

Infeksi Alami *Canine Parvovirus* pada Anjing Kintamani di Desa Sukawana, Kintamani, Bangli, Bali

(NATURAL INFECTION OF CANINE PARVOVIRUS IN KINTAMANI DOGS OF SUKAWANA VILLAGE, KINTAMANI, BANGLI, BALI)

I Gusti Ayu Agung Suartini¹, Indrawati Sendow²
I Nyoman Suarsana¹, Ni Luh Eka Setiasih³ Maratun Janah⁴

¹Lab Biokimia Veteriner, ³Lab Histologi Veteriner,
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana

²Lab Virologi Balai Besar Penelitian Veteriner,
Jln RE Martadinata No 30 Bogor, Jawa Barat, Indonesia 16144

⁴Mahasiswa Pascasarjana, Jurusan Kedokteran Hewan,
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana
Jln. Sudirman, Sanglah, Denpasar, Bali, Indonesia 80234
Telepon 0362 223791; email: gaa.suartini@gmail.com

ABSTRAK

Anjing kintamani adalah anjing ras asli Indonesia dan merupakan salah satu plasma nutfah yang dimiliki Provinsi Bali. Mortalitas anak anjing kintamani akibat infeksi *canine parvovirus* (CPV) mencapai 91% sehingga sangat penting untuk diketahui seroprevalensi infeksi CPV pada anjing Kintamani. Hingga saat ini belum ada laporan seroprevalensi infeksi CPV pada anjing kintamani di Desa Sukawana, yang merupakan habitat anjing Kintamani. Teknik pengambilan sampel dan pemilihan wilayah berdasarkan metode *purposive sampling*. Sampel serum diuji dengan metode *Haemagglutination Inhibition* (HI). Sampel dinyatakan positif jika serum memiliki titer yang sama atau lebih tinggi daripada titer serum *referens* (≥ 64). Seroprevalensi dihitung berdasarkan jumlah sampel serum positif dibagi seluruh sampel serum yang diuji. Seroprevalensi antibodi antara hewan yang satu dengan lainnya dihitung menggunakan *Chi Square*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 70 sampel yang diuji 67,1% positif memiliki antibodi terhadap CPV. Berdasarkan wilayah, seroprevalensi tertinggi di Banjar Sukawana (22,8%), anjing kintamani betina lebih tinggi seropositifnya yaitu (45,7%) dibandingkan anjing jantan (21%). Anjing kintamani umur 7-24 bulan memiliki seroprevalensi paling tinggi yaitu (27,1%). Berdasarkan distribusi dan frekuensi titer antibodi ≥ 64 adalah 65,7%. Seropositif CPV dengan titer tinggi pada serum mengindikasikan virus parvo telah beredar secara alami dan menginfeksi anjing kintamani di empat dusun di Desa Sukawana.

Kata-kata kunci: anjing kintamani; *Canine parvovirus*; seropositif; prevalensi.

ABSTRACT

Kintamani dog as one of germ plasm owned by Bali province has been widely accepted as dog of Indonesian origin which need to be preserved. Report have shown that puppies of Kintamani dogs sold in Denpasar animal market often die due to *Canine parvovirus* (CPV) infection. The mortality of CPV infection in puppies can reach as high as 91% especially in unvaccinated dogs. As the mortality of CPV in dogs is very high, it is important to find out the seroprevalence of CPV infection in Kintamani dogs in Sukawana village. Up to now, the seroprevalence of CPV infection in Sukawana, the natural habitate of Kintamani dog has never been reported. In this study the sample collection and area selection was conducted by haemagglutination inhibition (HI) test. Sera sample were concluded positive if the HI titers of sera were ≥ 64 HI units. Seroprevalence of CPV

infection was calculated by dividing the number of positive sera with the total sera samples. The seroprevalence of CPV among dogs was determined using non parametric analysis (*Chi-Square*). From 70 sera samples collected 67.1% (47/70) were antibody positive against CPV. The highest seroprevalence was found in Banjar Sukawana 22.8% (16/70). A higher seroprevalence was found in female dogs 45.7% (32/70) compare to male dogs 21.4% (15/70). Kintamani dogs aged between 7-24 month have the highest seroprevalence 27.1% (19/70). Based on the distribution of antibody titers, the seroprevalence antibody ≥ 64 HI was 65.7%. The result showed that the high titer (≥ 64 HI) of antibody against CPV, it was shown that CPV infection has occurs naturally in kintamani dog at Sukawana village.

Keywords: Kintamani dog; *canine parvovirus*; seroprevalence

PENDAHULUAN

Anjing kintamani dipelihara masyarakat sebagai hewan kesayangan, penjaga rumah, teman bermain atau sebagai pelipur lara. Hewan ini memiliki tingkat kecerdasan yang tinggi dan sifat setia kepada tuannya. Anjing kintamani diakui sebagai anjing rumpun asli Indonesia oleh Kementerian Pertanian RI dan sejak tahun 2012 ditetapkan sebagai anjing trah baru Asia oleh *Asia Kennel Union* dan pada 2019 ini telah diakui dunia sebagai ras anjing asli Indonesia. Sebagai salah satu plasma nutfah yang dimiliki Indonesia khususnya Propinsi Bali, anjing kintamani sangat penting untuk dijaga kelestariannya.

Seiring dengan tingginya minat untuk memelihara anjing lokal maupun ras, terjadi peningkatan *import* anjing ras dari luar negeri yang dilakukan secara perorangan maupun melalui *kennel*. Konsekuensi ini menyebabkan masuknya berbagai penyakit anjing yang bersifat *eksotik* dan *zoonotic*. *Canine parvovirus* (CPV) adalah virus yang sangat infeksius dan mematikan pada anjing muda. Infeksi CPV menyebabkan diare berdarah pada anak anjing. *Canine parvovirus* merupakan bagian dari famili *Parvoviridae* dan genus *Parvovirus*, merupakan virus DNA beruntai tunggal yang tidak beramplop. Virus CPV terutama menyerang anak anjing umur di bawah enam bulan (Decaro *et al.*, 2005). Penyakit ini bersifat sangat menular, virus sangat tahan terhadap kondisi lingkungan yang ekstrim dan *resisten* terhadap berbagai desinfektan. Anjing yang terinfeksi CPV ditandai dengan diare berdarah, *pyrexia*, leukopenia dan muntah. Penyakit CPV sangat merugikan pemilik dan *breeder* karena mortalitasnya yang tinggi bahkan dapat mencapai 91% pada anak anjing yang tidak pernah divaksinasi dan tidak ditangani dengan cepat dan optimal (Mylonakis *et al.*, 2016).

Tingginya tingkat kematian anjing akibat infeksi CPV telah dilaporkan di beberapa negara (Santos *et al.*, 2009). Laporan kasus CPV di Bali menunjukkan bahwa anak anjing kintamani yang dibeli di pasar hewan banyak yang mati akibat infeksi CPV.

Karakteristik dan bentuk tubuh anjing kintamani sangat menarik sehingga sering diikuti dalam kontes anjing. Anjing kintamani yang keluar Desa Sukawana untuk mengikuti kontes, diduga ketika kembali pulang ke Desa Sukawana membawa berbagai jenis bibit penyakit, karena berinteraksi dengan berbagai jenis anjing peserta kontes yang jumlahnya mencapai ratusan ekor. Salah satu bibit penyakit yang terbawa ke Desa Sukawana diduga CPV. Sesuai dengan karakteristik CPV yang sangat tahan terhadap kondisi ekstrem lingkungan, virus ini dapat bertahan sepanjang perjalanan anjing sampai di Desa Sukawana. Anjing kintamani yang mengikuti kontes ini selanjutnya di desa berinteraksi dengan anjing kintamani lainnya. Hal inilah yang mendasari dugaan adanya infeksi alami CPV pada anjing kintamani di Desa Sukawana. Infeksi alami pada anjing kintamani tidak menimbulkan gejala klinis yang jelas, sehingga di Desa Sukawana sedikit ada laporan kematian anjing akibat infeksi CPV. Infeksi subklinis CPV tidak berdampak langsung pada kematian anjing kintamani namun virus CPV tetap bersirkulasi dan bermutasi sesuai dengan sifat alami dari virus tersebut. Diduga tipe CPV yang beredar di Bali memiliki karakteristik yang berbeda dengan tipe CPV yang telah diketahui sebelumnya yaitu 2a, 2b, dan 2c.

Berdasarkan hal tersebut sangat perlu dilakukan deteksi serologi pada populasi anjing kintamani untuk menentukan apakah di Desa Sukawana pernah terjadi infeksi CPV secara alami. Data seroepidemiologi dapat memberi informasi tentang status imun populasi anjing

kintamani terhadap infeksi CPV sehingga dapat direncanakan program vaksinasi yang tepat sasaran.

Berbagai metode uji serologi telah digunakan untuk mendeteksi antibodi terhadap CPV, di antaranya *serum neutralization* (SN), *indirect fluorescent assay* (IFA), *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA) dan *one-step immunochromatography assay* (Oh *et al.*, 2006). Dari berbagai metode deteksi antibodi CPV, *hemagglutination inhibition* (HI) merupakan *gold standard method* untuk melacak keberadaan antibodi virus parvo di serum anjing (Yang *et al.*, 2010). Adanya antibodi CPV pada serum anjing yang tidak pernah divaksinasi menandakan anjing tersebut pernah terinfeksi CPV secara alami. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah anjing kintamani di desa Sukawana pernah terinfeksi oleh *canine parvovirus*.

METODE PENELITIAN

Sampling

Pada penelitian ini diambil sampel serum anjing kintamani dari beberapa dusun atau *banjar* yang lokasinya saling berdekatan di Desa Sukawana yaitu Banjar Sukawana, Paketan, Kutadalem, dan Kuwum (Gambar 1). Pengambilan sampel menggunakan metode *purposive sampling* (Elia *et al.*, 2002). Dalam metode ini pemilihan sekelompok subjek didasarkan atas ciri-ciri atau sifat-sifat tertentu. Sampel penelitian dipilih pada wilayah yang penduduknya memelihara anjing yang tidak pernah divaksinasi. Lokasi penelitian dilakukan di Desa Sukawana Kabupaten Bangli, Bali. Pengamatan di lapangan meliputi pengamatan ciri-ciri khas anjing kintamani, gejala klinis kasus infeksi CPV, pengambilan data umur, jenis kelamin, lokasi, dan pengambilan darah. Serum anjing diambil untuk uji serologis terhadap CPV.

Pengumpulan Serum

Serum dikoleksi dari anjing umur satu sampai 60 bulan, yang berasal dari Banjar Sukawana, Paketan, Kutadalem dan Kuwum. Total serum yang diperoleh sebanyak 70 sampel. Semua anjing yang di sampling pada penelitian ini dipastikan tidak pernah divaksinasi CPV. Darah diambil dari *vena cephalica* anjing, disimpan pada suhu 4°C hingga darah membeku dan serum terakumulasi ke permukaan. Serum

disentrifus pada kecepatan 3000 g selama 10 menit. Serum disimpan pada -20°C hingga digunakan untuk uji serologis. Umur anjing ditentukan berdasarkan dugaan erupsi dan tanggalnya gigi (Dyce *et al.*, 2002).

Virus dan Antisera

Serum anjing yang diperoleh diuji menggunakan uji *Haemagglutination Inhibition* (HI) dengan sedikit modifikasi (Sendow dan Syafriati, 2004) untuk mengetahui adanya antibodi terhadap CPV. Referens virus dan antisera diperoleh dari Laboratorium Virologi, Balai Besar Penelitian Veteriner, Bogor.

Uji Haemagglutinasasi dan Penentuan antigen 8 HA unit

Penentuan aktivitas *Haemagglutination* (HA) menggunakan prosedur Marulappa dan Kapil (2009), dalam hal ini CPV diencerkan secara seri berkelipatan dua dalam *Posphat Buffer Saline* (PBS) pH 6,8 dengan volume masing-masing 50 mL tiap lubang *mikroplate*. Setiap lubang ditambahkan 50 mL eritrosit babi 0,5% , diinkubasi pada suhu 4°C dan hasil diamati setelah 1 sampai 2 jam. Hasil positif HA ditandai dengan terjadinya aglutinasi yang jelas dari eritrosit babi. Titer HA menunjukkan pengenceran tertinggi yang masih memperlihatkan 50% aglutinasi eritrosit. Titer HA dinyatakan sebagai antilog dari pengenceran tertinggi parvovirus yang masih mampu mengaglutinasi eritrosit babi 0,5% dengan sempurna.

Uji Haemagglutination Inhibition (HI)

Serum yang diperoleh dipanaskan pada suhu 56°C selama 30 menit untuk menghilangkan antibodi yang tidak spesifik. Sebanyak 100 µL serum yang diuji dimasukan kedalam tabung *eppendorf* 2 mL dan ditambahkan 300 µL larutan kaolin 25% dalam *buffer phosphat*. Campuran di *vortex* dan dibiarkan dalam suhu kamar selama 20 menit, sambil sesekali di *vortex*. Setelah itu dipusing dengan kecepatan 1000 g selama 10 menit dan supernatan dipisahkan dalam tabung *eppendorf* 2 mL yang baru. Kedalam supernatan serum tersebut ditambahkan 50 µL sel darah merah babi yang telah dicuci dengan PBS steril tiga kali. Campuran tersebut dicampur dengan hati-hati agar sel darah merah babi tidak pecah, lalu diinkubasikan pada suhu 4°C selama satu jam, kemudian dipusing dengan kecepatan 1000 g

Tabel 1. Distribusi seropositif canine parvovirus berdasarkan wilayah dusun di Desa Sukawana, Kintamani, Bangli, Bali

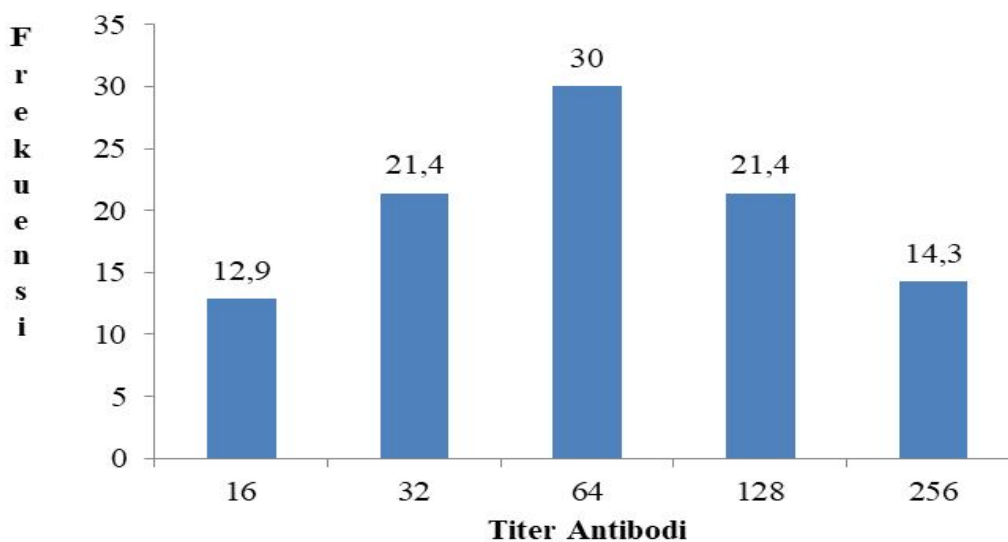
Keterangan	Wilayah Dusun (<i>Banjar</i>)				total
	Sukawana	Kutadalem	Kuwum	Paketan	
Seropositif	16	9	9	13	47
Jumlah sampel	17	18	12	23	70
Seroprevalensi (%)	22,8	12,9	12,9	18,6	67,1
Prevalensi	94,1	50,0	75,0	56,5	

Keterangan: Titer antibodi lebih tinggi atau sama dengan 2 log 6 dinyatakan seropositive. Berbeda nyata P d" 0,05 Kisaran seropositive : 13 -23%

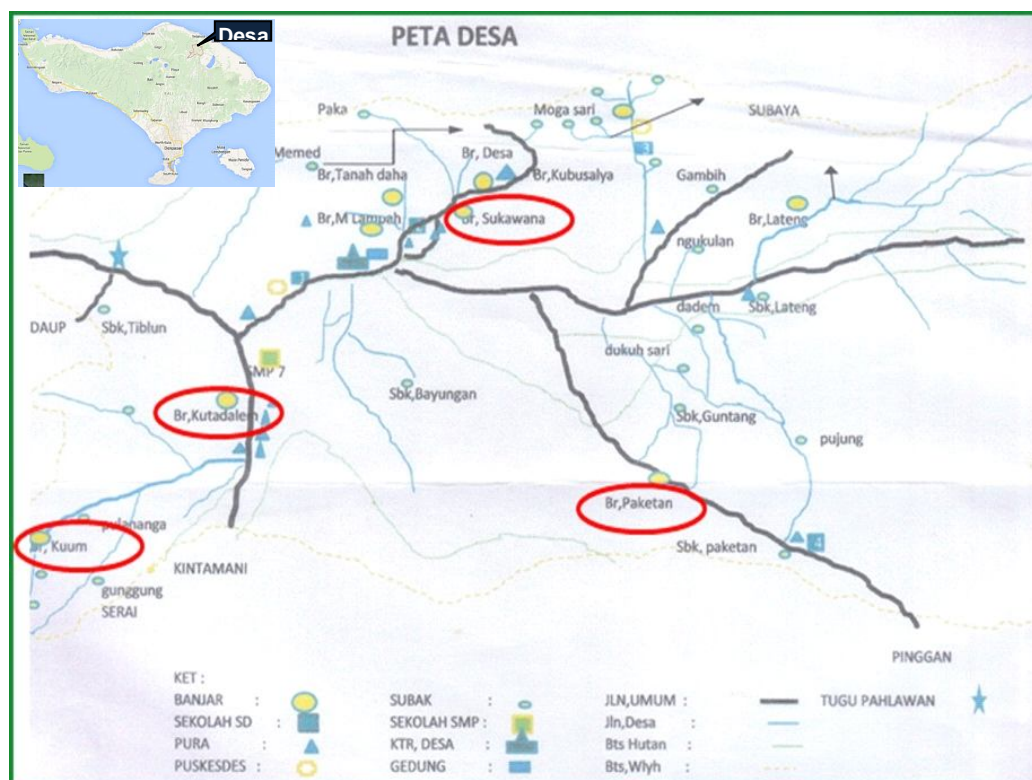
Table 2. Distribusi seropositive *canine parvovirus* berdasarkan jenis kelamin dan umur anjing kintamani.

Keterangan	Umur (bulan)			Total	Jenis kelamin		total
	1- 6	7-24	25-60		Jantan	Betina	
	Seropositif	17	19	11	47	15	32
Jumlah sampel	32	24	14	70	22	48	70
Seroprevalensi (%)	24,2	27,1	15,7	67,1	21,4	45,7	67,1
Prevalensi	53,1	79,2	78,6		68,2	66,7	

Keterangan: Kisaran seropositif berdasarkan umur dan jenis kelamin : 15,7 – 45,7 %, Berbeda nyata P < 0,05



Gambar 2. Frekuensi dan distribusi seropositif *canine parvovirus* pada anjing kintamani di Desa Sukawana.



Gambar 1. Lokasi pengambilan sampel serum anjing kintamani di Dusun atau *Banjar* Sukawana, Paketan, Kuwum dan Kutadalem, Desa Sukawana Kecamatan Kintamani, Bangli

selama 10 menit untuk memisahkan supernatannya. Supernatan diambil dan dimasukkan dalam tabung *ependorf* 2 mL untuk proses pengujian dengan uji HI.

Ke dalam lubang *mikrotiter* yang memiliki bentuk dasar V (96 lubang), ditambahkan 50 μ L serum yang diuji dan telah diencerkan dengan larutan buffer. Pengenceran dilakukan dua kali mulai dari lubang pertama hingga lubang ke-12. Sebanyak 50 μ L antigen CPV yang telah disiapkan dengan konsentrasi 8 HA unit dimasukkan kedalam masing-masing lubang berisi serum yang telah diencerkan. Perlakuan yang sama juga dilakukan pada kontrol positif dan negatif. Kontrol antigen atau kontrol positif dibuat dengan 50 μ L PBS yang ditambah dengan 50 μ L antigen parvovirus dan 100 μ L sel darah merah babi 0,5% untuk kontrol darah atau kontrol negatif dibuat dengan 50 μ L PBS yang ditambah dengan 100 μ L darah merah babi 0,5%. Campuran tersebut dibiarkan pada suhu 4°C selama satu jam. Setelah itu masing-masing lubang ditambahkan 100 μ L sel darah merah babi dengan konsentrasi 0,5% dan diinkubasikan pada suhu 4°C selama semalam. Pembacaan dilakukan keesokan harinya. Adanya aglutinasi sel darah merah babi menunjukkan bahwa

serum tidak mengandung antibodi terhadap CPV sedangkan jika terjadi pengendapan sel darah merah babi, berarti serum tersebut mengandung antibodi terhadap CPV. Banyaknya antibodi dalam serum dinyatakan dalam titer yaitu pengenceran tertinggi dari serum yang masih mampu mengendapkan sel darah merah babi. Titer antibodi di atas 1:10 dinyatakan seropositif terhadap CPV (Yang *et al.*, 2010). Uji statistika non parametrik (*chi-square* X^2) digunakan untuk membedakan seroprevalensi berdasarkan umur, jenis kelamin dan dusun (*banjar*) atau asal anjing.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari 70 serum yang diperiksa, sebanyak 46 sampel (65,7%) menunjukkan seropositif terhadap infeksi CPV. (Tabel 1). Keseluruhan sampel yang memiliki serum positif tidak menunjukkan gejala klinis infeksi CPV. Anjing yang memiliki titer antibodi diatas 2⁶ HI unit pernah mengalami infeksi secara alami dan gejala klinis yang ditimbulkannya bersifat subklinis (Carman dan Povey 1984). Virus parvo yang menginfeksi diduga bersifat *low pathogenic* sehingga anjing yang terinfeksi tidak

menunjukkan gejala klinis yang parah. Kajian tentang virus parvo yang beredar secara alami di Desa Sukawana perlu dilakukan, untuk membuktikan virus tersebut bersifat *low pathogenic*.

Distribusi antibodi terhadap virus parvo dengan kadar di atas 1:80 adalah 64,3% dan di bawah 1:80 adalah 35,7%. Anjing yang memiliki titer antibodi di atas 1:80 protektif terhadap infeksi CPV Pollock dan Carmichael. (1982) dan Elia *et al.* (2002).

Prevalensi antibodi berdasarkan wilayah (Tabel 1) menunjukkan di Banjar Sukawana memiliki prevalensi terhadap virus parvo paling tinggi yaitu 15/17 (88,2%) dibandingkan banjar lainnya berturut-turut, Banjar Paketan 13/23 (56,5%), Kutadalem 9/18 (50%) dan Kuwum 9/12 (75%). Berdasarkan jenis kelamin, prevalensi anjing kintamani betina (Tabel 2) lebih tinggi yaitu 32/48 (66,7%) dibandingkan anjing jantan 14/22 (63,6%). Anjing Kintamani umur satu sampai enam bulan memiliki prevalensi 16/32 (50%), umur antara tujuh sampai 24 bulan 19/24 (79,2%) dan umur antara 25 sampai 60 bulan memiliki prevalensi (78,6%).

Anjing umur antara 7-25 bulan memiliki seroprevalensi tertinggi yaitu 27,1% dibandingkan umur antara 1-6 dan 25-60 bulan berturut-turut 22,8 % dan 15,7% (Tabel 2). Berdasarkan jenis kelamin, seroprevalensi infeksi CPV pada anjing betina lebih tinggi dibandingkan jantan berturut-turut 45,7% dan 21,4%.

Anjing Kintamani di Desa Sukawana memiliki titer antibodi yang protektif terhadap virus parvo, walaupun anjing –anjing di desa tersebut tidak pernah di vaksinasi parvo. Diduga, anjing kintamani di Desa Sukawana terinfeksi virus parvo secara alami. Virus parvo yang menginfeksi diduga bersifat *low pathogenic* sehingga anjing yang terinfeksi tidak menunjukkan gejala klinis yang parah. Fenomena ini menarik untuk dikaji lebih lanjut karena ada kemungkinan beredarnya virus parvo yang *low pathogenic* yang mampu memicu respons antibodi. Anjing Kintamani yang mengikuti kontes anjing di luar Desa Sukawana diduga terpapar virus parvo dan anjing yang pulang dari kontes membawa pulang virus tersebut. Paparan virus parvo yang terus menerus pada anjing kintamani lainnya diduga dapat memicu respons antibodi sehingga anjing-anjing tersebut memiliki titer antibodi yang cukup tinggi terhadap virus parvo. Distribusi seroprevalensi terhadap virus parvo, cukup

tinggi pada anjing Kintamani. Seropositif CPV dengan titer di atas 128 ditemukan sebanyak 35,7%. Hal ini menunjukkan bahwa infeksi CPV telah terjadi pada populasi anjing kintamani di Desa Sukawana (Gambar 1).

Anjing Kintamani yang dijual ke Denpasar mengalami penurunan kondisi akibat kelaparan, panas dan haus saat perjalanan sehingga terjadi penurunan fungsi sistem imun. Ketika kontak dengan virus titer tinggi di pasar hewan membuat sistem imun anjing tersebut tidak mampu melawan infeksi virus. Anjing Kintamani di Desa Sukawana memiliki titer antibodi yang protektif terhadap virus parvo, walaupun anjing-anjing di desa tersebut tidak pernah di vaksinasi parvo dan tidak pernah dilaporkan ada kejadian infeksi virus parvo yang menampakkan gejala klinis infeksi parvo yang khas. Introduksi dan penyebaran virus parvo sangat mudah terjadi pada populasi anjing, terutama pada anjing yang belum pernah divaksinasi. Hal inilah yang menyebabkan mortalitas infeksi CPV sangat tinggi. Selain itu, anjing yang mengalami infeksi subklinis dapat bertindak sebagai reservoir yang dapat menularkan penyakit ke populasi hewan karnivora lainnya melalui kontak fisik (Castanheira *et al.*, 2014).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini disimpulkan bahwa *canine parvovirus* telah bersirkulasi secara alami di Banjar Sukawana, Paketan, Kuwum dan Kutadalem Desa Sukawana, Kintamani, Bangli, Bali.

SARAN

Kesadaran masyarakat Desa Sukawana perlu ditingkatkan agar anjing kintamani yang dijual keluar dari desa tersebut adalah anjing yang telah divaksinasi dengan vaksin CPV. Anjing kintamani yang telah divaksinasi memiliki daya tahan tubuh yang baik sehingga ketika mengalami stress perjalanan masih mampu bertahan terhadap infeksi CPV.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai dari Hibah Penelitian Desentralisasi (Hibah Unggulan Program Studi) Tahun anggaran 2014-2015 dengan nomor kontrak 246-173/UN14.2/PNL.01.03.00/2015. Penulis berterimakasih kepada LPPM

Universitas Udayana dan Direktorat Pembinaan Penelitian dan Pengabdian Masyarakat, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kemenristek Dikti yang telah memfasilitasi pelaksanaan penelitian ini

DAFTAR PUSTAKA

- Carman PS, Povey RC. 1985. Comparison of the viral protein of canine parvovirus-2, mink enteritis virus and feline panleukopenia virus. *Vet Microbiol* 8: 423-435
- Carman PS, Povey RC. 1985. The Seroprevalence of Canine Parvovirus-2 in selected sample of the canine population in Ontario. *Can Vet J* 25: 259-262.
- Decaro N, Desario C, Addie DD, Martella V, Viera MJ, Elia G, Davis C, Thompson G, Truyen U, Buonavaglia C. 2005. The study of molecular epidemiology of canine parvovirus, in Europe. *Emerg Infect Dis* 13: 1222-1224.
- Dyce KM, Sack WO, Wensing CJG. 2002. *Textbook of Veterinary Anatomy*. 3rd ed. USA: Saunders.
- Elia G, Cavalli A, Cirone F, Lorusso E, Camero M, Ghazali I, Castelan JR. 2002. *Statistika Nonparametrik, Teori dan Aplikasi dengan Program SPSS*. Semarang. Badan Penerbit Universitas Diponegoro.
- Marulappa SY, Kapil S. 2009. Simple tests for rapid detection of canine parvovirus antigen and canine parvovirus-specific antibodies. *Clinical and vaccine immunology* 16: 127-131.
- Mylonakis ME, Kalii I, Timoleon S. 2016. Canine parvoviral enteritis: an update on the clinical diagnosis, treatment, and prevention. *Veterinary Medicine Research and Report* 7: 91-100
- Castanheira P, Duarte A, Gil S, Cartaxeiro C, Malta M, Vieira S, Iavares L. 2014. Molecular and serological surveillance of canine enteric viruses in stray dogs from Vila do Maio, Cape Verde. *BMC Veterinary Research* 10: 91 <https://doi.org/10.1186/1746-6148-10-91>
- Pollock RV, Carmichael LE. 1982. Dog response to inactivated canine parvovirus and feline panleukopenia virus vaccines. *The Cornell Veterinarian* 72: 16-35.
- Santos N, Almendra C, Tavares L. 2009. Serologic survey for canine distemper virus and canine parvovirus in freeranging wild carnivores from Portugal. *J Wildl Dis* 45: 221-226.
- Sendow I, Syafriati T. 2004. Seroepidemiologi Infeksi Canine Parvovirus pada Anjing. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 9(3): 181-190.
- Yang DK, Yoon SS, Byun JW, Lee KW, Oh YI, Song JY. 2010. Serological survey for canine parvovirus type 2a (cpv-2a) in the stray dogs in south korea. *Journal of Bacteriology and Virology* 40: 77-81.