madison, Sjedinjene Američke Države. 73
Tablica 16. Raspon referentnih vrijednosti istraživanih laboratorijskih pokazatelja Laboratorija Klinike za unutarnje bolesti Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. 74

Tablica 17. Odnos između serološkog statusa i spola u istraživanoj skupini pasa temeljem hi-kvadrat testa. 81
Tablica 18. Zastupljenost pasmina u skupini istraživanih pasa. 82
Tablica 19. Zastupljenost pasmina u ukupnoj populaciji pasa (deset najzastupljenijih pasmina). 83
Tablica 20. Zastupljenost pasmina u populaciji seropozitivnih pasa. 83
Tablica 21. Odnos između serološkog statusa i oblika babezioze u istraživanoj skupini pasa temeljem hi-kvadrat testa. 97
Tablica 22. Odnos između serološkog statusa i pojavnosti komplikacija u istraživanoj skupini pasa temeljem hi-kvadrat testa. 97
Tablica 23. Odnos između serološkog statusa i pojavnosti MODS-a u istraživanoj skupini pasa temeljem hi-kvadrat testa. 98
Tablica 24. Utjecaj individualnih čimbenika na pojavu komplikacija utvrđen logističkom regresijom. 99
Tablica 25. Odnos između oblika babezioze i ishoda babezioze u istraživanoj skupini pasa temeljem hi-kvadrat testa. 122
Tablica 26. Odnos između razvoja MODS-a i ishoda babezioze u istraživanoj skupini pasa temeljem hi-kvadrat testa. 123
Tablica 27. Odnos između serološkog statusa i ishoda babezioze u istraživanoj skupini pasa temeljem hi-kvadrat testa. 123

10. ŽIVOTOPIS

IME I PREZIME:	Marin Torti
DATUM I MJESTO ROĐENJA:	21. studenog 1980., Zagreb, Republika Hrvatska
BRAČNO STANJE:	oženjen, otac jednog djeteta
OBRAZOVANJE:	**1988.-1996.** Osnovna škola Antuna Gustava Matoša **1996.-2000.** Srednja škola za medicinske sestre i tehničare **2000.-2006.** Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu **2009.-2013.** Poslijediplomski doktorski studij iz veterinarskih znanosti na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu
KRONOLOGIJA ZAPOSLENJA:	**2006.** pripravnički staž Veterinarske stanice grada Zagreba **2007.** volonter na Klinici za unutarnje bolesti Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu **2008.** znanstveni novak na projektu MZOŠ „Animalne mikoze – rizik i model razumijevanja etiopatogeneze mikoza u ljudi“, voditeljice prof. dr. sc. Ljiljane Pinter, s obavljanjem nastavne aktivnosti na Klinici za unutarnje bolesti Veterinarskog fakulteta **2009.** znanstveni novak na projektu MZOŠ „Odgovor akutne faze i aktivnost plazmatskih sustava u babezioze, voditelja prof. dr. sc. Vladimira Mrljaka

STRUČNO USAVRŠAVANJE:

09.2008. 14th International Veterinary Emergency and Critical Care Symposium, Phoenix, Arizona, SAD

11.2008. Cardiology Seminar, Postojna, Slovenija

10.2009. „Veterinarska znanost i struka“ međunarodni kongres, Zagreb

01.2010. Winter Seminar in Neurology, Postojna, Slovenija

04.2010. Department of Small Animal Medicine and Surgery, College of Veterinary Medicine, University of Georgia (mjesec dana)

11.2010. 1. veterinarski felinološki kongres, Zagreb

04.2011. Department of Small Animal Medicine and Surgery, College of Veterinary Medicine, University of Georgia (dva tjedna)

05.2011. Hill's stručni seminar iz područja kardiologije pasa i mačaka

10.2011. „Veterinarska znanost i struka“, međunarodni kongres, Zagreb; sudjelovanje na radionici iz područja endoskopije dišnog i probavnog sustava pasa; VI. simpozium o aktuelnim bolestima malih životinja, Sarajevo, Bosna i Hercegovina; 2. veterinarski felinološki kongres, Zagreb

06.2012. 14. regionalno savetovanje iz kliničke patologije i terapije životinja „Clinica Veterinaria 2012“, Subotica, Srbija

07.2012. Tierspital der Veterinärmedizinischen Universität Wien, Service für Klein- und Heimtiere (tri mjeseca)
11.2012. 2nd International Veraflox Symposium, Rim, Italija
01.2013. Tierärztliche Fakultät, Ludwig-Maximilian Universität München, I. Medizinische Tierklinik (tjedan dana)
03.2013. Royal Canin Scientific Meeting on Cat Ageing, Montpellier, Francuska; Tierärztliche Fakultät, Ludwig-Maximilian Universität München, I. Medizinische Tierklinik (dva tjedna)
04.2013. II. simpozij veterinara velike i male prakse Bosne i Hercegovine, Sarajevo, Bosna i Hercegovina
05.2013. 15. regionalno savetovanje iz kliničke patologije i terapije životinja „Clinica Veterinaria 2013“, Beograd, Srbija
10.2013. „Veterinarska znanost i struka“, međunarodni kongres, Zagreb; sudjelovanje na radionici iz područja citologije izljeva u tjelesne šupljine

SUDJELOVANJE U TRAJNOJ EDUKACIJI NA VETERINARSKOM FAKULTETU U ZAGREBU:

06.2008. predavač na tečajevima trajnog usavršavanja: „Hitna stanja u maloj praksi“ i „Intenzivna skrb u maloj praksi“
04.2010. predavač na tečaju trajnog usavršavanja „Osnove elektrokardiografija pasa i mačaka“

ČLANSTVA U ORGANIZACIJAMA: International Veterinary Emergency and Critical Care Society
Hrvatska veterinarska komora

POPIS RADOVA

Udžbenici i skripta (koautor):

1. Bolesti i liječenje pasa i mačaka (Dobranić, T. i V. Matijatko, ur.), CD-izdanje, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 2011.
2. Veterinarski priručnik (Herak-Perković, V., Ž. Grabarević i J. Kos, ur.), 6. izdanje, Medicinska naklada, Zagreb, 2012.

Izvorni znanstveni i pregledni radovi u *Current Contents* časopisima

1. MATIJATKO, V., **M. TORTI**, T. P. SCHETTERS (2012): Canine babesiosis in Europe: how many diseases? Trends Parasitol. 28, 99-105.
2. BRKLJAČIĆ, M., V. MATIJATKO, I. KIŠ, N. KUČER, J. FORŠEK, R. BARIĆ RAFAJ, D. GRDEN, **M. TORTI**, I. MAYER, V. MRLJAK (2010): Molecular evidence of natural infection with *Babesia canis canis* in Croatia. Acta Vet. Hung. 58, 39-46.
3. CRNOGAJ, M., R. PETLEVSKI, V. MRLJAK, I. KIŠ, **M. TORTI**, N. KUČER, V. MATIJATKO, I. SAĆER, I. ŠTOKOVIĆ (2010): Malondialdehyde levels in serum of dogs infected with *Babesia canis*. Vet. Med.-Czech 55, 163-171.
4. MAYER, I., V. MATIJATKO, I. KIŠ, M. BRKLJAČIĆ, **M. TORTI**, M. CRNOGAJ, V. MRLJAK, M. HOHŠTETER (2010): Insulinom beim Hund – zwei Fallbeschreibungen. Tierärztliche Umschau 65, 184-191.
5. POTOČNJAK, D., D. ŽUBČIĆ, **M. TORTI**, I. ŠMIT, M. POPOVIĆ, D. GRAČNER, L. BEDRICA, N. KUČER, D. STANIN, K. VLAHOVIĆ (2010): Holistische Behandlung der chronischen Colitis beim Hund – Fallstudie. Tierärztliche Umschau 65, 233-237.
6. BRKLJAČIĆ, M., M. POPOVIĆ, V. MATIJATKO, I. KIŠ, **M. TORTI**, V. MRLJAK, K. VLAHOVIĆ, D. CVITKOVIĆ, Z. ŽVORC, I. VALPOTIĆ (2009): Polimorphie von vier DNA Mikrosatelliten Loci bei dem kroatischen Schäferhund. Tierärztliche Umschau 64, 401-406.

7. GOLEŠ, V., I. KIŠ, V. MATIJATKO, **M. TORTI**, J. FORŠEK, N. KUČER, K. ŠIMONJI, B. PIRKIĆ, V. MRLJAK (2009): Steril-eitrige Meningitis/Arteriitis beim Hund: fünf Fallbeschreibungen. Tierärztliche Umschau 64, 250-255.
8. MATIJATKO, V., J. FORŠEK, **M. TORTI**, I. KIŠ, S. RAKOČEVIĆ, M. BRKLJAČIĆ, D. GRDEN, Z. ŽVORC, V. MRLJAK (2009): Akutne Monozytäre Leukämie des Hundes – eine Fallbeschreibung. Tierärztliche Umschau 64, 212-216.
9. MATIJATKO, V., I. KIŠ, **M. TORTI**, M. BRKLJAČIĆ, N. KUČER, R. BARIĆ RADAJ, D. GRDEN, T. ŽIVIČNJAK, V. MRLJAK (2009): Septic shock in canine babesiosis. Vet. Parasitol. 162, 263-270.
10. **TORTI, M.**, V. MATIJATKO, I. KIŠ, M. BRKLJAČIĆ, M. CRNOGAJ, V. MRLJAK, L. PINTER, Ž. GRABAREVIĆ, Z. ŽVORC (2009): Komplizierte Verlaufsform der kaninen Babesiose: Fallbericht. Tierärztliche Umschau 64, 139-146.
11. POTOČNJAK, D., **M. TORTI**, D. VNUK, D. STANIN, D. GRAČNER, L. BEDRICA, M. POPOVIĆ, Ž. PAVIČIĆ, D. ŽUBČIĆ, M. LUKAČ (2008): Megakolon bei einer Katze: ein Fallbericht. Tierärztliche Umschau 63, 220-224.
12. GRAČNER, D., L. BEDRICA, S. ĆURIĆ, **M. TORTI**, G. GREGURIĆ GRAČNER, I. HARAPIN, D. ŽUBČIĆ, M. SAMARDŽIJA, V. KUTIČIĆ (2006): Malignes Melanom bei Hund: ein Fallbericht. Tierärztliche Umschau 61, 407-412.

Znanstveni radovi u drugim časopisima

1. SELANEC, J., M. SINDIČIĆ, **M. TORTI**, V. MRLJAK, D. KONJEVIĆ (2013): Prvi prikaz slučaja pastereloze muflona (*Ovis ammon musimon*) potaknute stresom. Vet. stanica 44, 55-59.
2. MATIJATKO, V., I. KIŠ, **M. TORTI**, M. BRKLJAČIĆ, R. BARIĆ RAFAJ, Z. ŽVORC, V. MRLJAK (2010): Systemic inflammatory response syndrome and multiple organ dysfunction syndrome in canine babesiosis. Vet. arhiv 80, 611-626.
3. POTOČNJAK, D., Ž. PAVIČIĆ, L. BEDRICA, B. KRSNIK, A. EKERT KABALIN, **M. TORTI**, D. ŽUBČIĆ (2008): Plasma cortisol concentrations in gilts treated with immunomodulator during the early gravidity. Vet. arhiv 78, 457-465,

Ostali radovi u drugim časopisima

1. JOVIĆ, I., **M. TORTI**, V. MATIJATKO, I. ŠMIT, I. KIŠ, M. BRKLJAČIĆ (2012): Infekcijski endokarditis kod pasa i mačaka. Vet. stanica 43, 253-265.

2. **TORTI, M.**, V. MATIJATKO, M. BRKLJAČIĆ, V. MRLJAK (2012): Pregled najčešćih prirođenih srčanih grješaka u pasa i mačaka. Vet. stanica 43, 147-157.
3. KIŠ, I., V. MATIJATKO, **M. TORTI**, B. PIRKIĆ, M. BRKLJAČIĆ, M. CRNOGAJ, I. MAYER, D. GRDEN (2011): Laringealna paraliza u pasa i mačaka. Vet. stanica 42, 187-191.
4. KOLAKOVIĆ, J., **M. TORTI** (2011): Inzulinom u pasa. Veterinar 49, 28-34.
5. TKALEC, F., **M. TORTI** (2011): Hipertrofična kardiomiopatija u mačaka. Veterinar 49, 42-47.
6. **TORTI, M.**, V. MATIJATKO, M. ČERLEK, I. KIŠ, I. ŠMIT, V. MRLJAK (2010): Traumatski miokarditis. Vet. stanica 41, 557-561.
7. **TORTI, M.**, V. MATIJATKO, I. KIŠ, V. MRLJAK, L. PINTER (2009): Plućna hipertenzija u pasa i mačaka. Vet. stanica 40, 417-423.
8. **TORTI, M.**, L. PINTER (2009): Dermatofitoze u pasa i mačaka. Vet. stanica 40, 315-323.
9. ĆIBIĆ, A., Z. ŽVORC, V. MATIJATKO, M. BRKLJAČIĆ, N. KUČER, I. KIŠ, I. MAYER, M. CRNOGAJ, **M. TORTI**, D. GRDEN (2008): Šećerna bolest pasa. Vet. stanica 39, 305-314.
10. GRAČNER, D., S. TICA, G. GREGURIĆ GRAČNER, **M. TORTI**, L. BEDRICA, M. SAMARDŽIJA (2007): Toksemični kolitis – kolitis „X“ u konja. Hrv. vet. vj. 29, 269-273.
11. KUČER, N., V. MATIJATKO, I. KIŠ, M. BRKLJAČIĆ, I. MAYER, M. CRNOGAJ, **M. TORTI**, V. MRLJAK (2007): Reakcija akutne faze. Vet. stanica 38, 103-109.
12. KUČER, N., V. MRLJAK, R. BARIĆ RAFAJ, Z. ŽVORDC, D. GRDEN, **M. TORTI**, D. POTOČNJAK (2007): Utjecaj akutnofaznog odgovora na metabolizam lipida. Vet. stanica 38, 33-42.
13. **TORTI, M.**, N. KUČER, D. ŽUBČIĆ (2007): Arterijska hipertenzija u pasa i mačaka. Vet. stanica 38, 19-31.
14. **TORTI, M.**, N. KUČER, D. ŽUBČIĆ (2007): Sindrom bronhalne astme mačaka. Veterinar 46, 16-20.
15. **TORTI, M.** (2006): Bolest mačjeg ogreba (BMO). Veterinar 45, 58-60.
16. **TORTI, M.** (2006): Ketoza goveda. Veterinar 45, 14-23.
17. **TORTI, M.** (2006): Šok – etiopatogeneza, simptomatologija i liječenje. Veterinar 45, 61-74.
18. **TORTI, M.** (2003): Zaštita morskih sisavaca, sa posebnim osvrtom na zaštitu dobrog dupina. Veterinar 44, 59-62.

19. **TORTI, M.**, M. ŠIMPRAGA (2001): Osjet vida u psa. Veterinar 43, 23-28.
20. **TORTI, M.**, M. ŠIMPRAGA (2001): Osjet sluha u psa. Veterinar 43, 29-33.

Kongresno priopćenje (sažeci) u ostalim časopisima

1. KULEŠ, J., M. CRNOGAJ, M. BRKLJAČIĆ, I. MAYER, **M. TORTI**, R. BARIĆ RAFAJ, V. MRLJAK (2010): C-reactive protein and soluble intercellular adhesion molecule–1 levels in canine babesiosis. Vet. Clin Pathol. 529.
2. GRAČNER, D., L. BEDRICA, G. GREGURIĆ GRAČNER, M. SAMARDŽIJA, I. HARAPIN, K. VLAHOVIĆ, **M. TORTI**, D. GEREŠ, Z. ŽVORC (2007): Haptoglobin concentration in dairy cows with subclinical mastistis. Rev. Rom. Med. Vet. 18, 23.

Sažeci u zbornicima skupova

1. ŠMIT, I., M. CRNOGAJ, **M. TORTI**, G. JURKIĆ KRSTESKA, V. GUSAK, D. POTOČNJAK (2013): Oesophageal and gastric foreign bodies in dogs: endoscopic removal. Book of Abstracts: The 5th International Congress „Veterinary Science and Profession“, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb. p. 81.
2. CRNOGAJ, M., V. MATIJATKO, **M. TORTI**, N. KUČER, I. ŠMIT, K. ŠIMONJI (2011): Heatstroke in dogs: protocol for diagnosis and therapy at the Clinic for Internal Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb. Proceedings of the International Congress „Veterinary Science and Profession“, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb. p. 41.
3. BRKLJAČIĆ, M., I. KIŠ, N. KUČER, V. SUŠIĆ, **M. TORTI**, M. CRNOGAJ, V. MRLJAK (2009): Acid base balance in *Babesia canis canis* infection. Proceedings Book of the 2nd FSAVA Congress. Bangkok, Thailand. p. 549.
4. ŠMIT, I., D. POTOČNJAK, **M. TORTI**, M. CRNOGAJ, G. JURKIĆ (2009): Liječenje upalne bolesti crijeva u pasa. Zbornik sažetaka znanstveno-stručnog sastanka „Veterinarska znanost i struka“. Zagreb. pp. 118-119.
5. **TORTI, M.**, V. MATIJATKO, I. ŠMIT, V. MRLJAK (2009): Pristup dijagnostici i liječenju dilatativne kardiomiopatije u pasa. Zbornik sažetaka znanstveno-stručnog sastanka „Veterinarska znanost i struka“. Zagreb. pp. 120-121.
6. **TORTI, M.** (2007): Pristup liječenju sepse u pasa i mačaka. Zbornik 2. kongresa studenata veterinarske medicine s međunarodnim sudjelovanjem. Zagreb. p. 31.

7. ŽUBČIĆ, D., T. DRAGOJLOV, I. LIZATOVIĆ, D. GEREŠ, D. POTOČNJAK, **M. TORTI** (2007): Treatment of spondylopathies by acupuncture and homeopathy. Scientific Proceedings of the XIIIth European FECAVA Congress. Dubrovnik. pp. 104-105.

8. ŽUBČIĆ, D., **M. TORTI** (2005): Uloga veterinara na ekološkoj farmi. Zbornik 1. kongresa studenata veterinarske medicine s međunarodnim sudjelovanjem. Zagreb. p. 19.

Radovi u zbornicima skupova bez recenzije

1. ŽUBČIĆ, D., L. BEDRICA, D. GEREŠ, **M. TORTI** (2006): Pozitivan utjecaj životinj na zdravlje ljudi. Zbornik radova 1. kongresa o mogućnostima hipoterapije i terapijskog jahanja u Republici Hrvatskoj. Vinkovci. pp. 7-12.