

Epidemiološke značajke infekcije uzrokovane parvovirusom B19 na području Hrvatske

Mihulja, Klara

Master's thesis / Diplomski rad

2020

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:105:836696>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-04**



Repository / Repozitorij:

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



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Klara Mihulja

**Epidemiološke značajke infekcije uzrokovane
parvovirusom B19 na području Hrvatske**

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2020.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Odjelu za virologiju Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo pod vodstvom doc. dr. sc. Tatjane Vilibić-Čavlek, dr. med. i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2019./2020.

POPIS KRATICA

DNA (engl. <i>deoxyribonucleic acid</i>)	Deoksiribonukleinska kiselina
PRCA (engl. <i>pure red cell aplasia</i>)	Čista aplazija crvene loze
IgM (engl. <i>immunoglobulin M</i>)	Imunoglobulin M
IgG (engl. <i>immunoglobulin G</i>)	Imunoglobulin G
HIV (engl. <i>human immunodeficiency virus</i>)	Virus humane imunodeficijencije
IVIG (engl. <i>intravenous immunoglobulin</i>)	Intravenski imunoglobulini
PCR (engl. <i>polymerase chain reaction</i>)	Lančana reakcija polimeraze
ELISA (engl. <i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>)	Imunoenzimski test
IFA (engl. <i>immunofluorescence assay</i>)	Indirektni imunofluorescentni test

SADRŽAJ

SAŽETAK.....	i
SUMMARY.....	ii
1. UVOD.....	1
1.1. GRAĐA I UMNOŽAVANJE PARVOVIRUSA B19.....	1
1.2. EPIDEMIOLOGIJA INFEKCIJE PARVOVIRUSOM B19.....	4
1.3. PATOGENEZA I IMUNOST NA PARVOVIRUS B19.....	4
1.4. KLINIČKA SLIKA INFEKCIJE PARVOVIRUSOM B19.....	4
1.4.1. Erythema infectiosum (<i>peta osipna bolest</i>).....	5
1.4.2. Prolazna aplastična kriza.....	6
1.4.3. Perzistentna infekcija i PRCA.....	7
1.4.4. Infekcija tijekom trudnoće.....	7
1.5. DIJAGNOSTIKA INFEKCIJE PARVOVIRUSOM B19.....	8
1.6. LIJEČENJE I PREVENCIJA INFEKCIJE PARVOVIRUSOM B19.....	9
2. HIPOTEZA.....	11
3. CILJ RADA.....	11
4. ISPITANICI I METODE.....	12
4.1. ISPITANICI.....	12
4.2. METODE.....	14
5. REZULTATI.....	18
6. RASPRAVA.....	23
7. ZAKLJUČCI.....	25
8. ZAHVALE.....	26
9. POPIS LITERATURE.....	27
10. ŽIVOTOPIS.....	31

SAŽETAK

Epidemiološke značajke infekcije uzrokovane parvovirusom B19 na području Hrvatske

Klara Mihulja

Parvovirus B19 najmanji je DNA virus raširen po cijelom svijetu. Iako velik postotak infekcija prolazi asimptomatski, parvovirus B19 može uzrokovati bolesti poput infektivnog eritema, prolazne aplastične krize, izolirane aplazije crvene loze, fetalnog hidropsa i kongenitalne anemije. Sama klinička slika ovisi o imunološkom statusu domaćina.

Cilj ovog rada bio je analizirati epidemiološke značajke infekcije uzrokovane parvovirusom B19 na području Republike Hrvatske. U razdoblju od siječnja 2009. godine do prosinca 2019. godine testirano je ukupno 1538 ispitanika na prisutnost IgM i IgG protutijela na parvovirus B19. Ispitivanu skupinu sačinjavalo je 503 (32,7%) muškaraca i 1035 (67,3%) žena u dobi od mjesec dana do 87 godina. Određivanje specifičnih IgM i IgG protutijela učinjeno je pomoću komercijalnih dijagnostičkih ELISA testova.

IgG protutijela na parvovirus B19 dokazana su kod 64,1% ispitanika pri čemu se seroprevalencija nije značajno razlikovala između muškaraca (66,1%) i žena (63,1%). Zabilježen je porast seropozitiviteta s dobi. U dobi od 6 mjeseci do 9 godina starosti pozitivno je bilo 30,0% ispitanika, nakon čega se zapaža kontinuirani porast seropozitiviteta sve do 73,3% u dobnoj skupini između 60 i 69 godina. Analizirajući populacijske skupine, kod djece i adolescenata mlađih od 18 godina zabilježeno je 42,2% IgG pozitivnih ispitanika za razliku od 65,6-67,1% odraslih osoba iz opće populacije, bolesnika na hemodijalizi te transplantiranih bolesnika. Analiza rizika za IgG seropozitivitet na parvovirus B19 logističkom regresijom pokazala je da dob značajan rizični faktor za IgG seropozitivitet (OR=1,017; 95%CI=1,011-1,022).

U skupini trudnica nije nađena statistički značajna razlika u IgG seroprevalenciji trudnica s urednom trudnoćom (62,6%) naspram onih s patološkom trudnoćom (71,0%).

IgM protutijela (akutna infekcija) dokazana su u 4,0% ispitanika. Akutne su infekcije bile najučestalije u dobi od 6 mjeseci do 9 godina (11,1%), no pojavljivale su se i u ostalim dobnim skupinama (1,2%-5,4%). Obzirom na populacijsku skupinu, najviše IgM pozitivnih ispitanika dokazano je kod djece i adolescenata (9,8%).

Što se tiče sezonske pojavnosti, najveći broj akutnih infekcija parvovirusom B19 zabilježen je u svibnju (22,9%) i travnju (11,5%).

Ključne riječi: parvovirus B19, seroprevalencija, Hrvatska

SUMMARY

Epidemiological characteristics of parvovirus B19 infection in Croatia

Klara Mihulja

Parvovirus B19 is the smallest DNA virus with worldwide distribution. Although infections are usually asymptomatic, parvovirus B19 can cause a variety of diseases (erythema infectiosum, transient aplastic crisis, pure red cell aplasia, hydrops fetalis and congenital anemia). Host features will determine the disease manifestations.

The aim of this study was to analyze the epidemiological characteristics of parvovirus B19 infection in Croatia. The study included 1538 participants aged from one month to 87 years tested between January 2009 and December 2019. In the tested group, there were 503 (32.7%) male and 1035 (67.3%) female patients. Parvovirus B19 IgM and IgG antibodies were detected using a commercial ELISA test.

The overall parvovirus B19 IgG seroprevalence rate was 64.1%. There were no significant differences in the seropositivity among male (66.1%) and female (63.1%) patients. A significant increase in the seroprevalence with age was observed. After 6 months of age, IgG seropositivity progressively increased from 30.0% in 6 months to 9-years age group to 73.3% in participants above 60. Analyzing different population groups, 42.2% of children and adolescents younger than 18 years tested positive for IgG antibodies compared to 65.6-67.1% of adult general population, hemodialysis patients and transplant patients. Logistic regression analysis showed that age was a significant risk factor for IgG seropositivity (OR=1.017; 95%CI=1.011-1.022).

IgM antibodies (acute infection) were detected in 4.0% patients. Acute infections were most common in the age group from 6 months to 9 years (11.1%), however it occurred in all age groups. Comparing different population groups, children and adolescents younger than 18 years had the highest IgM seroprevalence rate (9.8%).

In pregnant women, there was no difference in the IgG seroprevalence among women with normal pregnancy (62.6%) and women with unfavorable obstetric history (71.0%).

Regarding the seasonal prevalence, the highest number of parvovirus B19 acute infections was recorded in May (22.9%) and April (11.5%).

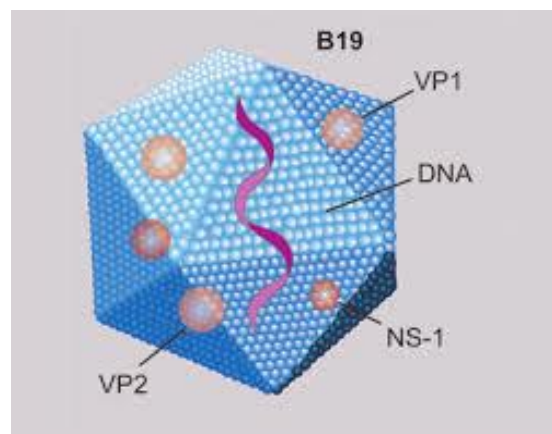
Key words: parvovirus B19, seroprevalence, Croatia

1. UVOD

Parvovirus B19 otkriven je 1975. godine tijekom testiranja uzoraka krvi na virus hepatitisa B. Yvonne Cossart i suradnici zabilježili su pozitivan uzorak na poziciji B19 mikrotitarske pločice po kojoj je ovaj malen (lat. *parvus*-malen) virus na kraju dobio svoje ime (1). Riječ je o najmanjem DNA virusu koji pripada porodici *Parvoviridae*, potporodici *Parvovirinae*, rodu *Erythroparvovirus*. Prema novoj ICTV klasifikaciji, virus je preimenovan u eritroparvovirus primata 1 (2). Uz humani bokavirus 1, parvovirus B19 jedini je virus porodice *Parvoviridae* koji je patogen za ljude, a sama manifestacija bolesti ovisi o imunološkom stanju domaćina.

1.1. GRAĐA I UMNOŽAVANJE PARVOVIRUSA B19

Parvovirus B19 neovijeni je virus promjera 22-24 nm s kapsidom ikozaedralne simetrije sastavljene od 60 kapsomera (slika 1). Kapsidu tvore dva glavna strukturna proteina, VP1 molekularne težine 84 kDa koji čini 4% kapside i VP2 molekularne težine 58 kDa koji sačinjava 96% kapside virusa. Slaganje strukturnih proteina rezultira nastajanjem α -heliksa na površini kapside. Specifične regije dostupne su stanicama imunskog sustava, pri čemu vanjski dio VP1 proteina sadržava linearne epitope koji izazivaju snažniji imunski odgovor u usporedbi s VP2 proteinom. Nestrukturni protein NS1, molekularne težine 77 kDa, ima važnu ulogu u replikaciji virusa. Služi kao aktivator transkripcije koristeći stanične transkripcijske faktore, a odgovoran je i za citotoksičnost virusa (3,4).

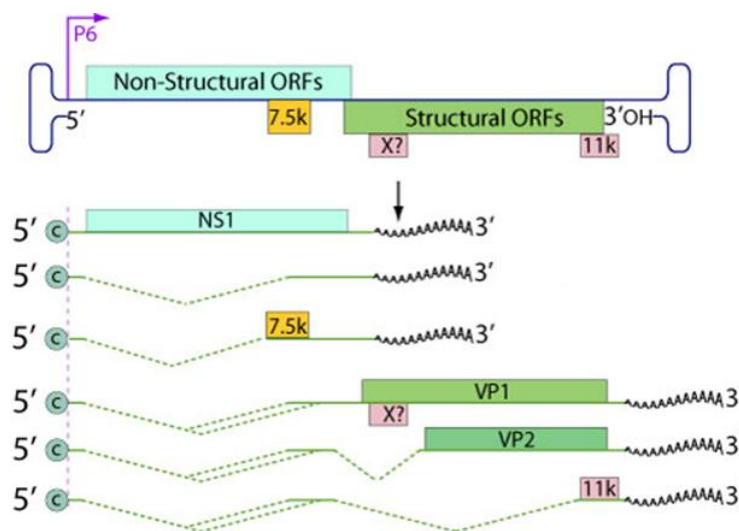


Slika 1. Građa parvovirusa B19

Izvor: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1365-2796.2006.01697.x>

Poznata su tri genotipa virusa (genotip 1-3), od kojih je genotip 1 raširen po cijelom svijetu. Sva tri genotipa pokazuju slične biološke, patogenetske i antigenske karakteristike te formiraju jedan serotip (5).

Genom virusa sastoji se od jednolančane DNA koja sadrži 5.6 kb. Na svakom kraju molekule DNA nalaze se palindromske sekvence koje tvore petlje oblika ukosnice. Petlja na 3' kraju služi kao početnica za DNA polimerazu. Nestrukturani protein NS1 kodiran je genima na 5' kraju genoma, a strukturalni proteini VP1 i VP2 na 3' (slika 2).



Slika 2. Genom parvovirusa B19

Izvor: https://viralzone.expasy.org/200?outline=all_by_species

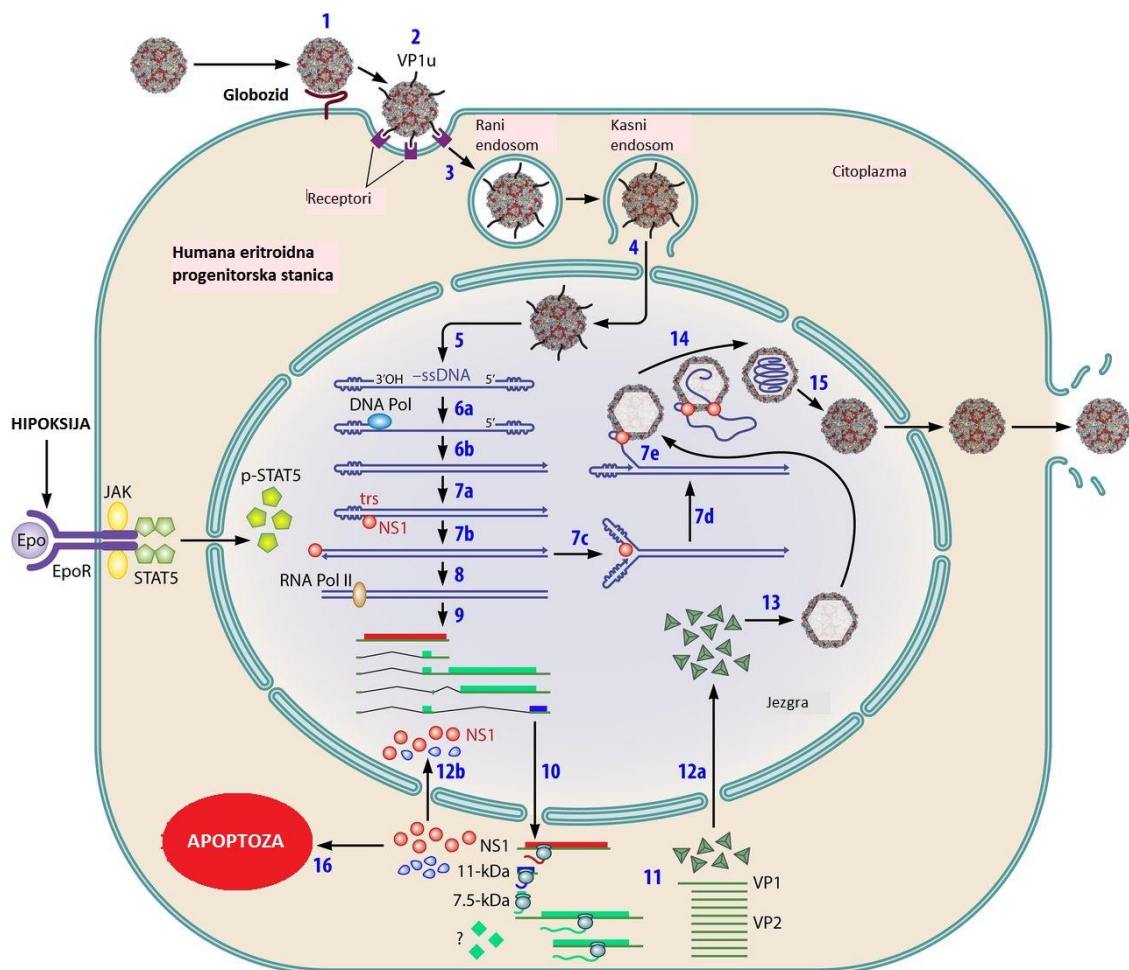
Virusne su čestice relativno otporne na inaktivaciju. Stabilne su do 60 minuta na temperaturi od 56°C, a lipidna otapala nemaju utjecaja na virus zbog manjka lipidne ovojnice. Inaktivacija virusa moguća je pomoću formalina, hidroksilamina, oksidativnih sredstva i ultraljubičastih zraka (2,4).

Parvovirus B19 može se umnožavati samo u mitotički aktivnim stanicama kao što su eritropoetske stanice koštane srži, leukemijske stanice i eritroidne stanice fetalne jetre. Životni ciklus virusa obuhvaća vezanje za stanični receptor, internalizaciju, ulazak virusnog genoma u jezgru stanice, replikaciju DNA, transkripciju i translaciju RNA, sastavljanje kapside i pakiranje genetskog materijala te naposljetku lizu stanice uz oslobađanje zrelih viriona (slika 3).

Stanični receptor za parvovirus je glikolipid P-antigen (globozid), a $\alpha_5\beta_1$ integrin služi kao koreceptor. P-antigen je prisutan na površini eritroblasta, megakarioblasta, endotelnih

stanica i površini fetalnih miocita. Pojedinci kojima genetski nedostaje ovaj antigen, imuni su na infekciju parvovirusom B19 (3,4).

Nakon interakcije P-antigena i VP1 proteina, virusna čestica ulazi u stanicu, najvjerojatnije endocitozom. Oslobađanjem iz endosoma, ulazi u jezgru gdje se jednolančana DNA pretvara u dvolančanu uz pomoć stanične DNA polimeraze i drugih DNA replikacijskih faktora. Slijedi transkripcija virusne mRNA uz pomoć stanične RNA polimeraze II, a translacija mRNA odvija se u citoplazmi gdje se stvaraju glavni virusni proteini koji ulaze u jezgru kao trimeri i formiraju prazne kapside. Jednolančana virusna DNA najvjerojatnije se stvara procesom premještanja lanca i ugrađuje u prazne kapside. Na kraju se inducira stanična apoptoza uz pomoć NS1 proteina koja omogućuje oslobađanje sastavljenih viriona iz zaražene stanice (slika 3) (5).



Slika 3. Umnožavanje virusa B19

Izvor: <https://cmr.asm.org/content/30/1/43>

1.2. EPIDEMIOLOGIJA INFEKCIJE PARVOVIRUSOM B19

Parvovirus B19 raširen je po cijelom svijetu. Smatra se da više od polovice odrasle populacije ima stvorena specifična protutijela (5). Infekcije se mogu pojaviti tijekom cijele godine, iako su nešto češće tijekom zime i proljeća, a svakih 4-5 godina bilježe se veće epidemije (6). Osobe obično prebole parvovirusnu infekciju u djetinjstvu, nakon koje stvore doživotna protutijela, ali moguće je da prvi put dođu u kontakt s virusom i u odrasloj dobi što predstavlja poseban problem kod trudnica zbog mogućeg vertikalnog prijenosa infekcije na fetus. Virus se uglavnom prenosi kapljičnim putem, ali tijekom faze viremije (kada postoji visok titar virusnih čestica u krvi) moguć je prijenos transfuzijom krvi i krvnih pripravaka te transplantacijom koštane srži i solidnih organa (7).

1.3. PATOGENEZA I IMUNOST NA PARVOVIRUS B19

Infekcija obično ima bifazičan tijek. Nakon ulaska u organizam putem respiratornog sustava, nastaje primarna viremija kojom virus dospijeva do koštane srži i replicira se u eritroidnim progenitorskim stanicama, inhibirajući eritropoezu. Dolazi do retikulocitopenije koja traje 7-10 dana i prolaznog pada razine hemoglobina u zdravih pojedinaca, a u koštanoj srži mogu se naći karakteristični orijaški pronormoblasti. Primarnu viremiju mogu pratiti simptomi opće slabosti, mijalgije i blage vrućice, a zbog visoke razine virusnih čestica u respiratornom sekretu, osobe su izuzetno zarazne. Drugi stadij bolesti nastaje oslobađanjem novonastalih viriona iz koštane srži, razvojem sekundarne viremije i tipičnih simptoma, obično 17-18 dana nakon infekcije (3,4,7).

Humoralni imunosni odgovor glavni je način suzbijanja infekcije. Pojavom specifičnih IgM protutijela 10-12 dana od inokulacije nestaje viremija. IgM protutijela usmjerena su većinom na VP2 proteine, a u krvi se zadržavaju 3-6 mjeseci. Nasuprot tome, IgG protutijela usmjerena su većinom na VP1 proteine kapside i ostaju doživotno pozitivna (6,7). Uloga staničnog imunosnog odgovora u suzbijanju infekcije nije do kraja razjašnjena (3).

1.4. KLINIČKA SLIKA INFEKCIJE PARVOVIRUSOM B19

Oko 25% infekcija parvovirusom B19 je asimptomatsko, tj. serokonverzija nastupa bez vidljive kliničke slike. Manifestacija same bolesti ovisi o imunološkom i hematološkom stanju domaćina. Tablica 1 prikazuje najčešće bolesti uzrokovane parvovirusom B19 (5).

Tablica 1. Najčešće bolesti uzrokovane parvovirusom B19

Bolest	Tijek bolesti	Domaćin
Erythema infectiosum	akutni	zdrava djeca
Artropatija	akutni/kronični	zdrave odrasle osobe
Fetalni hidrops i kongenitalna anemija	akutni/kronični	fetus
Prolazna aplastična kriza	akutni	bolesnici s hemolitičkim anemijama
Perzistentna infekcija i izolirana aplazija crvene loze	kronični	imunokompromitirani bolesnici

1.4.1. Erythema infectiosum (*peta osipna bolest*)

Erythema infectiosum ili infektivni eritem (megaleritem) kao bolest prepoznata je još u 19. stoljeću i svrstana među osipne bolesti dječje dobi ("peta osipna bolest"). Tada su je nazivali bolest ispljuskih obraza (engl. *slapped cheek disease*) i pretpostavljalo se da je virusne etiologije što je potvrđeno ubrzo nakon otkrića parvovirusa B19 (5).

Infektivni eritem najčešće zahvaća djecu u dobi od 5 do 15 godina starosti. Nakon inkubacije od 4 do 14 dana (iznimno 21 dan), nastupa prva faza bolesti karakterizirana blagom vrućicom, slabošću, glavoboljom i mijalgijama. Druga faza bolesti obilježena je pojavom osipa koji obično prolazi tri stadija. U prvom stadiju prisutan je simetričan crveni eritem na obrazima. Drugi stadij obilježava makulopapulozni konfluirajući osip koji zahvaća trup i udove pri čemu dlanovi i tabani ostaju pošteđeni. U trećem stadiju osip se polako povlači na karakterističan način. Promjene se gube na trupu (nešto dulje su vidljive na udovima) blijedeći u sredini, a zbog zaostalog uzdignutog ruba imaju čipkast (engl. *lace-like*) izgled (5,7,8). Osip obično traje jedanaest dana, ali se može zadržati mjesecima i pojačavati vanjskim podražajima (hladnoća, sunčeva svjetlost, trljanje) ili emocionalnim stresom (8). Treba naglasiti da je bolesnik zarazan tijekom prve faze bolesti, prije pojave osipa (5). U odrasloj populaciji pojava karakterističnog osipa nije uobičajena kao kod djece.

Artralgije i artritis mogu se javiti u sklopu infektivnog eritema, kada osip prethodi pojavi artritisa, ali puno češće izostane. Simptomi vezani uz zahvaćenost zglobova javljaju se u manje od 10% zaražene djece. Nasuprot tome, artralgije su prisutne u čak 60% oboljelih odraslih osoba, posebno kod žena. Javlja se simetričan neerozivan poliartritis ili poliartralgija

koja zahvaća koljena, ručne zglobove i male zglobove šaka, vrlo slično reumatoidnom artritisu (5,9). Obično traju jedan do tri tjedna, ali mogu potrajati i više mjeseci.

Pretpostavlja se da je jedan od mehanizma nastanka osipa i artralgija, no ne i jedini, odlaganje imunokompleksa u kožu i sinoviju zglobova. Tome u prilog govori pojava tih simptoma nakon razvoja specifičnih protutijela u serumu bolesnika, ali i činjenica da imunokompromitirani bolesnici, koji ne mogu stvarati protutijela, ne razvijaju te simptome. Isto tako, terapija intravenskim imunoglobulinima u imunokompromitiranih bolesnika može rezultirati pojavom osipa i bolova u zglobovima (7).

Iako je anemija karakteristična za infekciju parvovirusom, bolest može pratiti i trombocitopenija, neutropenija ili prolazna pancitopenija. Hemfagocitni sindrom induciran virusnom infekcijom moguć je u sklopu infekcije parvovirusom, iako se češće veže uz herpesvirusne infekcije. Obilježen je histiocitozom, hemfagocitozom i citopenijom, a češće se javlja kod bolesnika koji su pod imunosupresijom, najčešće ijtrogenom (4,5).

U neke djece s infektivnim eritemom javlja se i limfadenopatija koja zajedno s hepatosplenomeglijom može zvesti na krivu dijagnozu mononukleoze (10,11).

Uloga parvovirusa B19 u nastanku hepatitisa, miokarditisa, encefalitisa i drugih neuroloških manifestacija nije jasna i još uvijek se istražuje (5).

1.4.2. Prolazna aplastična kriza

Tijekom faze viremije dolazi do prolazne supresije eritropoeze što obično nema većih posljedica zahvaljujući dugotrajnom životu eritrocita od 120 dana. Kod pojedinaca koji imaju smanjenu proizvodnju eritrocita ili skraćen njihov životni vijek, infekcija parvovirusom B19 može rezultirati prolaznom aplastičnom krizom (7). Prvi puta je opisana kod bolesnika sa srpastom anemijom, ali može se javiti kod svake kronične hemolitičke bolesti (talasemija, sferocitoze, stomatocitoze, autoimune hemolitičke anemije, manjka G6PD i mnogih drugih) nakon infekcije virusom (4,5). Smatra se da je kod ovih bolesnika parvovirus B19 odgovoran za čak 70-80% epizoda aplastičnih kriza (4), a nekada bude prvi znak do tada neotkrivene hemolitičke bolesti. Aplastična kriza prezentira se izrazitom slabošću, letargijom i bljedilom kože, a karakterističan je nalaz retikulocitopenije i teške anemije (4). Mogu se javiti i trombocitopenija i leukopenija (8,12). Bolesnici su izrazito zarazni tijekom aplastične krize pa bi trebali biti izolirani da se spriječi širenje virusa (12-15). Iako prolazi najčešće unutar dva tjedna nakon stvaranja specifičnih protutijela, aplastična kriza može biti životno ugrožavajuće stanje. Bolesnicima su često potrebne transfuzije eritrocita, a moguće teške komplikacije su akutna sekvestracija slezene, kongestivno zatajenje srca i cerebrovaskularni incidenti (5,12).

1.4.3. Perzistentna infekcija i PRCA

U imunokompromitiranih bolesnika, koji nisu u mogućnosti adekvatno stvarati protutijela, parvovirus B19 može uzrokovati perzistentnu infekciju i kroničnu anemiju, a ponekad i čistu aplaziju crvene loze (PRCA, engl. *pure red cell aplasia*). To su bolesnici s prirođenim i stečenim imunodeficijencijama, hemato-onkološkim bolestima, kao i bolesnici pod imunosupresivnom terapijom nakon transplantacije koštane srži ili solidnih organa. Ovdje spadaju i imunosuprimirani bolesnici zbog uzimanja kortikosteroidne terapije ili kemoterapije (4,5).

Budući da se perzistentna infekcija ne prezentira klasičnom kliničkom slikom Pete bolesti, postavljanje ispravne dijagnoze može biti otežano. Glavni simptomi su umor i bljedoća kože i sluznica, a osip i artralgijske uglavnom nisu prisutni. U koštanoj srži, kao i kod akutne infekcije, nedostaju eritroidni prekursori, a prisutni su orijaški pronormoblasti. Kronična anemija praćena je retikulocitopenijom. U serumu bolesnika nedostaju specifična protutijela protiv parvovirusa B19 ili su prisutna u malim količinama, stoga za potvrdu dijagnoze serološke metode nisu adekvatne. Moguć je dokaz virusne DNA direktnim metodama hibridizacije ili PCR-om jer se javlja perzistentna ili rekurentna viremija. Zbog visokog titra virusnih čestica u serumu bolesnika s perzistentnom infekcijom, bolesnici su iznimno zarazni za druge (5). Terapije imunoglobulinima pokazale su se učinkovite u suzbijanju kronične anemije uzrokovane parvovirusom, a u slučaju HIV pozitivnih bolesnika s perzistentnom infekcijom dovoljna je primjena antiretrovirusne terapije (4).

1.4.4. Infekcija tijekom trudnoće

Infekcija parvovirusom tijekom trudnoće pojavljuje se u otprilike 1-5% trudnica (tijekom epidemija 3-20%), većinom s normalnim ishodom trudnoće (16). Prilikom infekcije seronegativnih trudnica postoji opasnost od vertikalnog prijenosa virusa na fetus. Iako čak 50% trudnica ne pokazuje nikakve simptome, vertikalni prijenos je moguć. Kod zaraženih seronegativnih trudnica, u 30% slučajeva doći će do prijenosa infekcije na fetus (17). Vertikalnoj transmisiji su posebno podložni fetusi tijekom prvog i drugog tromjesječja trudnoće zbog visoke ekspresije P-antigena u placenti koji omogućuje virusu ulazak u stanice i transplacentalni prijenos. Tijekom trećeg tromjesječja, ekspresija P-antigena je značajno manja (18).

Budući da se virus razmnožava u eritroidnim prekursorima, dolazi do prestanka eritropoeze i razvoja fetalne anemije. Teška fetalna anemija dovodi do zatajenja srca i mogućeg neimunskog fetalnog hidropsa što može rezultirati smrtnim ishodom. Osim toga, može doći do razvoja virusnog miokarditisa, hepatitisa i placentitisa. Infekcije u ranoj trudnoći

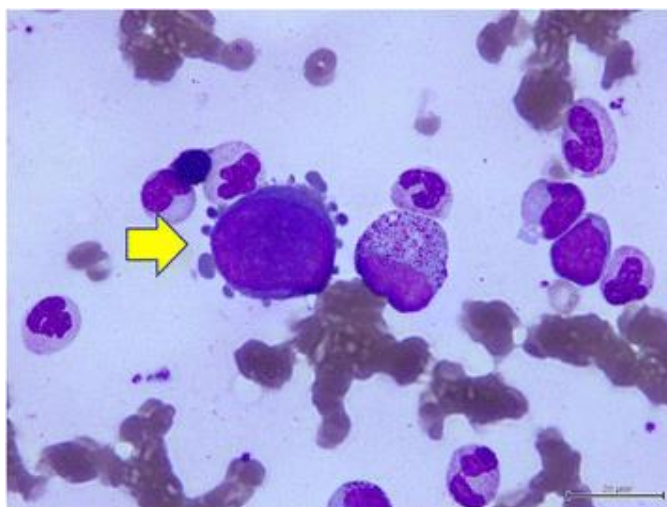
mogu izazvati spontani pobačaj. Međutim, infekcija parvovirusom tijekom trudnoće nije povezana s pojavom kongenitalnih anomalija (16,18).

Ultrazvučni pregled osobito je bitan u otkrivanju ranih znakova fetalne anemije. Znakovi fetalnog hidropsa na ultrazvuku obuhvaćaju ascites, edem kože i placente, kao i pojavu perikardijalnog ili pleuralnog izljeva. Trudnicama s potvrđenom infekcijom preporuča se ultrazvučni pregled svaki ili svaki drugi tjedan sve do 8 do 12 tjedana nakon infekcije, jer razvoj hidropsa može biti odgođen. Infekcija fetusa može biti potvrđena detekcijom virusne DNA u serumu fetusa ili amnijskoj tekućini PCR metodom (16).

U slučaju teške fetalne anemije i razvoja fetalnog hidropsa, intrauterine transfuzije eritrocita mogu značajno smanjiti rizik fetalne smrti. Indikacija za intrauterinom transfuzijom se postavlja nakon provedene kordocenteze i analize razina fetalnog hemoglobina i broja retikulocita. Ukoliko je moguće, potrebno je inducirati porod (16). U nekim slučajevima, komplikacije fetalne infekcije parvovirusom razriješile su se same kako je fetus imunosno sazrijevao.

1.5. DIJAGNOSTIKA INFEKCIJE PARVOVIRUSOM B19

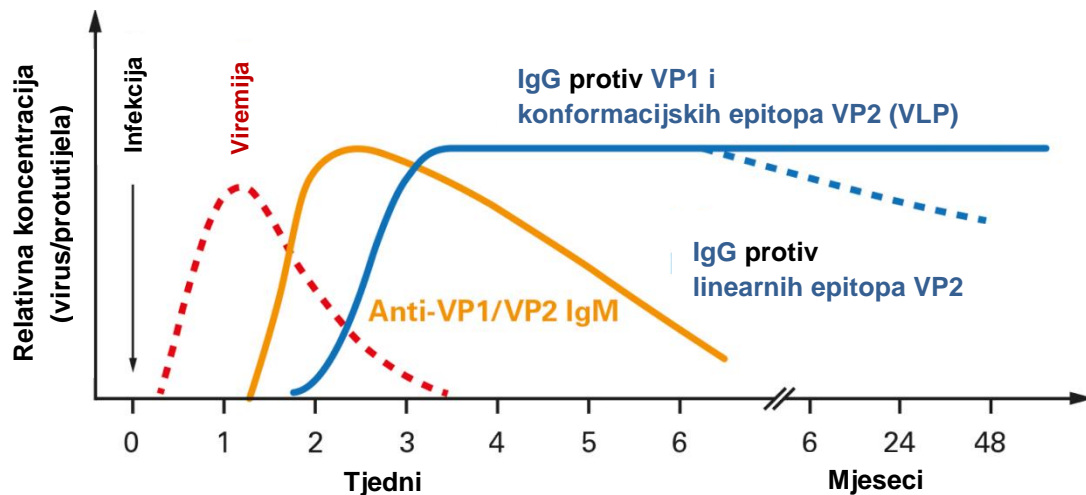
U slučaju infektivnog eritema, dijagnoza se obično postavlja klinički, bez laboratorijske dijagnostike (19-21). Kada je potrebna laboratorijska dijagnostika, dijagnoza parvovirusne infekcije može se utvrditi dokazom virusne DNA ili specifičnih protutijela. Iako nalaz orijaških pronormoblasta u razmazu krvi ili aspiratu koštane srži (slika 4) ukazuje na infekciju parvovirusom B19, njihova prisutnost ne može potvrditi etiološku dijagnozu (22).



Slika 4. Orijaški pronormoblast (žuta strelica) u aspiratu koštane srži

Izvor: <https://jmedicalcasereports.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13256-015-0542-7/figures/3>

Specifična IgM i IgG protutijela dokazuju se serološkim metodama u serumu bolesnika (imunoenzimski test; ELISA, indirektni imunofluorescentni test; IFA, *western blot*). Pokazatelj akutne infekcije su IgM protutijela koja nastaju 10-12 dana nakon infekcije, a detektirati ih se može do šest mjeseci nakon infekcije (slika 5). IgG protutijela stvaraju se nakon dva tjedna od infekcije i ostaju pozitivna doživotno kao dokaz preboljele infekcije i stečene imunosti, pri čemu njihov titar raste pri ponovnoj ekspoziciji virusu (12).



Slika 5. Imunološki odgovor tijekom infekcije parvovirusom B19

Izvor: https://www.euroimmun.com/fileadmin/euroimmun/pdf/news/article/HL_2580_L_UK_A.pdf

Detekcija virusne DNA moguća je PCR metodom i hibridizacijom nukleinske kiseline. Ove metode nužne su za postavljanje dijagnoze kod imunokompromitiranih bolesnika s perzistentnom infekcijom kod kojih nema adekvatnog stvaranja protutijela zbog čega su serološke metode negativne (23).

Zbog mogućnosti perzistencije virusa u tkivima, detekcija virusne DNA u tkivima ne smatra se dokazom akutne infekcije (5). Parvovirus B19 nije moguće izolirati u staničnoj kulturi (2).

1.6. LIJEČENJE I PREVENCIJA INFEKCIJE PARVOVIRUSOM B19

Specifična antivirusna terapija za parvovirus B19 ne postoji. Uzimajući u obzir da u velikom broju slučajeva infekcija prolazi bez vidljivih simptoma i da je infektivni eritem samolimitirajuća bolest, specifična terapija nije potrebna. U slučaju pridruženih artralgijskih i artropatija u simptomatskoj terapiji koriste se nesteroidni protuupalni lijekovi (7).

Potporna terapija i transfuzija krvnih pripravaka potrebna je kod liječenja bolesnika s prolaznom aplastičnom krizom dok ne dođe do oporavka vlastite hematopoeze.

Perzistentna infekcija i PRCA kod imunokompromitiranih bolesnika mogu se liječiti primjenom intravenskih imunoglobulina (IVIG). Iako nisu provedene kliničke studije kako bi se odredilo optimalno doziranje, IVIG se uglavnom primjenjuju u dozi od 0.4 g/kg/dan tijekom 5-10 uzastopnih dana (7). Kod nekih bolesnika nije moguće u potpunosti eradicirati viremiju zbog čega se mogu javiti relapsi bolesti čak i nekoliko mjeseci nakon terapije imunoglobulinima. U tim slučajevima moguća je ponovna primjena imunoglobulina, iako neki bolesnici često imaju više relapsa bolesti. Uz to, terapija imunoglobulinima može izazvati pojavu osipa i artralgijska kao kod infektivnog eritema. Kao komplementarna terapija ponekad se preporuča smanjiti imunosupresivnu terapiju kako bi se bolesnikov vlastiti imunski sustav mogao boriti protiv virusa. U slučaju infekcije HIV-om, smatra se da je primjena antiretrovirusne terapije, bez istodobne primjene imunoglobulina, dovoljna za izlječenje parvovirusne infekcije. Kod bolesnika na posttransplantacijskoj imunosupresiji preporuča se primjena IVIG uz promjenu terapije imunosupresivnim lijekovima (prvenstveno zamjena takrolimusa nekim drugim lijekom (24) ili prilagođavanje doze imunosupresivnih lijekova) (6,7).

Razvijeno je humano monoklonsko protutijelo koje bi se u prvom redu koristilo kao imunoterapija bolesnika s perzistentnom infekcijom ili akutno zaraženih trudnica, ali njegovo terapijsko i profilaktičko značenje još nije istraženo (4,7).

Infekcija kod seronegativnih trudnica trebala bi se pratiti ultrazvučnim pregledima jednom tjedno. U slučaju znakova fetalne anemije, zatajenja srca ili hidropsa indicirane su intrauterine transfuzije.

Postoje razni načini prevencije širenja infekcije u populaciji i bolnicama. U prvom redu to su pranje ruku i izbjegavanje bliskih kontakata s oboljelima. Izolacija oboljelih preporuča se kod imunokompromitiranih bolesnika i bolesnika s prolaznom aplastičnom krizom. Krv i krvni pripravci danas se temeljito testiraju.

Iako postoje cjepiva za životinjske parvoviruse, cjepivo za parvovirus B19 još se istražuje. Razvijena su eksperimentalna rekombinantna cjepiva koja bi mogla pružati efikasnu zaštitu, posebno za ugrožene skupine kao što su seronegativne žene reproduktivne dobi i bolesnike koji boluju od hemolitičkih anemija (3).

2. HIPOTEZA

Prevalencija infekcije uzrokovane parvovirusom B19 na području Republike Hrvatske ne razlikuje se od prevalencije u drugim europskim državama.

Infekcije uzrokovane parvovirusom B19 podjednako se javljaju u muškaraca i žena.

3. CILJ RADA

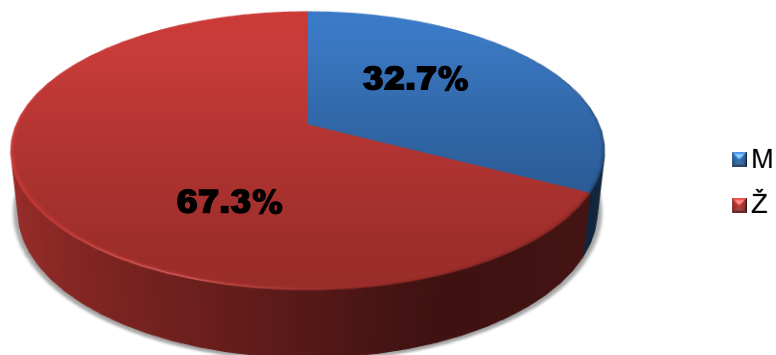
Cilj ovog rada je analizirati epidemiološke značajke infekcije uzrokovane parvovirusom B19 na području Republike Hrvatske.

Prevalencija će se analizirati u različitim populacijskim skupinama s obzirom na dob, spol, mjesto prebivališta te sezonsku pojavnost, a u trudnica i s obzirom na ginekološku anamnezu.

4. ISPITANICI I METODE

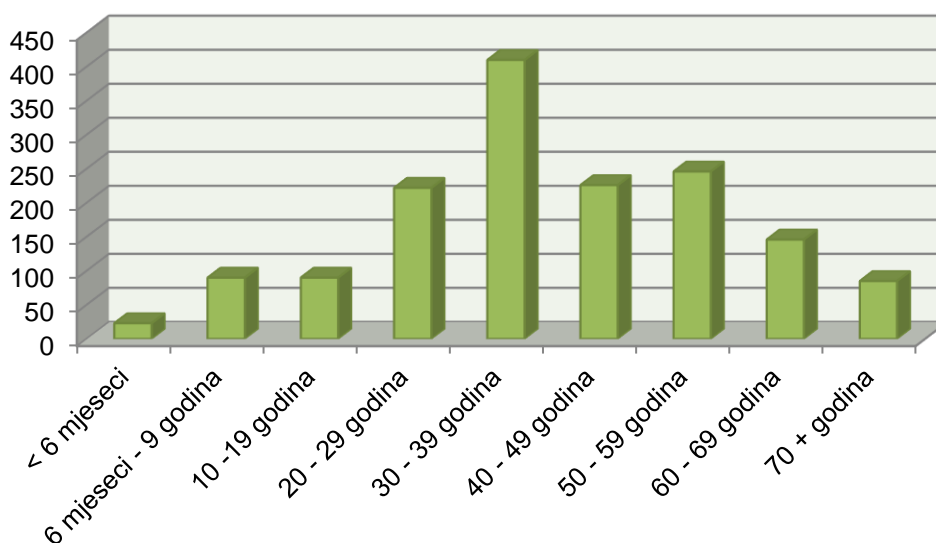
4.1. ISPITANICI

U razdoblju od 1. siječnja 2009. godine do 31. prosinca 2019. godine testirano je ukupno 1538 uzoraka seruma na prisutnost IgM i IgG protutijela na parvovirus B19. U ispitivanoj skupini bilo je 503 (32,7%) muškaraca i 1035 (67,3%) žena (slika 6) u dobi od mjesec dana do 87 godina.

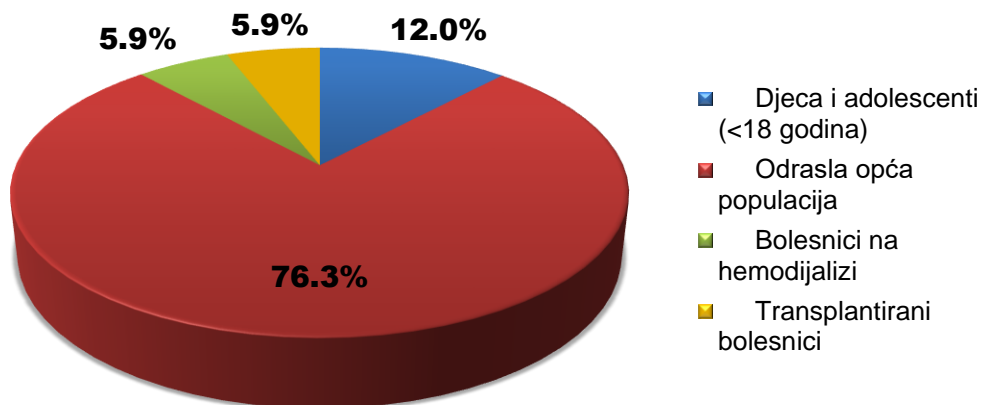


Slika 6. Raspodjela ispitanika prema spolu

Prema dobi, ispitanici su podijeljeni u sljedeće dobne skupine: ≤ 6 mjeseci (23/1,5%), 6 mjeseci-9 godina (90/5,9%), 10-19 godina (90/5,9%), 20-29 godina (222/14,4%), 30-39 godina (410/26,6%), 40-49 godina (226/14,7%), 50-59 godina (246/16,0%), 60-69 godina (146/9,5%) i skupina starijih od 70 godina (85/5,5%). Raspodjela ispitanika prema dobnim skupinama prikazana je na slici 7.

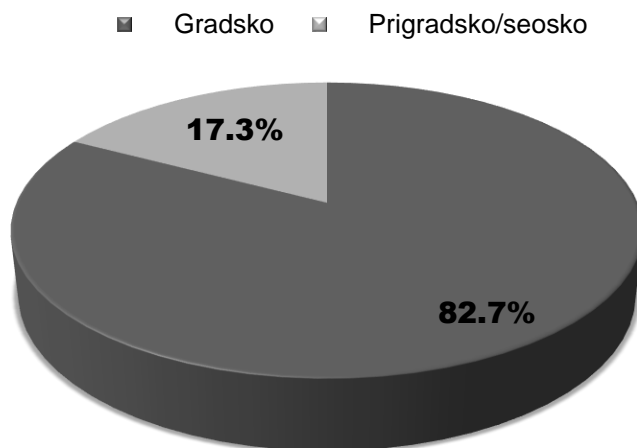


Slika 7. Raspodjela ispitanika prema dobi



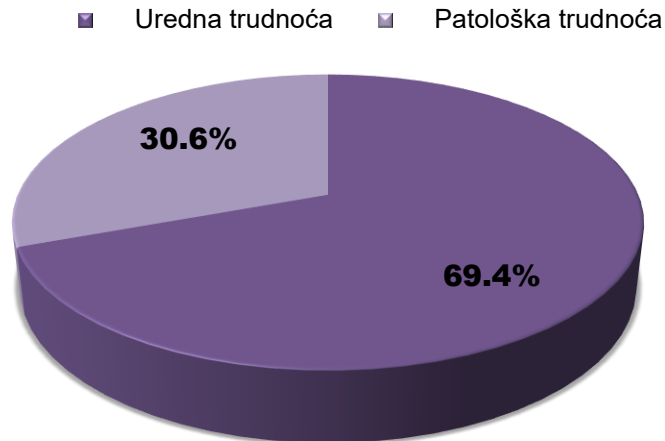
Slika 8. Raspodjela ispitanika prema dobnim skupinama

Osim toga, ispitanici su podijeljeni s obzirom na područje prebivališta pa tako u gradskom središtu živi 1272 (82,7%) ispitanika, a 266 (17,3%) ispitanika ima prigradsko/seosko prebivalište (slika 9).



Slika 9. Raspodjela ispitanika s obzirom na područje prebivališta

U posebnoj skupini promatrano je 304 trudnica koje su svrstane u skupinu s urednom trudnoćom (211/69,4%) te patološkom (93/30,6%) trudnoćom (slika 10).



Slika 10. Raspodjela trudnica s obzirom na ginekološku anamnezu

4.2. METODE

Određivanje specifičnih IgM i IgG protutijela na parvovirus B19 učinjeno je pomoću komercijalnih dijagnostičkih ELISA testova.

ELISA za detekciju parvovirusa B19 - IgM protutijela

(Anti-Parvovirus B19 ELISA - IgM; Euroimmun, Lübeck, Njemačka)

Sadržaj testa:

1. Mikrotitar pločica presvučena s antigenom (12 stripova s 8 udubina)
2. Kalibrator (IgM, humani)
3. Pozitivna kontrola (IgM, humani)
4. Negativna kontrola (IgM, humani)
5. Konjugat (antihumani IgM - kozji, obilježen peroksidazom)
6. Pufer za razrjeđivanje seruma - sadrži IgG/RF apsorbens (antihumani IgG)
7. Pufer za ispiranje
8. Otopina kromogen-suspstrata (TMB/H₂O₂)
9. Otopina za zaustavljanje reakcije (0,5 M sumporna kiselina)

Izvođenje testa:

Ispitivani serum se razrjeđuje u omjeru 1:101 (10 µl seruma + 1,0 ml pufera za razrjeđivanje seruma) te inkubira 10 min na sobnoj temperaturi.

1. Stavlja se 100 µl kalibratora, pozitivne i negativne kontrole te ispitivanih seruma u odgovarajuće udubine mikrotitar pločice (prema protokolu) te inkubira 30 min na sobnoj temperaturi.

Protokol za određivanje IgM protutijela

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	C	P 6	P 14									
B	Poz	P 7	P 15									
C	Neg	P 8	P 16									
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										
H	P 5	P 13										

1. Pločica se ispere 3 puta s 300 µl pufera za ispiranje.
2. U svaku udubinu stavlja se 100 µl konjugata te inkubira 30 min na sobnoj temperaturi.
3. Pločica se ispere 3 puta s 300 µl pufera za ispiranje.
4. U svaku udubinu stavlja se 100 µl kromogen-supstrata te inkubira 15 min na sobnoj temperaturi (zaštićeno od danjeg svjetla).
5. U svaku udubinu stavlja se 100 µl stop otopine.

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

Izračunavanje rezultata:

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

Interpretacija rezultata:

omjer: < 0.8 negativan; ≥ 0.8 - < 1.1 graničan; ≥ 1.1 : pozitivan

ELISA za detekciju virusa parvovirus B 19 - IgG protutijela

(Anti-Parvovirus B19 ELISA - IgG; Euroimmun, Lübeck, Njemačka)

Sadržaj testa:

1. Mikrotitar pločica presvučena s antigenom (12 stripova s 8 udubina)
2. Kalibrator 1, 200 RU/ml (IgG, humani)
3. Kalibrator 2, 20 RU/ml (IgG, humani)

4. Kalibrator 3, 2 RU/ml (IgG, humani)
5. Pozitivna kontrola (IgG, humani)
6. Negativna kontrola (IgG, humani)
7. Konjugat (antihumani IgG - zečji, obilježen peroksidazom)
8. Pufer za razrjeđivanje seruma
9. Pufer za ispiranje
10. Otopina kromogen-susprata (TMB/H₂O₂)
11. Stop otopina (0,5 M sumporna kiselina)

Izvođenje testa:

Ispitivani serum se razrjeđuje u omjeru 1:101 (10 µl seruma + 1,0 ml pufera za razrjeđivanje seruma).

1. Stavlja se 100 µl kalibratora, pozitivne i negativne kontrole te ispitivanih seruma u odgovarajuće udubine mikrotitar pločice (prema protokolu) te inkubira 30 min na sobnoj temperaturi.

Protokol za određivanje IgG protutijela

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

2. Pločica se ispere 3 puta s 300 µl pufera za ispiranje.
3. U svaku udubinu stavlja se 100 µl konjugata te inkubira 30 min na sobnoj temperaturi.
4. Pločica se ispere 3 puta s 300 µl pufera za ispiranje.
5. U svaku udubinu staviti 100 µl kromogen-supstrata te inkubira 15 min na sobnoj temperaturi (zaštićeno od danjeg svjetla).
6. U svaku udubinu stavlja se 100 µl stop otopine.

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

Rezultati se izražavaju u jedinicama (RU/ml) i očitavaju s kalibracijske krivulje.

Interpretacija rezultata:

RU/ml <16 negativan; 16 - 22 graničan; > 22 pozitivan

Statistička obrada podataka

Razlike između grupa nominalnih varijabli testirane su Hi-kvadrat ili Fischerovim egzaktnim testom. Razlike između grupa ordinalnih varijabli testirane su Mann-Whitney U 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

Učestalost IgG protutijela na parvovirus B19 prikazana je u tablici 2.

IgG protutijela na parvovirus B19 dokazana su u 986/1538 (64,1%) ispitanika, pri čemu se seroprevalencija nije značajno razlikovala između muškaraca (332/503; 66,1%) i žena (654/1036; 63,1%, $p=0,282$). Obzirom na dob, seroprevalencija se razlikovala značajno između pojedinih dobnih skupina ($p<0,001$). Zbog transplacentalno prenesenih majčinih protutijela dokazan je visok postotak IgG pozitivne djece mlađe od 6 mjeseci (65,2%). U ostalim dobnim skupinama, seroprevalencija raste s dobi ispitanika. Kod ispitanika između 6 mjeseci i 9 godina starosti seropozitivno je bilo 30,0% ispitanika, nakon čega se zapaža kontinuirani porast sve do 73,3% IgG pozitivnih ispitanika u dobnj skupini između 60 i 69 godina starosti, a potom seroprevalencija ostaje stabilna. Kod starijih od 70 godina, IgG protutijela na parvovirus B19 dokazana su u 69,4% ispitanika.

Između pojedinih populacijskih skupina uočene su značajne razlike u prevalenciji ($p<0,001$). Kod djece i adolescenata mlađih od 18 godina zabilježen je IgG seropozitivitet od 42,2% u usporedbi sa 67,1% u općoj populaciji, 66,7% u skupini transplantiranih bolesnika te 65,6% u skupini bolesnika na hemodijalizi.

U skupini trudnica nije nađena statistički značajna razlika u seroprevalenciji trudnica s urednom trudnoćom (62,6%) naspram onih s patološkom trudnoćom (71,0%; $p=0,192$).

S obzirom na područje prebivališta, nema značajne razlike između ispitanika s gradskim (64,1%) i prigradskim/seoskim prebivalištem (63,9%; $p=0,944$).

Analiza rizika za IgG seropozitivitet na parvovirus B19 logističkom regresijom pokazala je da rizik raste s dobi ispitanika (OR=1,017; 95%CI=1,011-1,022). Nadalje, odrasla opća populacija (OR=2,777; 95%CI=2,023-3,812), bolesnici na hemodijalizi (OR=2,586; 95%CI=1,531-4,367) i transplantirani bolesnici (OR=2,717; 95%CI=1,604-4,603) imaju 2,5-3 puta veći rizik za IgG seropozitivitet u odnosu na djecu i adolescente (tablica 3).

Tablica 4 prikazuje učestalost IgM protutijela na parvovirus B19 (akutna infekcija). IgM protutijela dokazana su u 4,0% ispitanika (61/1538) s približno jednakom seroprevalencijom u žena (3,2%) i muškaraca (4,3%, $p=0,330$). Iako su akutne infekcije dokazane u gotovo svim dobnim skupinama, između pojedinih dobnih skupina postoji značajna razlika u seroprevalenciji ($p<0,001$). Zabilježeno je 11,1% pozitivnih ispitanika u dobi od 6 mjeseci do 9 godina starosti, dok u ostalim skupinama postoji kontinuirani pad IgM pozitivnih ispitanika: dobnj skupina 10-19 godina (8,9%), 20-29 godina (5,4%), 30-39 godina (4,9%), 40-49 godina (3,1%), 50-59 godina (1,2%), 60-69 godina (0%), stariji od 70 godina (1,2%).

Tablica 2. Učestalost IgG protutijela na parvovirus B19

Značajka	Testirani N (%)	IgG N (%)	95% CI	p
Svi ispitanici	1538	986 (64,1)	61,6 - 66,5	
Populacijska skupina				<0,001*
Djeca i adolescenti (<18 godina)	184 (12,0)	78 (42,2)	35,2 - 49,9	
Odrasla opća populacija	1174 (76,4)	789 (67,1)	64,4 - 69,8	
Bolesnici na hemodijalizi	90 (5,8)	59 (65,6)	54,8 - 75,3	
Transplantirani bolesnici	90 (5,8)	60 (66,7)	55,9 - 76,3	
Spol				0,282
Muški	503 (32,7)	332 (66,1)	61,7 - 70,1	
Ženski	1035 (67,3)	654 (63,1)	60,1 - 66,1	
Dob				
≤ 6 mjeseci	23 (1,5)	15 (65,2)	42,7 - 83,6	<0,001*
6 mjeseci - 9 godina	90 (5,9)	27 (30,0)	20,8 - 40,6	
10 -19 godina	90 (5,9)	47 (52,2)	41,4 - 62,9	
20 - 29 godina	222 (14,4)	140 (63,1)	56,3 - 69,4	
30 - 39 godina	410 (26,6)	265 (64,6)	59,8 - 69,3	
40 - 49 godina	226 (14,7)	156 (69,0)	62,6 - 75,0	
50 - 59 godina	246 (16,0)	170 (69,1)	62,6 - 74,5	
60 - 69 godina	146 (9,5)	107 (73,3)	65,3 - 80,3	
70 + godina	85 (5,5)	59 (69,4)	58,4 - 79,0	
Područje prebivališta				0,944
Gradsko	1272 (82,7)	816 (64,1)	61,4 - 66,8	
Prigradsko/seosko	266 (17,3)	170 (63,9)	57,8 - 69,7	
Trudnice				0,192
Uredna trudnoća	211 (69,4)	132 (62,6)	55,7 - 69,1	
Patološka trudnoća	93 (30,6)	66 (71,0)	60,6 - 79,9	

Tablica 3. Analiza rizika za IgG seropozitivitet na parvovirus B19 logističkom regresijom

Značajka	OR IgG	95%CI
Spol		
Ženski (ref.) vs. muški	0,725	0,405 - 1,295
Dob (porast za 1 godinu)	1,017	1,011 - 1,022*
Mjesto prebivališta		
Prigradsko naselje/selo (ref.) vs. grad	1,001	0,759 - 1,319
Populacijska skupina		
Djeca i adolescenti (<18 godina)	Ref.	
Odrasla opća populacija	2,777	2,023 - 3,812*
Bolesnici na hemodijalizi	2,586	1,531 - 4,367*
Transplantirani bolesnici	2,717	1,604 - 4,603*
Trudnice		
Uredna trudnoća (ref.) vs. patološka trudnoća	1,462	0,863 - 2,479

S obzirom na populacijsku skupinu, najviše IgM pozitivnih ispitanika dokazano je kod djece i adolescenata mlađih od 18 godina (9,8%). U odrasloj općoj populaciji zabilježeno je 3,6%, a u bolesnika na hemodijalizi 1,1% seropozitivnih ispitanika, dok kod transplantiranih bolesnika nije bilo IgM pozitivnih ispitanika ($p < 0,001$).

U skupini trudnica nije nađena statistički značajna razlika u seroprevalenciji trudnica uredne trudnoće (2,4%) naspram onih s patološkom trudnoćom (6,5%, $p = 0,098$).

Obzirom na područje prebivališta, nađena je statistički značajna razlika u prevalenciji IgM protutijela ($p < 0,036$). Među ispitanicima s gradskim prebivalištem zabilježeno je 3,5% IgM pozitivnih ispitanika, a kod ispitanika s prigradskim/seoskim prebivalištem 6,4% ispitanika.

Rezultati logističke regresije pokazali su da ispitanici s gradskim prebivalištem imaju manji rizik za IgM seropozitivitet (OR=0,509; 95%CI=0,285-0,907) u usporedbi s ispitanicima koji imaju prigradsko/seosko prebivalište. Isto tako, odrasle osobe (opća populacija, bolesnici na hemodijalizi, transplantirani bolesnici) imaju manji rizik za IgM seropozitivitet u odnosu na djecu i adolescente (tablica 5).

Tablica 4. Učestalost IgM protutijela na parvovirus B19

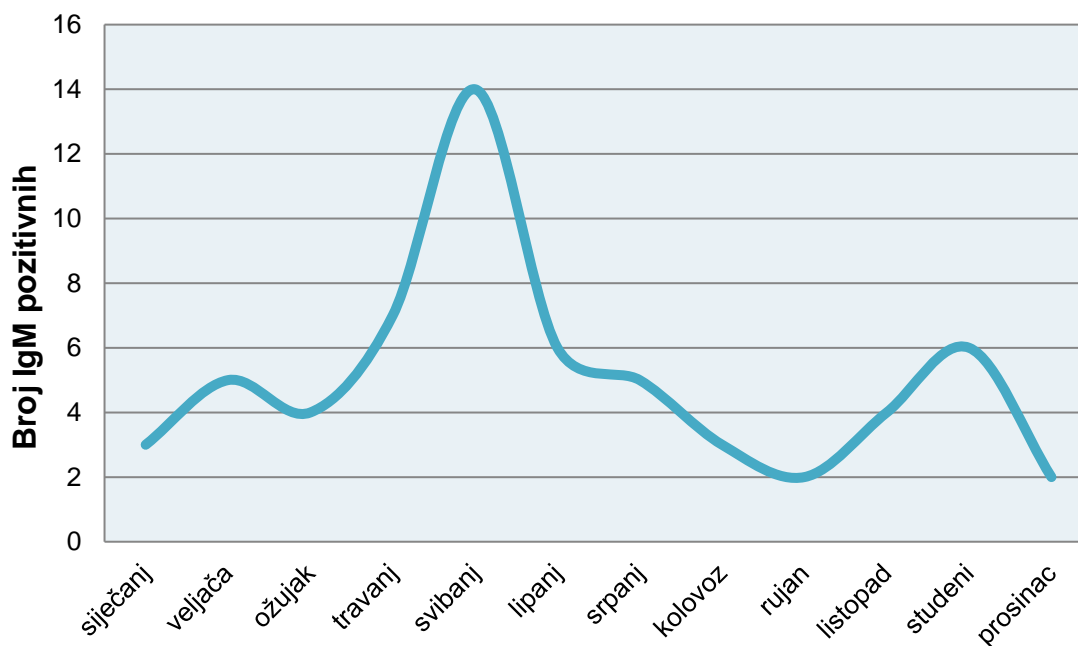
Značajka	Testirani	IgM	95% CI	p
	N (%)	N (%)		
Svi ispitanici	1538	61 (4,0)	3,0 - 5,1	
Populacijska skupina				<0,001*
Djeca i adolescenti (<18 godina)	184 (12,0)	18 (9,8)	5,9 - 15,0	
Odrasla opća populacija	1174 (76,4)	42 (3,6)	2,6 - 4,8	
Bolesnici na hemodijalizi	90 (5,8)	1 (1,1)	0,1 - 6,1	
Transplantirani bolesnici	90 (5,8)	0 (0,0)	NP	
Spol				0,330
Muški	503 (32,7)	45 (4,3)	3,2 - 5,8	
Ženski	1035 (67,3)	16 (3,2)	1,8 - 5,1	
Dob				<0,001*
≤ 6 mjeseci	23 (1,5)	0 (0,0)	NP	
6 mjeseci - 9 godina	90 (5,9)	10 (11,1)	5,5 - 19,5	
10 -19 godina	90 (5,9)	8 (8,9)	3,9 - 16,8	
20 - 29 godina	222 (14,4)	12 (5,4)	2,8 - 9,3	
30 - 39 godina	410 (26,6)	20 (4,9)	3,0 - 7,4	
40 - 49 godina	226 (14,7)	7 (3,1)	1,3 - 6,3	
50 - 59 godina	246 (16,0)	3 (1,2)	0,3 - 3,5	
60 - 69 godina	146 (9,5)	0 (0,0)	NP	
70 + godina	85 (5,5)	1 (1,2)	0,1 - 6,4	
Područje prebivališta				0,036*
Gradsko	1272 (82,7)	44 (3,5)	2,5 - 4,6	
Prigradsko/seosko	266 (17,3)	17 (6,4)	3,8 -10,0	
Trudnice				0,098
Uredna trudnoća	211 (69,4)	5 (2,4)	0,1 - 5,4	
Patološka trudnoća	93 (30,6)	6 (6,5)	2,4 - 13,5	

NP- nije primjenjivo

Tablica 5. Analiza rizika za IgM seropozitivitet na parvovirus B19 logističkom regresijom

Značajka	OR IgM	95%CI
Spol		
Muški (ref.) vs. ženski	0,725	0,405 - 1,295
Dob (porast za 1 godinu)		
	0,964	0,951 - 0,978
Područje prebivališta		
Gradsko (ref.) vs. prigradsko/seosko	0,509	0,285 - 0,907*
Populacijska skupina		
Djeca i adolescenti (<18 godina)	Ref.	
Odrasla opća populacija	0,341	0,192 - 0,607*
Bolesnici na hemodijalizi	0,104	0,013 - 0,798
Transplantirani bolesnici	NP	NP
Trudnice		
Uredna trudnoća (ref.) vs. patološka trudnoća	2,841	0,844 - 9,997

Što se tiče sezonske pojavnosti infekcija parvovirusom B19, najviše akutnih infekcija zabilježeno je u svibnju (22,9%) i travnju (11,5%). Slijede ih lipanj i studeni s 9,8% akutno oboljelih (slika 11). Međutim, infekcije su se pojavljivale tijekom cijele godine.



Slika 11. Sezonska pojavnost akutnih infekcija uzrokovanih parvovirusom B19

6. RASPRAVA

Rezultati ove velike seroepidemiološke studije na području Hrvatske pokazali su ukupnu IgG seroprevalenciju na parvovirus B19 od 64,1%. Slične su rezultate pokazala i istraživanja na području Nizozemske (61%) (25), Izraela (61,4%) (26), Brazila (62,8%) (27) te Njemačke (područje Frankfurta na Meini, 62,9%) (28). Viša je seroprevalencija (72,1%) nađena u Njemačkoj nacionalnoj studiji provedenoj na području bivše Istočne i Zapadne Njemačke (29). Niži je seropozitivitet dokazan u općoj populaciji Poljske (52,9%) (30) te Engleskoj (56,3%) (31), dok je vrlo niska seroprevalencija dokazana u djece (20,7%) i odraslih osoba (36%) na području Centralne Anatolije, Turska (32).

U Hrvatskoj je IgG seroprevalencija rasla značajno s dobi ispitanika. U dobi od 19 godina, seropozitivno je bilo 52,2% ispitanika. Potom je opažen postepeni porast seroprevalencije do 69,0% u dobi od 40 do 49 godina, nakon čega je seroprevalencija ostala stabilna (69,1%-73,3%). Slična je povezanost seropozitiviteta s dobi dokazana u Poljskoj. Prvi porast seropozitiviteta uočen je u predškolske djece sa 65,5% seropozitivnih u skupini adolescenata (15-19 godina) te 81,2% seropozitivnih u dobi 40-49 godina (30). Nadalje, postupni porast seropozitiviteta nađen je i u stanovnika Njemačke uz seroprevalenciju od 71% u odraslih osoba u dobi od 20 do >60 godina (28). U Engleskoj je seroprevalencija rasla nelinearno s dobi (31), dok u Nizozemskoj nije bilo pozitivne korelacije seroprevalencije s porastom dobi kao niti značajne razlike između dobnih skupina u odrasloj populaciji Amsterdama (25).

U ovom istraživanju nije dokazana razlika u IgG seropozitivitetu između muškaraca (66,1%) i žena (63,1%), što se podudara s većinom drugih sličnih istraživanja (Poljska, Izrael, Turska) (26,30,32). Značajno viša seroprevalencija u žena u usporedbi s muškarcima (42,0%, odnosno 36,2%) nađena je u turskom istraživanju (33). Slično tome, u njemačkom je istraživanju uočena viša seroprevalencija u žena (73,3%) u odnosu na muškarce (70,9%). Isto je tako nađena viša seroprevalencija u stanovnika manjih gradova (74,8%) u odnosu na velike gradove (69,0%) (28). Rezultati ovog istraživanja nisu našli razliku u seropozitivitetu u stanovnika prigradskih i seoskih područja (63,9%) u odnosu na gradsko stanovništvo (64,1%).

Vrlo je malo studija analiziralo seroprevalenciju na parvovirus B19 u bolesnika koji se liječe hemodijalizom. Naši rezultati nisu dokazali razliku u seropozitivitetu u bolesnika na hemodijalizi (65,6%) u usporedbi s odraslom općom populacijom (67,1%). U dva istraživanja provedena u istoj skupini (Iran i Brazil) nađena je seroprevalencija od 54% odnosno 67,5% (34,35), dok je u Iraku seroprevalencija iznosila visokih 90,2% (36).

Bolesnici nakon transplantacije solidnih organa i krvotvornih matičnih stanica općenito imaju veći rizik reaktivacije latentnih ili perzistentnih virusnih infekcija kao i infekcija prenesenih putem presatka. Međutim, u ovom istraživanju, IgG seroprevalencija u bolesnika s transplantacijom jetre (66,7%) se nije značajno razlikovala u odnosu na seroprevalenciju u ostalim testiranim skupinama. Isto tako, niti jedan bolesnik nije imao dokazanu akutnu infekciju parvovirusom B19. Malo je objavljenih studija o seroprevalenciji parvovirusa B19 u transplantiranih bolesnika, no slična je seroprevalencija kao u našem istraživanju dokazana u bolesnika s transplantiranim bubregom na području Irana (69,2%) (37). Njemačka je studija analizirala 371 transplantiranog bolesnika (bubreg, jetra, srce, koštana srž) te dokazala istu seroprevalenciju prije (82%) i nakon transplantacije (83%) (38), što odgovara našim rezultatima.

Rezultati ovog istraživanja pokazali su da su akutne infekcije uzrokovane parvovirusom B19 bile najučestalije u najmlađoj dobnoj skupini (11,1%) te u adolescenata (8,9%). Međutim, 5,5% te 4,9% akutnih infekcija zabilježeno je i u dobnim skupinama od 20 do 39 godina što se može objasniti bliskim kontaktom s malom djecom u obitelji što povećava rizik prijenosa virusa.

Istraživanja seroprevalencije parvovirusa B19 u trudnica u europskim zemljama pokazala su seroprevalenciju u rasponu od 55% do 74% (28,30,39-43). Rezultati ovog istraživanja dokazali su da je seroprevalencija u trudnica (65,5%) jednaka kao i u općoj populaciji (64,1%). Iako su žene s nepovoljnom ginekološkom anamnezom u smislu ranijih neuspjelih trudnoća te rođenja djece s kongenitalnim malformacijama imale viši IgG seropozitivitet (71,0%) u odnosu na žene s urednim trudnoćama (62,6%), ova razlika nije bila statistički značajna. Isto tako nije nađena značajna razlika u prevalencije IgM protutijela između tih dviju skupina (6,5% odnosno 2,4%). Slično našim rezultatima, studija provedena u Lenjingradu nakodjer nije dokazala razliku u seroprevalenciji u skupini trudnica s urednom trudnoćom (75,3%) te žena s ponavljanim pobačajima (66,9%) (44).

Svakako valja spomenuti ograničenja ovog istraživanja. Budući da su u testiranje testiranje uključeni uzastopno pristigli uzorci seruma, uzorak ne mora nužno biti reprezentativan za opću populaciju.

Unatoč spomenutom ograničenju, rezultati ove velike studije pokazali su da je 64,1% populacije Hrvatske steklo imunitet na parvovirus B19. Starija životna dob najznačajniji je rizični faktor za IgG seropozitivitet.

7. ZAKLJUČCI

1. IgG protutijela na parvovirus B19 zabilježena su kod 64,1% ispitanika.
2. IgG seroprevalencija se značajno razlikovala između populacijskih skupina ($p < 0,001$): djeca i adolescenti 42,2%, odrasla opća populacija 67,1%, bolesnici na hemodijalizi 65,6%, transplantirani bolesnici 66,7%.
3. Zabilježen je značajan porast IgG seropozitiviteta ($p < 0,001$) s dobi ispitanika od 30,0% u dobnoj skupini 6 mjeseci - 9 godina do 73,3% u dobnoj skupini 60 - 69 godina.
4. U skupini trudnica, nije dokazana značajna razlika u seroprevalenciji u trudnica s urednom trudnoćom (62,6%) te trudnica s patološkom trudnoćom (71,0%).
4. Akutna infekcija parvovirusom B19 (IgM protutijela) dokazana je kod 4% ispitanika.
5. Akutne su infekcije najčešće zabilježene u djece i adolescenata (9,8%-11,1%), no dokazane su i u ostalim dobnim skupinama.
7. Analizirajući sezonsku pojavnost, najveći broj akutnih infekcija zabilježen je u svibnju (22,9%) i travnju (11,5%).
8. Logistička regresija pokazala je da je dob značajan rizični faktor za IgG seropozitivitet (OR=1,017; 95%CI=1,011-1,022).
9. Odrasla opća populacija (OR=2,777; 95%CI=2,023-3,812), bolesnici na hemodijalizi (OR=2,586; 95%CI=1,531-4,367) i transplantirani bolesnici (OR=2,717; 95%CI=1,604-4,603) imaju 2,5-3 puta veći rizik za IgG seropozitivitet u odnosu na djecu i adolescente.

8. ZAHVALE

Najveću zahvalu želim uputiti svojoj mentorici, doc. dr. sc. Tatjani Vilibić-Čavlek, na njenoj podršci, pristupačnosti i stručnim savjetima koji su bili od velike pomoći tijekom pisanja ovog rada.

Zahvaljujem se izv. prof. dr. sc. Branku Kolariću na pomoći pri obradi statističkih podataka.

Posebna zahvala i mojim najbližima na njihovoj podršci tijekom cijelog studija.

9. POPIS LITERATURE

1. Cossart YE, Field AM, Cant B, Widdows D. Parvovirus-like particles in human sera. *Lancet* 1975;1:72-73.
2. Presečki V, Presečki-Stanko A. Parvovirusi. U: Kalenić S i sur., ur. *Medicinska mikrobiologija*. 2.izdanje. Zagreb: Medicinska naklada; 2019. str. 432-434.
3. Schulte Danica J. Human Parvovirus B19. U: Cherry James D, Harrison Gail J, Kaplan Sheldon L, Steinbach William J, Hotez Peter J, (ur.) *Feigin and Cherry's Textbook of Pediatric Infectious Diseases*. 8. izdanje. Philadelphia: Saunders/Elsevier; 2019. str. 1330-1341.
4. Heegaard ED, Brown KE. Human parvovirus B19. *CMR*. 2002; 15(3):485-505.
5. Qiu J, Söderlund-Venermo M, Young NS. Human parvoviruses. *CMR*. 2017;30(1):43-113.
6. Gallinella G. Parvovirus B19 Achievements and Challenges. *ISRN Virol*. 2013;1-33.
7. Rogo LD, Mokhtari-Azad T, Kabir MH, Rezaei F. Human parvovirus B19: A review. *Acta Virol*. 2014; 58(3):199-213.
8. Tešović G. Parvovirus B19. U: Begovac J i sur., ur. *Klinička infektologija*. Zagreb: Medicinska naklada; 2019. str. 493-495.
9. Woolf AD, Campion GV, Chishick A, Wise S, Cohen BJ, Klouda PT, i sur. Clinical manifestations of human parvovirus B19 in adults. *Arch Intern Med*. 1989;149:1153-1156.
10. Zerbini M, Musiani M, Venturoli S, Gallinella G, Gibellini D, Gentilomi G, i sur. Different syndromes associated with B19 parvovirus viraemia in paediatric patients: Report of four cases. *Eur J Pediatr*. 1992;151:815-817.
11. Munoz-Gomez S, Cunha B. Parvovirus B19 mimicking Epstein- Barr virus infectious mononucleosis in an adult. *Am J Med*. 2013;126.
12. Servey JT, Reamy B V, Hodge J. Clinical presentations of parvovirus B19 infection. *Am Fam Physician*. 2007;75(3):373-6.
13. Anderson MJ, Davis LR, Hodgson J, Jones SE, Murtaza L, Pattison JR, i sur. Occurrence of infection with a parvovirus-like agent in children with sickle cell anaemia during a two-year period. *J Clin Pathol*. 1982;35:744–749.
14. Bell LM, Naides SJ, Stoffman P, Hodinka RL, Plotkin SA. Human parvo virus B19 infection among hospital staff members after contact with infected patients. *N Engl J Med*. 1989;321:485-491.

15. Chorba T, Coccia P, Holman RC, Tattersall P, Anderson LJ, Sudman J, i sur. The role of parvovirus B19 in aplastic crisis and erythema infectiosum (Fifth disease). *J Infect Dis.* 1986;154:383-393.
16. Giorgio E, De Oronzo MA, Iozza I, Di Natale A, Cianci S, Garofalo G, i sur. Parvovirus B19 during pregnancy: a review. *J Prenat Med.* 2010;4(4):63-6.
17. Anand A, Gray ES, Brown T, Clewley JP, Cohen BJ. Human parvovirus infection in pregnancy and hydrops fetalis. *N Engl J Med.* 1987;316(4):183-186.
18. Lamont RF, Sobel JD, Vaisbuch E, Kusanovic JP, Mazaki-Tovi S, Kim SK, i sur. Parvovirus B19 infection in human pregnancy. *BJOG.* 2011;118(2):175-186.
19. Parvovirus B19 (erythema infectiosum, fifth disease). U: Red Book 2006: Report of the Committee on Infectious Diseases. 27. izdanje. Washington, D.C.: American Academy of Pediatrics, 2006:484-487.
20. Young NS, Brown KE. Mechanisms of disease: Parvovirus B19. *N Engl J Med.* 2004;350(6):586-597.
21. Plummer FA, Hammond GW, Forward K, Sekla L, Thompson LM, Jones SE, i sur. An erythema infectiosum-like illness caused by human parvovirus infection. *N Engl J Med.* 1985;313:74-79.
22. Cohen BJ, Buckley MM. The prevalence of antibody to human parvovirus B19 in England and Wales. *J Med Microbiol.* 1988;25:151-3.
23. Gallinella G. The clinical use of parvovirus B19 assays: recent advances. *Expert Rev. Mol Diagn.* 2018;18(9):821-832.
24. Pamidi S, Friedman K, Kampalath B, Eshoa C, Hariharan S. Human parvovirus B19 infection presenting as persistent anemia in renal transplant recipients. *Transplantation.* 2000;69(12):2666-2669.
25. van Rijckevorsel GG, Sonder GJ, Schim van der Loeff MF, van den Hoek JA. Population-based study on the seroprevalence of parvovirus B19 in Amsterdam. *J Med Virol.* 2009; 81(7):1305-1309.
26. Mor O, Ofir I, Pavel R, Bassal R, Kra-Oz Z, Cohen D, i sur. Parvovirus B19V infection in Israel: prevalence and occurrence of acute infection between 2008 and 2013. *Epidemiol Infect.* 2016;144(1):207-214.
27. Azevedo KM, Setúbal S, Camacho LA, Velarde LG, Oliveira SA. Seroepidemiological study of human parvovirus B19 among human immunodeficiency virus-infected patients in a medium-sized city in Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2009;104(6):901-904.

28. Reinheimer C, Allwinn R, Doerr HW, Wittek M. Seroepidemiology of parvovirus B19 in the Frankfurt am Main area, Germany: evaluation of risk factors. *Infection*. 2010;38(5):381-385.
29. Röhrer C, Gärtner B, Sauerbrei A, Böhm S, Hottenträger B, Raab U, i sur. Seroprevalence of parvovirus B19 in the German population. *Epidemiol Infect*. 2008;136(11):1564-1575.
30. Siennicka J, Stefanoff P, Trzcińska A, Rosińska M, Litwińska B. Seroprevalence study of parvovirus B19 in Poland. *Przegl Epidemiol*. 2006;60(3):571-580.
31. Vyse AJ, Andrews NJ, Hesketh LM, Pebody R. The burden of parvovirus B19 infection in women of childbearing age in England and Wales. *Epidemiol Infect*. 2007;135(8):1354-1362.
32. Türk Dağı H, Ozdemir M, Baykan M, Baysal B. Investigation of parvovirus B19 seroprevalence in various age groups in Central Anatolia Region, Turkey. *Mikrobiyol Bul*. 2010;44(3):467-472.
33. Aktaş O, Aydin H, Uslu H. Serological prevalence of human parvovirus B19 in diseases or disorders related to different human body systems. *Turk J Med Sci*. 2016;46(2):368-373.
34. Sharif A, Aghakhani A, Velayati AA, Banifazl M, Sharif MR, Razeghi E, i sur. Frequency and genotype of human parvovirus B19 among Iranian hemodialysis and peritoneal dialysis patients. *Intervirol*. 2016;59(3):179-185.
35. Alves MT, Vilaça SS, Godoi LC, Rezende L Jr, das Graças Carvalho M, de Souza Silva F, Loli Guimarães F, i sur. Parvovirus B19 (B19) and cytomegalovirus (CMV) infections and anti-erythropoietin (anti-EPO) antibodies in patients on dialysis hyporesponsive to erythropoietin therapy. *Clin Chim Acta*. 2014;431:52-57.
36. Fathom SH, Hussein AA. Infection rate of human parvovirus B19 among hemodialysis patients in Bequeath city. *IOSR J Pharm Biol Sci*. 2018;13(4):76-81.
37. Khameneh ZR, Sepehrvand N, Sohrabi V, Ghasemzadeh N. The seroprevalence of Parvovirus B19 among kidney transplant recipients: a single-center study. *Saudi J Kidney Dis Transpl*. 2014;25(1):16-21.
38. Plentz A, Würdinger M, Kudlich M, Modrow. Low-level DNAemia of parvovirus B19 (genotypes 1-3) in adult transplant recipients is not associated with anaemia. *J Clin Virol*. 2013;58(2):443-448.
39. Milošević V, Jerant-Patić V, Hrnjaković-Cvjetković I, Vukmanović-Papuga M, Jelena RT, Kovačević G. The frequency of human parvovirus B19 infections in Vojvodina. *Med Pregl*. 2007;60(11-12):575-579.

40. van Gessel PH, Gaytant MA, Vossen AC, Galama JM, Ursem NT, Steegers EA, i sur. Incidence of parvovirus B19 infection among an unselected population of pregnant women in the Netherlands: A prospective study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2006;128(1-2):46-49.
41. Barlinn R, Vainio K, Samdal HH, Nordbø SA, Nøkleby H, Dudman SG. Susceptibility to cytomegalovirus, parvovirus B19 and age-dependent differences in levels of rubella antibodies among pregnant women. *J Med Virol.* 2014;86(5):820-826.
42. Mossong J, Hens N, Friederichs V, Davidkin I, Broman M, Litwinska B, i sur. Parvovirus B19 infection in five European countries: seroepidemiology, force of infection and maternal risk of infection. *Epidemiol Infect.* 2008;136(8):1059-1068.
43. Alanen A, Kahala K, Vahlberg T, Koskela P, Vainionpää R. Seroprevalence, incidence of prenatal infections and reliability of maternal history of varicella zoster virus, cytomegalovirus, herpes simplex virus and parvovirus B19 infection in South-Western Finland. *BJOG.* 2005;112(1):50-56.
44. Karunajeewa H, Siebert D, Hammond R, Garland S, Kelly H. Seroprevalence of varicella zoster virus, parvovirus B19 and *Toxoplasma gondii* in a Melbourne obstetric population: implications for management. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 2001;41(1):23-28.

10. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 24.11.1995. godine u Zagrebu gdje sam stekla osnovnoškolsko i srednjoškolsko obrazovanje. Maturirala sam 2014. godine u Prvoj gimnaziji i iste godine upisala Medicinski fakultet u Zagrebu. Tijekom studija bila sam demonstrator na Katedri za histologiju i embriologiju tijekom akademske godine 2016./2017. Dobitnica sam Dekanove nagrade za postignut uspjeh u akademskoj godini 2017./2018. Uključena sam u Studentsku sekciju za infektologiju od njenog osnutka 2018. godine. Imala sam priliku sudjelovati na studentskom kongresu ZIMS 2019. (Zagreb International Medical Summit) kao aktivni sudionik prezentirajući rad pod nazivom "Diversity of non-polio enterovirus types during two consecutive years (2018-2019)". Aktivno govorim engleski jezik te posjedujem osnovno znanje njemačkog jezika.