

Seroprevalencija virusnih zoonoza koje prenose člankonošci i glodavci na području kontinentalne Hrvatske

Ovčar, Dorian

Master's thesis / Diplomski rad

2019

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:734320>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-28**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Dorian Ovčar

**Seroprevalencija virusnih zoonoza koje
prenose člankonošci i glodavci na području
kontinentalne Hrvatske**

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2019.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Odjelu za virologiju, Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo pod vodstvom doc.dr.sc. Tatjane Vilibić Čavlek i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2018./2019.

Istraživanje je sufinancirala Hrvatska zaklada za znanost, projekt br. IP 2016-06-7456: "Prevalencija i molekularna epidemiologija emergentnih i re-emergentnih neuroinvazivnih arbovirusnih infekcija na području Hrvatske"; CRONEUROARBO (voditeljica: doc.dr.sc. Tatjana Vilibić Čavlek).

Popis i objašnjenje kratica korištenih u radu:

CSL - Cerebrospinalni likvor

DOBV - Dobrava virus

ELISA (engl. *Enzyme-linked immunosorbent assay*) - Imunoenzimski test

HPS - Hantavirusni plućni sindrom

HVBS - Hemoragijska vrućica s bubrežnim sindromom

IFA (engl. *Indirect immunofluorescence assay*) - Neizravni imunofluorescentni test

IgG (engl. *Immunoglobulin G*) - Immunoglobulin G

IgM (engl. *Immunoglobulin M*) - Immunoglobulin M

OD (engl. *Optical density*) - Optička gustoća

SFNV (engl. *Sandfly fever Naples virus*) - Napuljski virus papatači groznice

SFSV (engl. *Sandfly fever Sicilian virus*) - Sicilijanski virus papatači groznice

SŽS - Središnji živčani sustav

PUUV - Puumala virus

RT-PCR (engl. *Reverse transcriptase polymerase-chain reaction*) - Lančana reakcija polimeraze nakon reverzne transkripcije

TBEV (engl. *Tick-borne encephalitis virus*) - Virus krpeljnog encefalitisa

TOSV - Toscana virus

USUV - Usutu virus

WNV (engl. *West Nile virus*) - Virus Zapadnog Nila

SADRŽAJ

SAŽETAK

SUMMARY

1. UVOD.....	1
1.1. Virus krpeljnog encefalitisa.....	2
1.2. West Nile virus.....	4
1.3. Usutu virus.....	6
1.4. Virusi papatači groznice.....	7
1.5. Hantavirusi.....	9
2. HIPOTEZA.....	11
3. CILJEVI RADA.....	11
4. ISPITANICI I METODE.....	12
4.1. Ispitanici.....	12
4.2. Metode.....	13
4.2.1. Detekcija protutijela – virus krpeljnog encefalitisa, West Nile virus i Usutu virus.....	13
4.2.2. Detekcija protutijela – Hantavirusi, virusi papatači groznice i Toscana virus.....	15
4.2.3. Statistička obrada rezultata.....	17
5. REZULTATI.....	18
6. RASPRAVA.....	25
7. ZAKLJUČCI.....	27
8. ZAHVALE.....	28
9. LITERATURA.....	29
10. ŽIVOTOPIS.....	34

SAŽETAK

Seroprevalencija virusnih zoonoza koje prenose člankonošci i glodavci na području kontinentalne Hrvatske

Dorian Ovčar

Virusi uzročnici zoonoza pripadaju dvjema velikim skupinama: skupini arbovirusa koje prenose člankonošci (komarci, krpelji, nevidi) te skupini virusa koje prenose glodavci. U najčešće arboviruse dokazane na području Hrvatske spadaju virus krpeljnog encefalitisa (TBEV), West Nile virus (WNV), Usutu virus (USUV), virusi papatači groznice napuljski (SFNV) i sicilijanski (SFSV) tip te Toscana virus (TOSV). Hantavirusi Puumala (PUUV) i Dobrava (DOBV) najrasprostranjeniji su virusi koje prenose glodavci.

Cilj rada je odrediti seroprevalenciju arbovirusa i virusa koje prenose glodavci u izloženih i neizloženih osoba na području kontinentalne Hrvatske.

Tijekom jednogodišnjeg razdoblja (siječanj-prosinac 2017. godine), na viruse uzročnike zoonoza testirano je ukupno 149 ispitanika u dobi od 19 do 88 godina iz kontinentalnih hrvatskih županija. U ispitivanoj je skupini bilo 116 (77,9%) muškaraca i 33 (22,1%) žene. Izloženu skupinu sačinjavali su šumski radnici (N=44), lovci (N=26) te poljoprivrednici koji su naveli česte kontakte s glodavcima (N=39), a neizloženu skupinu osobe iz opće populacije (N=40). Svi su ispitanici bili asimptomatski u vrijeme testiranja te nisu naveli anamnestički podatak o nedavnoj febrilnoj bolesti. IgG protutijela na TBEV, WNV i USUV određena su pomoću komercijalnih imunoenzimskih testova (ELISA; Euroimmun, Lübeck, Njemačka), a protutijela na SFSV, SFNV, TOSV, PUUV i DOBV pomoću komercijalnih indirektnih imunofluorescentnih testova (IFA; Euroimmun, Lübeck, Njemačka).

Protutijela na TBEV dokazana su u ukupno 24 (16,1%), WNV u 3 (2%), SFSV u 2 (1,3%), SFNV u 2 (1,3%), TOSV u 2 (1,3%), PUUV u 19 (12,8%) te DOBV u 4 (2,7%) ispitanika. Niti jedan ispitanik nije bio seropozitivan na USUV. Dokazana je statistički značajna razlika u seropozitivitetu na PUUV ($p < 0,001$) između skupina (2,5% u općoj populaciji; 3,9% u lovaca; 13,6% u šumskih radnika te 28,2% u poljoprivrednika u čestom kontaktu s glodavcima). Seroprevalencija ostalih ispitivanih virusa se nije značajno razlikovala između skupina.

Ključne riječi: arbovirusi, virusi koje prenose glodavci, seroprevalencija, epidemiologija

SUMMARY

Seroprevalence of arthropod-borne and rodent-borne viral zoonoses in continental regions of Croatia

Dorian Ovčar

Zoonotic viruses can be divided into two large groups: arboviruses, which are transmitted by arthropods (mosquitoes, ticks, sandflies) and rodent-borne viruses, which are transmitted by rodents. The most common arboviruses detected in Croatia are tick-borne encephalitis virus (TBEV), West Nile virus (WNV), Usutu virus (USUV), sandfly fever Naples and Sicilian viruses (SFNV and SFSV) and Toscana virus (TOSV). The most widespread rodent-borne viruses are hantaviruses Puumala (PUUV) and Dobrava (DOBV).

The aim of this study was to determine the seroprevalence of arboviruses and rodent-borne viruses in exposed and non-exposed groups in continental Croatian regions.

During a one-year period (January-December 2017), a total of 149 participants aged between 19 and 88 years from continental Croatian counties were tested for viral zoonoses. In the tested group, there were 116 (77.9%) males and 33 (22.1%) females. Exposed group consisted of forest workers (N=44), hunters (N=26) and farmers in frequent contact with rodents (N=39), while non-exposed group consisted of participants from the general population (N=40). All participants were asymptomatic at the time of testing and did not have a history of recent febrile illness. IgG antibodies against TBEV, WNV and USUV were detected using commercially available enzyme-linked immunoassays (ELISA; Euroimmun, Lübeck, Germany) while antibodies against SFSV, SFNV, TOSV, PUUV and DOBV were detected by commercially available indirect immunofluorescent assays (IFA; Euroimmun, Lübeck, Germany).

Antibodies against TBEV were detected in 24 (16.1%), WNV in 3 (2.0%), SFSV in 2 (1.3%), SFNV in 2 (1.3%), TOSV in 2 (1.3%), PUUV in 19 (12.8%) and DOBV in 4 (2.7%) participants. No participants were seropositive against USUV. Statistically significant difference in PUUV seropositivity ($p < 0.001$) was found between groups (2.5% in the general population; 3.9% in hunters; 13.6% in forest workers and 28.2% in farmers in frequent contact with rodents). Seroprevalence of other tested viral zoonoses did not differ significantly between the tested groups.

Keywords: arboviruses, rodent-borne viruses, seroprevalence, epidemiology

1. UVOD

Pojam zoonoza označava infektivne bolesti koje se prenose sa životinja na čovjeka. Mogu biti uzrokovane bakterijama, virusima, parazitima i prionima. Najznačajnije uzročnike virusnih zoonoza možemo podijeliti u dvije velike skupine: skupinu virusa koje prenose člankonošci (arbovirusi; engl. *arthropod-borne viruses*) te skupinu virusa koje prenose glodavci (engl. *rodent-borne viruses*) (tablica 1) (1).

Tablica 1. Najznačajniji virusi uzročnici zoonoza

Porodica	Rod	Virus
<i>Togaviridae</i>	<i>Alphavirus</i>	Virus istočnog konjskog encefalitisa, virus zapadnog konjskog encefalitisa, virus venezuelskog konjskog encefalitisa, chikungunya virus, Sindbis virus, o'nyong-nyong virus, Ross River virus, Mayaro virus
<i>Flaviviridae</i>	<i>Flavivirus</i>	Virus žute groznice, virus dengue*, West Nile virus*, Usutu virus*, Zika virus, virus japanskog encefalitisa, virus krpeljnog encefalitisa*, virus St. Louis encefalitisa, virus Murray Valley encefalitisa, virus omske hemoragijske groznice, virus bolesti Kyasanurske šume
<i>Phenuiviridae</i>	<i>Phlebovirus</i>	Virusi papataci groznice* (sicilijanski, napuljski, ciparski tip), Toscana virus*, virus groznice Rift Valley
<i>Nairoviridae</i>	<i>Orthonairovirus</i>	Virus krimsko-kongoanske hemoragijske groznice
<i>Hantaviridae</i>	<i>Orthohantavirus</i>	Virus Hantaan, virus Seoul, virus Puumala*, virus Dobrava*, virus Saaremaa**, Sin Nombre virus, New York virus, Andes virus, Laguna Negra virus, Black Creek Canal virus
<i>Arenaviridae</i>	<i>Mammarenavirus</i>	Virus limfocitnog koriomeningitisa*, Lassa virus, virus Junin, virus Machupo, virus Guanarito, virus Sabia, virus Chapare
<i>Filoviridae</i>	<i>Filovirus</i>	Ebola virus, Marburg virus
<i>Rhabdoviridae</i>	<i>Lyssavirus</i>	Virus rabijesa*

*Virusi dokazani na području Hrvatske, **Virus dokazan samo u glodavcima

Člankonošci poput komaraca, krpelja i nevida ugrizom prenose više od 500 virusa na kralježnjake, a od toga 150 virusa može uzrokovati bolest u ljudi. Virus koji prenose glodavci najčešće dovode do zaraze putem infektivnog aerosola ili dodira s tjelesnim izlučevinama glodavaca (npr. stolica, mokraća, slina) (2). Najznačajniji virusi uzročnici zoonoza na području Hrvatske su virus krpeljnog encefalitisa (TBEV), West Nile virus (WNV), Usutu virus (USV), napuljski (SFNV) i sicilijanski (SFSV) virus papatači groznice, Toscana virus (TOSV) te hantavirusi Puumala (PUUV) i Dobrava (DOBV).

1.1. Virus krpeljnog encefalitisa

TBEV pripada porodici *Flaviviridae*, rodu *Flavivirus*. Virus je endemski prisutan na širokom području od srednje Europe do Japana (Slika 1). Postoje tri podtipa virusa: europski, sibirski i dalekoistočni.

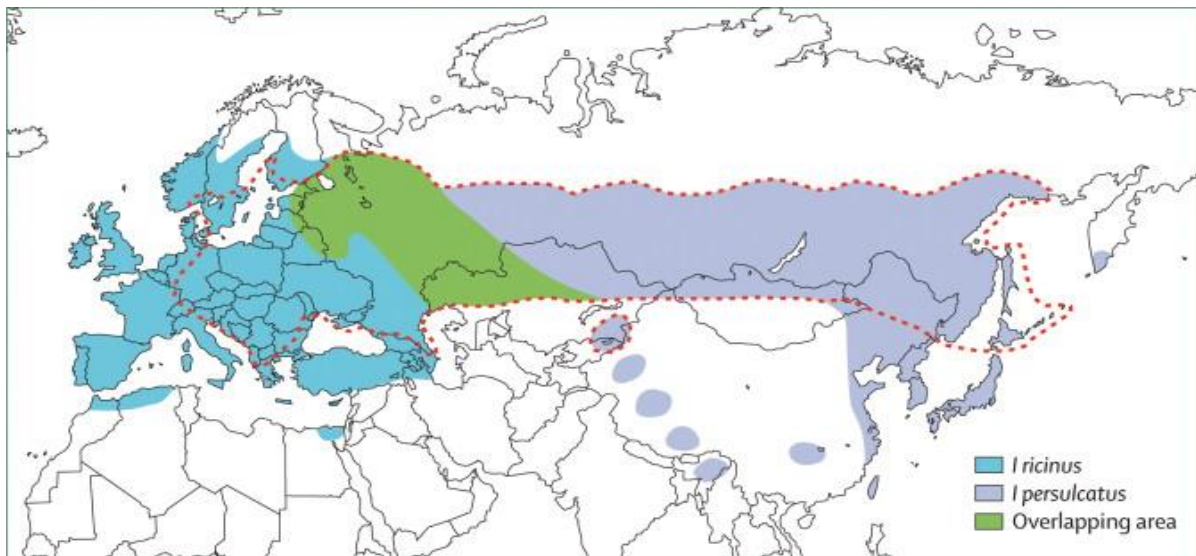
Vektor TBEV su krpelji roda *Ixodes* koji održavaju virus u prirodi. *I. ricinus* je vektor za europski podtip, a *I. persulcatus* za sibirski i dalekoistočni podtip virusa (3). Krpelj u svom životnom ciklusu prolazi kroz tri razvojna oblika: larva, nimfa i odrasli oblik (Slika 2) koji se hrane na različitim domaćinima. U ranim razvojnim oblicima, larve i nimfe, glavni domaćini su mali šumski glodavci, većinom miševi i voluharice. Odrasli oblik krpelja se uglavnom hrani na većim divljim i domaćim životinjama (jeleni, lisice, koze, ovce, goveda). Virus se u krpeljima može prenositi transstadijski i transovarijski. Za endemsko održavanje virusa su najznačajniji glodavci u kojih je moguć i vertikalni prijenos. TBEV se pojavljuje sezonski, što je povezano s aktivnošću vektora. *I. ricinus* pokazuje najveću aktivnost tijekom travnja i svibnja te ponovno u rujnu i listopadu (3,4).

Bolest uobičajeno nastupa od 7 do 14 dana od ugriza krpelja (3). Europski podtip virusa tipično ima bifazičan tijek. U prvoj fazi, koja traje između jednog i 8 dana, bolesnici se mogu prezentirati s povišenom temperaturom, glavoboljom, bolovima u zglobovima, kostima i mišićima. Nakon prve faze nastupa asimptomatsko razdoblje u trajanju od nekoliko dana (3-5). Druga faza bolesti započinje u 20% do 30% zaraženih s visokom temperaturom i simptomima infekcije središnjeg živčanog sustava (SŽS-a). Postoji nekoliko kliničkih oblika koji variraju od blage nespecifične febrilne bolesti s potpunim oporavkom do meningitisa, poliradikulitisa, meningoencefalitisa i konačno životno ugrožavajućeg meningoencefalomijelitisa (3,5,6).

U rutinskoj dijagnostici se najčešće koriste imunoenzimski testovi (ELISA) koji određuju prisutnost i razinu IgM i IgG protutijela, no moguće je dokazati i genom virusa u uzorcima krvi i cerebrospinalnog likvora (CSL) molekularnim metodama (RT-PCR) (7).

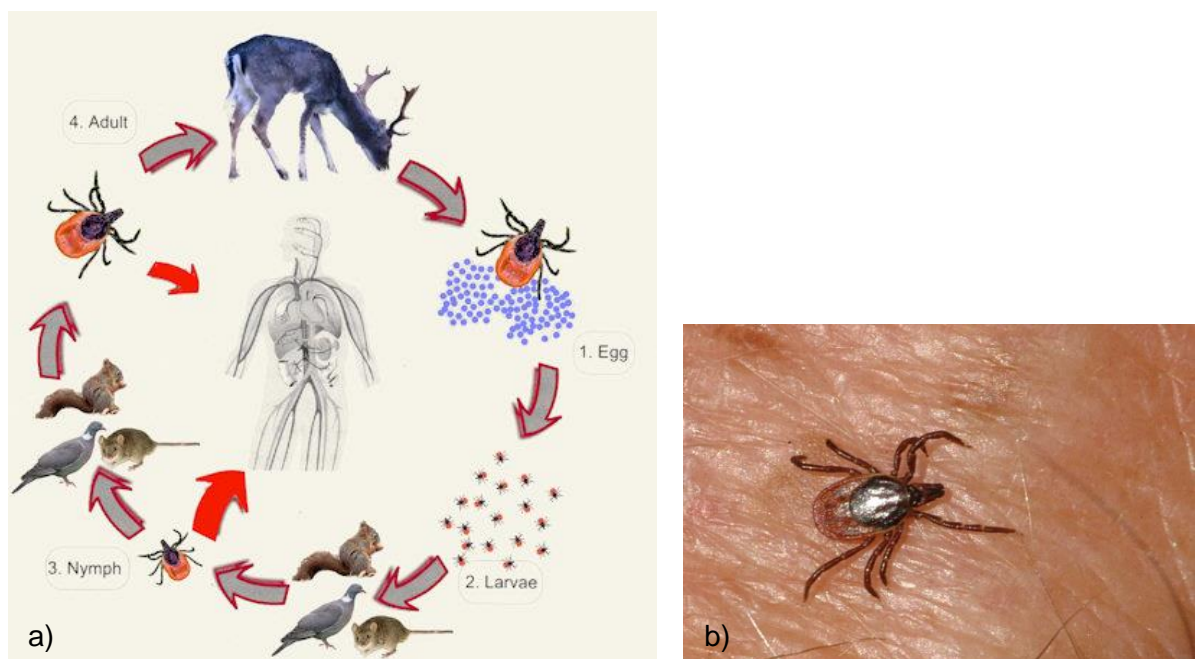
U svijetu se godišnje registrira 10,000-15,000 slučajeva krpeljnog encefalitisa (8). U Hrvatskoj je u razdoblju od 1993.-2013. godine prijavljeno 777 oboljelih s najvišom incidencijom u sjeverozapadnom dijelu Hrvatske (Bjelovarsko-bilogorska, Koprivničko-križevačka, Krapinsko-zagorska i Međimurska županija). Godišnje se bilježi od 11 do 87 oboljelih od čega je 88% starijih od 20 godina (3).

Od krpeljnog encefalitisa može se zaštititi cjepivom. Primarno cijepljenje uključuje tri doze, nakon čega je potrebno docjepljivanje svakih tri do pet godina. Cjepivo nije obavezno, a preporučuje se osobama koje rekreacijski ili zbog posla borave u prirodi na endemskim područjima (3,4,8).



Slika 1. Geografska rasprostranjenost krpeljnog encefalitisa

(Izvor: Lindquist L, Vapalahti O. Tick-borne encephalitis. Lancet 2008; 371:1861-71)



Slika 2. Razvojni ciklus krpelja (a) i vektor krpeljnog encefalitisa (*Ixodes ricinus*) (b)

(Izvor: a) Nieuwenhuys E, Lifecycle_tick. 2016 Feb 20 (pristupljeno 30.03.2019.) Dostupno na: <https://ednieuw.home.xs4all.nl/Spiders/Ixodidae/Ixodidae.htm>; Lindsey J, Ecology of Commanster, b) *Ixodes ricinus*.searching (slika s interneta). 2005 Aug 28 (pristupljeno 30.03.2019.) Dostupno na: https://en.wikipedia.org/wiki/Ixodes_ricinus#/media/File:Ixodes_ricinus.searching.jpg)

1.2. West Nile virus

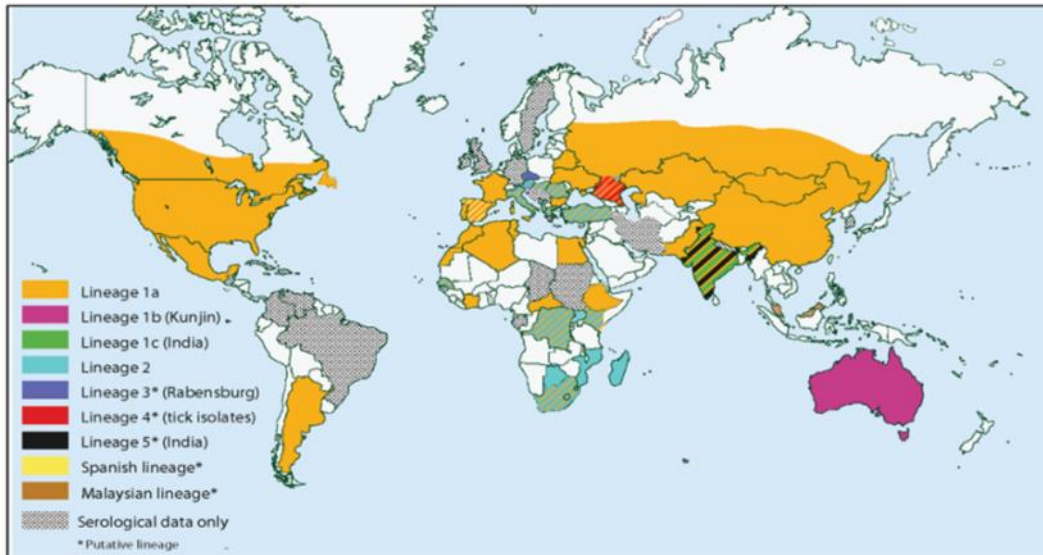
WNV spada u porodicu *Flaviviridae*, rod *Flavivirus* i jedan je od najraširenijih arbovirusa (Slika 3). Opisano je najmanje sedam različitih genskih linija koje su rasprostranjene po cijelom svijetu (9).

Komarci roda *Culex* te *Aedes* i *Ochlerotatus* su vektori virusa, a primarni domaćini i rezervoar su različite vrste ptica (Slika 4). U ptica su moguće dugotrajne infekcije, stupanj viremije je visok, a oblici bolesti su različiti. Osim ubodom komarca, ptice mogu biti zaražene i izravnim dodirrom zbog prisutnosti virusa u fekalnim i oralnim sekretima. Moguć je i transovarijski prijenos virusa u komarcima. Ljudi i konji su slučajni krajnji domaćini virusa i pretežito budu inficirani ubodom komarca. Osim toga, moguć je i interhumani prijenos putem transfuzije zaražene krvi, transplantacijom organa i dojenjem (9-11).

Klinička slika u ljudi može biti različita i varira od asimptomatske infekcije, koja je najčešća (približno 80% slučajeva), WNV groznice (približno 20% slučajeva) do neuroinvazivnih oblika (meningitis, encefalitis, poliomijelitis) koji mogu biti smrtonosni. WNV groznica se očituje nespecifičnim simptomima poput vrućice, glavobolje, umora i mijalgije. Neurološki simptomi u razvijenim oblicima bolesti uključuju meningitičke simptome, neurološke ispade i mogući nastanak kljenuti mišića (9,12).

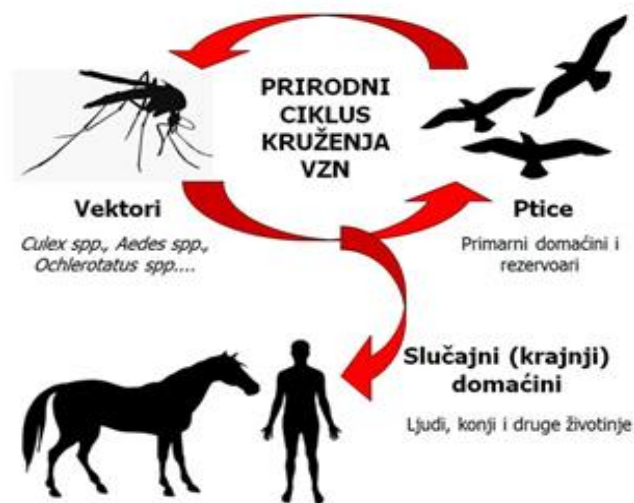
WNV se može dokazati izolacijom virusa iz krvi ili CSL u staničnim kulturama gdje stvara citopatski učinak ili se koristi RT-PCR metoda. Indirektno se virus dokazuje serološkim metodama. Koriste se ELISA i IFA testovi. Postoji mogućnost križne reakcije s drugim flavivirusima, pa je u tom slučaju potrebno dijagnozu potvrditi neutralizacijskim testovima (13).

Posljednjih nekoliko godina se na području Europe kontinuirano bilježe WNV infekcije (Grčka, Italija, Mađarska, Rumunjska), a 2012. godine je opisana velika epidemija u SAD-u. Na području Hrvatske se duži niz godina provodi seroepidemiološko praćenje WNV te je tijekom 1970.-1974. godine detektirana prisutnost protutijela u 0,28%-4,9% u stanovnika otoka Brača. Seropozitivitet je bio najveći na području srednje Dalmacije (3,4%), južne Dalmacije (0,8%) i otoka (0,44%-1,56%). U novije vrijeme provedena su seroepidemiološka istraživanja i na području sjeverozapadne Hrvatske, gdje je utvrđen seropozitivitet od 0,3%. Infekcije su dokazane i u životinja, prvenstveno konja i domaće peradi, a rezultati ukazuju na endemizaciju virusa (9,14).



Slika 3. Geografska rasprostranjenost West Nile virusa

(Izvor: Ciota AT, Kramer LD. Vector-virus interactions and transmission dynamics of West Nile virus. *Viruses*. 2013;5(12):3021-47)



Slika 4. Prirodni ciklus West Nile virusa

(Izvor: Barbić Lj, i sur. Virus Zapadnog Nila u Hrvatskoj: veterinarski aspekt. *Hrvatski veterinarski vjesnik* 2013; 7-8:46-54. Dostupno na: www.veterina.com.hr/?p=2822)

1.3. Usutu virus

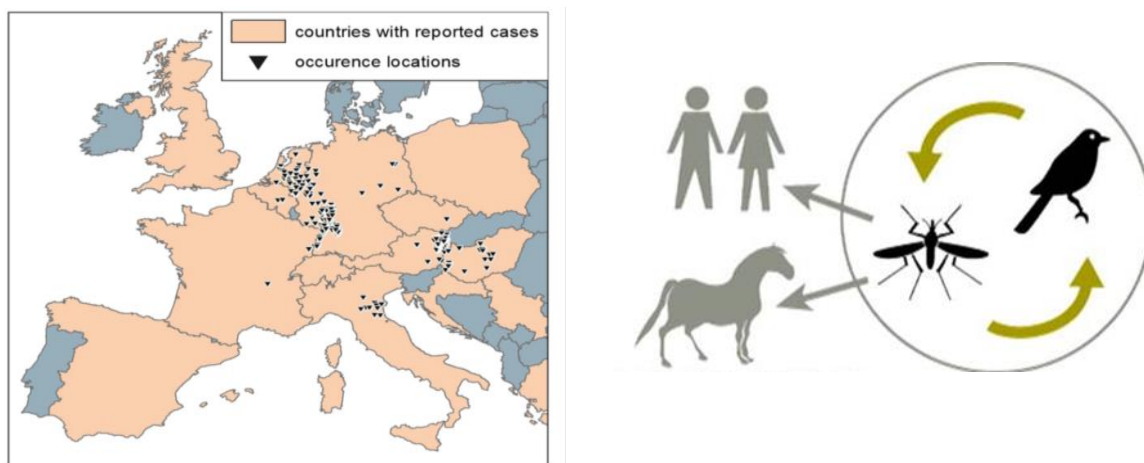
USUV pripada porodici *Flaviviridae*, rodu *Flavivirus* zajedno s WNV-om (15).

Rezervoar virusa su razne vrste divljih ptica, a glavni vektori komarci roda *Culex*. Posebnu ulogu u epidemiologiji USUV infekcije imaju ptice selice jer prenose virus u nova područja. Kao i WNV, USUV uzrokuje bolest prvenstveno u divljih ptica u kojih kliničke slike variraju od asimptomatskih do smrtonosnih infekcija.

Ljudi su slučajni krajnji domaćini USUV i pokazuju nisku razinu viremije. Do sada je opisano tek nekoliko slučajeva infekcija u ljudi pa su epidemiološke značajke i rizični čimbenici su još nedostavno istraženi (15,16). Humane infekcije su uglavnom asimptomatske, međutim mogu se prezentirati i kao febrilne bolesti sa žuticom, glavoboljom i osipom, a opisani su i neuroinvazivni oblici (meningitis i encefalitis) u imunokompromitiranih bolesnika.

Virus se u CSL može detektirati RT-PCR-om. Uobičajeno se dijagnoza postavlja serološkim metodama (ELISA, IFA) (15,17).

USUV je prvi put izoliran 1959. godine u Africi, a prvi slučaj infekcije ptica izvan Afrike je dokazan u Austriji 2001. godine. Od tada se virus pojavljuje epizootijski i na području Belgije, Italije, Mađarske i Španjolske (Slika 5). Na području Hrvatske se USUV prati od 2011. godine kada su potvrđena dva seropozitivna konja na području Zagrebačke i Sisačko-moslavačke županije. Sljedeće su godine USUV protutijela dokazana i u jednog asimptomatskog ispitanika (Vukovarsko-srijemska županija), a 2013. godine su dokazani prvi slučajevi neuroinvazivne USUV infekcije u tri bolesnika s područja grada Zagreba i Zagrebačke županije (15,17).



Slika 5. Geografska rasprostranjenost i prirodni ciklus Usutu virusa u Europi

(Izvor: Cheng Y, Tjaden NB, Jaeschke A, Lühken R, Ziegler U, Thomas SM, Beierkuhnlein C. Evaluating the risk for Usutu virus circulation in Europe: comparison of environmental niche models and epidemiological models.

Int J Health Geogr. 2018;17(1):35)

1.4. Virusi papatači groznice

SFNV, SFSV te TOSV pripadaju porodici *Phenuiviridae*, rodu *Phlebovirus* (18).

Vektori virusa su hematofagni dvokrilci (nevidi) roda *Phlebotomus* (Slika 6). Nevidi su rasprostranjeni na širokom području koje uključuje mediteranske zemlje (Slika 7). Nemaju veliku sposobnost leta i zato se staništa nevida često nalaze u blizini naselja. Kako i ime ukazuje, napad nevida je tih i neprimjetan. Virus se prenosi na ljude ugrizom ženki najčešće u ljetnim mjesecima, kad je vektor aktivan. Ženke se hrane krvlju u vrijeme polaganja jaja. Virusi su do sada izolirani iz čovjeka i nevida, no smatra se da su ljudi krajnji domaćini, a da su nevidi, osim vektora, najvjerojatnije i rezervoari virusa (18,19).

SFNV i SFSV se očituju vrućicom, mijalgijom, glavoboljom i općom slabosti nakon perioda inkubacije od 3 do 5 dana. Laboratorijskim pretragama se mogu detektirati povišeni jetreni enzimi, povišena razina kreatin kinaze i abnormalnosti u krvnoj slici, poput trombocitopenije i leukopenije. Zbog nespecifičnih laboratorijskih nalaza potrebno je isključiti različite hematološke bolesti, kao i imati na umu druge infektivne bolesti koje također prenosi *Phlebotomus*. TOSV infekcija se, nakon inkubacije od 3 do 7 dana, može prezentirati kao febrilna bolest, ali zbog svoje neurotropnosti može izazvati i aseptični meningitis ili meningoencefalitis (18-20).

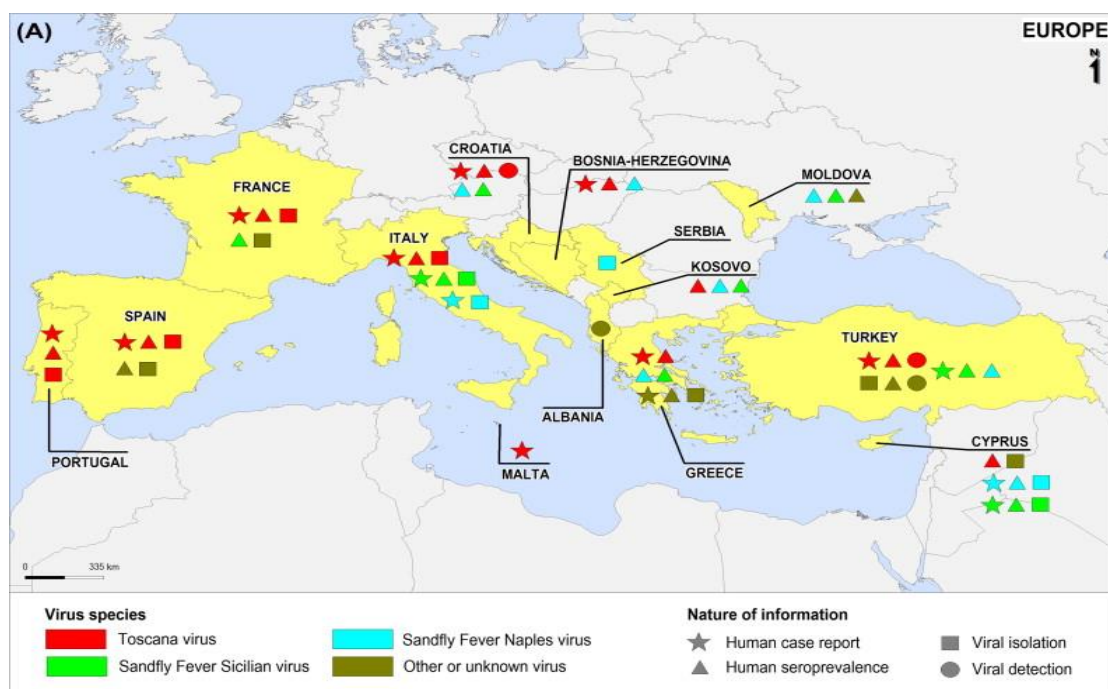
Infekcija virusima papatači groznice najčešće se potvrđuje serološkim metodama (ELISA, IFA). IgM protutijela se mogu detektirati još nekoliko mjeseci nakon izloženosti virusu, a IgG može potrajati i nekoliko godina. Zbog antigenske sličnosti virusa unutar skupine postoji mogućnost križnih reakcija pa je u tim slučajevima infekciju potrebno potvrditi neutralizacijskim testovima. Virus se također može detektirati u krvi i CSL metodom RT-PCR, no samo jedan do dva dana nakon početka simptoma (20,21).

Papatači groznica se pojavljuje u mediteranskim zemljama u kojima je seropozitivitet visok (Slika 4). U zemljama poput Italije, Španjolske, Turske seropozitivitet je između 30% i 50%. U Hrvatskoj su dokazana protutijela na sva tri virusa. Najviši postotak je zabilježen u Dalmaciji i na otocima. Seropozitivitet za SFNV i SFSV se kreće u rasponu od 15,6% do 57,6%. Novije studije seroprevalencije TOSV pokazuju seropozitivnost od 37,5% na području Dalmacije, ali također pokazuju i širenje virusa u unutrašnjost, pa je tako utvrđena seropozitivnost i na sjeveru Hrvatske u Međimurskoj županiji te na istoku u Brodsko-posavskoj županiji (2,19,22,23).



Slika 6. *Phlebotomus* (nevid)

(izvor: Collins F, CDC Public Health Image Library #10274. *Phlebotomus papatasi* bloodmeal finished (slika s interneta). 2006 Jan 1 (pristupljeno 30.03.2019.) Dostupno na: https://species.wikimedia.org/wiki/Phlebotominae#/media/File:Phlebotomus_pappatasi_bloodmeal_finished.jpg)



Slika 7. Geografska rasprostranjenost sicilijanskog i napuljskog virusa papatači groznice i Toscana virusa

(Izvor: Alkan C, Bichaud L, de Lamballerie X, Alten B, Gould EA, Charrel RN. Sandfly-borne phleboviruses of Eurasia and Africa: epidemiology, genetic diversity, geographic range, control measures. *Antiviral Res.* 2013;100(1):54-74)

1.5. Hantavirusi

Orthohantavirus je rod virusa koje prenose glodavci (engl. *rodent-borne viruses*). Hantavirusi spadaju u porodicu *Hantaviridae* koja je dio reda *Bunyvirales*. Od posebnog značaja su oni hantavirusi koji uzrokuju bolesti u čovjeka. Kao ljudski patogeni dokazani su PUUV, DOBV, Hantaan (HTNV), Seoul (SEOV), Andes, Sin Nombre (SNV), Bayou i drugi. Na području Europe dokazano je i prisustvo Saaremaa virusa (SAAV) koji pokazuje nisku patogenost za ljude. Hantavirusi su rasprostranjeni širom svijeta (Slika 8) (24,25).

Rezervoari virusa su razne vrste glodavaca. U Hrvatskoj su endemski PUUV i DOBV. Glavni rezervoar PUUV je riđa voluharica (*Myodes glareolus*), a DOBV žutogri miš (*Apodemus flavicollis*) (Slika 9) u kojih virusi uzrokuju kronične infekcije. Čovjek se može zaraziti dodirrom sa sekretima ili udisanjem zaraznog aerosola (urin, slina, feces). U posljednje vrijeme se razmatra mogućnost interhumanog prijenosa pojedinih vrsta virusa zbog prijavljenog slučaja s Andes virusom (24-26).

Dva su klinička sindroma vezana uz hantavirusnu infekciju: hemoragijska vrućica s bubrežnim sindromom (HVBS) i hantavirusni plućni sindrom (HPS). Oba sindroma su popraćena trombocitopenijom i povećanom vaskularnom permeabilnošću. Inkubacija može trajati nekoliko tjedana. Bolest prolazi kroz nekoliko stadija. U prodromalnoj fazi pojavljuju se vrućica, mijalgija, glavobolja i abdominalna bol. HVBS se dalje manifestira hipotenzijom, oligurijom, anurijom i bubrežnim zatajenjem. Oboljeli od HPS mogu razviti plućni edem koji može rezultirati kardiogenim šokom i smrću (24,26,27).

Dijagnoza hantavirusnih infekcija se najčešće potvrđuje serološkim testovima. Prisutnost IgM i IgG protutijela se dokazuje ELISA i IFA testovima. Nadalje, RNA hantavirusa moguće je dokazati u krvi metodom RT-PCR (24,28).

Procjena godišnje incidencije se kreće od 150,000 do 200,000 slučajeva u svijetu. Najveći broj slučajeva se zabilježi u Kini. U Europi se godišnje prijavljuje oko 7000 slučajeva. Prvi slučaj HVBS u Hrvatskoj je zabilježen 1952. godine i od tada se kontinuirano pojavljuju manje (Plitvička jezera 1967., Velika Gorica 1989., Novska 1991. godine) ili veće epidemije (područje Gorskog kotara i Like 1995., epidemije 2002. i 2012. godine). Dvije posljednje veće epidemije u Hrvatskoj bile su 2014. godine kada je prijavljeno 209 slučajeva te 2017. godine kada je prijavljeno više od 400 slučajeva HVBS na području gotovo cijele Hrvatske (24,27,28).



Slika 8. Geografska rasprostranjenost hantavirusa

(Izvor: Manigold T, Vial P. Human hantavirus infections: epidemiology, clinical features, pathogenesis and immunology. Swiss Med Wkly. 2014;20:144)



Slika 9. Vektori hantavirusa u Hrvatskoj *Myodes glareolus* (lijevo) i *Apodemus flavicollis* (desno)

(Izvor: soebe, GNU-FDL. Rötelmaus (slika s interneta). 2004 Jul 17 (pristupljeno 30.03.2019.) Dostupno na: https://en.wikipedia.org/wiki/Bank_vole#/media/File:Rötelmaus.jpg ; Lindsey J, Commanster. Apodemus.flavicollis (slika s interneta). 2005 Apr 24 (pristupljeno 30.03.2019.) Dostupno na: https://en.wikipedia.org/wiki/Yellow-necked_mouse#/media/File:Apodemus.flavicollis.jpg)

2. HIPOTEZA

Seroprevalencija virusnih zoonoza u Republici Hrvatskoj ne razlikuje se od seroprevalencije u ostalim europskim zemljama.

Izložene osobe imaju višu seroprevalenciju u odnosu na opću populaciju.

3. CILJEVI RADA

Cilj rada je odrediti seroprevalenciju arbovirusa i virusa koje prenose glodavci u izloženih i neizloženih osoba na području kontinentalne Hrvatske.

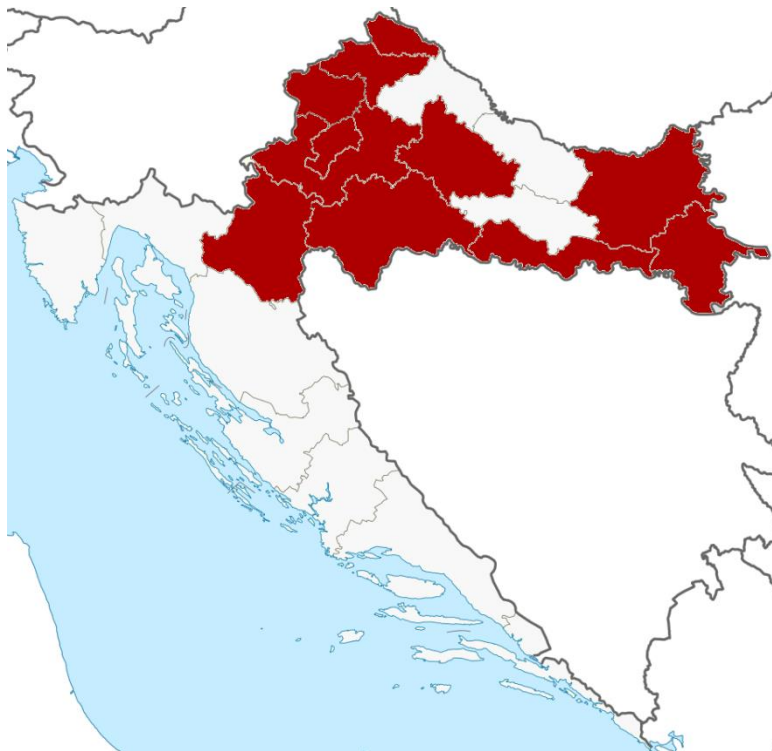
Odredit će se seroprevalencija TBEV, WNV, USUV, virusa papatači groznice (SFSV, SFNV), TOSV i hantavirusa (PUUV, DOBV, HTNV, SEOV, SAAV).

Seroprevalencija će se analizirati u četiri populacijske skupine (šumski radnici, lovci, poljoprivrednici, opća populacija) te s obzirom na mjesto prebivališta.

4. ISPITANICI I METODE

4.1. Ispitanici

Tijekom jednogodišnjeg razdoblja (siječanj-prosinac 2017. godine) prikupljeni su uzorci seruma od 149 ispitanika u dobi od 19 do 88 godina iz kontinentalnih hrvatskih županija (Slika 10) te su testirani su na prisutnost IgG protutijela na viruse uzročnike zoonoza. Ispitanici s dokazanim IgG protutijelima, testirani su i na prisustvo IgM protutijela u svrhu potvrde/isključenja nedavne infekcije.



Slika 10. Županije u kojima je provedeno uzorkovanje

Testirani uzročnici virusnih zoonoza bili su: TBEV, WNV, USUV, virusi papatači groznice: SFNV, SFSV, TOSV i hantavirusi: PUUV, DOBV, HTNV, SEOV i SAAV.

Ispitanici su podijeljeni prema dobi, spolu te svrstani u skupine izloženih ili neizloženih. Od ukupnog broja ispitanika bilo je 116 (77,9%) muškaraca i 33 (22,1%) žena. Dobne skupine ispitanika bile su sljedeće: 1) < 30 godina (N=18), 2) od 30 do 39 godina (N=33), 3) od 40 do 49 godina (N=28), 4) od 50 do 59 godina (N=38) i 5) \geq 60 godina (N=27). Dob nije bila poznata za pet ispitanika (Tablica 2). Ispitanici su prema zanimanju podijeljeni u izloženu i neizloženu skupinu. Izloženu skupinu su sačinjavali šumski radnici (N=44), lovci

(N=26) i poljoprivrednici koji su naveli kontakte s glodavcima (N=39). Neizloženu skupinu su činile osobe iz opće populacije (N=40) (Tablica 3).

Tablica 2. Raspodjela ispitanika po spolu i dobi

Spol	< 30 godina	30-39 godina	40-49 godina	50-59 godina	≥ 60 godina	Nepoznato	Ukupno
Muškarci N (%)	14 (9.4%)	27 (18.1%)	24 (16.1%)	31 (20.8%)	15 (10.1%)	5 (3.4%)	116
Žene N (%)	4 (2.7%)	6 (4.0%)	4 (2.7%)	7 (4.7%)	12 (8.0%)	0 (0%)	33
Ukupno N (%)	18 (12.1%)	33 (22.1%)	28 (18.8%)	38 (25.5%)	27 (18.1%)	5 (3.4%)	149

Tablica 3. Raspodjela ispitanika prema zanimanju (izložene i neizložene skupine)

Izložena skupina (N=109)	Neizložena skupina (N=40)
Šumski radnici (N=44/29.5%)	Opća populacija (N=40/26.8%)
Lovci (N=26/17.5%)	
Poljoprivrednici u kontaktu s glodavcima (N=39/26.2%)	

Bilježila su se i prebivališta kako bi se izradile karte s prikazom seropozitivnih osoba. Kod svih ispitanika se utvrdilo da nisu imali simptome bolesti u vrijeme testiranja te se anamnestički saznalo da nedavno nisu bolovali od febrilne bolesti. Uzeti su podaci o cijepljenju.

4.2. Metode

Specifična IgG i IgM protutijela određena su pomoću komercijalnih dijagnostičkih ELISA i IFA testova (Euroimmun, Lübeck, Njemačka) (Tablica 3).

Tablica 3. Prikaz korištenih testova za određivanje protutijela

Virus	Metoda	Naziv testa
Virus krpeljnog encefalitisa	ELISA	Anti-TBE Virus
West Nile virus	ELISA	Anti-West Nile virus
Usutu virus	ELISA	Anti-Usutu virus
Hantavirusi	IFA	Hantavirus mosaic (HTNV, PUUV, DOBV, SEOV, SAAV, SNV)
Virusi papataci groznice/virus Toscana	IFA	Sandfly fever mosaic (SFSV, SFNV, SFCV, Toscana virus)

4.2.1. Detekcija protutijela - virus krpeljnog encefalitisa, West Nile virus i Usutu virus

ELISA - VIRUS KRPELJNOG ENCEFALITISA; WEST NILE VIRUS; USUTU VIRUS IgG/IgM

Sadržaj testa:

1. mikrotitar pločica presvučena s antigenom (12 stripova s 8 udubina)
2. kalibrator (IgG/IgM, humani)
3. pozitivni kontrolni serum (IgG/IgM, humani)
4. negativni kontrolni serum (IgG/IgM, humani)
5. konjugat (antihumani IgG/IgM - kozji, obilježen peroksidazom)
6. pufer za razrjeđivanje seruma - za dokaz IgG; za dokaz IgM sadrži IgG/RF apsorbens (antihumani IgG)
7. pufer za ispiranje
8. otopina kromogen-susprata (TMB/H₂O₂)
9. stop otopina (0,5 M sumporna kiselina)

Izvođenje testa:

Ispitivani serum razrijediti 1:101 (10 µl seruma + 1,0 ml pufera za razrjeđivanje). Inkubirati 10 min na sobnoj temperaturi.

1. staviti 100 µl kalibratora, pozitivne i negativne kontrole te ispitivanog seruma u odgovarajuće udubine mikrotitar pločice (prema protokolu).
Inkubirati 30 min na sobnoj temperaturi.

Protokol :

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	C	P 6	P 14	P 22								
B	Poz	P 7	P 15	P 23								
C	Neg	P 8	P 16	P 24								
D	P 1	P 9	P 17									
E	P 2	P 10	P 18									
F	P 3	P 11	P 19									
G	P 4	P 12	P 20									
H	P 5	P 13	P 21									

- isprati 3x s 300 µl pufera za ispiranje.
- u svaku udubinu staviti 100 µl konjugata (antihumani IgG/IgM obilježen peroksidazom). Inkubirati 30 min na sobnoj temperaturi.
- isprati 3x s 300 µl pufera za ispiranje.
- u svaku udubinu staviti 100 µl kromogen supstrata. Inkubirati 15 min na sobnoj temperaturi (zaštićeno od danjeg svjetla).
- u svaku udubinu staviti 100 µl stop otopine.

Očitavanje apsorpcijske vrijednosti se vrši spektrofotometrijski pri 450/620 nm unutar 30 min od dodavanja stop otopine.

Izračunavanje rezultata:

Ekstincijska vrijednost kalibratora označava gornju granicu referentnog raspona neinficiranih osoba (cut-off).

$$\text{Omjer} = \frac{\text{OD ispitivanog seruma}}{\text{OD kalibratora}}$$

omjer < 0,8:	NEGATIVNO
≥ 0,8 - < 1,1	GRANIČNO
≥ 1,1:	POZITIVNO

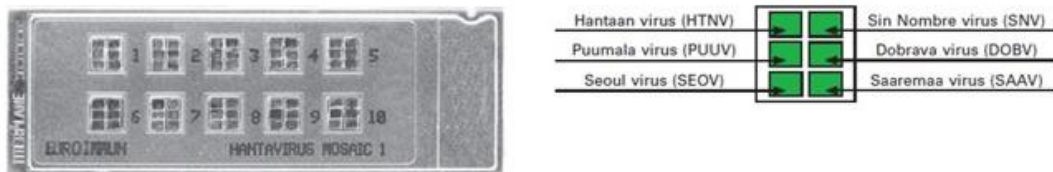
4.2.2. Detekcija protutijela - Hantavirusi, virusi papatači groznice i Toscana virus

IFA - HANTAVIRUS MOSAIC; SANDFLY FEVER MOSAIC IgG/IgM

Sadržaj testa:

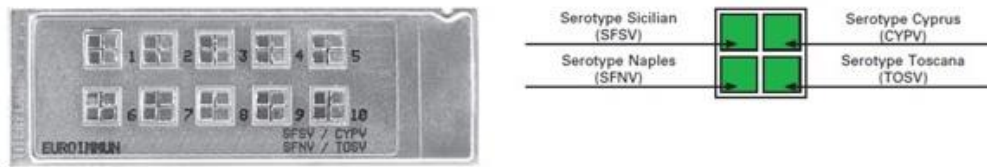
- stakalaca s BIOCHIPOVIMA presvučenim s antigenom
- konjugat (antihumani IgG/IgM - obilježen fluoresceinom; FITC)
- pozitivni kontrolni serum
- negativni kontrolni serum

5. apsorbens (anti-humani IgG)
6. pufer za razrijeđivanje seruma
7. soli za PBS pufer pH 7.2
8. Tween 20
9. medij za fiksiranje
10. pokrovna stakalca (62 mm x 23 mm)



Slika 11. Hantavirus mosaic (pločica za detekciju protutijela na hantaviruse)

(izvor: Euroimmun AG D-23560 Lübeck, Germany (slika s internet, pristupljeno 10.04.2019.), dostupno na: http://mail3.euroimmun.de/fileadmin/template/images/pdf/tropen_UK.pdf)



Slika 12. Sandfly fever mosaic (pločica za detekciju protutijela na viruse papatači groznice)

(izvor: Euroimmun AG D-23560 Lübeck, Germany (slika s internet, pristupljeno 10.04.2019.), dostupno na: http://mail3.euroimmun.de/fileadmin/template/images/pdf/tropen_UK.pdf)

Određivanje IgG protutijela: ispitivani serum se razrijeđuje 1:100 u PBS-Tween (razrijeđenog 1:10 + 100 µl PBS-Tween).

Određivanje IgM protutijela: ispitivani serum se razrijeđuje 1:10 (11.1 µl I + 100 µl apsorbensa). Inkubirati 15 min na sobnoj temperaturi. Razrijediti 1:100 u PBS-Tween.

Izvođenje testa:

1. staviti 25 µl razrijeđenog seruma u svako polje
2. inkubirati 30 min na sobnoj temperaturi (18-25°C)
3. isprati 5 min u PBS-Tween
4. dodati 20 µl konjugata u svako polje
5. inkubirati 30 min na sobnoj temperaturi (18-25°C)
6. isprati 5 min u PBS-Tween
7. dodati 10 µl medija za fiksiranje po svakom polju. Staviti pokrovnicu te mikroskopirati.

Očitavanje rezultata:

Pozitivna reakcija: prisustvo protutijela uzrokuje fluorescenciju u citoplazmi inficiranih stanica. Intenzitet fluorescencije mora biti kao kod pozitivne kontrole.

Kvalitativna evaluacija:

IgG reaktivnost	
Nema reakcije u razrijeđenju 1:100	Negativan
Pozitivna reakcija u razrijeđenju 1:100	Pozitivan; Ranija ili akutna infekcija.

IgM reaktivnost	
Nema reakcije u razrijeđenju 1:100	Negativan
Pozitivna reakcija u razrijeđenju 1:100	Pozitivan; Nedavna ili akutna infekcija.

Kvantitativna evaluacija:

Fluorescencija u razrijeđenju				
1:10	1:100	1:1000	1:10000	Titar protutijela
slabo pozitivan	negativan	negativan	negativan	1:10
umjereno poz	negativan	negativan	negativan	1:32
jako pozitivan	slabo pozitivan	negativan	negativan	1:100
jako pozitivan	umjereno poz	negativan	negativan	1:320
jako pozitivan	jako pozitivan	slabo pozitivan	negativan	1:1000
jako pozitivan	jako pozitivan	umjereno poz	negativan	1:3200
jako pozitivan	jako pozitivan	jako pozitivan	slabo pozitivan	1:10000

4.2.3. Statistička obrada rezultata

Razlika seroprevalencije između skupina testirana je Fischerovim egzaktnim testom. Razina statističke značajnosti određena je $\alpha=0.05$. Obrada podataka učinjena je pomoću paketa STATA/IC ver.11.2 (StataCorp LP, USA).

5. REZULTATI

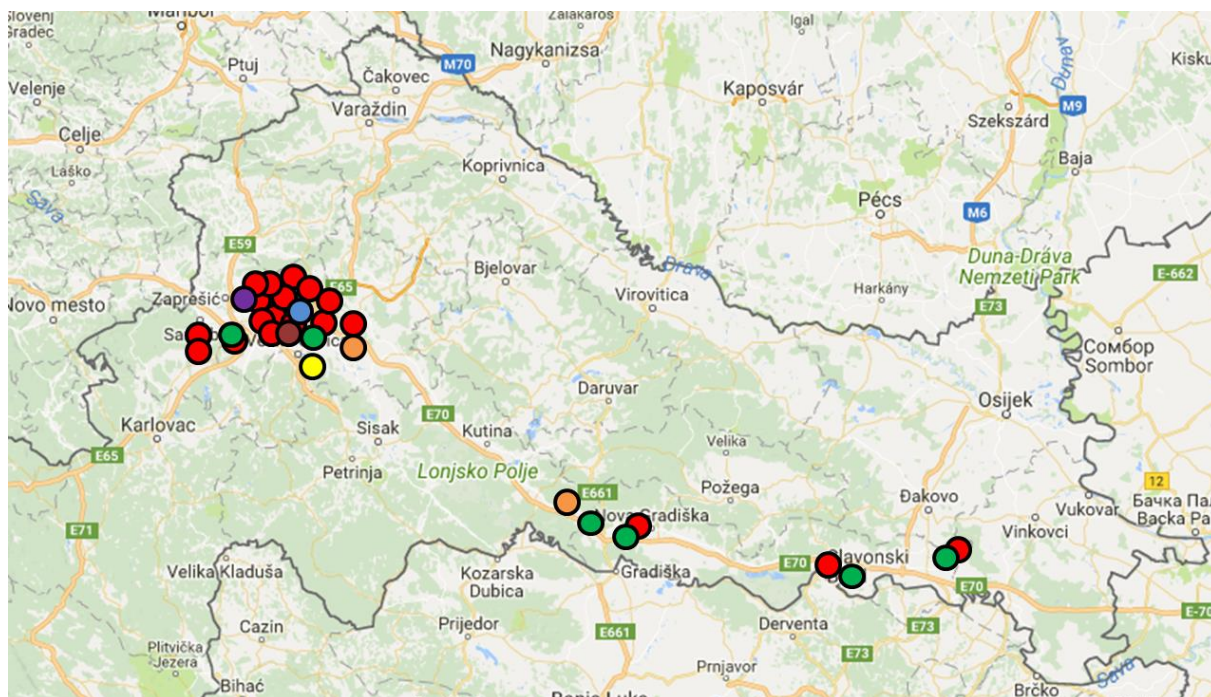
Seroprevalencija virusnih zoonoza po pojedinim populacijskim skupinama prikazana je u tablicama 4-7. Geografska raspodjela seropozitivnih ispitanika je prikazana na slikama 13-16.

Od ukupno 44 šumskih radnika, seropozitivnih na TBEV bilo je 20 (45,5%). Visoka seropozitivnost na virus krpeljnog encefalitisa je posljedica procijepljenosti ispitanika. Na WNV je bio seropozitivan jedan ispitanik (2,3%), kao i na viruse papatači groznice (SFSV, SFNV) te TOSV. Šest ispitanika je bilo seropozitivno na PUUV (13,6%), a dvoje na DOBV (4,5%) iz skupine hantavirusa (Tablica 4).

Najveći broj seropozitivnih na TBEV je bio s područja Zagreba i njegove okolice (Dešćevac, Kloštar Ivanić, Samobor, Brezje). Ostatak pozitivnih ispitanika je dokazan u Slavonskom Brodu i Novoj Gradiški. U Zagrebu i okolici Zagreba se nalaze svi pozitivni ispitanici na WNV, SFSV, SFNV, TOSV iz ove skupine. Od šest pozitivnih na PUUV, dvoje je bilo iz Zagreba, dok su ostali bili iz Slavonije (Slavonski Brod, Okučani, Gundinci, Nova Gradiška). Jedan DOBV seropozitivan ispitanik bio je iz Zagreba, a drugi iz Novske (Slika 13).

Tablica 4. Seroprevalencija virusnih zoonoza u skupini šumskih radnika (N=44)

Virus	IgG pozitivni N (%)
Virus krpeljnog encefalitisa (TBEV)	20 (45,5%)
West Nile virus (WNV)	1 (2,3%)
Usutu virus (USUV)	0 (0%)
Sicilijanski virus papatači groznice (SFSV)	1 (2,3%)
Napuljski virus papatači groznice (SFNV)	1 (2,3%)
Toscana virus (TOSV)	1 (2,3%)
Puumala virus (PUUV)	6 (13,6%)
Dobrava virus (DOBV)	2 (4,5%)

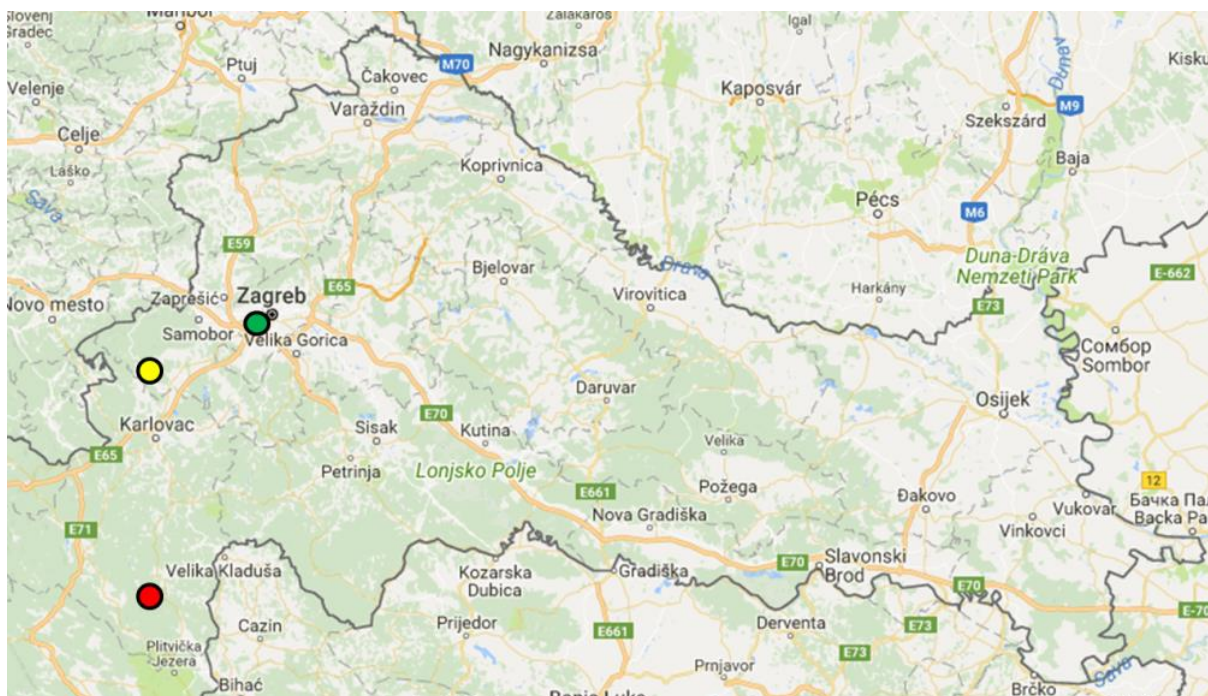


Slika 13. Geografska raspodjela seropozitivnih šumskih radnika [TBEV (crveno), WNV (plavo), PUUV (zeleno), DOBV (narančasto), SFNV (ljubičasto), SFSV (smeđe), TOSV (žuto)]

Od ukupno 26 ispitanika u skupini lovaca, tri ispitanika bila su seropozitivna na neki od testiranih virusa (Tablica 5). Seropozitivnost na PUUV pokazao je jedan ispitanik iz Zagreba, na TOSV ispitanik iz Krašića te na TBEV jedan ispitanik iz Slunja (3,9%) (Slika 14).

Tablica 5. Seroprevalencija virusnih zoonoza u skupini lovaca (N=26)

Virus	IgG pozitivni N (%)
Virus krpeljnog encefalitisa (TBEV)	1 (3,9%)
West Nile virus (WNV)	0 (0%)
Usutu virus (USUV)	0 (0%)
Sicilijanski virus papatači groznice (SFSV)	0 (0%)
Napuljski virus papatači groznice (SFNV)	0 (0%)
Toscana virus (TOSV)	1 (3,9%)
Puumala virus (PUUV)	1 (3,9%)
Dobrava virus (DOBV)	0 (0%)



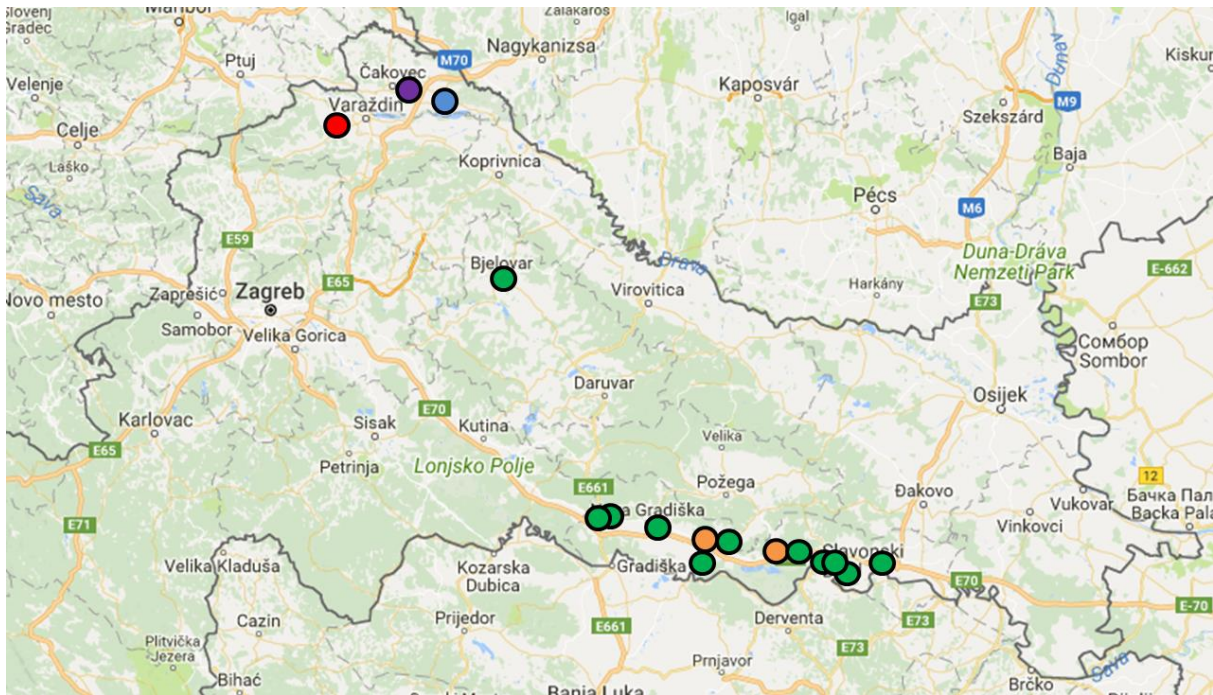
Slika 14. Geografska raspodjela seropozitivnih lovaca [(TBEV (crveno), PUUV (zeleno), TOSV (žuto)]

U skupini poljoprivrednika koji su u čestim kontaktima s glodavcima testirano je 39 ispitanika. Po jedan ispitanik iz skupine bio je pozitivan na viruse TBEV, WNV i SFNV (2,6%). Visok postotak ispitanika bio je seropozitivan na hantaviruse. Na PUUV je bilo pozitivno 11 ispitanika (28,2%), a 2 ispitanika bila su pozitivna na DOBV (5,1%) (Tablica 6).

Tablica 6. Seroprevalencija virusnih zoonoza u skupini poljoprivrednika (N=39)

Virus	IgG pozitivni N (%)
Virus krpeljnog encefalitisa (TBEV)	1 (2,6%)
West Nile virus (WNV)	1 (2,6%)
Usutu virus (USUV)	0 (0%)
Sicilijanski virus papatači groznice (SFSV)	0 (0%)
Napuljski virus papatači groznice (SFNV)	1 (2,6%)
Toscana virus (TOSV)	0 (0%)
Puumala virus (PUUV)	11 (28,2%)
Dobrava virus (DOBV)	2 (5,1%)

Ispitanici pozitivni na TBEV, WNV i SFNV bili su s područja sjeverozapadne Hrvatske, redom Maruševec (Varaždin), Draškovec (Prelog), Donji Pustakovec (Čakovec). Jedan seropozitivan ispitanik na PUUV bio je iz Bjelovara, a ostatak je s područja Slavonije, kao i ispitanici seropozitivni na DOBV. DOBV je dokazan kod Starog Petrova Sela i Lužana, a PUUV na području od Okučana na zapadnom dijelu Slavonije preko Nove Gradiške, Nove Kapele, Davora, Slavonskog Broda do Rušice na istočnom dijelu (Slika 15).



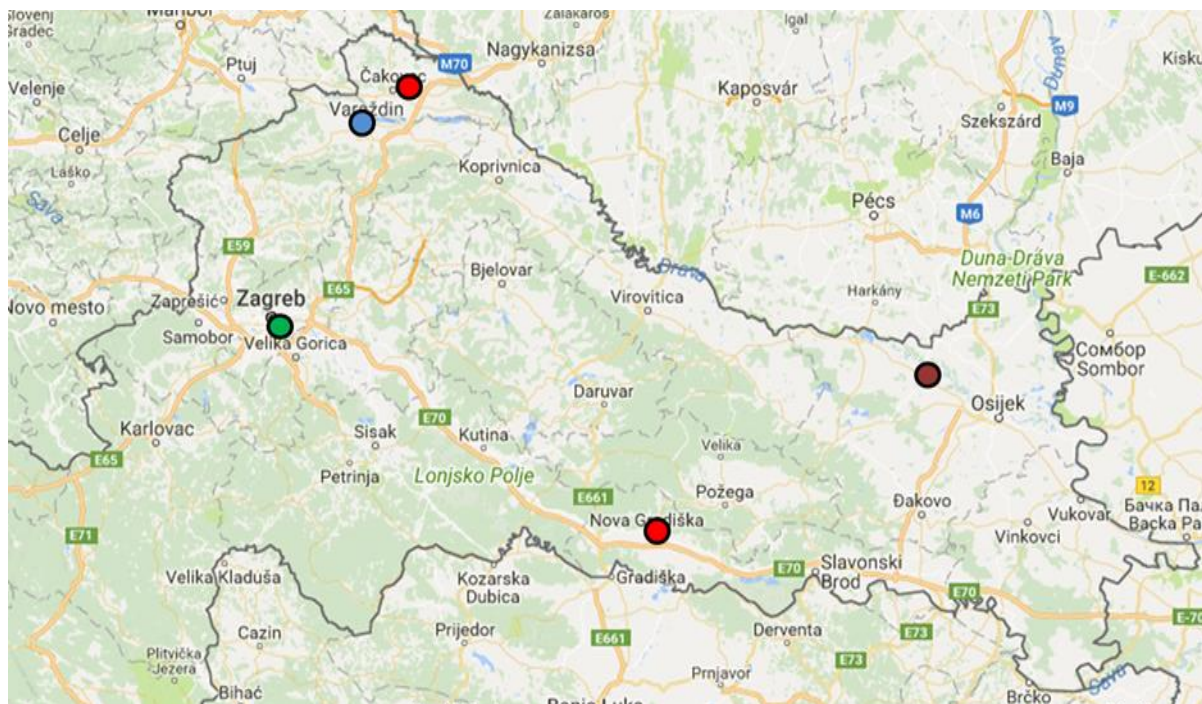
Slika 15. Geografska raspodjela seropozitivnih poljoprivrednika koji su u čestim kontaktima s glodavcima [(TBEV (crveno), WNV (plavo), PUUV (zeleno), DOBV (narančasto), SFNV (ljubičasto)]

Skupina ispitanika iz opće populacije se sastoji od 40 testiranih osoba. Dva ispitanika (5,0%) su bila pozitivna na TBEV. Po jedan ispitanik je bio seropozitivan na WNV, SFSV i PUUV (2,5% po virusu) (Tablica 7).

Tablica 7. Seroprevalencija virusnih zoonoza u općoj populaciji (N=40)

Virus	IgG pozitivni N (%)
Virus krpelnog encefalitisa (TBEV)	2 (5%)
West Nile virus (WNV)	1 (2,5%)
Usutu virus (USUV)	0 (0%)
Sicilijanski virus papatači groznice (SFSV)	1 (2,5%)
Napuljski virus papatači groznice (SFNV)	0 (0%)
Toscana virus (TOSV)	0 (0%)
Puumala virus (PUUV)	1 (2,5%)
Dobrava virus (DOBV)	0 (0%)

Dva ispitanika seropozitivna na TBEV bila su iz Nove Gradiške i Male Subotice (Čakovec). Ispitanik pozitivan na WNV bio je iz Varaždina. Jedan seropozitivan ispitanik na SFSV bio je iz Belišća (Osijek). PUUV je dokazan u ispitanika iz Zagreba (Slika 16).



Slika 16. Geografska raspodjela seropozitivnih ispitanika u općoj populaciji [(TBEV (crveno), WNV (plavo), PUUV (zeleno), SFSV (smeđe))]

Tablice 8 i 9 prikazuju seroprevalenciju arbovirusnih infekcija i virusnih infekcija koje prenose glodavci u svim testiranim skupinama. Ukupno 56 (37,5%) ispitanika je bilo pozitivno na neku od promatranih virusnih zoonoza. Najveći dio ispitanika je bio seropozitivan na TBEV sa 16,1%. Dokazan je i visok postotak seropozitivnosti na PUUV (12,8%), dok su ostali virusi bili mnogo rjeđe zastupljeni. Seropozitivnost na USUV nije dokazana u ovoj skupini ispitanika.

Dokazana je statistički značajna razlika u seroprevalenciji na TBEV, no visok seropozitivitet u profesionalno izloženoj skupini šumskih radnika pripisuje se procijepljenosti ove populacijske skupine. Statistički značajna razlika u seroprevalenciji između promatranih skupina ispitanika ($p < 0,001$) je dokazana za PUUV (2,5% u općoj populaciji; 3,9% u lovaca; 13,6% u šumskih radnika te 28,2% u poljoprivrednika u čestom kontaktu s glodavcima). Seroprevalencija ostalih testiranih virusa (WNV, SFSV, SFNV, TOSV i DOBV) nije se značajno razlikovala između skupina.

IgM protutijela nisu dokazana niti u jednog ispitanika uključenog u ovo istraživanje.

Tablica 8. Seroprevalencija arbovirusnih infekcija na području kontinentalne Hrvatske

Skupina	Testirani N (%)	TBEV N (%)	WNV N (%)	USUV N (%)	SFSV N (%)	SFNV N (%)	TOSV N (%)
Svi ispitanici	149 (100%)	24 (16,1%)	3 (2,0%)	0 (0%)	2 (1,3%)	2 (1,3%)	2 (1,3%)
Šumski radnici	44 (29,5%)	20* (45,5%)	1 (2,3%)	0 (0%)	1 (2,3%)	1 (2,3%)	1 (2,3%)
Lovci	26 (17,5%)	1* (3,9%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (3,9%)
Poljoprivrednici	39 (26,2%)	1 (2,6%)	1 (2,6%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (2,6%)	0 (0%)
Opća populacija	40 (26,8%)	2 (5,0%)	1 (2,5%)	0 (0%)	1 (2,5%)	0 (0%)	0 (0%)
<i>P vrijednost</i>		<0,001**	>0,999	NA	>0,999	>0,999	>0,999

*anamnestički podatak o cijepljenju; ** statistička značajnost

Tablica 9. Seroprevalencija virusnih infekcija koje prenose glodavci na području kontinentalne Hrvatske

Skupina	Testirani N (%)	PUUV N (%)	DOBV N (%)
Svi ispitanici	149 (100%)	19 (12,8%)	4 (2,7%)
Šumski radnici	44 (29,5%)	6 (13,6%)	2 (4,5%)
Lovci	26 (17,5%)	1 (3,9%)	0 (0%)
Poljoprivrednici	39 (26,2%)	11 (28,2%)	2 (5,1%)
Opća populacija	40 (26,8%)	1 (2,5%)	0 (0%)
<i>P vrijednost</i>		<0,001**	0,226

**statistička značajnost

6. RASPRAVA

Rezultati ovog istraživanja dokazali su prisustvo protutijela na neki od uzročnika zoonoza u 56/149 (37,5%) testiranih osoba s područja kontinentalne Hrvatske uz razlike u seroprevalenciji na pojedine uzročnike ovisno o populacijskoj skupini.

Protutijela na TBEV dokazana su u 2,6% poljoprivrednika i 5,0% ispitanika iz opće populacije. Slična je seroprevalencija na TBEV opisana u Francuskoj (2,5%) (29), dok je niža u Bugarskoj (0,5%) (30) i Norveškoj (0,4%) (31). U Čehoslovačkoj, koja predstavlja endemsko područje za TBEV, seroprevalencija je izrazito visoka: 11.5% 1980-ih godina te 26.3% 2001. godine (32). Visoka učestalost TBEV IgG protutijela dokazanih u skupini šumskih radnika i lovaca obuhvaćenih ovim istraživanjem rezultat je procijepljenosti ovih profesionalno izloženih skupina.

Protutijela na hantaviruse dokazana su u ukupno 15,5% ispitanika, od čega PUUV u 12,8% te DOBV u 2,7% ispitanika. Seroprevalencija na PUUV se značajno razlikovala između populacijskih skupina. Seropozitivitet u poljoprivrednika koji su naveli podatak o čestom kontaktu s glodavcima iznosio je visokih 28,2%, dok je u šumskih radnika bio 13,6%, u lovaca 3,9% te u općoj populaciji 2,6%. Slična je seroprevalencija u izloženoj populaciji dokazana u Grčkoj (9,66%; raspon 0-18,5%) (33). U općoj je populaciji seroprevalencija niža, npr. u Bugarskoj 0,8-2,3% (34) te Engleskoj 3,3% (35), dok je znatno viša u pojedinim endemskim područjima sjeverne Europe kao npr. 12,5% u Finskoj (36) te 13,4% u Švedskoj (37). Najveći je broj seropozitivnih osoba u ovom radu zabilježen u profesionalno izloženim skupinama (poljoprivrednici-28,2%; šumski radnici-13,6%). Za razliku od rezultata prikazanih u ovom radu, u Švicarskoj studiji nije nađena razlika u seropozitivitetu između izloženih osoba (0-1,9%) u odnosu na neizložene osobe (0,5%) (38). Analizirajući geografsku rasprostranjenost, najveći broj PUUV i DOBV seropozitivnih osoba dokazan je na području istočnih hrvatskih županija koje predstavljaju endemska područje za hantavirusne infekcije.

Seroprevalencija na WNV iznosila je, ovisno o populacijskoj skupini, od 0-2,6%. Nisku seroprevalenciju pokazala su i istraživanja u ostalim europskim državama: 0-0,42% u Italiji (39,40) te 1,5% u Bugarskoj (30) i Grčkoj (41), dok je nešto viša seroprevalencija dokazana u Turskoj (4,3%) (42). U drugom je istraživanju provedenom na području Italije analizirana seroprevalencija na WNV u različitim populacijskim skupinama. Niti jedna testirana osoba u skupini šumskih radnika, lovaca, veterinarara i konjušara nije imala WNV IgG protutijela (43). Iznimku čini jedno istraživanje iz Poljske, gdje su WNV IgG protutijela dokazana u čak 17,24% šumskih radnika (44).

Protutijela na viruse papatači groznice dokazana su u 2,6% ispitanika (SFSV 1,3%; SFNV 1,3%) uključena u ovo istraživanje. Seropozitivitet na ove viruse viši je u nekim

endemskim područjima kao npr. u pojedinim regijama u Italiji gdje je na SFSV seropozitivno 9,2% stanovnika (45), dok je u ostalim dijelovima Italije seroprevalencija slična kao i u ovom radu (1,85-2,90%) (20). Isto tako, znatno je viši seropozitivitet dokazan u istraživanju provedenom 1980-ih godina na području hrvatskog priobalja i otoka (23,6%; raspon 5,2%-31,7%) (46).

Na TOSV je bilo seropozitivno 2,3% šumskih radnika i 3,9% lovaca iz kontinentalnih hrvatskih županija obuhvaćenih ovim istraživanjem. Nešto je viša seroprevalencija na ovom području (6,1%) nađena u istraživanju provedenom od 2007. do 2009. godine, dok je značajno viša nađena na području dalmatinskih otoka (53,9%) i priobalja (33,6%) (23). Vrlo visoku seroprevalenciju pokazale su i ostale mediteranske zemlje u kojima je ovaj virus prisutan endemski. Tako je npr. seroprevalencija visoka (22,95% u 2003-2004. godini; 26,75% u 2013-2014. godini) na području središnje Italije (Siena, Toscana), dok je u južnom dijelu (Bari, Apulia) slična kao i u ovom istraživanju (2,90% u 2004. godini; 1,85% u 2017. godini) (20). Još je viši seropozitivitet dokazan na pojedinim grčkim otocima (Evia 34,78%; Corfu 51,7%; Samos 40%; Cephalonia 39% (47,48). Sva su tri tipa virusa dokazana na Cipru, s višom seroprevalencijom SFSV i SFNV (57%) u odnosu na TOSV (32%) (49). Niža je seroprevalencija nađena u istraživanjima provedenim u Francuskoj i Španjolskoj. U Francuskoj je TOSV protutijela imalo 18,9% bolesnika hospitaliziranih zbog infekcije SŽS-a te 12% dobrovoljnih davatelja krvi (50). Protutijela na TOSV nađena su u 7,2% stanovnika Madrida 1993-1994. godine te 5,7% 1999-2000. godine (51). Seroprevalencija u Portugalu se kretala u rasponu od 1,3-4,2%, što se podudara s našim rezultatima (52). Vrlo visok seropozitivitet na TOSV (77,2%) dokazan je u šumskih radnika na endemskom području Toscanne, dok je značajno niži dokazan u istoj skupini na području Piedmonta (6%) (49).

Iako su seropozitivne osobe kao i bolesnici s neuroinvazivnom USUV infekcijom sporadično dokazani na području Hrvatske, niti jedan ispitanik uključen u ovo istraživanje nije bio seropozitivan na USUV. Niska je seroprevalencija na ovaj virus (0,78%) opisana u jednom istraživanju na području Italije (40). U drugom talijanskom istraživanju gdje je testirana skupina šumskih radnika i poljoprivrednika, protutijela na USUV nisu dokazana (39).

U zaključku, rezultati ovog rada pokazali su da su virusi uzročnici zoonoza prisutni na području Hrvatske. Kao jedno od ograničenja ovog rada, svakako valja spomenuti relativno mali broj ispitanika po pojedinoj populacijskoj skupini zbog čega rezultate treba interpretirati s oprezom. Potrebna su daljnja istraživanja na većem broju izloženih i neizloženih osoba kako bi se utvrdila točna seroprevalencija te čimbenici rizika za ove infekcije.

7. ZAKLJUČCI

1. U skupini izloženih i neizloženih s područja kontinentalne Hrvatske obuhvaćenih ovim istraživanjem, dokazana su IgG protutijela na TBEV, WNV, SFSV, SFNV, TOSV, PUUV i DOBV, dok protutijela na USUV nisu nađena.
2. Ukupno 56/149 (37,5%) ispitanika je bilo seropozitivno na neku od promatranih virusnih zoonoza.
3. Najveći broj ispitanika bio je seropozitivan na TBEV (24/16,1%), a dokazana statistički značajna razlika u seroprevalenciji pripisuje se procijepljenosti u skupini šumskih radnika.
4. U promatranoj skupini je dokazana visoka ukupna seroprevalencija na PUUV (19/12,8%), a najveći broj seropozitivnih osoba je s područja istočnih hrvatskih županija koje predstavljaju endemska područja za hantavirusne infekcije.
5. Dokazana je statistički značajna razlika ($p < 0,001$) u seroprevalenciji na PUUV između promatranih skupina ispitanika (2,5% u općoj populaciji; 3,9% u lovaca; 13,6% u šumskih radnika te 28,2% u poljoprivrednika u čestom kontaktu s glodavcima)
6. Seroprevalencija na WNV (0-2,6%), SFSV (0-2,5%), SFNV (0-2,6%), TOSV (0-3,9%) i DOBV (0-5,1%) nije se značajno razlikovala između skupina.
7. Potrebna su daljnja istraživanja na većem broju izloženih i neizloženih osoba kako bi se utvrdila točna seroprevalencija te čimbenici rizika za ove infekcije.

8. ZAHVALE

Zahvaljujem se svojoj mentorici doc.dr.sc. Tatjani Vilibić-Čavlek na vodstvu, pomoći, savjetima i pristupačnosti pri izradi ovog diplomskog rada te izv. prof. dr. sc. Branku Kolariću na pomoći pri statističkoj obradi rezultata.

Zahvale i mojoj obitelji i djevojci Josipi na strpljenju i podršci tijekom čitavog studija.

9. LITERATURA

1. Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, ed. Mandell, Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases. 8th Ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2014. Str. 3554-3558.
2. Kalenić S i sur. Medicinska mikrobiologija. Zagreb: Medicinska naklada; 2013.
3. Vilibić-Čavlek T, Barbić Lj, Pandak N, Pem-Novosel I, Stevanović V, Kaić B, i sur. Virus krpeljnog encefalitisa: epidemiološka i klinička slika, dijagnostika i prevencija. *Acta Med Croatica*. 2014;68:393-404.
4. Lindquist L, Vapalahti O. Tick-borne encephalitis. *Lancet* 2008;371:1861-1871.
5. Kaiser R. Tick-borne encephalitis. *Infect Dis Clin North Am*. 2008;22(3):561-575.
6. Gritsun TS, Lashkevich VA, Gould EA. Tick-borne encephalitis. *Antiviral Res*. 2003;57:129-146.
7. Niedrig M, Vaisviliene D, Teichmann A, Klockmann U, Biel SS. Comparison of six different commercial IgG-ELISA kits for detection of TBEV-antibodies. *J Clin Virol* 2001;20:179-82
8. WHO. Vaccines against tick-borne encephalitis: WHO position paper. *Wkly Epidemiol Rec*. 2011;86:241-256.
9. Vilibić-Čavlek T, Barbić Lj, Ljubin-Sternak S, Pem-Novosel I, Stevanović V, Gjenero-Margan I, i sur. Infekcija Virusom Zapadnog Nila: re-emergentna bolest u Hrvatskoj. *Liječ Vjesn*. 2013;135:156-161.
10. Ciota AT, Kramer LD. Vector-virus interactions and transmission dynamics of West Nile virus. *Viruses*. 2013;5(12):3021-3047.
11. Kipp AM, Lehman JA, Bowen RA, Fox PE, Stephens MR, Klenk K, et al. West Nile virus quantification in feces of experimentally infected American and fish crows. *Am J Trop Med Hyg*. 2006;75:688-690.
12. Sejvar JJ. Clinical manifestations and outcomes of West Nile infection. *Viruses*. 2014;6(2):606-623.
13. Niedrig M, Sonnenberg K, Steinhagen K, Paweska JT. Comparison of ELISA and immunoassays for measurement of IgG and IgM antibody to West Nile virus in human sera against virus neutralisation. *J Virol Methods*. 2007;139(1):103-105.
14. Sabatino DD, Bruno R, Sauro F, Danzetta ML, Cito F, Iannetti S, et al. Epidemiology of West Nile disease in Europe and in the Mediterranean basin from 2009 to 2013. *Biomed Res Int*. 2014;2014:907852.
15. Vilibić-Čavlek T, Barbić Lj, Stevanović V, Mlinarić-Galinović G. Usutski virus: Novi flavivirus u Hrvatskoj. *Liječ Vjesn*. 2015;137:46-51.

16. Chvala S, Kolodziejek J, Nowotny N, Weissenböck H. Pathology and viral distribution in fatal Usutu virus infections of birds from the 2001 and 2002 outbreaks in Austria. *J Comp Pathol.* 2004;131:176-185.
17. Santini M, Vilibić-Čavlek T, Baršić B, Barbic L, Savic V, Stevanovic V, et al. First cases of human Usutu virus neuroinvasive infection in Croatia, August-September 2013: clinical and laboratory features. *J Neurovirol.* 2015;21(1):92-97.
18. Kocak Tufan Z, Tasyaran AM, Guven T. Sandfly fever: A mini review. *Virology Mycol.* 2013;2:109.
19. Alkan C, Bichaud L, de Lamballerie X, Alten B, Gould EA, Charrel RN. Sandfly-borne phleboviruses of Eurasia and Africa: epidemiology, genetic diversity, geographic range, control measures. *Antiviral Res.* 2013;100(1):54-74.
20. Marchi S, Trombetta CM, Kistner O, Montomoli E. Seroprevalence study of Toscana virus and viruses belonging to the Sandfly fever Naples antigenic complex in central and southern Italy. *J Infect Public Health.* 2017;10(6):866-869.
21. Ergünay K, Litzba N, Lo MM, Aydoğan S, Saygan MB, Us D, et al. Performance of various commercial assays for the detection of Toscana virus antibodies. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2011;11(6):781-787.
22. Ayhan N, Charrel RN. Emergent sand fly-borne phleboviruses in the Balkan Region. *Emerg Infect Dis.* 2018;24(12):2324-2430.
23. Punda-Polić V, Jerončić A, Mohar B, Šiško-Kraljević K. Prevalence of Toscana virus antibodies in residents of Croatia. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18:200-203.
24. Vilibić-Čavlek T, Furić A, Barbić Lj, Tabain I, Stevanović V, Mlinarić-Galinović G. Clinical and virological characteristics of hantavirus infections in a 2014 Croatian outbreak. *J Infect Dev Ctries.* 2017;11(1):73-80
25. Krüger DH, Schönrich G, Klempa B. Human pathogenic hantaviruses and prevention of infection. *Human Vaccines.* 2011;7(6):685-93.
26. Markotić A, Nichol ST, Kuzman I, Sanchez AJ, Ksiazek TG, Gagro A, et al. Characteristics of Puumala and Dobrava infections in Croatia. *J Med Virol.* 2002;66:542-551.
27. Manigold T, Vial P. Human hantavirus infections: epidemiology, clinical features, pathogenesis and immunology. *Swiss Med Wkly.* 2014;20:144.
28. Bi Z, Formenty PBH, Roth CE. Hantavirus infection: a review and global update. *J Infect Dev Ctries.* 2008;2(1):3-23.
29. Rigaud E, Jaulhac B, Garcia-Bonnet N, Hunfeld KP, Féménia F, Huet D, et al. Seroprevalence of seven pathogens transmitted by the Ixodes ricinus tick in forestry workers in France. *Clin Microbiol Infect.* 2016;22(8):735-739.

30. Christova I, Panayotova E, Tchakarova S, Taseva E, Trifonova I, Gladnishka T. A nationwide seroprevalence screening for West Nile virus and Tick-borne encephalitis virus in the population of Bulgaria. *J Med Virol.* 2017;89(10):1875-1878.
31. Hjetland R, Henningsson AJ, Vainio K, Dudman SG, Grude N, Ulvestad E. Seroprevalence of antibodies to tick-borne encephalitis virus and *Anaplasma phagocytophilum* in healthy adults from western Norway. *Infect Dis (Lond).* 2015;47(1):52-56.
32. Kriz B, Hubalek Z, Marek M, Daniel M, Strakova P, Betasova L. Results of the Screening of tick-borne encephalitis virus antibodies in human sera from eight districts collected two decades apart. *Vector-Borne Zoonotic Dis.* 2015;15(8):489-493.
33. Panos G, Sargianou M, Papa A, Gogos C. Hantaviruses: seroprevalence and risk factors among humans in Achaia prefecture, Greece. *BMC Infect Dis.* 2014; 14(Suppl 2): P91.
34. Christova I, Panayotova E, Trifonova I, Taseva E, Hristova T, Ivanova V. Country-wide seroprevalence studies on Crimean-Congo hemorrhagic fever and hantavirus infections in general population of Bulgaria. *J Med Virol.* 2017;89(10):1720-1725.
35. Duggan JM, Close R, McCann L, Wright D, Keys M, McCarthy N, et al. A seroprevalence study to determine the frequency of hantavirus infection in people exposed to wild and pet fancy rats in England. *Epidemiol Infect.* 2017;145(12):2458-2465.
36. Latronico F, Mäki S, Rissanen H, Ollgren J, Lyytikäinen O, Vapalahti O, et al. Population-based seroprevalence of Puumala hantavirus in Finland: smoking as a risk factor. *Epidemiol Infect.* 2018;146(3):367-371.
37. Bergstedt Oscarsson K, Brorstad A, Baudin M, Lindberg A, Forssén A, Evander M, et al. Human Puumala hantavirus infection in northern Sweden; increased seroprevalence and association to risk and health factors. *BMC Infect Dis.* 2016;16(1):566.
38. Schultze D, Fierz W, Matter HC, Bankoul S, Niedrig M, Schmiedl A. Cross-sectional survey on hantavirus seroprevalence in Canton St. Gallen, Switzerland. *Swiss Med Wkly.* 2007;137(1-2):21-26.
39. Remoli ME, Fiorentini C, Marchi A, Di Renzi S, Vonesch N, Peri MV, et al. Seroprevalence survey of arboviruses in workers from Tuscany, Italy. *Med Lav.* 2018;109(2):125-131.
40. Faggioni G, De Santis R, Pomponi A, Grottola A, Serpini GF, Meacci M, et al. Prevalence of Usutu and West Nile virus antibodies in human sera, Modena, Italy, 2012. *J Med Virol.* 2018;90(10):1666-1668.

41. Hadjichristodoulou C, Pournaras S, Mavrouli M, Marka A, Tserkezou P, Baka A, et al.; MALWEST Project. West Nile virus seroprevalence in the Greek population in 2013: A Nationwide Cross-Sectional Survey. *PLoS One*. 2015;10(11):e0143803.
42. Gazi H, Özkütük N, Ecemis Ö, Atasoylu G, Köroglu G, Kurutepe S, et al. Seroprevalence of West Nile virus, Crimean-Congo hemorrhagic fever virus, Francisella tularensis and Borrelia burgdorferi in rural population of Manisa, western Turkey. *J Vector-Borne Dis*. 2016;53(2):112-117.
43. Spataro P, Scoglio ME, Di Pietro A, Chirico C, Visalli G, Macrì B, et al. Seroprevalence study on the diffusion of the West Nile virus among blood donors, healthcare workers, jockeys, grooms and fowlers, veterinary surgeons and hunters in Messina (Italy). *Prev Med Hyg*. 2008;49(1):22-25.
44. Kondrusik M, Ferenczi E, Zajkowska J, Pancewicz S, Grygorczuk S, Swierzbńska R, et al. The evaluation of serum presence of antibodies reacting with West Nile Fever virus (WNV) antigens among inhabitants from Podlaskie and Swietokrzyskie region. *Przegl Epidemiol*. 2007;61(2):409-416.
45. Calamusa G, Valenti RM, Vitale F, Mammina C, Romano N, Goedert JJ, et al. Seroprevalence of and risk factors for Toscana and Sicilian virus infection in a sample population of Sicily (Italy). *J Infect*. 2012;64(2):212-217 .
46. Borčić B, Punda V. Sandfly fever epidemiology in Croatia. *Acta Med Iugosl*. 1987;41(2):89-97.
47. Anagnostou V, Papa A. Seroprevalence of Toscana virus among residents of Aegean Sea islands, Greece. *Travel Med Infect Dis*. 2013;11(2):98-102.
48. Papa A, Andriotis V, Tzilianos M. Prevalence of Toscana virus antibodies in residents of two Ionian islands, Greece. *Travel Med Infect Dis*. 2010;8(5):302-304.
49. Cusi MG, Savellini GG, Zanelli G. Toscana virus epidemiology: From Italy to beyond. *Open Virol J*. 2010; 4: 22-28.
50. De Lamballerie X, Tolou H, Durand JP, Charrel RN. Prevalence of Toscana virus antibodies in volunteer blood donors and patients with central nervous system infections in southeastern France. *Vector-Borne Zoonotic Dis*. 2007;7:275-277.
51. de Ory-Manchón F, Sanz-Moreno JC, Aranguéz-Ruiz E, Ramírez-Fernández R. Age-dependent seroprevalence of Toscana virus in the Community of Madrid: 1993-1994 and 1999-2000. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2007;25(3):187-189.
52. Amaro F, Luz T, Parreira P, Marchi A, Ciufolini MG, Alves MJ. Serological evidence of Toscana virus infection in Portuguese patients. *Epidemiol Infect*. 2012;140(6):1147-1150.

10. ŽIVOTOPIS

Rođen sam 25.12.1994. u Čakovcu. Nakon završenog srednjoškolskog obrazovanja u Gimnaziji Josip Slavenski Čakovec, 2013. godine upisao sam Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. U akademskoj godini 2015./2016. bio sam demonstrator na Katedri za histologiju i embriologiju. Na Katedri za Medicinsku mikrobiologiju i parazitologiju sam tijekom tri akademske godine, od 2016. do 2019., bio demonstrator. Dobitnik sam Dekanove nagrade za uspjeh u akademskoj godini 2017./2018.

Autor sam i koautor na 6 radova prikazanih na međunarodnim i domaćim skupovima.

1. Vilibić-Čavlek T, Arbovirus study group: Avšič-Županc T, Babić-Erceg A, Balenović M, Barbić Lj, Betica-Radić Lj, Bogdanić M, Capak K, Jeličić P, Jemeršić L, Jungić A, Kaić B, Klobučar A, Kolarić B, Kosanović-Ličina M, Karabuva S, Krčmar S, Listeš E, Lukšić B, Madić J, Miklaušić B, Ovčar D, Pandak N, Perić L, Potočnik-Hunjadi T, Prpić J, Sabadi D, Savić V, Stevanović V, Tabain I, Toplak I, Zember S, Savini G. Prevalence and molecular epidemiology of emerging and re-emerging arboviral infections in Croatia, 2017. Book of Abstracts. XX Symposium of Epizootiologists and Epidemiologists. Vrnjačka Banja, Serbia, 18-20 April, 2018, p. 37 (abstract)

2. Tabain I, Vilibić-Čavlek T, Arbovirus study group: Avšič-Županc T, Babić-Erceg A, Balenović M, Barbić Lj, Capak K, Jemeršić L, Jungić A, Kaić B, Klobučar A, Kolarić B, Krčmar S, Listeš E, Madić J, Miklaušić B, Ovčar D, Pandak N, Perić Lj, Potočnik-Hunjadi T, Prpić J, Sabadi D, Savić V, Stevanović V, Toplak I, Zember S, Savini, G. Prevalence and molecular epidemiology of West Nile virus infections in Croatia, 2017. U: Panovski, N. (ur.) Abstract Book. VI Congress of Macedonian Microbiologists with international participation. FEMS-supported Symposium: "Emerging infections". Ohrid, Macedonia, 30 May-2 June, 2018, pp 256-257 (abstract)

3. Bogdanić M, Arbovirus study group: Avšič-Županc T, Babić- Erceg A, Barbić Lj, Capak, K, Jemeršić L, Jungić A, Kaić B, Klobučar A, Kolarić B, Krčmar S, Madić J, Miklaušić B, Ovčar D, Pandak N, Perić Lj, Potočnik-Hunjadi T, Prpić J, Sabadi D, Savić V, Stevanović V, Tabain I, Toplak I, Zember S, Vilibić-Čavlek T. Prevalence of tick-borne encephalitis in endemic regions of the Croatian mainland, 2017. Abstract Book. VI Congress of Macedonian Microbiologists with international participation. FEMS-supported Symposium: "Emerging infections". Ohrid, Macedonia, 30 May-2 June, 2018, pp 49-50 (abstract)

4. Vilibić-Čavlek T, Arbovirus study group: Avšič-Županc T, Babić-Erceg A, Barbić Lj, Betica-Radić Lj, Bogdanić M, Capak K, Jemeršić L, Jungić A, Kaić B, Karabuva S, Klobučar A, Kolarić B, Kosanović-Ličina ML, Krčmar S, Listeš E, Lukšić B, Madić J, Miklaušić B, Ovčar D, Pandak N, Perić Lj, Potočnik-Hunjadi T, Prpić J, Sabadi D, Savić V, Stevanović V, Tabain I, Toplak I, Zember S, Savini G. An overview of mosquitoes and emerging arboviral infections in Croatia. Book of Abstracts. 36. Jahrestagung der Österreichischen Gesellschaft für Hygiene, Mikrobiologie und Präventivmedizin, Graz, Austria, 4-7 June, 2018. (abstract)

5. Ovčar D, Tabain I, Kolarić B, Milašinčić Lj, Artl S, Bogdanić M, Barbić Lj, Savić V, Stevanović V, Vilibić-Čavlek T. Seroprevalencija virusnih zoonoza koje prenose člankonošci i glodavci u izloženih i neizloženih osoba na području kontinentalne Hrvatske. U: Vilibić-Čavlek T, Barbić Lj, Savić V, Kaić B (ur.) Zbornik sažetaka. Emergentne i zapostavljene zoonoze u kontekstu "Jednog zdravlja". Zagreb, 18-19. listopada, 2018, str. 71-72. (sažetak)

6. Vilibić-Čavlek T; Radna skupina za praćenje arbovirusa: Savić V, Sabadi D, Perić Lj, Miklaušić B, Barbić Lj, Santini M, Kolaric-Sviben G, Dvorski E, Butigan T, Tabain I, Bogdanić M, Potočnik-Hunjadi T, Klobučar A, Baličević M, Stevanović V, Balenović M, Babić-Erceg A, Jemeršić L, Prpić J, Andrić Z, Krčmar S, Milašinčić Lj, Antolašić Lj, Artl S, Vucelja M, Boljfečić M, Jungić A, Kolarić B, Vrtarić S, Kaić B, Ovčar D, Radmanić L, Košuta I, Mrzljak A, Dinjar-Kujundžić P, Šalamun M, Capak K, Madić J. Neuroinvasive arboviral infections in Croatia in the "One Health" context, 2018. Book of Abstracts. XXI Symposium of Epizootiologists and Epidemiologists, Novi Sad, Serbia, 10-12 April, 2019, p. 65 (abstract)