

Prevalencija infekcija uzrokovanih flebovirusima na području Hrvatske 2017. i 2018. godine

Šalamun, Mirta

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:105:794288>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-24**



Repository / Repozitorij:

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



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Mirta Šalamun

**Prevalencija infekcija uzrokovanih
flebovirusima na području Hrvatske 2017. i
2018. godine**

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 financirala 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 KRATICA

EIA (engl. <i>enzyme immunoassay</i>)	Imunoenzimski test
IFA (engl. <i>indirect immunofluorescent assay</i>)	Indirektni imunofluorescentni test
RNA (engl. <i>Ribonucleic acid</i>)	Ribonukleinska kiselina
mRNA (engl. <i>Messenger ribonucleic acid</i>)	Glasnička ribonukleinska kiselina
IgM (engl. <i>Immunoglobulin M</i>)	Imunoglobulin M
IgG (engl. <i>Immunoglobulin G</i>)	Imunoglobulin G
CSL	Cerebrospinalni likvor
SŽS	Središnji živčani sustav
TOSV	Toscana virus
SFSV (engl. <i>Sandfly fever Sicilian virus</i>)	sicilijanski virus papatači groznice
SFNV (engl. <i>Sandfly fever Naples virus</i>)	napuljski virus papatači groznice
SFCV (engl. <i>Sandfly fever Cyprus virus</i>)	ciparski virus papatači groznice

SADRŽAJ

1.	UVOD.....	1
1.1.	POVIJESNI PREGLED.....	1
1.2.	KLASIFIKACIJA FLEBOVIRUSA.....	2
1.3.	GRAĐA I UMNOŽAVANJE FLEBOVIRUSA.....	3
1.4.	EPIDEMIOLOGIJA FLEBOVIRUSNIH INFEKCIJA.....	5
1.5.	KLINIČKA SLIKA FLEBOVIRUSNIH INFEKCIJA.....	7
1.6.	DIJAGNOSTIKA FLEBOVIRUSNIH INFEKCIJA.....	7
	1.6.1. Izolacija virusa.....	7
	1.6.2. Molekularna dijagnostika.....	7
	1.6.3. Serološka dijagnostika.....	8
2.	HIPOTEZA.....	9
3.	CILJ RADA.....	9
4.	ISPITANICI I METODE.....	10
	4.1. Ispitanici.....	10
	4.2. Metode.....	12
5.	REZULTATI.....	15
6.	RASPRAVA.....	20
7.	ZAKLJUČCI.....	22
8.	ZAHVALA.....	23
9.	LITERATURA.....	24
10.	ŽIVOTOPIS.....	27

SAŽETAK

Prevalencija infekcija uzrokovanih flebovirusima na području Hrvatske 2017. i 2018. godine

Mirta Šalamun

Flebovirusi čine dio velike skupine arbovirusa koje na ljude prenose flebotomi (nevidi). Infekcije uzrokovane ovim virusima u ljudi se očituju kao febrilna bolest, tzv. "trodnevna groznica" ("papatači groznica"), dok virus Toscana (TOSV) može uzrokovati i neuroinvazivnu bolest (serozni meningitis/encefalitis). Flebovirusi su rasprostranjeni u mediteranskim zemljama gdje uzrokuju infekcije, osobito u ljetnim mjesecima. Na području Hrvatske dokazani su sicilijanski (SFSV), napuljski (SFNV) i ciparski (SFCV) virus papatači groznice te TOSV. Cilj rada je odrediti seroprevalenciju na fleboviruse u stanovnika kontinentalnog područja Hrvatske i priobalja. Tijekom dvogodišnjeg razdoblja, od siječnja 2017. godine do prosinca 2018. godine, na fleboviruse je testirano ukupno 214 ispitanika u dobi od 18 do 89 godina. U ispitivanoj je skupini bilo 113 (52,8%) muškaraca i 101 (47,2%) žena. Ovisno o geografskom području, 92 ispitanika (43,0%) su bila s područja priobalja, a 122 (57,0%) s područja kontinentalne Hrvatske. Svi su ispitanici bili asimptomatski u vrijeme testiranja te nisu naveli anamnestički podatak o nedavnoj febrilnoj bolesti. IgG protutijela na SFSV, SFNV, SFCV i TOSV određena su pomoću indirektnog imunofluorescentnog testa (IFA; Sandfly Fever Mosaic, Euroimmun, Lübeck, Njemačka). Protutijela na SFSV dokazana su u 5 (2,3%) ispitanika, SFNV u 7 (3,3%), SFCV u jednog (0,5%) te TOSV u 22 (10,3%) ispitanika. Seroprevalencija se nije značajno razlikovala s obzirom na spol (muškarci 14,2%; žene 13,9%) te dob ispitanika (11,1-19,4%). Statistički značajno viša seroprevalencija ($p < 0,001$) dokazana je u stanovnika priobalja (25,0%) u odnosu na stanovnike kontinentalnih područja (5,7%). Rezultati logističke regresije pokazali su da je prebivalište u priobalju značajan rizični čimbenik za seropozitivitet na fleboviruse (OR=5,476; 95%CI=2,232-13,430). Akutne flebovirusne infekcije nisu dokazane. Rezultati ovog istraživanja potvrdili su prisutnost flebovirusa na području Hrvatske, no obzirom na relativno mali broj ispitanika, potrebna su daljnja istraživanja kako bi se potvrdila ova opažanja te odredila točna seroprevalencija u obje ispitivane regije Hrvatske.

Ključne riječi: flebovirusi, seroprevalencija, Hrvatska, papatači groznica

SUMMARY

Prevalence of phlebovirus infections in Croatia in 2017 and 2018

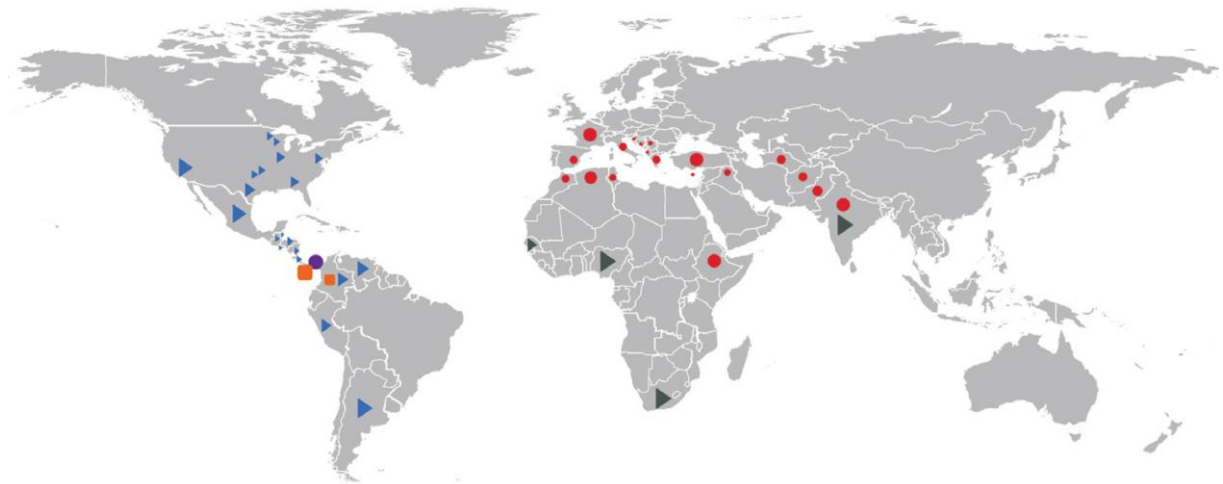
Mirta Šalamun

Phleboviruses belong to a large group of arboviruses that are transmitted to humans by sandflies (*Phlebotomus*). Infections by these viruses in humans manifest as a febrile disease, so-called “three-day fever” (“Pappataci fever”), while the Toscana virus (TOSV) may also cause neuroinvasive disease (aseptic meningitis/encephalitis). Phleboviruses are widespread in the Mediterranean countries, where they cause diseases, especially during the summer months. In Croatia, TOSV, Sicilian (SFSV), Naples (SFNV) and the Cyprus (SFCV) sandfly fever viruses were detected. The aim of this study was to determine the seroprevalence of phleboviruses in residents of the continental and coastal Croatian areas. During a two-year period, from January 2017 to December 2018, a total of 214 participants aged 18 to 89 were tested for phleboviruses. The study group included 113 (52.8%) men and 101 (47.0%) women. Depending on the geographic area, 92 (43.0%) participants were from the coastal and 122 (57.0%) from the continental Croatian regions. All participants were asymptomatic at the time of testing and did not report recent febrile illness. IgG antibodies to SFSV, SFNV, SFCV and TOSV were determined using an indirect immunofluorescent assay (IFA; Sand-fly Fever Mosaic, Euroimmun, Lübeck, Germany). Antibodies to SFSV were found in 5 (2.3%) participants, SFNV in 7 (3.3%), SFCV in one (0.5%) and TOSV in 22 (10.3%) participants. There was no significant difference in the seroprevalence according to gender (men 14.2%; women 13.9%) and age of participants (11.1-19.4%). Statistically significant higher seroprevalence ($p < 0.001$) was found between inhabitants of the coastal areas (25.0%) compared to the inhabitants of continental regions (5.7%). The results of logistic regression have shown that residence in the coastal area is a significant risk factor for flebovirus seropositivity (OR=5.476; 95%CI=2.232-13.430). Acute phlebovirus infections were not detected. Results of this study confirmed the presence of phleboviruses in Croatia. Due to a relatively small number of participants, further researches are needed to confirm these observations and determine the exact seroprevalence in both studied Croatian regions.

Key words: phleboviruses, seroprevalence, Croatia, Pappataci fever

UVOD

Flebotomi (u Hrvatskoj poznati i pod imenom nevidi ili papatači) rasprostranjeni su na širokom geografskom području koje se proteže preko Europe do Azije, Afrike, Srednje i Južne Amerike, gdje mogu prenositi znatan broj virusa. Nisu zabilježeni jedino u Australiji (slika 1). Među virusima koje prenose, s aspekta utjecaja na zdravlje čovjeka, najznačajniji virusi su grupirani u rod *Phlebotomus*. Flebovirusi uzrokuju samoograničavajuće febrilne bolesti (papatači groznice) ili infekcije središnjeg živčanog sustava. Infekcije se pojavljuju u gradskim, prigradskim i ruralnim područjima, ali uglavnom u područjima gdje su lošiji životni uvjeti (1).



Slika 1. Zemljopisna rasprostranjenost flebovirusa Starog i Novog svijeta (virusi koje prenose nevidi prikazani su crvenim krugovima)

Izvor: Ayhan i Charrel. Sandfly-Borne Viruses of Demonstrated/Relevant Medical Importance. DOI: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.81023>

POVIJESNI PREGLED

Sicilijanski (SFSV) i napuljski (SFNV) virusi papatači groznice prvi su put izolirani iz seruma oboljelih vojnika u Egiptu 1943. godine odnosno u Italiji (Napulj) 1944. godine. Toscana virus (TOSV) izoliran je u središnjoj Italiji (Toscana) 1971. godine iz *Phlebotomus perniciosus* i *Phlebotomus perfiliewi*, a 12 godina kasnije iz središnjeg živčanog sustava (SŽS) bolesnika s meningitisom.

Tijekom Drugog svjetskog rata, opisane su epidemije među vojnicima na području Sredozemlja i Bliskog Istoka (2). Nakon Drugog svjetskog rata zabilježena je epidemija papatači groznice u Beogradu, u Srbiji, gdje je oboljelo tisuće stanovnika (3), a potom i u

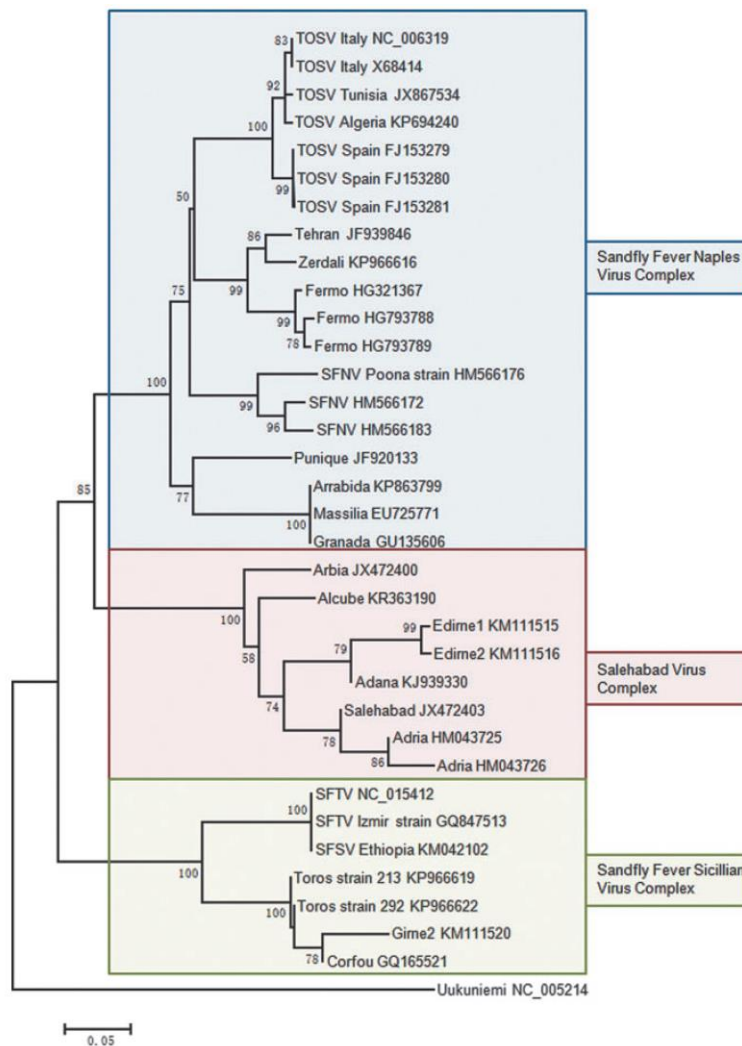
drugim područjima Balkana (4). U novije su vrijeme zabilježene velike epidemije na Cipru, Iraku, Turskoj i Etiopiji (5-8). Nadalje, tijekom posljednja dva desetljeća, velik je broj novih flebovirusa izoliran ili detektiran molekularnim metodama u Francuskoj, Italiji, Portugalu, Grčkoj, Albaniji, Hrvatskoj, Bosni i Hercegovini, Turskoj, Iranu, Tunisu, Alžiru i Maroku (2,9).

KLASIFIKACIJA FLEBOVIRUSA

Flebovirusi pripadaju porodici *Phenuiviridae*, rodu *Phlebovirus*. Flebovirusi Starog Svijeta svrstavaju se u tri serološka kompleksa, koji se također smatraju taksonomskim vrstama: napuljski serokompleks papatači groznice, sicilijanski serokompleks papatači groznice te Salehabad serokompleks (tablica 1, slika 2). Napuljskom serokompleksu pripada i TOSV. Adria virus je prvi i za sada jedini virus u Salehabad serokompleksu povezan s bolestima u čovjeka. Najznačajniji flebovirus Novog Svijeta je Punta Toro virus (10,11).

Tablica 1. Flebovirusi Starog Svijeta koji uzrokuju bolesti u ljudi

Serokompleks	Virusi
Napuljski serokompleks papatači groznice	Napuljski virus Toscana virus Massilia virus Tehran virus Granada virus Punique virus Fermo virus Saddaguia virus Arrabida virus Zerdali virus
Sicilijanski serokompleks papatači groznici	Sicilijanski virus Ciparskivirus Turski virus Utique virus
Salehabad serokompleks	Salehabad virus Arbia virus Adria virus Alcube virus Edirne virus Adana virus Virus doline Medjerda

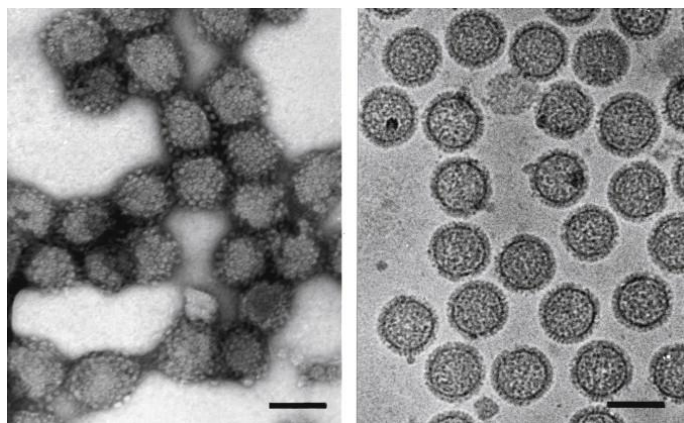


Slika 2. Filogenetska analiza flebovirusa Starog Svijeta

Izvor: Ayhan N, et al. Practical Guidelines for Studies on Sandfly-Borne Phleboviruses: Part I: Important Points to Consider Ante Field Work. Vector Borne Zoonotic Dis. 2017;17(1):73-80.

GRAĐA I UMNOŽAVANJE FLEBOVIRUSA

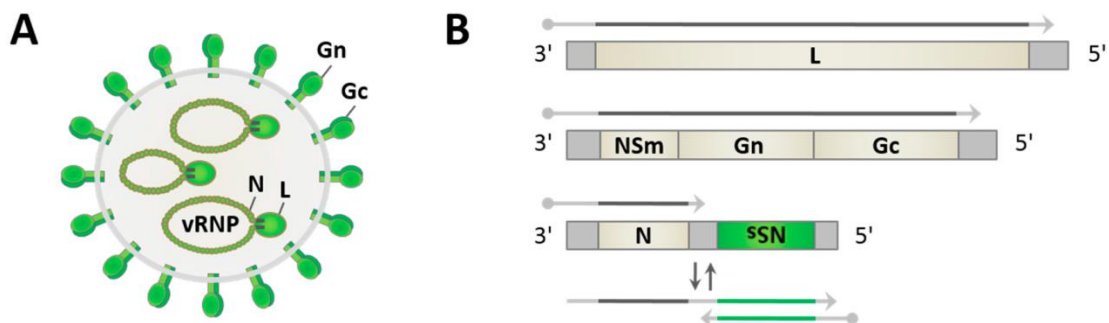
Flebovirusi su sferični ili pleomorfni, 80-120 nm u promjeru (slika 3) i sadrže lipidnu ovojnicu te površinske glikoproteinske izdanke veličine 5-10 nm na kojima su smješteni hemaglutinin i antigene determinante odgovorne za tvorbu neutralizacijskih protutijela. Virusne su ribonukleokapside kružnog oblika, promjera 2-2,5 nm, duljine 200-3000 nm i uz njih je vezana RNA polimeraza. Virusi imaju četiri strukturalna proteina: dva vanjska glikoproteina (Gn i Gc), nukleokapsidni protein (N) i veliki protein polimeraze (L). Za razliku od drugih virusa s negativnom RNA, virusna ovojnica na sadrži unutarnji M protein (12).



Slika 3. Flebovirusi (elektronska mikroskopija)

Izvor: www.sciencedirect.com/topics/neuroscience/phlebovirus

Genom flebovirusa čini jednolančana negativna (-) RNA koja sadrži tri segmenta: L (veliki) segment kodira virusnu RNA polimerazu (RdRp), M (srednji) segment kodira glikoproteine ovojnice (Gn i Gc) i nestrukturani protein m (NSm) te S (mali) segment kodira nukleokapsidni protein (N) i nestrukturani protein s (NSs) (slika 4) (12).



Slika 4. Struktura i genom flebovirusa

Izvor: Wuerth i Weber, *Viruses* 2016; doi: 10.3390/v8060174.

Replikacija virusa odvija se u citoplazmi inficiranih stanica. Nakon spajanja glikoproteina Gn ili Gc na stanične receptore, virus endocitozom ulazi u stanicu, a razgradnjom nukleokapsida započinje sinteza mRNA i proteina. Svaki segment genoma (L, M, S) se prepisuje pomoću virusne RNA polimeraze u mRNA te zatim prevodi u proteine na staničnim ribosomima. Glikoproteini se sintetiziraju i glikoziliraju u području Golgijevog aparata. Virus pupa kroz Golgijevu membranu u citoplazmu, a iz stanice se oslobađa egzocitozom ili lizom (13).

EPIDEMIOLOGIJA FLEBOVIRUSNIH INFEKCIJA

Do danas su virusi papatači groznice izolirani samo iz ljudi i flebotoma pa se pretpostavlja da su flebotomi i rezervoari virusa. Rasprostranjenost flebovirusnih infekcija poklapa se s rasprostranjenošću flebotoma koji žive u području između 45° sjeverne i 20° južne geografske širine.

Flebotomi (slika 5) su mali insekti čija veličina iznosi 1,2-3,7 mm, sa slabom mogućnošću letenja. Aktivni su tijekom noći, kada dolazi do smanjenja temperature i povećane količine vlage u zraku. Krvlju se hrane samo ženke, dok se mužjaci hrane biljnim sokovima. Do prijenosa virusa na ljude i životinje dolazi kada ženke flebotoma uzimaju krvni obrok, što je najčešće u razdoblju od svibnja do listopada. U podneblju s umjerenom klimom pokazuju sezonsku aktivnost koja se proteže u razdoblju od travnja do listopada, dok su u područjima s tropskom klimom aktivni tijekom cijele godine (13).

Rasprostranjenost *P. papatasi* na području Europe prikazana je na slici 6.

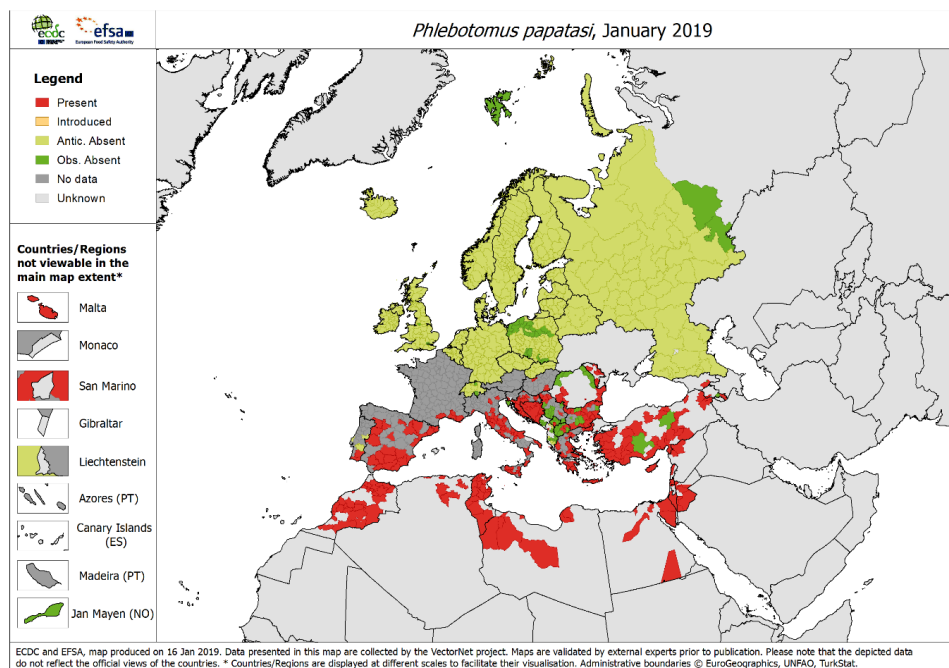


Slika 5. *Phlebotomus papatasi* - vektor flebovirusa

Izvor: www.ecdc.europa.eu/en/disease-vectors/facts/phlebotomine-sand-flies

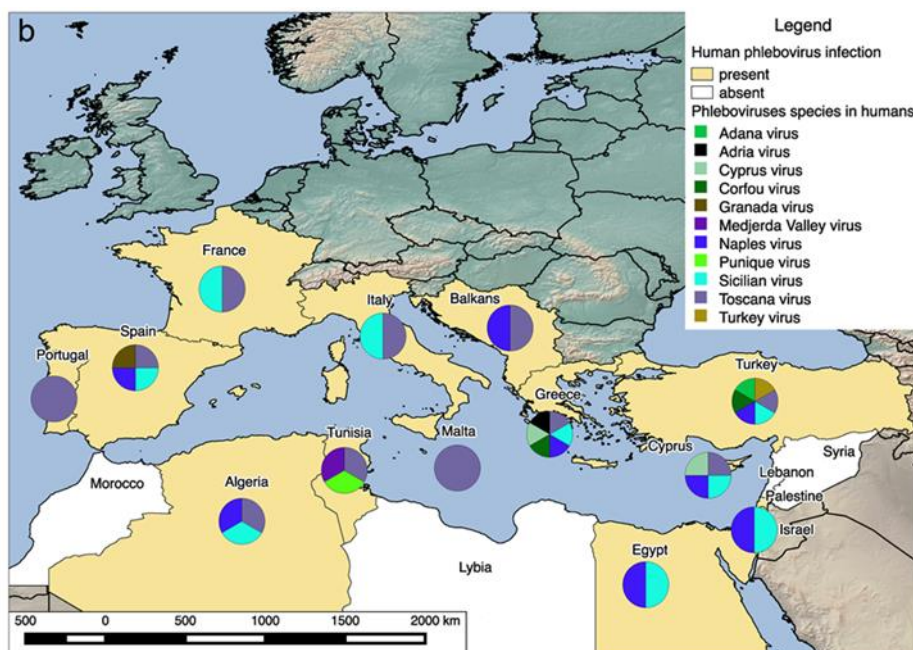
Epidemije uzrokovane flebovirusima, posebno TOSV zabilježene su u mnogim europskim zemljama uz Sredozemno more (Italija, Francuska, Španjolska, Portugal). Na području Hrvatske se bolest uzrokovana virusima SFSV i SFNV pojavljuje tijekom ljeta i rane jeseni. Opisani su i sporadični slučajevi neuroinvazivne TOSV infekcije na području Dalmacije (14), dok su protutijela dokazana u 53,9% stanovnika priobalja i 33,6% stanovnika dalmatinskih otoka (15). U endemskim područjima obolijevaju pretežito djeca i novopridošle osobe (turisti, vojnici).

Rasprostranjenost flebovirusa na području Europe prikazana je na slici 7 (16).



Slika 6. Rasprostranjenost *Phlebotomus papatasi* na području Europe

Izvor: <https://ecdc.europa.eu/en/publications-data/phlebotomus-papatasi-current-known-distribution-january-2019>



Slika 7. Rasprostranjenost flebovirusa na području Europe

Izvor: Moriconi i sur. Phlebotomine sand fly-borne pathogens in the Mediterranean Basin: Human leishmaniasis and phlebovirus infections. PLoS Negl Trop Dis. 2017;11(8):e0005660.

KLINIČKA SLIKA FLEBOVIRUSNIH INFEKCIJA

Infekcije koje uzrokuju SFSV i SFNV u ljudi se očituju kao febrilna bolest, također poznata kao "papatači groznica" (ili "trodnevna groznica"). Na temelju kliničkih znakova nije moguće razlikovati infekciju uzrokovanu SFSV od infekcije uzrokovane SFNV jer su simptomi gotovo identični. Nakon inkubacije od tri do pet dana, oba virusa uzrokuju naglu pojavu bolesti s povišenom temperaturom, glavoboljom, malaksalošću, fotofobijom, mijalgijom i retroorbitalnom boli koja obično prolazi unutar tjedan dana. U djece je bolest blaža.

TOSV je do sada najpatogeniji flebovirus zbog tropizma za SŽS pa može uzrokovati meningitis i meningoencefalitis. U cerebrospinalnom likvoru (CSL) se nađe pleocitoza, povišene vrijednosti proteina te normalne vrijednosti glukoze. Nedavno je u bolesnika s meningitisom dokazan Adria virus, koji je i prvi virus iz Salehabad serokompleksa povezan s infekcijom u čovjeka (13).

Nakon infekcije ostaje doživotna imunost na virus kojim je osoba bila inficirana, no ne i za heterologne viruse, tako da je u endemskim krajevima moguća infekcija više puta.

DIJAGNOSTIKA FLEBOVIRUSNIH INFEKCIJA

Dijagnostika flebovirusa uključuje izravne (izolacija virusa, detekcija antigena, detekcija RNA) i neizravne metode (detekcija specifičnih protutijela).

Izolacija virusa

Izolacija flebovirusa moguća je iz krvi, plazme te cerebrospinalnog likvora (TOSV) prvih nekoliko dana nakon početka bolesti. SFSV i SFNV rastu u staničnim kulturama majmuskog bubrega (Vero, LLCMK2) i BHK-21 (stanice bubrega hrčka), a TOSV i u kulturama CV-1 (stanice majmuskog bubrega) te SW13 (stanice kore nadbubrežne žlijezde) u kojima stvaraju CPU, dok ne rastu u staničnim kulturama dobivenim od komaraca. Najučinkovitija metoda za izolaciju je intracerebralna inokulacija u mišju sisančad, no ona se zbog zahtjevnosti rijetko primjenjuje (17).

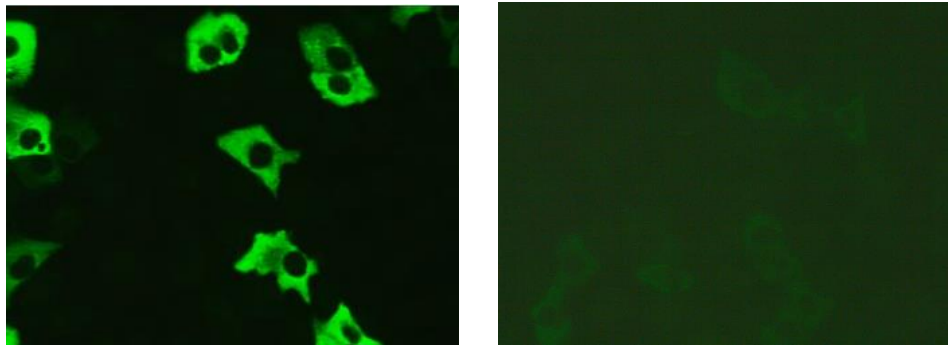
Molekularna dijagnostika

U usporedbi s drugim metodama, detekcija virusne nukleinske kiseline predstavlja osjetljiviji dijagnostički instrument, zaobilazeći potrebu za specijaliziranom opremom uključenom u izolaciju virusa, uz pružanje bržih i točnijih rezultata. Genom TOSV se može detektirati u cerebrospinalnom likvoru (CSL-u) samo 2-3 dana nakon pojave simptoma.

Budući da S segment predstavlja regiju visoko postojanih gena, obično se koriste početnice usmjerene na ovaj dio genoma flebovirusa (18).

Serološka dijagnostika

Prolazna i niska viremija prisutna je tijekom infekcije flebovirusima te je stoga serološka dijagnostika i dalje "zlatni standard" u dokazivanju flebovirusa. U serološkoj se dijagnostici najčešće primjenjuje imunoenzimski test (engl. *enzyme immunoassay*, EIA) te indirektni imunofluorescentni test (engl. *indirect immunofluorescent assay*, IFA) (slika 8) kojima se mogu razlikovati IgM i IgG protutijela. Prisustvo IgM protutijela ukazuje na nedavnu infekciju. Specifičnija metoda je imunoblot test kojom je moguće razlikovati IgM i IgG protutijela na različite virusne antigene. Zbog mogućih križnih reakcija između virusa koji pripadaju istom serokompleksu, potrebno je dijagnozu potvrditi neutralizacijskim testovima (1).



Slika 8. Indirektni imunofluorescentni test na Toscana virus: pozitivan rezultat (lijevo), negativan rezultat (desno)

Izvor: Referentni centar Ministarstva zdravstva za dijagnostiku i praćenje virusnih zoonoza, Nacionalni referentni laboratorij za arboviruse, Hrvatski zavod za javno zdravstvo

2. HIPOTEZA

Seroprevalencija flebovirusnih infekcija u Republici Hrvatskoj ne razlikuje se od seroprevalencije u ostalim europskim zemljama.

Stanovnici priobalja imaju višu seroprevalenciju flebovirusa u odnosu na stanovnike kontinentalnih područja..

3. CILJ RADA

Cilj rada je odrediti seroprevalenciju flebovirusnih infekcija na području Hrvatske.

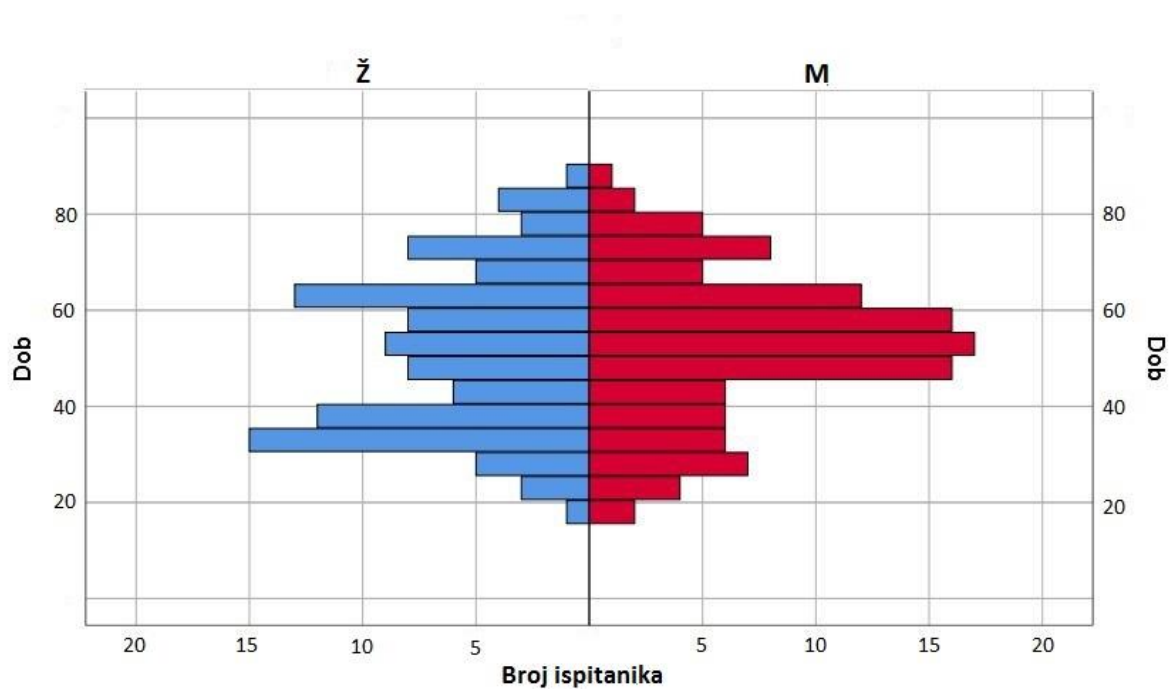
Odredit će se seroprevalencija na viruse papatači groznice (SFSV, SFNV, SFCV) i TOSV.

Seroprevalencija će se analizirati s obzirom na spol, dob te mjesto prebivališta.

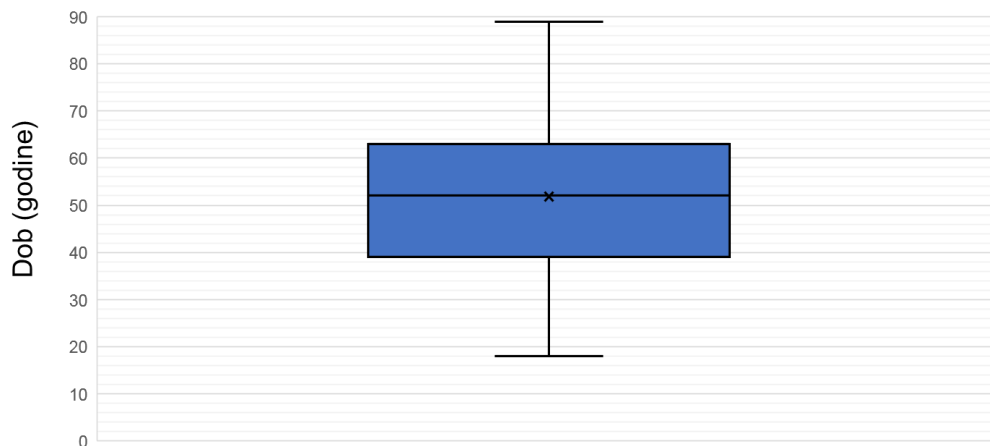
4. ISPITANICI I METODE

4.1. Ispitanici

Tijekom dvogodišnjeg razdoblja (2017.-2018. godine) testirano je ukupno 214 uzoraka seruma ispitanika s područja Hrvatske, od čega je bilo 113 muškaraca (52,8%) i 101 žena (47,2%) u dobi od 18 do 95 godina (slika 9); prosječne životne dobi od 52 godine (51 godinu za žene, 53 godine za muškarce) (slika 10). Svi su ispitanici bili asimptomatski u vrijeme testiranja te nisu naveli anamnestički podatak o nedavnoj febrilnoj bolesti.



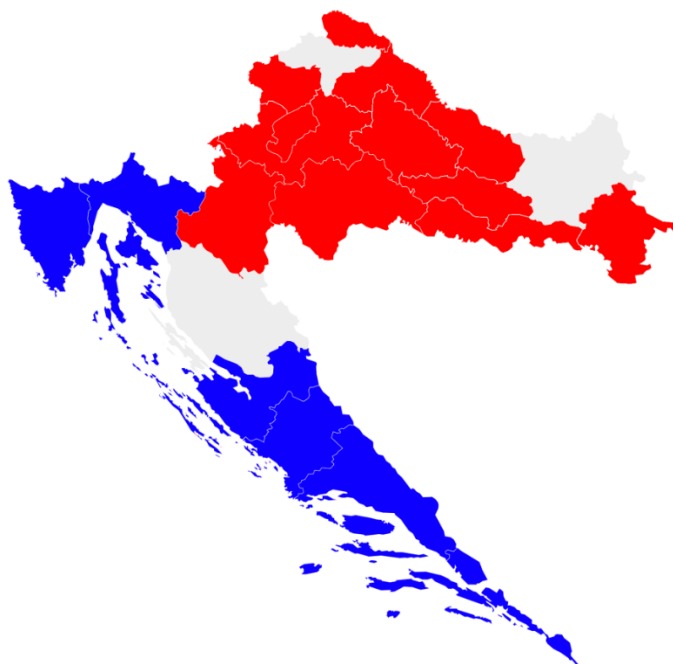
Slika 9. Raspodjela ispitanika prema dobi i spolu



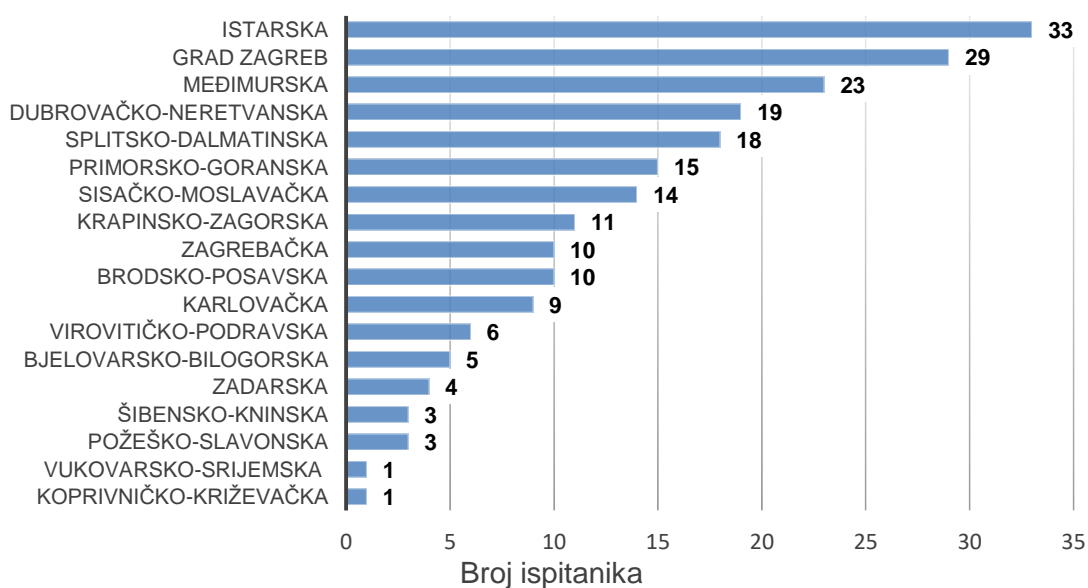
Slika 10. Prosječna životna dob ispitanika

Za potrebe ovog istraživanja, ispitanici su podijeljeni u tri dobne skupine: I (< 30 godina) - 21 (9,8%) ispitanika; II (30 - 60 godina) - 126 (58,9%) ispitanika; III (60+ godina) - 67 (31,3%) ispitanika.

Ispitanici su bili s područja 18/21 hrvatskih županija: 12 kontinentalnih te 6 županija na području hrvatskog priobalja (slika 11). Od toga je 122 (57,0%) ispitanika bilo iz kontinentalnih županija te 92 (43,0%) ispitanika iz priobalnih županija Hrvatske (slika 12).



Slika 11. Županije u kojima su provedena uzorkovanja



Slika 12. Raspodjela ispitanika po županijama

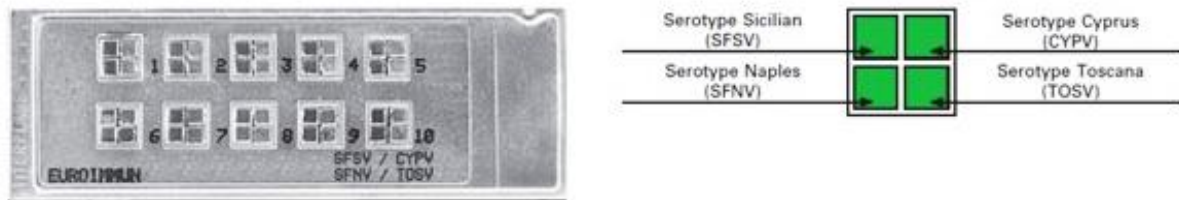
4.2. Metode

Specifična IgG protutijela na fleboviruse: SFSV, SFNV, SFCV i TOSV određena su pomoću komercijalnih dijagnostičkih IFA testova (Euroimmun, Lübeck, Njemačka) (slika 13). Uzorci seruma s dokazanim IgG protutijelima na neki od flebovirusa dodatno su testirani na prisutnost IgM protutijela u svrhu potvrde/isključenja nedavne infekcije.

IFA - SANDFLY FEVER MOSAIC IgM/IgG

Sadržaj testa:

1. stakalaca s BIOCHIPOVIMA presvučenim s antigenom (SFSV, SFNV, SFCV, TOSV)
2. konjugat (antihumani IgG/IgM - obilježen fluoresceinom; FITC)
3. pozitivni kontrolni serum
4. negativni kontrolni serum
5. apsorbens (anti-humani IgG)
6. pufer za razrjeđivanje 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 13. Imunofluorescentni test za detekciju protutijela na fleboviruse

Izvor: Euroimmun AG D-23560 Lübeck, Germany, dostupno na:http://mail3.euroimmun.de/fileadmin/template/images/pdf/tropen_UK.pdf

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

Određivanje IgM protutijela: ispitivani serum se razrjeđuje 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 fleboviruse 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.

IgA 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

Statistička obrada rezultata

Razlike između grupa nominalnih varijabli testirane su Fischerovim egzaktnim testom. Jakost povezanosti zavisne i nezavisnih varijabli procijenjena je univarijatnom logističkom regresijom. Razina statističke značajnosti određena je na $\alpha=0,05$. Obrada podatka učinjena je pomoću paketa STATA/IC ver.11.2 (StataCorp LP, USA).

5. REZULTATI

Prevalencija IgG protutijela na fleboviruse prikazana je u tablici 2. Seropozitivno je bilo ukupno 30 ispitanika (pet od njih bilo je seropozitivno na dva flebovirusa). Protutijela na SFSV dokazana su u 5 (2,3%) ispitanika, SFNV u 7 (3,3%), SFCV u jednog (0,5%) te TOSV u 22 (10,3% ispitanika). IgM protutijela nisu dokazana niti u jednog ispitanika.

Tablica 2. Seroprevalencija na fleboviruse

Virus	IgG pozitivni N (%)	95%CI
SFSV	5 (2,3)	0,7 - 5,4
SFNV	7 (3,3)	1,3 - 6,6
SFCV	1 (0,5)	0,1 - 2,5
TOSV	22 (10,3)	6,6 - 15,2
UKUPNO	35 (16,4)	9,7 - 19,4

Ovisno o spolu, IgG protutijela dokazana su u 16 muškaraca (14,2%) i u 14 žena (13,9%), čime nije dokazana statistički značajna razlika u seroprevalenciji ($p=0,950$).

Ovisno o dobi, seropozitivno je bilo 14,3% osoba iz dobne skupine < 30 godina, 11,1% osoba u dobi od 30 do 60 godina te 19,4% osoba starijih od 60 godina. Navedene razlike u seroprevalenciji između dobnih skupina nisu statistički značajne ($p=0,251$).

Tablica 3. Seroprevalencija fleboviruse s obzirom na demografske značajke

Značajka	Testirani N (%)	IgG pozitivni N(%)	95%CI	p
Spol				<i>0,950</i>
Muški	113 (52,8)	16 (14,2)	8,3 - 22,0	
Ženski	101 (47,2)	14 (13,9)	7,8 - 22,2	
Dob				<i>0,251</i>
< 30 god.	21 (9,8)	3 (14,3)	3,0 - 36,3	
30 - 60 god.	126 (58,9)	14 (11,1)	6,2 - 17,9	
60 + god.	67 (31,3)	13 (19,4)	10,8 - 30,9	

Statistički značajna razlika u seroprevalenciji dokazana je između stanovnika priobalja (25,0%) i stanovnika stanovnike kontinentalnih regija (5,7%; $p < 0,001$).

Obzirom na mjesto prebivališta seroprevalencija se nije značajno razlikovala između stanovnika gradskih područja (16,5%) te stanovnika prigradskih naselja/seoskih područja ($p = 0,116$) (tablica 4).

Tablica 4. Seroprevalencija fleboviruse s obzirom na geografsku lokaciju

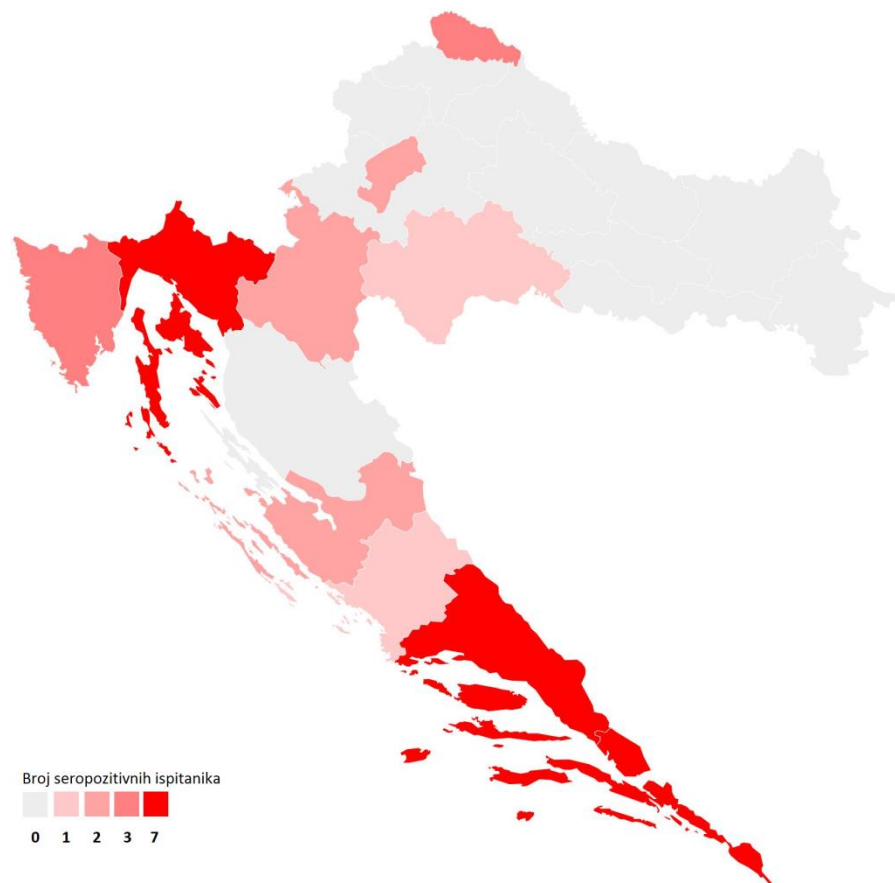
Značajka	Testirani N (%)	IgG pozitivni N (%)	95%CI	p
Prebivalište				$< 0,001^*$
Priobalje	92 (43,0)	23 (25,0)	16,6 - 35,1	
Kontinentalni dio	122 (57,0)	7 (5,7)	2,3 - 11,4	
Mjesto boravišta				0,116
Grad	158 (73,8)	26 (16,5)	11,0 - 23,2	
Prigradsko naselje/selo	56 (26,2)	4 (7,1)	2,0 - 17,3	

Rezultati logističke regresije pokazali su da je prebivalište na području priobalja značajan rizični čimbenik za seropozitivitet na fleboviruse. Stanovnici priobalnih hrvatskih županija imali su peterostruko viši rizik za IgG seropozitivitet u odnosu na stanovnike kontinentalnih županija ($OR = 5,476$; $95\%CI = 2,232 - 13,430$) (tablica 5).

Tablica 5. Analiza rizika za seropozitivitet na fleboviruse logističkom regresijom

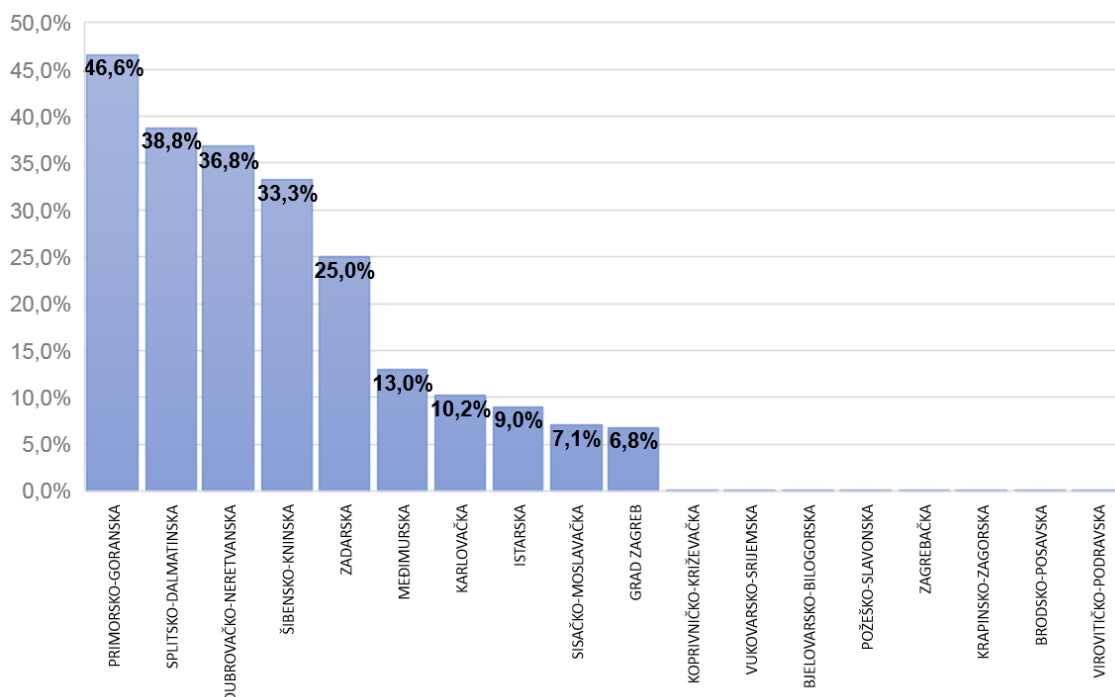
Značajka	IgG na fleboviruse OR(%)	95%CI
Spol - muški (ref) vs. ženski	1,025	0,472 - 2,221
Dob (porast za jednu godinu)	1,008	0,985 - 1,033
Prebivalište - priobalje (ref) vs. kontinentalni dio	5,476*	2,232 - 13,430
Mjesto boravišta - prigradsko naselje/selo (ref) vs. grad	2,560	0,851 - 7,696

Seropozitivne osobe na fleboviruse dokazane su u 10 županija, svih šest testiranih priobalnih županija te četiri od 12 testiranih kontinentalnih županija (slika 14).



Slika 14. Broj seropozitivnih osoba po županijama

Najviša je seroprevalencija na fleboviruse dokazana u Primorsko-goranskoj (7/15; 46,6%), Splitsko-dalmatinskoj (7/18; 38,8%) i Dubrovačko-neretvanskoj županiji (7/19; 36,8%), a naniža u Sisačko-moslavačkoj (1/14; 7,1%) županiji i Gradu Zagrebu (6,8%) (slike). Niti jedna seropozitivna osoba nije dokazana u Koprivničko-križevačkoj, Vukovarsko-srijemskoj, Bjelovarsko-bilogorskoj, Požeško-slavonskoj, Zagrebačkoj, Krapinsko-zagorskoj, Brodsko-posavskoj i Virovitičko-podravskoj županiji (slika 15).



Slika 15. Seroprevalencija na fleboviruse po županijama

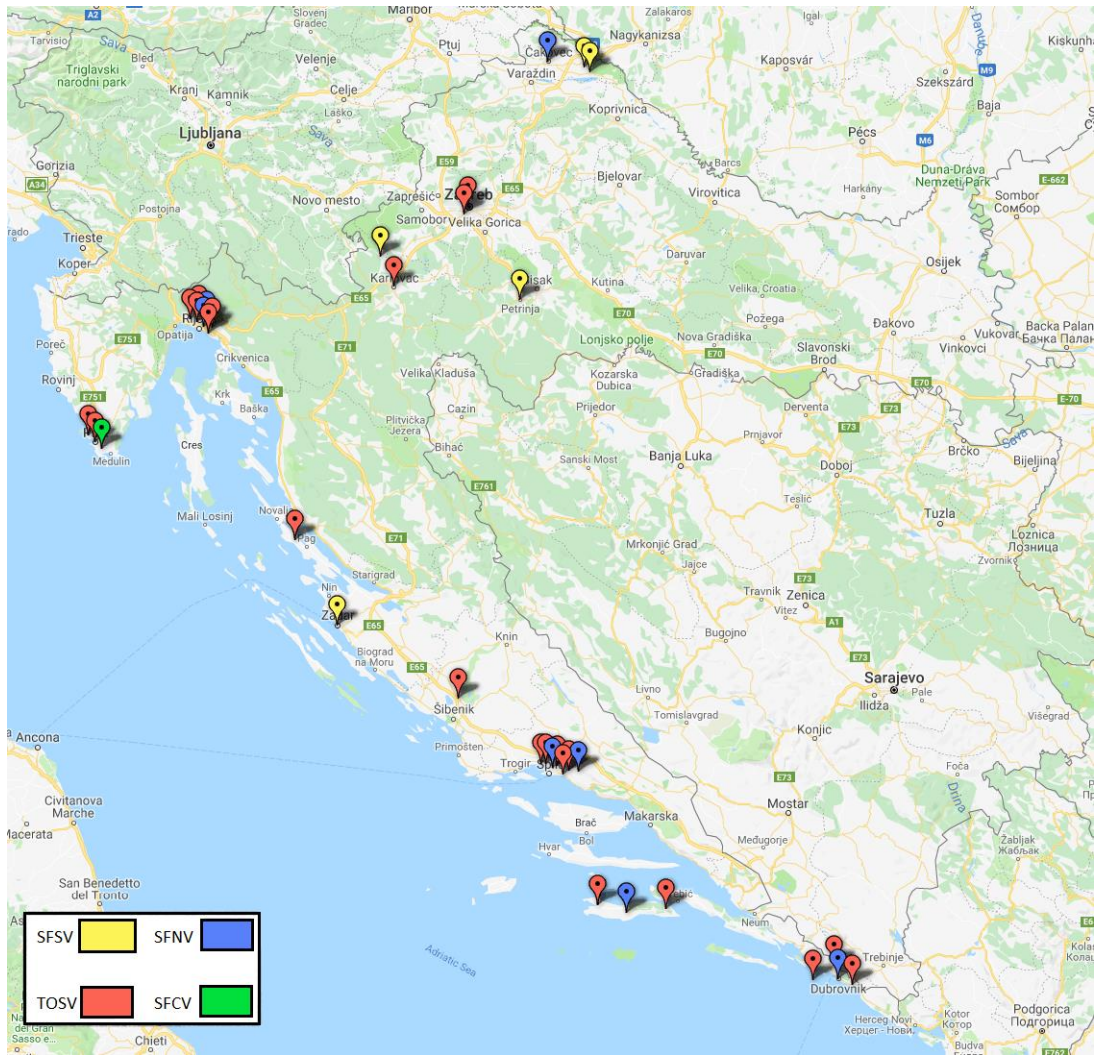
Geografska raspodjela seropozitivnih osoba po tipu virusa prikazana je na slici 16.

Od ukupno 214 testiranih osoba, bile su 22 seropozitivne osobe na TOSV od čega je pet bilo u Dubrovačko-neretvanskoj (tri u Dubrovniku, jedna u Veloj Luki, jedna u Korčuli), pet u Splitsko-dalmatinskoj (četiri u Splitu i jedna u Stobreču) i pet u Primorsko-goranskoj županiji (svih pet u Rijeci), dvije seropozitivne osobe u Gradu Zagrebu i dvije u Istarskoj županiji (Pula), jedna osoba u Karlovačkoj županiji (Karlovac), jedna u Šibensko-kninskoj (u Skradinu) i jedna u Zadarskoj županiji (na Pagu).

Na SFSV bilo je seropozitivno ukupno pet osoba, dvije u Međimurskoj županiji (jedna u Draškovcu, jedna u Donjem Kraljevcu), te po jedna u Sisačko-moslavačkoj (Petrinja), Karlovačkoj (Ozalj) i Zadarskoj županiji (Zadar).

Na SFNV bilo je pozitivno 7 osoba. Dvije seropozitivne osobe su bile u Primorsko-goranskoj županiji (u Rijeci), dvije u Dubrovačko-neretvanskoj (jedna u Dubrovniku, jedna na Korčuli), dvije u Splitsko-dalmatinskoj (jedna u Stobreču, jedna u Splitu) te jedna u Međimurskoj županiji (u Čakovcu).

Na SFCV bila je seropozitivna jedna osoba u Istarskoj županiji (u Puli).



Slika 16. Geografska raspodjela seropozitivnih ispitanika na SFSV, SFNV, TOSV, SFCV u Republici Hrvatskoj

6. RASPRAVA

U ovom su istraživanju IgG protutijela na fleboviruse dokazana su u ukupno 16,4% ispitanika. TOSV protutijela nađena su u 10,3% ispitanika, SFSV protutijela u 2,3%, SFNV protutijela u 3,3%, a SFCV u 0,5% ispitanika. U stanovnika priobalja seroprevalencija je bila značajno viša (25,0%) u odnosu na stanovnike kontinentalnih područja Hrvatske (5,7%).

U ranijim je istraživanjima provedenim na području Hrvatske, 1970-ih godina nađen viši seropozitivitet na SFSV (15,6%) te SFNV (57,6%) na području Dalmacije, dok su u istraživanju provedenom 1986. godine protutijela na SFNV su nađena u 23,6% stanovnika stanovnika i otoka Korčule što se podudara s rezultatima ovog rada (19). Na otoku Mljetu, 1990. godine je seroprevalencija na SFNV bila i dalje visoka (51,4%) (20). U novijem istraživanju provedenom u razdoblju 2007. do 2009. godine, IgG protutijela na TOSV dokazana su u 53,9% stanovnika jadranskih otoka, 33,6% stanovnika priobalja te 6,1% stanovnika kontinentalnih područja (14). Dok je seroprevalencija u priobalju bila viša, seroprevalencija u kontinentalnom dijelu (6,1%) nije se razlikovala od seroprevalencije dokazane na istom području u ovom istraživanju (5,7%).

Rezultati seroepidemioloških studija provedenih u općoj populaciji na području mediteranskih zemalja, gdje su flebovirusi rasprostranjeni, dosta se razlikuju. Više je istraživanja seroprevalencije flebovirusnih infekcija, posebno TOSV, provedeno u Italiji gdje je ova infekcija u pojedinim područjima prisutna endemski (osobito u području Toscanne). U nedavno provedenom istraživanju, seroprevalencija na području Toscanne iznosila je 10% (21). U drugom su istraživanju (središnja Italija) protutijela na viruse napuljskog serokompleksa papataci groznice (TOSV/SFNV) nađena u 22,95% stanovnika Toscanne 2003-2004. godine te 26,75% ispitanika 2013-2014. godine. Na području južne Italije (Bari) seroprevalencija je bila znatno niža i iznosila 2,90% 2004. godine te 1,85% 2015. godine (22). Vrlo je visoka seroprevalencija dokazana na području Sicilije gdje je 33,2% ispitanika bilo pozitivno na TOSV, 9,2% na SFSV te 4% na oba virusa (23).

Istraživanje seroprevalencije provedeno na sedam grčkih otoka u Egejskom moru pokazalo je ukupnu seroprevalenciju na TOSV od 21%, s najviše seropozitivnih osoba na otocima Samos (40%) i Evia (34,78%) (24). Druga je studija na području sjevernog dijela Grčke dokazala ukupnu seroprevalenciju na TOSV od 11,26% s rasponom od 0-23,5% (25). Sličan je seropozitivitet dokazan na Cipru (20%) (26).

Istraživanje provedeno na području Španjolske dokazalo je nižu seroprevalenciju. Protutijela na TOSV nađena su u 7,2% stanovnika Madrida 1993-1994. godine te 5,7% 1999-2000. godine (27). Vrlo je niska seroprevalencija na TOSV dokazana u Portugalu koja je iznosila 1,3% u općoj populaciji, dok je bila nešto viša (2,4%) u bolesnika s neurološkim simptomima (28). Isto je tako vrlo niska prevalencija zabilježena u susjednoj Francuskoj gdje

protutijela na viruse SFSV serokompleksa papataci groznice dokazana u svega 1% testiranih osoba (29).

U nekoliko su istraživanja testirani dobrovoljni davatelji krvi (DDK). U ovoj je populacijskoj skupini seroprevalencija većinom niža u odnosu na opću populaciju. Na području Kosova neutralizacijska protutijela na SFNV nađena su u 1,0%, a protutijela na TOSV u 0,5% DDK (30). Za razliku od navedenih studija, na području Turske je seroprevalencija visoka i u DDK. U četiri zemljopisne regije dokazana je ukupna seroprevalencija na neki od flebovirusa (SFSV, SFNV, TOSV) od visokih 32,9% (31).

Rezultati ovog istraživanja nisu pokazali značajnu razliku u seroprevalenciji flebovirusa u odnosu na spol (muškarci 14,2%; žene 13,9%), kao niti dob ispitanika (11,1-14,3%; ovisno o dobnoj skupini). Za razliku od navedenih rezultata, u ranijem je istraživanju provedenom u Hrvatskoj uočen je porast seropozitiviteta s dobi koji je iznosio od 17,2% u djece mlađe od 10 godina do 70,7% u osoba starijih od 70 godina (14). Porast seroprevalencije s dobi dokazala su i neka druga istraživanja (23-25, 27). U ovo istraživanje nisu bila uključena djeca, a dobne skupine su uključivale veći raspon godina što je mogući razlog podjednake učestalosti IgG protutijela u sve tri dobne skupine. Podjednaka učestalost IgG protutijela u muškaraca i žena dokazana je i u ranijem hrvatskom istraživanju (14), a isto tako i u nekim europskim zemljama kao npr. u Italiji (23) i Grčkoj (24,25).

Rezultati logističke regresije pokazali su da je mjesto prebivališta najznačajniji rizični faktor za seropozitivitet na fleboviruse na području Hrvatske tj. da stanovnici priobalja imaju peterostruko višu vjerojatnost za infekciju ovim virusima u odnosu na stanovnike kontinentalnih područja. Statistički značajno višu seroprevalenciju na TOSV u stanovnika priobalja potvrdilo je i ranije istraživanje u Hrvatskoj gdje je seroprevalencija bila značajno viša u svim endemskim područjima priobalja (33,6-53,9%) u odnosu na kontinentalne županije (6,1%) (14). Iako su rezultati ovog rada pokazali razliku u seropozitivitetu na fleboviruse između gradskog stanovništva (16,5%) i stanovništva prigradskih odnosno seoskih područja (7,1%), ova razlika nije bila statistički značajna.

U zaključku, rezultati ovog rada potvrdili su rezultate ranijih istraživanja tj. i dalje prisutnu aktivnost flebovirusa na području Hrvatske. Obzirom na relativno mali broj ispitanika, potrebna su daljnja istraživanja kako bi se potvrdila ova opažanja te odredila točna seroprevalencija u obje ispitivane regije Hrvatske.

7. ZAKLJUČCI

1. IgG protutijela na fleboviruse dokazana su u ukupno 16,4% ispitanika.
2. TOSV protutijela nađena su u 10,3% ispitanika, SFSV protutijela u 2,3%, SFNV protutijela u 3,3%, a SFCV u 0,5% ispitanika.
3. U stanovnika priobalja seroprevalencija je bila značajno viša (25,0%) u odnosu na stanovnike kontinentalnih područja Hrvatske (5,7%).
4. Nije utvrđena značajna razlika u seroprevalenciji flebovirusa u odnosu na spol (muškarci 14,2%; žene 13,9%), kao niti dob ispitanika (11,1-14,3%; ovisno o dobnoj skupini).
5. Najznačajniji rizični čimbenik za seropozitivitet na fleboviruse je mjesto prebivališta. Stanovnici priobalnih hrvatskih županija imaju peterostruko viši rizik za IgG seropozitivitet u odnosu na stanovnike kontinentalnih županija (OR=5,476; 95%CI=2,232-13,430).
6. Potvrđeni su rezultati ranijih istraživanja o prisutnosti flebovirusa na području Hrvatske.
7. Obzirom na relativno mali broj ispitanika, potrebna su daljnja istraživanja kako bi se potvrdila ova opažanja te odredila točna seroprevalencija u obje ispitivane regije Hrvatske.

8. ZAHVALA

Zahvaljujem svojoj mentorici doc. dr. sc. Tatjani Vilibić Čavlek na pristupačnosti, savjetima i velikoj podršci tijekom odabira teme i pisanja ovog diplomskog rada, kao i na uključivanju u kongrese i izradu radova tijekom studija te izv. prof. dr. sc. Branku Kolariću na pomoći pri statističkoj obradi podataka.

Također, zahvaljujem svojoj obitelji, posebnoj mojoj mami, na cjeloživotnoj motivaciji, ljubavi i podršci, strpljenju i pomoći.

9. LITERATURA

1. Ayhan N, Charrel RN. Sandfly-Borne Viruses of Demonstrated/Relevant Medical Importance. U: Savić S, ur. *Vectors and Vector-Borne Zoonotic Diseases*. Rijeka: Intechopen; 2018: str 1-22. doi: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.81023>
2. 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.
3. Karakašević BO. Prvoj epidemiji papatačijeve groznice na teritoriji NR Srbije. *Vojnosanit Pregl.* 1947;4:224-228.
4. Vesenjaj-Hirjan J, Punda-Polić V, Dobec M. Geographical distribution of arboviruses in Yugoslavia. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol.* 1991;35:129-140.
5. Ahmed A, Abera NA, Cao S, Omballa V, Wang D, Montgomery JM, i sur. An outbreak of acute febrile illness caused by sandfly fever Sicilian virus in the Afar region of Ethiopia, 2011. *Am J Trop Med Hyg.* 2014;91:1250-1253.
6. Papa A, Konstantinou G, Pavlidou V, Antoniadis A. Sandfly fever virus outbreak in Cyprus. *Clin Microbiol Infect.* 2006;12:192-194.
7. Ellis SB, Appenzeller G, Lee H, Mullen K, Swenness R, Pimentel G, i sur. Outbreak of sandfly fever in Central Iraq, September 2007. *Mil Med.* 2008;173:949-953.
8. Guler S, Guler E, Caglayik DY, Kokoglu OF, Ucmak H, Bayrakdar F, i sur. A sandfly fever virus outbreak in the East Mediterranean region of Turkey. *Int J Infect Dis.* 2012;16:e244-e246.
9. Hukić M, Bešić IS. Sandfly-Pappataci fever in Bosnia and Herzegovina: The new-old disease. *Bosn J Basic Med Sci.* 2009;9(1):39.
10. Ayhan N, Charrel RN. Of phlebotomines (sandflies) and viruses: a comprehensive perspective on a complex situation. *Curr Opin Insect Sci.* 2017;22:117-124.
11. Ayhan N, Baklouti A, Prudhomme J, Walder G, Amaro F, Alten B, i sur. Practical Guidelines for Studies on Sandfly-Borne Phleboviruses: Part I: Important Points to Consider Ante Field Work. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2017;17(1):73-80.
12. Wuerth JD, Weber F. Phleboviruses and the type I interferon response. *Viruses.* 2016; 8(6). pii: E174.
13. Punda Polić V, Vilibić Čavlek T. Bunyavirusi. U: Kalenić S, ur. *Medicinska mikrobiologija*. Zagreb: Medicinska naklada; 2019, str. 508-513.

14. Punda-Polić V, Jerončić A, Mohar B, Šiško Kraljević K. Prevalence of Toscana virus antibodies in residents of Croatia. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18(6):E200-3.
15. Punda-Polić V, Mohar B, Du D, Bradarić N, Korva M, Fajs L, i sur. Evidence of an autochthonous Toscana virus strain in Croatia. *J Clin Virol*. 2012;55, 4–7.
16. Moriconi M, Rugna G, Calzolari M, Bellini R, Albieri A, Angelini P, i sur. Phlebotomine sand fly-borne pathogens in the Mediterranean Basin: Human leishmaniasis and phlebovirus infections. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017;11(8):e0005660.
17. Vilibić-Čavlek T, Babić-Erceg A, Barbić Lj, Stevanović V, Savić V, Mlinarić-Galinović G. Dijagnostika arbovirusnih infekcija. *HČJZ* 2014;10(38):11-8.
18. Cusi MG, Savellini GG. Diagnostic tools for Toscana virus infection. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2011;9(7):799-805.
19. Borčić B, Punda V. Sandfly fever epidemiology in Croatia. *Acta Med Iugosl*. 1987;41(2):89-97.
20. Punda-Polić V, Calishe, CH, Vesenjāk-Hirjan J. Neutralizing antibodies for sandfly fever Naples virus in human sera on the island of Mljet. *Acta Med Iugosl*. 1990;44:15-20.
21. Remoli ME, Fiorentini C, Marchi A, Di Renzi S, Vonesch N, Peri MV, i sur. Seroprevalence survey of arboviruses in workers from Tuscany, Italy. *Med Lav*. 2018;109(2):125-131.
22. 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.
23. Calamusa G, Valenti RM, Vitale F, Mammina C, Romano N, Goedert JJ, i sur. 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.
24. Anagnostou V, Papa A. Seroprevalence of Toscana virus among residents of Aegean Sea islands, Greece. *Travel Med Infect Dis*. 2013;11(2):98-102.
25. Anagnostou V, Papa A. Prevalence of antibodies to phleboviruses within the sand fly fever Naples virus species in humans, northern Greece. *Clin Microbiol Infect*. 2013; 19(6):566-570.
26. Eitrem R, Stylianou M, Niklasson B. High prevalence rates of antibody to three sandfly fever viruses (Sicilian, Naples, and Toscana) among Cypriots. *Epidemiol Infect*. 1991;107:685-691.
27. de Ory-Manchón F, Sanz-Moreno JC, Aranguez-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.

28. 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.
29. Bichaud L, Piarroux RP, Izri A, Ninove L, Mary C, De Lamballerie X, i sur. Low seroprevalence of sandfly fever Sicilian virus antibodies in humans, Marseille, France. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17(8):1189-1190.
30. Venturi G, Marchi A, Fiorentini C, Ramadani N, Quaglio G, Kalaveshi A, i sur. Prevalence of antibodies to phleboviruses and flaviviruses in Peja, Kosovo. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17(8):1180-1182.
31. Ergünay K, Saygan MB, Aydoğan S, Lo MM, Weidmann M, Dilcher M, i sur. Sandfly fever virus activity in central/northern Anatolia, Turkey: first report of Toscana virus infections. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17(4):575-581.

10. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 12. siječnja 1994. godine u Zagrebu. Maturirala sam u V. gimnaziji u Zagrebu 2012. godine te upisala Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.

Tijekom studija pokazala sam interes za internu medicinu, posebice hematologiju. Na Zavodu za histologiju sam tijekom studija radila kao demonstrator i pomagala u izvođenju vježbi prema uputama predmetnog nastavnika.

Autor sam i koautor radova prikazanih na jednom međunarodnom i jednom znanstvenom skupu u zemlji.

1. Šalamun M, Tabain I, Barbić Lj, Milašinčić L, Artl S, Savić V, Stevanović V, Vilibić-Čavlek T. Seroprevalencija flebovirusnih infekcija na području Hrvatske. U: Vilibić-Čavlek ., Barbić Lj, Savić V (ur.). Zbornik sažetaka radionice: Emergentne i zapostavljene zoonoze u kontekstu "Jednog zdravlja". Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo, 2018; str. 89-90.

2. 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)